

AVALIAÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO EM GENÓTIPOS DE FEIJOEIROS TOLERANTES A SECA¹

EVALUATION OF BIOLOGICAL FIXATION OF NITROGEN IN RHIZOBIUM UNDER WATER DEFICIT

Willian Bucker Moraes²; Sebastião Martins Filho³; Giovanni de Oliveira Garcia⁴; Simone de Paiva Caetano⁵; Wanderson Bucker Moraes⁵; Fernando Carrara Cosmi²

RESUMO

Vários fatores como a temperatura, acidez do solo, teor de nutrientes e cultivar, interferem na eficiência simbiótica das estirpes de Rhizobium em condições de campo. Com objetivo de avaliar a capacidade de fixação biológica de nitrogênio de estirpes nativas de *Rhizobium* sp. foi realizado um experimento em vasos montado no delineamento inteiramente casualizado no esquema fatorial 10x7 (10 linhagens de feijoeiro consideradas tolerantes ao déficit hídrico, sendo estas: Amarelinho, Macuquinho, Imperial, EL 22, BATT 477, Uirapuru, IAPAR-81, Bate Estrada, Serrano e Preto Meia Lua e 7 inoculantes isolados dos solos dos municípios de Colatina, Vila Pavão, Nova Venécia, Pinheiros, Sooretama, Linhares e Alegre, no estado do Espírito Santo, com quatro repetições. Os dados demonstraram que a fixação biológica de N₂ utilizando a inoculação de estirpes eficientes de Rhizobium em cultivar nodulante de feijoeiro ou seu cultivo em solos com população nativa eficiente, pode possibilitar a suplementação ou até mesmo à não utilização de nitrogênio em cobertura na cultura do feijoeiro, sem perdas no rendimento da produtividade.

Palavras chave: Rhizobium, *Phaseolus Vulgaris* L., adubação nitrogenada.

ABSTRACT

Several factors as the temperature, soil acidity, content of nutrients and cultivate interfere in the symbiotic efficiency of the ancestries of Rhizobium in field conditions. With the objective of evaluating the capacity of biological fixation of nitrogen of native ancestries of Rhizobium sp. an experiment was accomplished in vases set up in the delineate entirely casualty in the factorial outline 10x7 (10 bean plant lineages considered tolerant to the water deficit, being these: Amarelinho, Macuquinho, Imperial, EL 22, BATT 477, Uirapuru, IAPAR-81, Bate Estrada, Serrano and Preto Meia Lua and 7 isolated inoculate of the soils of the municipal districts of Colatina, Vila Pavão, Nova Venécia, Pinheiros, Sooretama, Linhares and Alegre in Espírito Saint state, with four repetitions. The data demonstrated that the biological fixation of N₂ using the inoculation of efficient ancestries of Rhizobium in cultivating bean plant nodule cultivation in soils with efficient native population, it can make possible the supplement or even to the not use of nitrogen in covering in the culture bean plant, without losses in the income of the productivity.

Key words: Rhizobium, *Phaseolus Vulgaris* L., nitrogen manuring.

INTRODUÇÃO

O Feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) é cultivado em boa parte do planeta. No Brasil, uma área de aproximadamente 5,5 milhões de ha é ocupada para seu plantio, contribuindo com aproximadamente 28% do consumo de proteínas da população (Hungria *et al.*, 2000).

A expressão do potencial de produção da cultura do feijoeiro depende, dentre outros fatores, de um

adequado fornecimento de nutrientes, sendo muito exigente em termos nutricionais, principalmente com relação ao nitrogênio e potássio (Rosolem, 1987).

O nitrogênio quando não disponível geralmente limita a produção das culturas. Desta forma a fixação biológica do nitrogênio é uma alternativa para um manejo sustentável dos solos (Hungria & Vargas, 2000; Gliessman, 2001). A associação do feijoeiro com bactérias do gênero Rhizobium, capazes de

¹ Trabalho financiado pelo Banco do Nordeste.

² Mestrando em Produção Vegetal, Depto de Produção Vegetal, CCAUFES, Alegre - ES. E-mail: moraeswb@hotmail.com

³ Engo Agrônomo, Prof. Adjunto Dr., DPI/UFV, Viçosa - MG.

⁴ Engo Agrônomo Prof. Dr., Depto de Engenharia Rural, CCAUFES, Alegre - ES.

⁵ Acadêmico do curso de agronomia, Depto de Produção Vegetal, CCAUFES, Alegre - ES.

fixar o nitrogênio atmosférico e fornecê-lo à cultura, é mecanismo biológico capaz de substituir, pelo menos parcialmente, a adubação nitrogenada resultando numa diminuição dos custos com adubação nitrogenada, aumento da produtividade, além de evitar a lixiviação de nitrato, para águas subterrâneas (Hungria *et al.*, 1997).

