

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE AGRONOMIA

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

TESE

CAPACIDADE DE FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO DE DUAS

CULTIVARES DE FEIJÃO-DE-VAGEM NA FASE VEGETATIVA

JOÃO CARLOS DOS SANTOS LOPES

1993

TESE

**CAPACIDADE DE FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO DE DUAS
CULTIVARES DE FEIJÃO-DE-VAGEM NA FASE VEGETATIVA**

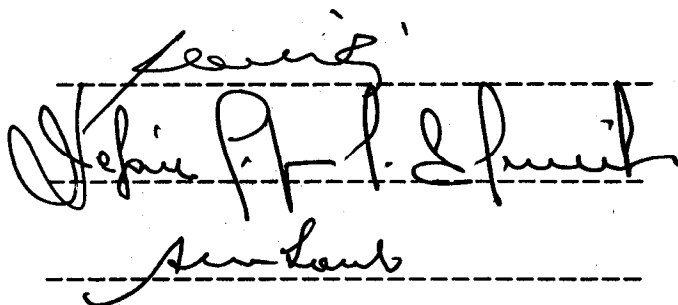
JOÃO CARLOS DOS SANTOS LOPES

APROVADO EM: 20/09/1993

**HELVÉCIO DE-POLLI
(EMBRAPA-CNPAB)**

**DEJAIR LOPES DE ALMEIDA
(EMBRAPA-CNPAB)**

**SEBASTIÃO MANHÃES SOUTO
(EMBRAPA-CNPAB)**



Handwritten signatures of Helvécio de Polli, Dejaíre Lopes de Almeida, and Sebastião Manhães Souto over dashed lines.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE AGRONOMIA

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

CAPACIDADE DE FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO DE DUAS
CULTIVARES DE FEIJÃO-DE-VAGEM NA FASE VEGETATIVA

JOÃO CARLOS DOS SANTOS LOPES

Sob a orientação do Doutor

HELVÉRCIO DE-POLLI

e co-orientação do Doutor

DEJAIR LOPES DE ALMEIDA

Tese submetida como requisito
parcial para a obtenção do grau de
Magister Science em Agronomia
Área de Concentração em Ciência do
Solo.

Itaguaí - Rio de Janeiro

Setembro/1993

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Helvécio De-Polli pela oportunidade, orientação e apoio nas horas mais difíceis.

Ao Dr. Dejair Lopes de Almeida pelas recomendações e conselhos.

Ao mestre Fernando Faria Duque, *in memorian* pelo apoio e oportunidade de realizar pesquisa no CNPAB.

Ao CNPq, pelo apoio ao projeto.

A meus pais, pelo amor e educação que me proporcionaram.

A Rita, especialmente, pela amor e por tudo que vivemos juntos.

Aos amigos Adriana, Fábio e Aluísio pela força e sensibilidade.

A Ângela pelo carinho e compreensão.

A Rasângela, Serginho e a todos os pesquisadores do CNPAB.

Ao Dr. Gilberto Gastim Pessanha, *in memorian*, pelo apoio.

A todos os bolsistas e funcionários do CNPAB, com quem convivi e principalmente aos que tiveram alguma Participação neste trabalho.

A Eli, sol da minha vida, com amor.

BIOGRAFIA DO AUTOR

João Carlos dos Santos Lopes, nasceu em 10/12/1964. na cidade de Santos-SP, onde finalizou o 2º grau e o curso de Tóxico em Química, em 1981, no Colégio Santista. Ingressou na Escola Superior de Agricultura de Lavras em 1984, tendo concluído o curso de Engenharia Agrônômica em 1987. Realizou atividades de aperfeiçoamento em pesquisa científica no CNPAB-EMBRAPA, em 1988 e 1989. Iniciou o Curso de Mestrado em Ciência do Solo, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em 1990, tendo desenvolvido este projeto no CNPAB até setembro de 1993.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1. A planta e a cultura.....	03
2.2. O nitrogênio - Síntese industrial e biológica.....	06
2.3. A inoculação de <i>Rhizobium</i> em feijoeiro.....	09
2.3.1. <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>phaseoli</i> e <i>Rhizobium tropici</i>	11
2.3.2. <i>Phaseolus vulgaris</i> Fatores da planta ligados à Fixação biológica de nitrogênio (FEN).....	13
2.4. A associação <i>Rhizobium</i> X <i>Phaseolus vulgaris</i>	16
2.4.1. Entraves da FBN em feijão e produção vegetal.....	20
2.5. A matéria orgânica no sistema	24
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
3.1. Estirpes de <i>Rhizobium</i>	28
3.2. Cultivares.....	31
3.3. Experimentos em vasos Leonard.....	31
3.3.1. Instalação e condução.....	34
3.4. Experimentos em vasos com solo.....	35
3.4.1. Substratos utilizados.....	35
3.4.2. Esquema experimental.....	36

3.4.3. Instalação e condução.....	37
3.5. Coleta e Análises.....	38
4. RESULTADOS.....	40
4.1. Experimentos em vasos Leonard.....	40
4.1.1. Nodulação.....	40
4.1.2. Atividade de Redução de Acetileno (AFA)....	43
4.1.3. Matéria Seca da Parte Aérea (MSPA).....	45
4.1.4. N total acumulado na MSPA.....	47
4.2. Experimentos em vasos com solo.....	47
4.2.1. Nodulação	47
4.2.2. Atividade de Redução de Acetileno (AFA)....	49
4.2.3. Matéria Seca da Parte Aérea (MSPA)	50
4.2.4. N total acumulada na MSPA	51
4.2.5. Matéria Seca das Raízes (MSR).....	52
4.2.6. N total acumulado na MSR	53
5. DISCUSSÃO.....	55
5.1. Experimentos em vasos Leonard.....	55
5.1.1. Nodulação.....	55
5.1.2. Atividade de Redução de Acetileno (AFA)....	59
5.1.3. Matéria Seca (MSPA) a N total acumulados na parte aérea.....	62
5.2. Experimentos em vasos com solo.....	62
5.2.1. Nodulação	66
5.2.2. Atividade de Redução de Acetileno (AFA).....	70
5.2.3. Matéria Seca (MSPA) e N total acumulados	

na parte aérea.....	71
5.2.4. Matéria Seca (MSR) e N total acumulados nas raízes.....	76
6. Conclusões.....	81
7. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA.....	83
8. APÊNDICE.....	92

Índice de Tabelas

	Página
Tabela 2. Peso de nódulos secos das cultivares Alessa e Teresópolis na época da floração(experimento 1):N=3.....	93
Tabela 3. Peso e número (n) de nódulos secos dos experimentos 2 (cv. Alessa) e 3 (cv. Teresópolis na época da floração: N=2.....	94
Tabela 4. Peso e número (n) de nódulos secos dos experimento 4 (cv. Teresópolis na época da floração: N=4.....	95
Tabela 5. Peso e número (n) de nódulos secos dos experimentos 5 (cv. Alessa) e 6 (cv. Teresópolis) na época da floração: N=4.....	96
Tabela 6.. Peso e número (n) de nódulos secos do experimento 7 (cv. Alessa) na época da floração: N=4.....	97
Tabela 7. Peso e número (nº de nódulos secos do experimento 8 (cv. Teresópolis) na época da floração: N=4.....	98
Tabela 8. Matéria seca da parte aérea (MSPA) das cultivares Alessa e Teresópolis (experimento 1). na época da floração: N=3.....	99