Vários fatores interferem na eficiência simbiótica das estirpes de *Rhizobium* em condições de campo, tais como temperatura (Hungria & Franco, 1993; Sá, 1993), acidez do solo (Taylor *et al.*, 1991; Coletta Filho, 1993), concentração de nutrientes (Tsai, 1993) e o cultivar de feijoeiro (Ruschel, 1982).

Esses fatores em conjunto promovem pequenas nodulações e, conseqüentemente, perda da resposta à inoculação, diminuindo a eficiência do feijoeiro em estabelecer uma relação simbiótica com bactérias (Graham, 1981; Pereira *et al.*, 1984; Buttery *et al.*, 1987; Hardarson, 1993). A nodulação mesmo não sendo eficiente para suprir toda a exigência de nitrogênio requerida pela planta promove certa redução na utilização da adubação nitrogenada, representando uma economia considerável (Araújo, 1994). Assim a característica intrínseca do feijoeiro e da bactéria fixadora de nitrogênio (*Rhizobium*) é de grande importância para o sucesso da inoculação.

Dessa forma estirpes nativas geneticamente estáveis, adaptadas as condições do solo e a genótipos de feijoeiro, fazem com que ocorra um maior sucesso na relação simbiótica. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi selecionar linhagens promissoras de feijoeiro tolerantes a seca (*Phaseolus vulgaris* L.) com capacidade de fixação biológica do nitrogênio, utilizando populações nativas de bactérias do gênero *Rhizobium*.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUFES), localizada no município de Alegre - ES, com as coordenadas geográficas de 20° 45' de latitude Sul, 41° 28' de longitude Oeste e altitude de 150 m. O clima da região, de acordo com a classificação de Köppen é do tipo "Aw", tropical, com médias de temperatura mínima e máxima anual, no local dos estudos, de 18 °C e 31 °C, respectivamente.

COLETA DE AMOSTRAS DE SOLOS E ISOLAMENTO DAS ESTIRPES DE *RHIZOBIUM* SP.

Foram coletadas amostras de solo dos municípios de Pinheiros, Vila Pavão, Colatina, Nova Venécia, Sooretama, Linhares e Alegre, localizados no Estado do Espírito Santo, onde houve cultivo de feijoeiro por vários anos. O isolamento das bactérias foi realizado conforme descrito por Amarger & Hamakawa (1997), com o intuito de isolar populações nativas de bactérias do gênero *Rhizobium*.

Sementes do cultivar Capixaba Precoce, considerada boa planta hospedeira fixadora de N₂ (Hungria & Neves, 1987; Silva *et al.*, 1999), foram previamente desinfetadas por imersão em etanol 70% e em hipoclorito de sódio 4%, seguindo-se de cinco lavagens em água destilada estéril (Vincent, 1970; Hungria & Araújo, 1994), e colocadas para germinar em papel tipo germitest. Três dias após a emergência da radícula, as plântulas foram inoculadas com uma solução de solo, preparada com 1,0 g de solo de cada local coletado, diluído em 10 mL de água destilada, sendo imediatamente transferidas para vasos de Leonard modificados e mantidos em casa de vegetação, conforme descrito por Amarger & Hamakawa (1997).

Após 40 dias inoculação os nódulos foram coletados, desinfetados, macerados e semeados em placas de Petri contendo meio de cultura com extrato de levedura-manitol-ágar em pH 6,8 (Hungria & Araújo, 1994), seguido de novos plaqueamentos, utilizando-se a técnica de esgotamento de alça, a fim de se obter colônias puras de crescimento homogêneo e livre de contaminantes (Vincent, 1970; Hungria & Araújo, 1994; Melo & Azevedo, 1998).

AVALIAÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO

Esta etapa foi realizada em casa de vegetação utilizando recipientes plásticos de 2 L para plantio e avaliação das taxas de fixação de N₂ das estirpes isoladas das diferentes amostras do solo da região Norte do Estado do Espírito Santo. O comportamento destas estirpes foi comparado com uma estirpe considerada como boa nodulante (tipo padrão EMBRAPA Agromicrobiologia, CIAT 899).

Para avaliar a eficiência de fixação biológica de nitrogênio pelas estirpes nativas isoladas foi utilizado o cultivar carioca, onde suas sementes foram colocadas em germinador com temperatura de 30 ± 1 °C e após a emissão da radícula, as plântulas foram inoculadas

com as bactérias isoladas e com a estirpe conhecida, e transplantadas para recipientes contendo areia esterilizada em autoclave. O preparo do inoculante (10^9 células mL^{-1}), a inoculação das sementes e as condições de crescimento foram realizados segundo Hungria *et al.* (1996).

O experimento foi montado no delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições e 10 tratamentos, tendo: T1 = Inóculo de Pinheiros, T2 = Inóculo de Vila Pavão, T3 = Inóculo de Colatina, T4 = Inóculo de Nova Venécia, T5 = Inóculo de Sooretama, T6 = Inóculo de Alegre, T7 = Inóculo de Linhares, T8 = Inóculo Padrão CIAT 899, T9 = Sem inóculo com adição de nitrogênio, T10 = Sem inóculo e sem adição de nitrogênio. As plantas foram cultivadas em areia esterilizada mantidas em casa de vegetação, irrigadas de modo a manter sempre úmida a areia, sem que houvesse lixiviação de água e nutrientes, foi utilizado a solução nutritiva conforme descrito por Hoagland & Arnon (1950).

Após 30 dias de plantio foram avaliadas as seguintes características: altura de planta, número de nódulos, matéria fresca e seca da parte aérea. A matéria seca foi determinada colocando a matéria fresca em estufa de circulação forçada, à temperatura de 80°C, durante um período de 72 horas.

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA INOCULAÇÃO SOBRE A PRODUTIVIDADE

Para estudar o efeito da inoculação de populações nativas de *Rhizobium* sp. sobre a produtividade das linhagens de feijoeiro tolerantes a seca foram avaliados os genótipos tolerantes ao déficit hídrico: Amarelinho, Macuquinho, Imperial, EL 22, BATT 477, Uirapuru, IAPAR-81, Bate Estrada, Serrano e Preto Meia Lua. Estes genótipos foram inoculados com as estirpes isoladas e cultivados no respectivo solo do qual o inoculante foi isolado.

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, utilizando o esquema fatorial 10 x 7 (10 genótipos e 7 inoculantes) com quatro repetições, tendo como unidade experimental um vaso com duas plantas, sendo realizado adubação nitrogenada no tratamento não inoculado.

No estágio de maturação fisiológica (R9) foram avaliadas as seguintes características: altura de plantas, número de vagens por planta, número de sementes por vagem e produtividade total. Os dados foram analisados estatisticamente, utilizando o software SAEG (Sistema de Análise Estatística e Genética).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

COLETA DE AMOSTRAS DE SOLOS E ISOLAMENTO DAS ESTIRPES DE RHIZOBIUM SP.

O isolamento das bactérias fixadoras de nitrogênio foi realizado com sucesso, seguindo os critérios descritos conforme Vincent (1970); Hungria & Araújo, 1994; Melo & Azevedo, 1998, mostrando um bom crescimento de todas as estirpes, sendo estas de fácil reprodução em meio de cultura com extrato de levedura-manitol-agar em pH 6,8 (Hungria & Araújo, 1994).

AVALIAÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO

Na Tabela 1 foram avaliados dados referentes às características: altura de planta (ALT), número de nós da planta (NOS), peso da matéria fresca (PMF) e seca da parte aérea (PMS) e número de nódulos (NOD). Sendo que para as quatro primeiras características não houve diferença significativa entre os tratamentos, ao nível de 5% de probabilidade, mostrando que a simbiose feijoeiro-rizóbio foi capaz de fixar N_2 e suprir as necessidades das plantas, proporcionando desenvolvimento semelhante àquelas que receberam adubação nitrogenada em cobertura, estes dados também foram observados por Ferreira *et al.* (2000) e Mendes *et al.* (1998).

Para a característica número de nódulos (NOD) de plantas de feijoeiro do cultivar Carioca houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Sendo o tratamento com maior número de nódulos o sem inóculo com N_2 , os intermediários foram os inóculos isolados dos solos de Pinheiros, Vila Pavão, Nova Venécia, Alegre, inóculo Padrão - CIAT 899, Linhares e os que apresentaram os resultados inferiores foram os inóculos isolados dos solos de Colatina, Sooretama e o sem inóculo e sem N_2 . O números de nódulos nos tratamentos não inoculados também foram observados por Ferreira *et al.* (2000).

Concordando com Barbosa *et al.* (2005) a matéria seca da parte aérea foi maior no tratamento que recebeu a solução nutritiva com nitrogênio (T9), provavelmente pela maior uniformidade e quantidade de nitrogênio fornecido à planta. Isto também pode explicar o melhor desenvolvimento para a altura de planta, matéria fresca da parte aérea.