Tabela 9 . Matéria seca da parte aérea (MSPA) dos experimentos 2 (cv. Alessa) e 3 (cv. Teresópolis) na época da floração: N=2.....	100
Tabela 10 . Matéria seca da parte aérea (g.planta^{-1}) e N total acumulado na MSPA do experimento 4 (cv. Taresópolis): N=4.....	101
Tabela 11 . Matéria seca da parte aérea (g.planta^{-1}) N total acumulado na MSPA dos experimentos 5 (cv. Alessa) e 6 (cv. Toresópolis) na época da floração: N=4.....	102
Tabela 12 . Matéria seca da parte aérea (g.planta^{-1}) e N total acumulado na MSPA do experimentos 7 (cv. Alessa) na época de floração: N=4.....	103
Tabela 13 . Matéria seca da parte aérea (g.planta^{-1}) e N total acumulado na MSPA do experimento (cv. Teresópolis) na época da floração: N=4....	104
Tabela 14 . Matéria seca da raiz (MSR, g.planta^{-1}) e N total da MSR do experimento 7 (cv. Alessa) na época da floração: N=4.....	105
Tabela 15 . Matéria Seca da raiz (MSR, g.planta^{-1}) e N total da MSR do experimento e (cv. Teresópolis) na época da floração: N=4.....	106

Índice de Figuras

	Página
Figura 1. Atividades da nitrogenase nas raízes das cultivares Alessa e Teresópolis (1). pelo método da redução de acetileno. N=3.....	107
Atividade da nitrogenase nas raízes da cultivar Alessa (2), pelo método do redução de acetileno. N=2.....	106
Figura 3. Atividade da nitrogenase nas raízes da cultivar Teresópolis (3), pelo método da redução de acetileno. N=2.....	109
Figura 4. Atividade da nitrogenase nas raízes da cultivar Teresópolis (d). pelo método do redução de acetileno. N=4.....	110
Figura 5. Atividade da nitrurogenase nas raízes da cultivar Teresópolis (6), pelo método de redução de acetileno. N=4.....	111
Figura 6. Atividade da nitrogenase nas raízes da cultivar Alessa (7). pelo método de redução de acetileno. N=4.....	112
Figura 7. Atividade da nitrogonase nas raízes da cultivar Teresópolis (U), pelo método da redução de acetileno. N=4.....	113

Figura 8. Médias de temperaturas extremas nos meses em que foram conduzidos os experimentos.....	114
---	------------

1- RESUMO

A vagem de feijão é um produto muito apreciado no Estado do Rio de Janeiro e no Brasil, constituindo-se na mais importante leguminosa dentro do grupo das olerícolas. O sistema de produção do feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) têm fornecido bons rendimentos aos produtores do estado. mas a adubação nitrogenada ainda ocupa um dos itens mais onerosos do custo da cultura. Verifica-se ainda que, nas regiões produtoras. a inoculação de sementes com estirpes de *Rhizobium* spp é uma técnica que praticamente não é usada, mesmo após demonstração de resultado positiva feita pela EMATER-Rio. Entretanto, há o uso de doses de esterco de aves que podem chegar a mais de $Bt.ha^{-1}$. Em vista disso, efetuou-se a avaliação do potencial de fixação biológica de nitrogênio

(FBN) em duas cultivares de feijão de vagem. Foram empregadas 19 estirpes de *Rhizobium* spp da coleção do CNPAB/EMBRAPA e 9 isolados de nódulos de plantas coletadas na região de Paty do Alferes-Avelar. Inicialmente foi realizado um ensaio preparatório em vasos de Leonard. Utilizou-se o delineamento de blocos ao acaso em esquema fatorial com as duas cultivares, 22 tratamentos a três blocos. Em seguida forem realizados mais 5 experimentos. também em blocos ao acaso cada usando sempre as estirpes ou misturas de estirpes que proporcionaram maiores médias de matéria seca da parte aérea (MSPA) das plantas nas duas cultivares. Foram avaliados ainda, a nodulação, atividade de redução de acetileno, e N total acumulado na parte aérea. As estirpes que proporcionaram maior acúmulo de MSPA e N total para a cv. Alessa foram: BR860, BR10008, BR829 e F87.1. Para a cv. Teresópolis os melhores tratamentos foram BR10047+BR10048. BR10048 e BR322. Estes tratamentos foram testados em dois experimentos de vasos com 3,5 kg de solo Podzólico Vermelho-Amarelo. Utilizou-se o esquema fatorial 2X8 com 4 blocos ao acaso em cada experimento. No fator esterco os dois níveis foram o e 170 g.vaso⁻¹ de cama de frango, equivalendo a 4t.ha⁻¹ de massa seca. No controle N foram aplicados 310 mg N.planta⁻¹ sob forma de uréia nos dois experimentos. Concluiu-se que a estirpe BR829 contribuiu para o aumento da nodulação da cultivar Alessa demonstrando potencial maior na

associação. O inoculante BR10047+BR10048 tem maior efetividade com a cultivar Teresópolis, contribuindo para um acúmulo de N total na MSPA semelhante à aplicação de 170 g de esterco.vaso⁻¹, superando significativamente o controle sem inoculação e sem esterco. Os controles com N mineral foram superiores no acúmulo de MSPA e N total na MSPA, inibindo a nodulação das cultivares. O uso do esterco na cultivar Alessa teve um efeito negativo na MSPA. Os resultados revalaram que a cultivar Teresópolis apresentou capacidade de nodulação e FBN maior que a cultivar Alessa.

I- ABSTRACT

The snap bean is a well appreciate product in the state of Rio de Janeiro and in Brazil, bacoming the most important leguminous in the group of the oleraceous. The snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) production system has been providing good profits to the farmers of the state. but the nitrogen fertilization still present one of the most expensive item in its cultivation costs. In the production fields, can still be verified that the seeds inoculation with *Rhizobium* spp strains is one technique that is unusual. even after proofs of positive results. done by EMATER-Rio. Mean while. there's the use of chicken manure dosage wich may overtakes the 8 t.ha⁻¹, After that. the evaluation of the biological nitrogen fixation (BNF) potentiality was done in

two snap bean cultivars. It was used nineteen strains of *Rhizobium* spp from the CNPAB/EMBRAPA collection and nine strains isolated from nodules collected at Paty do Alferes and Avelar region. Firstly, a preparatory greenhouse experiment in Leonard jars was done. It was used randomized blocks' outlined in factorial scheme with two cultivars (Alessa and Teresopolis). twenty-two treatments and three blocks. Five more experiments were realized also with randomized blocks, using the strains wich had aupplied the higher media of shoot dry weight (SDW) in two cultivars. It was still evaiuated the nodulation, acetylene reduction activity and the total N accumulated in shoots. The strains wich supplied higher increase of SDW and total N to the Alessa cultivar were: BR860, BR10008, BR829 and F87.1. To the Teresopolis cultivar the best treatment were BR10047+BR10048. BR10048 and BR322. These treatments were tested in two vase experiments, in greenhouse, with 3.5 kg of Podzólico Vermelho Amarelo soil. It was used the 2X8 factorial scheme with four randomized blocks in each test. In the manure factor, the two levels were 0 and 170 g.vaso⁻¹ of chicken manure (dry matter), corresponding to 4 t.ha⁻¹. In the N control was apllied 310 mg N.plant⁻¹ by the urea form in these two experiments. It was concluded that the BR829 strain has contributed to the increase of nodulation of Alessa cultivar, showing added potential in the association. The treatment

BR10047+BR10048 has more effectivity with the Teresopolis cultivar contributing to an accumulation of total N similar to the application of 170 g.vaso^{-1} of chicken manure, overtaking the control without inoculation and without this manure. The controls with mineral N were superiors in the accumulation of SDW and total N in shoots, inhibiting the nodulation of cultivars. The use of chicken manure in Alessa cultivar had a negative effect in the SDW. The results reveal that Teresopolis cultivar has nodulation potential and greater BNF than Alessa cultivar.

1. INTRODUÇÃO

O feijão de vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) é a planta que produz a popular "vagem" que é considerada a principal leguminosa das hortaliças (IAC. 1987) e é muito apreciada no Estado do Rio de Janeiro, um de seus maiores produtores no país.

A utilização de esterco de galináceos tem sido ragra na olericultura serrana do Eatado do Rio de Janeiro. Para o feijão de vagem recomenda-se o uso de 4 a 8 t.ha⁻¹ (Leal, 1988).

O sistema de produção dessa leguminosa já provou ter razoável rentabilidade e com a redução dos insumos pode-se tornar, ainda, um investimento mais viável.

Representada em sua maioria por variedades de hábito

de crescimento trepador, essa leguminosa foi geneticamente melhorada para produzir floração mais homogênea e frutos com menor teor de fibras, constituindo-se em um grupo peculiar de variedades na espécie *Phaseolus vulgaris* L.

O sistema de produção do feijão-de-vagem é conduzido, na maioria das vezes, ignorando a capacidade da cultura em fixar o nitrogênio atmosférico. Em consequência, o potencial da simbiose em campo não é aproveitado, tornando-se, muitas vezes praticamente nulo e desconhecido, como aborda Filgueiras (1981). Para reverter esta situação, prevendo a racionalização do uso de insumos neste sistema, objetivou-se neste estudo, avaliar a capacidade de fixação biológica de N_2 em duas cultivares de feijão-de-vagem a partir do uso de estirpes de *Rhizobium* nativas dos campos de produção, da coleção do CNPAB e na presença e ausência de adubação orgânica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A planta e a cultura

O feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) é a hortaliça que produz a popular "vagem" como fruto para consumo. Somente a Europa, por volta dos anos 80, importou cerca de 35 milhões de dólares em vagens frescas (Jansen, 1987). A espécie constitui-se na mais importante leguminosa hortícola (IAC, 1980).

No Brasil a vagem é consumida com frequência, destacando-se o Estado do Rio de Janeiro, um dos maiores centros de produção e comércio dessa hortaliça no país, onde somente na CEASA da capital foram comercializados mais de 6700 t de vagens em 1991.

A espécie *Phaseolus vulgaris* L. é originária dos

altiplanos do México e Guatemala e já era cultivada pelos indígenas pré-colombianos nas Américas (Castellane et al., 1988). Chegou à Europa no século XVI e em países de clima temperado a espécie já era consumida principalmente como vagens imaturas (Voss, 1989).

As cultivares dessa hortaliça podem ser de crescimento determinado ou indeterminado. O corte transversal da vagem é achatado (tipo manteiga), ovalado ou redondo (tipo macarrão) e o ciclo de vida varia conforme o porte da variedade. As cultivares mais aceitas no mercado são aquelas que produzem frutos menos fibrosos e mais verdes. As sementes são, em geral, mais compridas que as do feijoeiro para grão (Castellane et al., 1988).

A vagem dispõe de 2,5% de proteínas, sais minerais (Ca, P, Fe) e fibras, sendo também um alimento menos calórico, com 36 cal.100g⁻¹ (Editora Abril, 1988).

Na América Latina 80% de toda a produção de feijão é oriunda de microrregiões cuja temperatura média durante a estação de crescimento varia entre 17,5 e a 25°C (Voss, 1989).

No Estado do Rio de Janeiro o sistema de produção do feijão-de-vagem é muito encontrado nas regiões serranas. Em Paty do Alferes e Avelar o 'input' de nitrogênio nas culturas estaqueadas pode chegar a 212 kg.ha⁻¹ num ciclo de 120 dias, segundo dados da EMATER-Rio (informação pessoal,

Quando plantada em sucessão ao tomate a recomendação cai para 128 kg.ha⁻¹. Esse N é geralmente usado em formulações minerais (12-6-12) e/ou adubos orgânicos (esterco de frango).

Sonnenberg (1980) relata que nas condições de culturas bem adubadas, o feijão-de-vagem não carace de adubação nitrogenada de plantio, sendo suficiente a aplicação de N em cobertura. Há, porém, um uso intenso de fertilizantes minerais e orgânicos no plantio das regiões serranas, mesmo nesta situação. É muito provável que exista excesso na aplicação de N o que pode provocar o desenvolvimento exagerado do parte vegetativa, diminuindo e retardando a produção de vagens como indica o autor citado.

Segundo dados da EMATER-Rio (informação pessoal, 1991) na cultura do feijão-de-vagem, apenas o custo dos adubos. que contém N, quando usados na recomendação (incluindo o esterco) oscila entre 45 e 61% do total de insumos gasto até a produção. Nesse demonstrativo de custos e produtividade o item insumos não inclui a tecnologia de inoculação de sementes com estirpes de *Rhizobium* spp.

O alto nível do uso de fertilizantes ricos em N impede a estimativa da FBN nesse sistema cultural. O N em excesso prejudica a formação de nódulos e a manutenção do tecido nodular em leguminosas (Siqueira e Franco, 1988). Assim ignora-se o potencial de fixação biológica de nitrogênio (FBN) da cultura de feijão-de-vagem. Filgueiras

(1981) já alertava sobre a escassez de pesquisas nesta área. empregando variedades e o sistema de produção da hortaliça.

Levando em consideração que o custo total de produção (CTP) da cultura estaqueada é maior que o da rasteira e que só os fertilizantes despendem cerca de 20% do CTP (CIAT, 1990), seria recomendável um estudo que pudesse avaliar a contribuição da tecnologia de inoculação, a fim de inseri-la no CTP da cultura num futuro próximo. O objetivo principal seria elevar a relação benefício/custo (b/c). através da redução do uso de adubos nitrogenados.

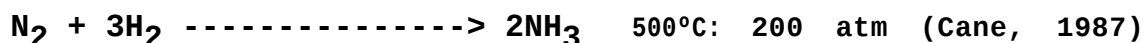
O cultivo da vagem é bem aceito pelos produtores de hortaliças da América Latina porque traz bom retorno do capital investido: a relação b/c é de 1.9 (CIAT, 1990) e o CTP é um dos menores relativamente a outras hortaliças. Possivelmente é um investimento mais rentável e de maior capitalização do pequeno e médio produtor, do que o feijoeiro para grãos.

2.2. O nitrogênio - Síntese industrial e biológica.

Do N total existente na ecosfera, 99,96% está na forma de N_2 constituindo cerca de 79% da atmosfera terrestre. o restante está na forma de N combinado, cuja maior parte é o N orgânico. No ambiente terrestre 96% desse N orgânico está na matéria orgânica e 4% em toda a biomassa viva (Siqueira e Franco, 1988).

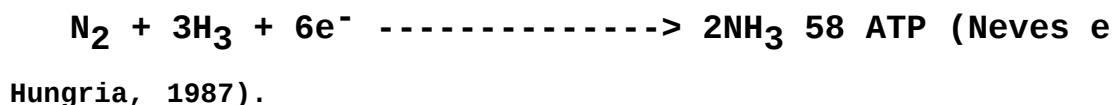
Segundo estimativas de Keeney (1982). O N fixado da atmosfera anualmente pela indústria de adubos nitrogenados, chega a 18% do N total fixado no planeta. Isto é possível principalmente através do uso da energia fóssil. Apenas as leguminosas fixam 13% desse total utilizando energia solar.