Sendo o nitrogênio um componente essencial para a molécula de clorofila, a maior quantidade e

Tabela 1

Médias da altura de planta (ALT), número de nós (NOS), peso da matéria fresca da parte aérea (PMF), peso matéria seca da parte aérea (PMS) e número de nódulos de plantas de feijoeiro. Alegre, 2007

Origem do Inóculo	ALT	NOS	PMF	PMS	NOD
T1	49,13 ¹	10,00	24,11	3,98	325,75ab ²
T2	52,81	10,88	30,40	4,87	374,13ab
T3	66,75	10,63	26,43	4,05	239,75b
T4	43,25	10,25	25,34	4,02	381,00ab
T5	71,00	10,50	31,61	4,78	285,75b
T6	34,88	10,25	24,59	3,77	326,75ab
T7	55,75	10,13	27,62	4,77	358,00ab
T8	61,63	10,63	30,05	4,85	296,25ab
T9	47,63	11,75	33,79	4,88	477,25a
T10	41,63	9,75	19,05	3,27	56,13c

¹ Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F;

² Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

uniformidade deste elemento no tratamento dois, pode ter influenciado decisivamente no maior desenvolvimento deste tratamento superando todos os demais, porém a fixação de nitrogênio pelas bactérias do gênero *Rhizobium* sp. em simbiose com o feijoeiro é uma relação que deve ser estudada com mais detalhes; pois mesmo a adubação nitrogenada apresentando-se a priori mais eficiente, os efeitos ambientais da fixação biológica são incontestáveis, e a longo prazo, a produtividade tende a aumentar a medida que se vai elevando a população nativa e o nível de matéria orgânica no solo.

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA INOCULAÇÃO SOBRE A PRODUTIVIDADE

Número de Vagens por Planta

Na Tabela 2 esta apresentado o estudo do número médio de vagens por planta de diferentes genótipos de feijoeiro, sem e com inoculação de estirpes nativas de *Rhizobium* sp., isoladas de solos de sete municípios do estado do Espírito Santo. Pode ser observado, de forma geral, que não houve diferença significativa comparando os plantios com e sem inoculação. Algumas exceções podem

ser destacadas para os genótipos: Imperial com o isolado de Vila Pavão e Sooretama; Uirapuru com o isolado de Nova Venécia; IAPAR 81 com o isolado de Linhares; Bate Estrada com os isolados de Vila Pavão e Alegre e EL 22 com o isolado de Linhares. Quando se compara o comportamento do mesmo genótipo com inoculação, nos diferentes solos, pode se destacar o comportamento dos genótipos: Amarelinho inoculado com os isolado de Alegre e Linhares; Imperial inoculado com o isolado de Sooretama; Serrano inoculado com os isolado de Pinheiros, Alegre e Linhares; IAPAR 81 inoculado com o isolado de Linhares; Bate Estrada inoculado com os isolado de Vila Pavão e Alegre; EL 22 inoculado com os isolado de Vila Pavão e Linhares e Preto Meia Lua inoculado com os isolado de Pinheiros, Vila Pavão, Sooretama, Alegre e Linhares, sendo que essa diferença entre as estirpes nativas de *Rhizobium* em relação cada cultivar também foi observada por THIES *et al.* (1991).

NÚMERO DE SEMENTES POR VAGEM

Na Tabela 3 esta apresentado o estudo do número médio de sementes por vagem de plantas

Tabela 2

Número médio de vagens por planta de diferentes genótipos de feijoeiro, sem e com inoculação de estirpes nativas de *Rhizobium* sp., isoladas de solos de sete municípios do estado do Espírito Santo. Alegre, 2006