A maior parte dos fertilizantes nitrogenados são produzidos utilizando a amônia (NH_3). Um de seus reagentes é o hidrogênio (H_2), obtido através do metano (gás natural). A combinação deste gás com o N_2 atmosférico necessita de energia que geralmente é fornecida por petróleo além de um catalizador (Ni):



Este método denominado de Haber-Bosch, consome por estimativa, 1,5 kg de óleo combustível para cada quilo de N fixado (Barrueco et al., 1985).

Nos nódulos das leguminosas em simbiose com *Rhizobium* spp, o N_2 é reduzido a NH_3 mediante a ação da enzima nitrogenase que demanda de energia biológica (ATP). Fe, Mg e Mo:



Os fotossintatos da planta fornecem os esqueletos de carbono que serão convertidos em ATPs pelos bacteróides. Estes fixam e reduzem o N_2 a NH_3 incorporando-a a ureídeos, que ficam disponíveis às plantas de feijão, por exemplo. La-

Rue e Patterson (1982), estudando o feijoeiro entre outros, cita um consumo de 6,7g de C por grama de N fixado.

É requerida uma energia solar adicional para a incorporação da amônia aos ureídeos, crescimento e desenvolvimento dos nódulos e eventual liberação de hidrogênio gasoso, o que reduz o rendimento da simbiose.

Seja na fixação biológica ou industrial, são gastos $222 \text{ Kcal.mol}^{-1}$ de N fixado (Döbereiner e Baldani, 1982). A última, porém emprega energia fóssil mais cara, escassa e poluente.

O encarecimento dos fertilizantes nitrogenados provocados pelo aumento dos custos energéticos e de transporte até o local de seu uso, fazem do N um elemento caro. Aliado a isso, ocorre a baixa eficiência variável da aplicação desses adubos e os riscos de contaminação dos ecossistemas (Barrueco et al., 1985). O arraste excessivo de N ao lençol freático e às fontes de água potável, a eutrofização de rios e lagos e a acidificação do solo são fenômenos comprovados. O nitrogênio é o nutriente com maior potencial de dano ao meio ambiente (Raij, 1991), as consequências do uso abusivo dos fertilizantes nitrogenados ainda são pouco estudadas no Brasil.

Alguns autores citam ainda os efeitos dos óxidos (N_2O , NO) resultantes da desnitrificação microbiana, que seriam nocivos à camada de ozônio (Barrueco et al., 1985; Siqueira e

Franco, 1988).

2.3. A inoculação de *Rhizobium* em feijoeiro.

A inoculação de sementes pode fornecer certa quantidade de N ao feijoeiro e proporcionar uma economia de N mineral. Estimou-se que a espécie *Phaseolus vulgaris* L. fixa de 2.7 a 110 kg.ha⁻¹.ciclo⁻¹ de N (Siqueira e Franco, 1988), portanto a eficiência da simbiose tem sido muito variável e ocorrem normalmente taxas reduzidas de N fixado. A maior parte desse nitrogênio é incorporado até o início da formação das vagens (Franco et al., 1978). Voss (1989) afirma que ocorre degeneração da fixação biológica pelos nódulos perto da época do florescimento.

Em condições de vasos, Haag et al. (1967), citado por Castellane et al., (1988) observaram que o feijoeiro absorve todo o N que precisa até os 50 dias de idade. As variedades de porte indeterminado, no entanto, podem continuar fixando e absorvendo N além dos 70 dias após plantio (dap) como constataram Graham e Rosas (1977) em ensaios de campo.

Graham (1981) comenta que vários resultados insatisfatórios da inoculação com *Rhizobium* spp são relativos às diferenças, de habilidade na fixação de N₂, entre variedade hospedeira e estirpes de *Rhizobium*. Alguns resultados obtidos até então, ressaltavam fortes indícios da

maior capacidade de fixação de cultivares de porte indeterminado e evidenciavam a diferença de N fixado entre as variedades de feijão.

Aliada à eficiência na fixação de N_2 , a especificidade hospedeira das estirpes de *Rhizobium* passou a ser conceito fundamental nos trabalhos de seleção de estirpes (Peres e Suhet. 1986).

Freire e Kolling (1986) consideram que as características mais comuns que devem ser observadas na introdução de um rizóbio em dada área são a efetividade na fixação de N_2 , a competitividade com as estirpes nativas e a capacidade de sobrevivência no solo, pois muitas vezes a estirpe inoculada é originária em condições ecológicas climáticas e edáficas bem diferentes daquelas encontradas em seu novo ambiente.

A limitação dos resultados da inoculação do feijoeiro é freqüentemente atribuída a baixa competição e sobrevivência de estirpes efetivas no solo e na rizosfera (Alexander, 1982).

Os maiores sucessos práticos da inoculação têm sido alcançadas quando uma leguminosa é introduzida pela primeira vez em um local, e com culturas de leguminosas anuais onde o número de *Rhizobium* no solo reduz significativamente entre cultivos. Mesmo esses resultados não ocorrem globalmente (Henzell, 1988).

No Brasil são poucos os resultados da inoculação que realmente imprimem uma economia real nos custos da produção do feijoeiro, além disso essa prática ainda não é bem difundida. Assim, nos últimos 3 anos a indústria de inoculantes reduziu em 50% suas vendas, passando de 14 milhões para 7 milhões de doses anuais (Manchete Rural, 1992).

A eficiência da FBN na simbiose *Rhizobium*-feijão envolve uma sequência de interações em que cada simbiote influencia a expressão dos gens do outro. A transferência de gens que aumentem a nodulação efetiva em plantas de alto potencial fixador é perseguida pelos microbiologistas.

A manipulação genética da planta hospedeira é mais complexo, mas Fernandez e Miller (1987) propuseram a avaliação de genótipos, pela habilidade média e habilidade específica de fixação de N_2 quando há interação significativa genótipo X *Rhizobium*.

2.3.1. *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* e *Rhizobium tropici*

A espécie *Rhizobium leguminosarum* pode infectar ervilhas, trevos e feijoeiros. O biovar *phaseoli* contém o plasmídeo simbiótico capaz de codificar a nodulação específica em feijão. Estudos específicos de resistência a antibióticos, perfil de plasmídeos e eletroforese do

multilocus da enzima, entre outros, constataram distinções entre estirpes do mesmo biovar (Martinez-Romera et al., 1991). As diferenças ocorrem nos plasmídeos simbióticos obtidos de nódulos de feijoeiro. As estirpes tipo I possuem cópias múltiplas de gens *nifH* da nitrogenase, um número menor de hospedeiros e são mais competitivos que estirpes tipo II (Martinez-Romero & Rosenblueth, 1990).

O biovar *phaseoli* tipo II têm cópias simples de gens *nif*, nodulam *Leucaenana* spp, e são geneticamente estáveis mantendo seu plasmídeo após incubação a 37°C. Algumas estirpes toleram valores maiores de temperatura, acidez e alumínio (Martinez-Romero et al., 1991) e podem ser tão eficientes quanto as melhores estirpes tipo I.

Com a auxílio da hibridização DNA-DNA e determinação da seqüência gênica parcial em estirpes tipo II, determinou-se a espécie *Rhizobium tropici*. Nela atuam diferentes graus de tolerância à alta temperatura, antibióticos e metais pesados. As características fenotípicas aliadas aos métodos citados distinguiram as estirpes em tipo IIA e tipo IIB (CIAT 899), este com maiores graus de tolerâncias (Martinez-Romero et al., 1991).