Genótipos	Pinheiros		Vila Pavão		Colatina		Nova Venécia		Sooretama		Alegre		Linhares	
	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN
BATT-477	–	1,0 b ¹	1,3 cA	2,3 bA	–	1,8 a	1,0 aA	1,0 aA	1,0 bA	1,5 aA	1,5cA	2,8 aA	2,7 bA	3,3 bA
Amarelinho	1,5 bB	6,7 aA	2,0 cA	2,5 bA	2,3 aA	2,3 aA	1,0 aA	1,3 aA	2,0 bA	2,3 aA	4,0 bA	2,3 aA	4,5 bA	6,0 aA
Macuquinho	2,0 bA	2,0 bA	1,5 cA	2,0 bA	3,0 aA	3,0 aA	2,0 aA	2,5 aA	3,0 bA	3,0 aA	1,5cA	2,0 aA	3,5 bA	4,0 bA
Imperial	–	1,5 b	4,0 bA	1,3 bB	3,5 aA	1,0 aA	2,0 aA	1,0 aA	8,0 aA	3,0 aB	3,8 bA	2,3 aA	4,3 bA	3,0 bA
Uirapuru	2,3 bA	2,8 bA	4,0 bA	2,3 bA	1,0 aB	3,5 aA	3,3 aA	1,0 aB	–	2,0 aA	2,5 cA	1,8 aA	3,5 bA	2,5 bA
Serrano	4,8 aA	3,0 bA	2,8 cA	2,8 bA	2,8 aA	1,5 aA	1,8 aA	1,3 aA	2,0 bA	3,3 aA	3,5 bA	2,0 aA	3,5 bA	3,3 bA
IAPAR81	1,0 bB	4,3 bA	3,3 bA	1,3 bA	2,0 aA	2,5 aA	2,5 aA	1,8 aA	3,5 bA	2,7 aA	3,3 bA	2,8 aA	7,8 aA	5,3 aB
Bate Estrada	2,7 bA	2,3 bA	6,5 aA	3,8 aB	2,0 aA	3,0 aA	1,5 aA	3,3 aA	1,7 bA	2,8 aA	7,5 aA	2,8 aB	2,7 bA	3,0 bA
EL-22	2,8 bA	3,8 bA	4,3 bA	5,0 aA	2,5 aA	1,7 aA	2,0 aA	2,8 aA	2,3 bB	4,3 aA	–	3,3 a	6,8 aA	4,0 bB
Preto Meia Lua	2,8 bA	3,3 bA	3,3 bA	4,5 aA	1,5 aA	2,3 aA	1,3 a	–	2,7 bA	2,8 aA	4,3 bA	3,3 aA	2,5 bA	2,8 bA

¹ Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e mesma letra maiúscula na linha pertencem ao mesmo agrupamento, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Scott-Knott.

de diferentes genótipos de feijoeiro, sem e com inoculação de estirpes nativas de *Rhizobium* sp., isoladas de solos de sete municípios do estado do Espírito Santo. Pode ser observado, para todos os isolados, que não houve diferença significativa comparando os plantios com e sem inoculação. Quando se compara o comportamento do mesmo genótipo com inoculação, nos diferentes solos, pode ser verificado, também, que não houve nenhuma diferença significativa. Esses resultados discordam dos da EMBRAPA (1999), porém estão de acordo com os de PESSOA *et al.* (1999).

PRODUTIVIDADE TOTAL

Na Tabela 4 esta apresentado o estudo da produção média de diferentes genótipos de feijoeiro, sem e com inoculação de estirpes nativas de *Rhizobium* sp., isoladas de solos de sete municípios do estado do Espírito Santo. Pode ser observado, de forma geral, que houve pouca diferença significativa comparando os plantios com e sem inoculação. Pode ser destaca-

do, no entanto, os isolados de Vila Pavão, Alegre e Linhares quando inoculados no genótipo Imperial; isolado de Nova Venécia inoculado no “Uirapuru”; isolados de Pinheiros e Alegre no “Serrano”; isolados de Vila Pavão e Linhares no “IAPAR 81; isolado de Alegre no” Bate Estrada” e isolado de Linhares no EL 22. Quando se compara o comportamento do mesmo genótipo com inoculação, nos diferentes solos, podem ser destacados os genótipos: BATT 477 com os isolados de Vila Pavão, Nova Venécia, Alegre e Linhares; Amarelinho com os isolados de Alegre e Linhares; Imperial com os isolados de Vila Pavão, Sooretama, Alegre e Linhares; Uirapuru com os isolados de Pinheiros, Vila Pavão, Nova Venécia e Linhares; Serrano com o isolado de Pinheiros; IAPAR 81 com o isolado de Linhares; Bate Estrada com o isolado de Alegre; EL 22 com os isolados de Vila Pavão e Linhares e Preto Meia Lua com os isolados de Pinheiros, Vila Pavão e Alegre.

Os resultados obtidos confirmam que a característica intrínseca da planta hospedeira (o feijoeiro) e da bactéria fixadora de nitrogênio (*Rhizobium*), são de suma importância para o

Tabela 3

Número médio de sementes por vagem de plantas de diferentes genótipos de feijoeiro, sem e com inoculação de estirpes nativas de *Rhizobium* sp., isoladas de solos de sete municípios do estado do Espírito Santo. Alegre, 2006