Para melhorar a classificação taxonômica e a nomenclatura está sendo proposta a espécie *Rhizobium etli* para todas as estirpes de *R. leguminosarum* bv, *phaseoli* (Cunha, 1993, comunicação pessoal).

Submetidas a choques de 38°C em experimentos de vasos Leonard, feijoeiros iloculados com as estirpes CIAT899. BR814 e BR855, da nova espécie recuperaram a atividade rodutiva de acetileno (ARA) mais rapidamente que estirpes de *R. leguminosarum*. O número total de nódulos e a proporção de nódulos róseos aumentou após o choque nas 3 estirpes em oposição às não tolerantes (Stralioetto et al., 1992).

2.3.2. *Phaseolus vulgaris* fatores da planta ligados à Fixação biológica de nitrogênio (FBN)

Quanto à planta hospedeira, sabe-se que o feijoeiro é cultivado em regiões onde a temperatura varia de 10°C a 35°C. As estirpes de *Rhizobium tropici* mantém a atividade da nitrogenase em temperaturas próximas a 35°C. No entanto a taxa de abscisão de órgãos reprodutivos do feijoeiro ultrapassa o normal (60% das flores abertas) em temperaturas superiores de 30°C de dia, segundo Kay (1979) citado por Voss (1989).

Nutman (1969) citado por Pereira et al., (1984) apontou para a possibilidade de que o genótipo da planta teria mais influência sobre a nodulação do que a bactéria fixadora. Mais de 330 cultivares de feijão avaliadas em campo, apresentaram diferenças de massa nodular e ARA, inclusive na floração (Pereira et al., 1984). Genótipos com

mais de 100 mg.planta⁻¹ de nódulos secos em uma amostragem foram considerados de média nodulação.

O melhoramento de variedades para aumentar a FBN foi implantado pelo CIAT que desde 1978, já obteve um incremento na taxa de fixação de cerca de 20% (Kipe-Nolt et al., 1986). Três segmentos importantes para a seleção e melhoramento, sugeridos por Dreyfus et al. (1988) são relativos a avaliação da FBN de variedades, especificidades hospedeiras mais eficientes para combinações com estirpes mais efetivas e variedades onde a atividade fixadora não seja afetada pelo clima ou por limitações do solo, como ocorre para *Rhizobium*.

Pereira et al. (1989) testaram 21 linhagens de feijão em campo utilizando o método da diluição isotópica e a estirpe CIAT899. A comparação com sojas não nodulantes permitiu-lhes a constatação de relevante acúmulo de matéria seca na fase vegetativa por parte de algumas linhagens. O N total e o fixado nos tecidos da parte aérea foram superiores nas linhagens Puebla a Preto Cariri. Estas fixaram entre 35 e 40% classe N até a formação de vagens e Puebla obteve o maior rendimento de grãos.

Observação importante foi a queda da proporção de nódulos formados na ponta das raízes pela estirpe CIAT899, na época da floração. Provavelmente, segundo o autor, isso ocorreu devido a alta população de *Rhizobium leguminosarum*

bv. *Phaseoli* nativa do solo, que teria se adaptado melhor as condições nutricionais limitadas para os nódulos, próprias da fase reprodutiva. A produção de matéria seca nas duas linhagens correspondeu às altas produtividades obtidas.

Resultados de natureza análoga foram obtidos por Diatloff e Saint-Smith (1984) correlacionando o peso seco de plantas de feijão inoculadas com o rendimento do grãos. O crescimento vegetativo precoce foi indicado como critério de efetividade da inoculação de *Rhizobium*.

O feijoeiro é considerado uma planta de ciclo curto e isto limita a FBN. O funcionamento inicial dos nódulos depende do N disponível na planta. Com a queda dos cotilédones, os nódulos novos agem como drenos de N e pode haver um período de estresse do N que, em geral, ocorre de 15 a 20 dias após emergência (DAE). Se o solo não tiver N disponível suficiente a deficiência resultante pode afetar a produção (Hungria & Thomas, 1987; Barradas & Hungria, 1989).

As estirpes de *Rhizobium* CIAT899, BR10008 e BR10018 foram inoculados em 20 cultivares de feijão (Barradas et al., 1989) que não apresentaram sintomas de deficiência de N no início do ciclo vegetativo. Aos 38 e 52 DAE as 3 estirpes promoveram os maiores índices de N total acumulado na cultivar Negro Argel, com valores em torno de 210 mg.planta⁻¹ de N na última coleta.

Nos resultados de Barradas e Hungria (1989) as

estírpes BR10008 e BR10018 ficaram entre os tratamentos que proporcionaram acúmulos de 49.1 a 76.5 mg.planta⁻¹ de N até a pré-floração (R5), também na cv. Negro Argel. Esses dados permitem inferir que há capacidade em algumas cultivares para manterem um patamar de N suficiente a uma ótima produção, evitando o uso da "dose de arranque" de adubo nitrogenado.

Através do aumento dos níveis da atividade da nitrato redutase (NRA) Franco et al. (1978) concluíram que a cultivar Rico 23 apresentou maior habilidade para absorver NO₃⁻ após o florescimento. A atividade de redução de acetileno (ARA) atingiu o máximo na época de florescimento, já indicando nesses estudos o benefício da aplicação de N fertilizante na fase de floração do feijoeiro.

2.4. A associação *Rhizobium* X *Phaseolus vulgaris*

Vários trabalhos buscaram a obtenção de combinações eficientes de variedade x *Rhizobium* e a elucidação dos fatores fisiológico e bióticos associados aos insucessos obtidos na inoculação em campo. Vidor et al. (1982) verificaram diferenças entre respostas de estírpes quando estas foram submetidas a um solo sem tradição de cultivo de feijão. Em solo com população estabelecida de *R. phaseoli* não houve diferenças em relação à testemunha. Feito o teste sorológico observou-se que nos dois solos as estírpes inoculadas ocorreram em pequenas proporções nos nódulos. A

capacidade competitiva é crucial, pois só através da maior nodulação por estirpes eficientes poderá se maximizar a FBN. Solos onde a estirpe usada não nodula as raízes, e não há resposta à inoculação possuem acima do 10^3 células.g solo⁻¹, podendo chegar a 10^6 céls.g solo⁻¹ de *Rhizobium* nativo (Pereira et al., 1991).

É certo que se a estirpe nativa em alta população no solo for eficiente na fixação de N₂ a acumulação de N na planta será maior.

Em vasos com solo, a estirpe inoculada em um cultivo anterior, prejudicou a ocupação de nódulos (nodulação) por uma nova estirpe introduzida, mais eficiente, (Lovato et al. 1991) e isso pode ocorrer em campo.

O antagonismo microbiano também prejudica a nodulação das leguminosas. Os actinomicetos são provavelmente os mais importantes devido a produção de antibióticos. Há grande variação de resistência entre estirpes nativas do *Rhizobium* de feijoeiro quanto à resistência a esses produtos (Vargas et al., 1992) e isso pode influenciar em recomendações de estirpes para inoculação.

O progresso na pesquisa da ecologia do rizóbio ainda está aquém do que ocorreu em outras áreas nos últimos anos. Henzell (1988) aponta carência de estudos sobre sobrevivência de *Rhizobium* competição de estirpes no solo e na rizosfera, citando vários cientistas que atribuem a limitação das

respostas em campo à limitação de conhecimentos nessa área.

Além da seleção de estirpes para fixação precoce de N_2 , a atenção em procurar alongar o período ativo de fixação resultou na seleção de estirpes para senescência tardia de nódulos (Hungria & Franco, 1988; Barradas et al., 1989, Boddey & Hungria, 1990). As estirpes CPAC H20 e H41 destacaram-se, mantendo a fixação por mais tempo e juntamente com outras permitiram a acumulação de 229 a 290 mg.planta⁻¹ de N na parte aérea no período de maturação.