Genótipos	Pinheiros		Vila Pavão		Colatina		Nova Venécia		Sooretama		Alegre		Linhares	
	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN
BATT-477	–	4,0 a ¹	5,1 aA	4,5 aA	–	3,9 a	6,0 aA	3,0 aA	3,0 aA	4,3 aA	5,5 aA	4,0 aA	4,2 aA	4,6 aA
Amarelinho	3,8 aA	4,9 aA	4,7 aA	4,4 aA	2,9 aA	4,0 aA	3,3 aA	4,3 aA	5,5 aA	3,7 aA	3,7 aA	4,1 aA	4,5 aA	4,3 aA
Macuquinho	2,8 aA	4,1 aA	4,8 aA	4,3 aA	4,3 aA	3,6 aA	4,0 aA	3,0 aA	5,0 aA	5,7 aA	5,0 aA	4,5 aA	3,7 aA	4,2 aA
Imperial	–	4,1 a	4,1 aA	4,0 aA	5,0 aA	4,0 aA	4,5 aA	2,5 aA	3,1 aA	3,5 aA	5,4 aA	4,9 aA	4,7 aA	2,0 aA
Uirapuru	5,0 aA	3,0 aA	4,0 aA	5,0 aA	5,3 aA	4,2 aA	3,3 aA	4,0 aA	–	4,5 a	3,5 aA	4,8 aA	4,2 aA	3,8 aA
Serrano	5,2 aA	3,5 aA	4,1 aA	3,7 aA	4,4 aA	4,0 aA	5,1 aA	4,2 aA	4,7 aA	4,7 aA	3,5 aA	2,5 aA	3,6 aA	3,4 aA
IAPAR81	3,0 aA	4,1 aA	3,1 aA	2,5 aA	2,0 aA	3,9 aA	4,1 aA	3,5 aA	3,1 aA	4,7 aA	3,2 aA	2,4 aA	3,1 aA	3,0 aA
Bate Estrada	4,3 aA	3,6 aA	2,6 aA	3,5 aA	2,5 aA	3,0 aA	2,0 aA	5,3 aA	2,8 aA	3,6 aA	3,9 aA	2,4 aA	3,2 aA	3,5 aA
EL-22	4,1 aA	4,6 aA	4,8 aA	5,0 aA	3,6 aA	2,7 aA	2,9 aA	4,1 aA	6,3 aA	4,3 aA	–	3,1 a	4,6 aA	4,5 aA
Preto Meia Lua	2,9 aA	1,8 aA	2,3 aA	3,1 aA	3,6 aA	3,3 aA	2,4 a	–	3,6 aA	3,6 aA	3,4 aA	2,3 aA	1,4 aA	3,8 aA

¹ Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e mesma letra maiúscula na linha pertencem ao mesmo agrupamento, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Scott-Knott.

Tabela 4

Produção média (kg/ha) de diferentes genótipos de feijoeiro, sem e com inoculação de estirpes nativas de *Rhizobium* sp., isoladas de solos de sete municípios do estado do Espírito Santo. Alegre, 2006

Genótipos	Pinheiros		Vila Pavão		Colatina		Nova Venécia		Sooretama		Alegre		Linhares	
	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN	C/IN	S/IN
BATT-477	–	210 b ^{1/}	240 bA	390 cA	–	360 b	120 aA	30 aA	60 aA	360 aA	330 cA	600 aA	510 bA	930 aA
Amarelinho	180 dB	1650 aA	330 bA	450 cA	210 aA	300 bA	120 aA	150 aA	390 aA	360 aA	690 bA	360 aA	1080 aA	1290 aA
Macuquinho	240 dA	270 bA	210 bA	330 cA	390 aA	420 bA	210 aA	180 aA	570 aA	720 aA	330 cA	300 aA	630 bA	600 bA
Imperial	–	180 b	720 aA	150 cB	510 aA	90 bA	270 aA	60 aA	630 aA	390 aA	840 bA	360 aB	840 bA	270 bB
Uirapuru	570 cA	570 bA	840 aA	480 cA	210 aA	900 aA	570 aA	90 aB	–	360 a	420 cA	510 aA	630 bA	270 bA
Serrano	1260 aA	480 dB	570 bA	420 cA	600 aA	300 bA	360 aA	240 aA	360 aA	570 aA	660 bA	270 aB	570 bA	450 bA
IAPAR81	180 dB	1110 aA	510 bA	90 cB	330 aA	570 aA	660 aA	420 aA	750 aA	600 aA	660 bA	330 aA	1500aA	960 aB
Bate Estrada	810 bA	390 bA	900 aA	780 bA	330 aA	300 bA	270 aB	960 aA	180 aA	540 aA	2250 aA	330 aB	450 bA	630 bA
EL-22	510 cA	690 bA	1080 aA	1290 aA	360 aA	150 bA	150 aA	540 aA	540 aA	930 aA	–	510 a	1440 aA	750 bB
Preto Meia Lua	510 cA	600 bA	630 bB	1110 aA	330 aA	510 aA	240 a	–	240 aA	330 aA	690 bA	630 aA	90 bB	690 bA

¹ Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e mesma letra maiúscula na linha pertencem ao mesmo agrupamento, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Scott-Knott.

sucesso da inoculação, assim estirpes nativas geneticamente estáveis, adaptadas as condições do solo e a genótipos de feijoeiro, demonstram diferenças em promover benefícios na simbiose de diferentes cultivares (Peres & Vidor, 1980; Santillana *et al.*, 1998; Carvalho & Stamford, 1999; Fernandes & Fernandes, 2000).