Entretanto, quase sempre ocorre a queda da atividade da nitrogenase entre as fases de floração e enchimento de grãos no feijoeiro. Neste período os nódulos competem com os órgãos reprodutivos por fotossintatos da planta, segundo Lawn & Brun (1974), citados por Neves e Hungria (1987). A baixa fotossíntese líquida das plantas de ciclo C_3 limita o funcionamento dos nódulos nessa época. Daí, a queda da atividade da nitrogenase e a pouca remobilização do N das folhas impedem o maior desenvolvimento reprodutivo.

Em vasos de Leonard a associação da cultivar Negro Argel X estirpe C05 proporcionou acúmulos de 90 mg N.planta⁻¹ nas folhas aos 37 DAE e 760 mg N.planta⁻¹ nas sementes e vagens (Hungria & Neves, 1986). Essa interação cultivar X estirpe minimizou os efeitos limitantes da FBN da fase reprodutiva, translocando mais N na seiva do xilema através de ureídos e com maior eficiência relativa (ER) dos elétrons

destinados à nitrogenase. Essa mesma associação demonstrou que o nitrogênio derivado da fixação pode ser usado com maior eficiência que o nitrogênio mineral sendo a remobilização do N das partes vegetativas influenciadas também pela estirpe de *Rhizobium* (Hungria & Neves, 1987). Os dados mostraram que uma simbiose eficiente beneficia a absorção de N mineral além da fixação mas a absorção do N mineral deu-se principalmente do florescimento ao enchimento de vagens.

O nitrogênio proveniente do fertilizante também mostrou ser menos eficiente no uso pelo feijoeiro em campo (Lopes et al., 1990 dados não publ.), pois produziu muita biomassa rica em N sem proporcional rendimento de grãos. Seu índice de colheita foi inferior ao obtido na presença do inoculantes biológico.

Foi sugerido que os ureídeos, comumente encontrados em feijoeiros nodulados, são usados principalmente para o crescimento reprodutivo, enquanto que na fase vegetativa os aminoácidos são preferencialmente empregados, segundo Ishizuka et al. (1970) e Ohyama et al. (1981), citados por Hungria e Neves (1987).

2.4.1. Entraves da FBN em feijão e produção vegetal

Devido aos estresses físicos químicos e biológicos, o Potencial de Fixação de Nitrogênio (PFN) de uma planta hospedeira não é atingido. A taxa de nitrogênio que é

realmente fixada em condições de campo chama-se Fixação de Nitrogênio Atual (FNA) (Dreyfus et al., 1988), e há inúmeras situações onde ela está muito aquém de valores capazes de suprir as necessidades de N da planta.

A nodulação é o primeiro critério que pode sofrer drásticas redução quando se passa a cultivar da casa de vegetação para o campo. Neves e Fernandes (1982) verificaram isso comperando uma cultivar de feijão com uma de caupi (*Vigna unguiculata*. O maior peso de nódulos secos do feijão foi 30 mg.planta⁻¹ enquanto que o de caupi atingiu cerca de 250 mg.planta⁻¹.

Beunard e Michellon (1986) atribuíram ao N do solo e estírpes nativas, a queda de 840 mg.planta⁻¹ para 45 mg.planta⁻¹ de nódulos secos, na sucessão dos experimentos da casa de vegetação para o campo.

O conhecimento sobre a competição de estírpes para a formação de nódulos em determinado hospedeiro não está ainda totalmente esclarecido. Ela envolve informação genética de diferentes rsgições do genoma da bactéria (Brom et al., 199%). Variados graus de taxa de crescimento e habilidade competitiva na rizosfera também são determinantes na competição pela ocupação dos nódulos (Robleto et al., 1992).

Contudo as estratégias para melhorar a FNA em feijoiro estão em curso. Baseados no uso de estírpes fix-mutantes e seleção visual na deficiência de nitrogênio, Rosas

et al.(1992) discutem metodologia para acelerar o "screening" de um amplo número de genótipos de feijão no campo. Eles partem da análise da nodulação específica na presença de estirpes de *Rhizobium* nativas.

O efeito de 63 estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* isoladas de solos de Quebec foi testado em feijão-de-vagem cultivado em vasos (Lalande et al., 1986). Cerca de 70% das estirpes apresentaram-se efetivas com os maiores valores de matéria seca e N total das plantas inoculadas. Estimou-se que, na presença de estirpe efetiva mais de 74% do N presente no vaso veio da FBN. Nos ensaios de campo conduzidos em outras regiões, não houve resposta à inoculação com as estirpes selecionadas, indicando que estas não conseguiram se estabelecer frente às estirpes nativas dos solos em questão.

Em solos das Índias ocidentais, onde houve resposta à aplicação de N no feijoeiro, foram avaliados a presença e a efetividade de rizóbios nativos. Em 11 dos 30 solos constataram-se aumentos no peso da planta seca devido à inoculação com *Rhizobium* e aumentos de rendimento foram observados em 2 das 5 cultivares de feijão utilizadas (Million, 1987).

No Brasil, Leal et al. (1974) avaliaram no campo o efeito da inoculação sobre a produtividade de feijão-de-vagem trepador. Obtiveram rendimentos que ficaram em torno de

9300 kg.ha⁻¹, equivalentes aos de uma aplicação de 31 g.m linear⁻¹ de salitre do Chile (46 kg.ha⁻¹) dividida em duas aplicações.

Dos nutrientes minerais o que mais afeta a FBN, especialmente no feijão, é o nitrogênio. Para que haja o crescimento da planta e da bactéria até o início da fixação e aumento da massa nodular, é necessária disponibilidade de N combinado. O seu excesso no entanto, afeta em graus variáveis a infecção, a fixação e o número de nódulos formados (Siqueira e Franco, 1988).

Miyasaka et al (1963) haviam observado o efeito negativo do N sobre a nodulação do feijoeiro. A aplicação aos 22 dias após germinação foi mais prejudicial do que a realizada no plantio. Entretanto, vários pesquisadores citados por Guss & Döbereiner (1972) também constataram que pequenas doses de N aumentavam a FBN.

Vários trabalhos, incluindo feijoeiro para grão e vagem, indicam que a simbiose sozinha freqüentemente se mostra incapaz de igualar os resultados de sua produção vegetal com os obtidos por doses acima de 30 ppm ou 60 Kg.ha⁻¹ de N (Guss & Döbereiner, 1972; Habish & Ishag, 1974; Neves & Fernandes. 1982; Osório & Freire, 1982; Beunard & Michellon, 1986). Há, porém, resultados consistentes em que a produção só foi maior com o uso do N mineral, na presença de *Rhizobium* inoculado (Ishag, 1971; Crespo et al., 1987).

Apesar das dificuldades, há casos em que ocorrem ganhos de produtividade com o auxílio da FBN como única fonte para nutrição nitrogenada. A pesquisa fez progressos na identificação de combinações de *R. Phaseoli* e feijão que aproveitem o máxima da FBN.

A variação de dados de nodulação e N fixado no campo é grande. Os fatores biológicos já citados unem-se aos químicos e físicos tornando o sistema solo-rizosfera-planta numa via de três mãos factivamente distintas com n variantes que determinam a eficácia da simbiose.

Uma FBN produtiva também é uma das 5 habilidades da planta ideotipada para um mínimo 'input' e um máximo 'output' específico de energia, segundo Felker e Bandurski citados por Franco (1981). A despeito dos avanços da genética esta planta ainda não deixou de ser um ideal.