CONCLUSÕES

Esses dados evidenciam que a fixação biológica de N₂ utilizando a inoculação de estirpes eficientes

de Rhizobium em cultivar nodulante de feijoeiro ou seu cultivo em solos com população nativa eficiente, pode possibilitar a suplementação ou até mesmo a não utilização de nitrogênio em cobertura na cultura do feijoeiro, sem perdas no rendimento da produtividade.

AGRADECIMENTOS

Ao Banco do Nordeste pela colaboração financeira e ao CNPq pelas bolsas de Iniciação Científica e de Pós-doutorado.

LITERATURA CITADA

- AMARGER, D.S.; HAMAKAWA, P.J. 1997. Estimativa do número de células viáveis de rizóbio no solo e em inoculantes por infecção em plantas. In: HUNGRIA, M., ARAÚJO, R. S. (Eds.). *Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola*. EMBRAPA-SPI, Brasília, Brasil, pp. 63-94.
- ARAÚJO, R.S. **FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO EM FEIJÃO**. 1994. In: ARAÚJO, R.S.; HUNGRIA, M. (Ed.) *Microorganismos de importância agrícola*. Brasília: Embrapa-SP, 236 p.
- BARBOSA FILHO, M.P.; FAGERIA, N.K.; SILVA, O.F.D.A. **FONTES**. 2005. *doses e parcelamento da adubação nitrogenada em cobertura para feijoeiro comum irrigado*. Ciênc. agrotec., Larvas, v. 29, n. 1, fev.
- BUTTERY, E.S.P.; PARK, S.J.; FINDLAY, W.J. 1987. Growth and yield of white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in response to nitrogen, phosphorus and potassium fertilizer and to inoculation with Rhizobium. *Canadian Journal of Plant Sciences*, v. 67, p. 425-432.
- CARVALHO, E.G.; STAMFORD, N.P. 1999. Fixação do N₂ em leucena (*Leucaena leucocephala*) em solo da região semi-árida brasileira submetido à salinização. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, MG, v. 23, p. 237-243.
- COLETTA FILHO, H.D. 1993. *Avaliação da fixação biológica do N₂ em genótipos de feijoeiro*. Piracicaba, ESALQ/USP, 72 p. Dissertação de Mestrado.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. 1999a. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. *Recomendações técnicas para a cultura da soja no Paraná 1999/2000*. Londrina, 236 p.
- FERNANDES, M.F.; FERNANDES, R.P.M. 2000. Seleção inicial e caracterização parcial de rizóbios de tabuleiros costeiros quando associados ao guandu. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, MG, v. 24, p. 321-327.
- FERREIRA, A.N.; ARE, O.; CARVALHO, M.A.C. de *et al.* *Rhizobium tropici strains for inoculation of the common bean*. Sci. agric., July/Sept. 2000, vol. 57, n° 3, p. 507-512.
- FREIRE, J.R.J. 1992. *Fixação do nitrogênio pela simbiose Rhizobium/Leguminosas*. In: CARDOSO, E.J.B.N; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Cords.). *Microbiologia do solo*. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 121-140.
- GLIESSMAN, S.R. 2001. *Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável*. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 653 p.
- GRAHAM, P.H. 1981. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L.: a review. *Field Crops Research*, v. 4, p. 93-112.
- HARDARSON, G. 1993. Methods for enhancing symbiotic nitrogen fixation. *Plant Soil*, v. 152, p. 1-17.
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. 1950. *The water culture method for growing plants without soils*. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 347 p.
- HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R.S. 1994. *Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola*. Brasília: EMBRAPA.
- HUNGRIA, M.; ANDRADE, D.S.; CHUEIRE, L.A.O.; PROBENZA, A.; GUTTIERREZ-MANERO, F.J.; MEGIAS, M. 2000. Isolation and characterization of new efficient competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 32, p. 1515-1528.
- HUNGRIA, M.; ANDRADE, D.S.; COLOZZI-FILHO, A.; BALOTA, E.L. 1997. Interação entre microrganismos do solo, feijoeiro e milho em monocultura e consórcio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 32, p. 807-818.
- HUNGRIA, M.; FRANCO, A.A. 1993. Effects of right temperature on nodulation and nitrogen fixation by *Phaseolus vulgaris* L. *Plant and Soil*, The Hague, v. 149, p. 95-102.
- HUNGRIA, M.; NEVES, M.C.P. 1987. Cultivar and Rhizobium strain effects on nitrogen fixation and transport in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant and Soil*, v. 103, p. 111-121.
- HUNGRIA, M.; NISHI, C.Y.M.; COHN, J.; STACEY, G. 1996. Comparison between parental and variant soybean *Bradyrhizobium* strains with regard to the production of lipo-chitin nodulation signals, early stages of root infection, nodule occupancy, and N₂ fixation. *Plant and Soil*, v. 186, p. 331-341.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. 2000. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. *Field Crops Research*, 151-164.
- MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. 1998. *Ecologia microbiana*. Brasília: EMBRAPA/CNPMA, 488 p.