A rigor considerando ideais todos os fatores climáticos (físicos) pader-se-ia equacionar a produção de uma leguminosa em:

$P(\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}) = p (S + M + R + A)$, onde P é a produtividade e p é o status ou produto de todos os fatores e reações que ocorrem no sistema vegetal; S é o estado de sanidade genética, fisiológica e patológica; M são os mecanismos de absorção assimilação, transporte de nutrientes e produtos; R é o status da rizosfera em componentes e reações químicas, físicas e biológicas e A representa todas as associações

simbióticas possíveis e sua eficiência.

Encontrar uma associação ou mesmo um conjunto de associações do sistema cultivas X *Rhizobium* altamente produtivos e eficientes energeticamente requer também, um sistema rizosfera altamente produtivo e favorável. Daí a diversidade de resultados ser numerosa.

2.5. A matéria orgânica no sistema.

O N do solo *per se* já influencia na obtenção de resultados interessantes como na idêntica nodulação entre feijões fava (*Vicia faba*) avaliados após 2 anos seguidos de cultivo e os que sucederam rotação de 3 anos com centeio ou cevada (Stephen, 1987). Após estas duas sequências, foi cultivada a couve que teve maior rendimento no solo cultivado apenas com fava. Após a colheita da couve foram constatadas variações do N total e da matéria orgânica dos solos. Os teores de N do solo que não foram suficientes para provocar diferenças de nodulação entre as favas das duas sequências tiveram acréscimos maiores no solo após cultivo sucessivo de fava. A maior quantidade de matéria orgânica rica em N nesse sistema seria a melhor explicação para o maior rendimento da couve.

O aspecto interessante da matéria orgânica é que as respostas de rendimento do feijão são muito dependentes do nível de nitrato do solo e da cultivar usada. E mesmo assim,

há outros componentes de análise mais complexa. Ben et al. (1981) cita alguns exemplos de autores que constataram que a matéria orgânica aumentou o rendimento do feijoeiro ainda que, na presença de adubo mineral.

Deve-se levar em consideração, por exemplo, o efeito global da aplicação do esterco de galinha no solo, que além da melhoria das características físicas e do aumento de populações microbianas e da mesofauna, há enriquecimento no fósforo disponível do solo, como observaram Aídar et al. (1976), citados por Ben et al. (1981). Portanto apesar do principal incremento do N do solo observa-se que o efeito na planta não deve ser atribuído particularmente a um componente isolado do esterco.

As implicações do uso de esterco na FBN não tem sido muito estudadas, principalmente nos sistemas hortícolas que demandam doses maiores em relação a outras culturas. Os estudos nacionais recentes têm considerado o efeito global do esterco sobre a nodulação, ARA e produção como fizeram Ruschel & Saito (1977).

Respostas variáveis à aplicação de bagacilho de cana-de-açúcar, no campo, foram obtidas na nodulação e produção de quatro leguminosas incluindo a variedade Rosinha de feijoeiro (Norris et al., 1970). Os níveis de nitrato no solo foram considerados, constituindo relevante fator na resposta da cultura até no que tange à produção.

Ben et al. (1981) determinou o ponto de máxima eficiência econômica da adubação com esterco de galinha para a cultura, em função dos preços dos insumos e do feijão, mas só fez associações para adubação orgânica e mineral, não considerando o efeito da FBN.

Em sistema cultural do feijão-de-vagem pouco se conhece sobre os efeitos do esterco sobre a FBN. No feijoeiro para grãos Scholles et al. (1986) obtiveram aumentos da nodulação e da produção a partir do efeito residual de uma dose de 12 t.ha⁻¹ de cama de aviário mas 3 reaplicação de 4 t.ha⁻¹ inibiu em 50% a nodulação das plantas.

Há doses de esterco de aves sendo aplicadas em nível superior a 500 g.cova⁻¹ (PESAGRO-Rio, 1990, informação pessoal). O nível de N-NH₄⁺ liberado por essa quantidade pode estar além da necessidade das plantas. A absorção de um excesso de N-NH₄⁺ pode levar a um acúmulo de N solúvel contido em amidas e aminoácidos (Fernandes, 1984). Isso indica toxidez crônica por NH₃ e o que pode suceder é um distúrbio no metabolismo das plantas comprometendo a produção de biomassa seca, como já ocorreu no campo com alface (Pereira et al., 1989).

A FBN foi avaliada no sistema de produção da ervilha na região serrana e apresentou bons resultados com a inoculação de *Rhizobium* (Conceição et al., 1981), mas escassos estudos avaliaram a capacidade de FBN no

feijão de vagem, como foi constatado anteriormente. Isso acontece principalmente quando se considera a presença da adubação orgânica. Há, portanto necessidade de conhecer o sistema de forma mais completa, considerando-se os efeitos da FBN na ausência e na presença da matéria orgânica.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Estirpes de *Rhizobium*

No mês de janeiro de 1990 foram caletadas raízes de plantas de feijão de vagem trepador com cerca de 100 dias de idade. As plantas foram cultivadas na Estação Experimental da PESAGRO-Rio (Avelar) e na propriedade do Sr. João Antero (Paty do Alferes). Foram escolhidas nove plantas, com aparência saudável e maior nodulação ativa. Destas plantas foram selecionados 9 nódulos, dos quais foram obtidos nove isolados, denominados: AV3, AV4, AV5, PA1, PA2, PA3, PA4, PA5 e PA6, que foram utilizadas nos experimentos deste trabalho. O isolamento das bactérias foi feito através do método da pinça, comumente usado no CNPAB, que é feito considerando o critério onde a bactéria de cada nódulo deve receber uma

identificação diferente.

Método da Pinça

- 1- Cortar a raiz 0,5 cm de cada lado do nódulo;
- 2- Embeber o nódulo em etanol 95% por 30 segundos;
- 3- Transferir para solução de HgCl_2 , 1 (sol.padrão-Merck):1000 (água esterilizada), por 1,5 minuto;
- 4- Enxaguar em água-estéril por 5 vezes;
- 5- Esmagar o nódulo com pinça flambada, dentro de placa de Petri com água estéril. Coletar com alça, uma gota da suspensão do nódulo;
- 6- Riscar em placa sobre meio 79 de Fred e Warsman (usado no CNPAB/EMBRAPA).

Foram testadas também estirpes obtidas da coleção de estirpes de *Rhizobium* spp dos laboratórios do CNPAB/EMBRAPA. Na página seguinte estão relacionadas todas as estirpes usadas no presente trabalho (tabela 1).

Tabela 1: Estirpes de *Rhizobium* spp utilizadas

ESTIRPES	NOMENCLATURA/TIPO	PROCEDÊNCIA*
AV3	<i>Rhizobium</i> spp	Avelar - RJ
AV4	<i>Rhizobium</i> spp	"
AV5	"	"
PA1	"	Paty do Alferes
PA2	"	"
PA3	"	"
PA4	"	"
PA5	"	"
PA6	"	"
BR266	<i>R. tropici</i> . type IIB	CENA-SP
BR281	<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>phaseoli</i>	RS
BR298	<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>phaseoli</i>	Avelar-RJ
BR304	<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>phaseoli</i>	Avelar - RJ
BR322	<i>R. tropici</i> . type IIB (CIAT 899)	CIAT/CNPAB
BR365	<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>phaseoli</i>	Uruana - GO
BR802	<i>R. tropici</i> . type IIB	GO
BR829	<i>R. tropici</i> . type IIA	Ceres-GO
BR838	<i>R. tropici</i> type IIA	Itapuranga-GO
BR855	<i>R. tropici</i> . type IIB	Pirenópolis-GO
BR860	<i>R. trupici</i> . type IIB	Pirenópolis-GO
BR10008	<i>R. phaseoli</i>	CPAC - DF
BR10018	<i>R. phaseoli</i>	CPAC-DF
BR10019	<i>R. phaseoli</i>	CPAC - DF
BR10022	<i>R. phaseoli</i>	CNPAF-GO
BR10024	<i>R. phaseoli</i>	CNPAF-GO
BR10047	<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>phaseoli</i>	CPAC - DF
BR10048	<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>phaseoli</i>	CPAC - DF
F87.1	<i>R. tropici</i> . type IIB	GO

* A procedência pode ser o local do isolamento ou a instituição que o efetuou, quando não há informação da origem do isolado. Os isolados precedidos de "BR" foram obtidos da coleção do CNPAB, "AV" de Avelar e "PA" de Paty do Alferes.