- MENDES, L.C.; VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. 1998.** Adubação nitrogenada e inoculação do feijoeiro em solo dos cerrados. In: Reunião Brasileira de Fertilizante do solo e Nutrição de Plantas, 23; Reunião Brasileira sobre Micorrizas, 7; Simpósio Brasileiro de Microbiologia do solo, 5; Reunião Brasileira de Biologia do solo, 2, Caxambu, 1998. *Resumos*. Caxambu: Universidade Federal de Lavras, p. 202.
- PEREIRA, P.A.A.; ARAÚJO, R.S.; ROCHA, R.E.M.; STEINMETZ, S. 1984.** Capacidade dos genótipos de feijoeiro de fixar N₂ atmosférico. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 19, p. 811-815.
- PERES, J.R.R.; VIDOR, C. 1980.** Seleção de estirpes de *Rhizobium japonicum* e competitividade por sítios de infecção nodular em estirpes de soja. *Agronomia Sulriograndense*, Santa Maria, v. 16, p. 205-219.
- PESSOA, A.C.S.; LUCHESE, E.B.; CAVALLET, L.E.; GRIS, E.P. 1999.** Produtividade de soja em resposta à adubação foliar, tratamento de sementes com molibdênio e inoculação com *Bradyrhizobium japonicum*. Maringá - PR. *Acta Scientiarum*, 21:531-535.
- ROSOLEM, C.A. 1987.** *Nutrição e adubação do feijoeiro*. Piracicaba: Potafós, 93 p. (Boletim Técnico, 8).
- RUSCHEL, A.P. 1982.** Field evaluation of N₂- fixation and N- utilization by *Phaseolus vulgaris* beans varieties determined by N¹⁵isotope dilution. *Plant and Soil*, The Hague, v. 65, p. 397-407.
- SÁ, N.M.H. 1993.** Selection and characterization of *Rhizobium* spp. Strains stable and capable in fixing nitrogen in bean. *Microbiology*, Madson, v. 24, p. 38-48.
- SANTILLANA, N.; FREIRE, J.R.J.; SÁ, E.L.S.; SATO, M. 1998.** Avaliação de estirpes de rizóbios para a produção de inoculantes para trevo vermelho. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v. 22, p. 231-237.
- SILVA, D.M.; COSTA, A.N.; LIMA, P.F.; ANDRADE, M.C.FE. 1999.** O sistema simbiótico *Phaseolus vulgaris*-*Rhizobium leguminosarum* em ambiente com disponibilidades distintas de fósforo. In: Reunião Nacional de Pesquisa do feijão, 4., 1999. *Anais...* EMBRAPA/EBDA, v. 1, p. 98-99.
- TAYLOR, R.W.; WILLIAMS, M.L.; SISTANI, K.R. 1991.** N₂ fixation by soybean-bradyrhizobium combinations under acidity, low P and high Al stresses. *Plant and Soil*, The Hague, v. 131, p. 293-300.
- THIES, J.E.; SINGLETON, P.W.; BOHLOOL, B.B. 1991.** Influence of the size of indigenous rhizobial populations on establishment and symbiotic performance of introduced rhizobia on field-grown legumes. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 57, p. 19-28.
- TSAI, S.M. 1993.** Minimizing the effect of mineral nitrogen on biological nitrogen fixation in common bean by increasing nutrient levels. *Plant and Soil*, The Hague, v. 152, p. 131-38.
- VINCENT, J.M. 1970.** *A manual for the practical study of the root-nodule bacteria*. IPB HANDBOOK n° 15, London: Blackwell Scientific Publ., 164 p.