Todas as estirpes de *Rhizobium* spp utilizadas foram isoladas em placas de Petri contendo meio de cultura 79 de Fred e Warsman. Em seguida, foram repicadas para frascos com 30 ml do meio 79 líquido e colocadas sob agitação contínua a 28°C até a turbidez do meio (3 a 5 dias).

MEIO DE CULTURA 79 PAPA *Rhizobium* DE CRESCIMENTO RÁPIDO (FRED E WARSMAN/1928).

Para 1 litro de meio:

10 g sacarose

1 ml K_2HPO_4 solução 10%

4 ml KH_2PO_4 "

2 ml $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ "

1 ml NaCl "

0,4 g extrato de levedura

5 ml azul de bromotimol solução 0,5% em KOH 2N

15 g agar para meio sólido

Ajustar para pH 6,8 a 7,0

3.2. Cultivares

Foram testadas as cultivares comerciais Alessa, com hábito de crescimento determinado, ciclo de 60 dias, e Teresópolis, com hábito de crescimento indeterminado, ciclo de 120 dias. Ambas produzem vagens achatadas (tipo manteiga).

3.3. Experimentos com vasos Leonard

Em casa de vegetação foram conduzidos seis ensaios em blocos casualizados, incluindo os controles absoluto e nitrogenado (N).

Experimento Preliminar (1)

Foi conduzido um ensaio preliminar para

verificar o comportamento das estirpes isoladas comparativamente às da coleção do CNPAB (tabela 1). O experimento teve esquema fatorial 2X22 no delineamento de blocos ao acaso. No primeiro fator estão as cultivares Alessa e Teresópolis. No segundo fator estão os tratamentos de inoculação com *Rhizobium* e N mineral. Foram montados 3 blocos. Época: setembro a novembro de 1990.

Os melhores tratamentos deste experimento foram incluídos na série seletiva iniciada a seguir, onde cada cultivar faz parte de um experimento separadamente, no delineamento de blocos ao acaso.

Experimento 2 -

Utilizou-se a cultivar Alessa, 20 tratamentos e duas repetições. Foram testadas as estirpes BR (266, 281, 298, 304, 322, 365, 838, 860, 10008, 10019, 10022, 10024, 10047 e 10048), F87.1, AV4, AV5 e PA-5. O controle N recebeu 90 mg de N.planta⁻¹ e a coleta foi feita aos 37 dias após a emergência (DAE). Época: abril a junho de 1991.

Experimento 3 -

Teresópolis foi a cultivar utilizada, sendo os tratamentos e o número de repetições idênticos nos do ensaio anterior. O controle N recebeu 180 mg de N.planta⁻¹ e a coleta deu-se aos 48 DAE. Época: abril a junho de 1991.

Experimento 4 -

Utilizou a cultivar Teresópolis, teve 12 tratamentos

e 4 repetições. As estirpes inoculadaa foram BR (322, 802, 829, 838, 10008, 10024, 10047, 1004a, 10047+10048, 206+281+365) e AV4+AV5. O controle N foi perdido e apenas o controle e os tratamentos com estirpes puderam ser coletados. A coleta foi feita aos 45 DAE. Época: julho a agosto de 1991

Experimento 5 -

Foi conduzido com a cultivar Alessa, com 11 tratamentos e 4 repetições. As estirpes usadas foram BR (322, 829, 855, 860, 10008, 10018, 10024 e 10047) e F87.1. O controle nitrogenado recebeu 170 mg de N.planta⁻¹ e a coleta foi aos 42 DAE. Época: agosto a outubro de 1991.

Experimento 6 -

Foi conduzido com a cv. Teresópolis. teve 10 tratamentos e 4 repetições. Foram inoculadas as estirpes BR (322, 855, 10008, 10047, 10048, 10047+10048, 322+10024+10048) e AV4+AV5+BR838. Este ensaio foi montado devido a perda do controle N no ensaio 4. Desta vez, o controle N recebeu 220, mg N.planta⁻¹ foram utilizadas novas estirpes e aquelas que foram mais efetivas no ensaio citado. A coleta foi feita aos 50 DAE. Época: setembro a novembro de 1991.

Observação: Todos os experimentos tiveram controle absoluto. As doses totais de N dos controles nitrogenados foram parceladas semanalmente em doses crescentes, de acordo com a avaliação visual da folhagem das plantas. Esse é um procedimento adotado para esse tipo de experimento no

CNPAB/EMBRAPA.

3.3.1. Instalação e condução

As sementes das cultivares foram esterilizadas superficialmente pela imersão em etanol 95% por 0,5 minuto, depois em solução de hipoclorito de sódio a 5% (reagente analítico) por 10 minutos e lavadas com água estéril por 10 vezes (modificado de Scott e Porter, 1986).

Foram plantadas 5 sementes por vaso utilizando-se pinça esterilizada. Com exceção dos contrales, cada vaso de todos os demais tratamentos recebeu 1 ml de inóculo. Aos 5 dias após a emergência (DAE) foi feito o desbaste deixando-se 2 plantas par vaso.

Todos os ensaios foram feitos em vasos Leonard de 700 ml contendo substrato esterilizado de areia e vermiculita (2:1,v:v). Foi utilizada solução nutritiva contendo: KCl (2,0mM), K_2HPO_4 (0,285mM), KH_2PO_4 (0,735mM), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (2,0mM), $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ (1,998mM), $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (0,3uM), $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,7uM), $MnSO_4 \cdot 2H_2O$ (1,0uM), $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ (0,002uM), H_3BO_3 (11,5uM), $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (17.9uM) e ác. cítrico (26,0uM).

Com exceção do controle, todos os tratamentos receberam 10 mg de N.planta⁻¹ sob forma de NH_4NO_3 logo após o desbaste.

3.4. Experimentos em vasos com solo

3.4.1. Substratos utilizados

Foi empregado um solo classificado como Podzólico Vermelho Amarelo (SNLCS, informação pessoal, 1993). representativo da região agrícola de Avelar e Paty do Alferes (RJ). Foi coletado na Estação Experimental da PESAGRO-Rio (Avelar) a uma profundidade de 0-30 cm e após sua secagem procedeu-se o destorroamento e a peneiragem (malha:10mm). Após ser bem homogeneizado, coletaram-se amostras para análise química e física, feitas nos Laboratórios do CNPAB/EMBRAPA e do Departamento de Solos da UFRRJ, respectivamente. Estimou-se também a capacidade de campo do solo da seguinte forma: Encheu-se uma proveta de 250 ml com solo: adicionou-se água lentamente até saturação de 150 ml de solo da parte superior; esperou-se até cessar o movimento da água gravitacional; foi determinada a umidade do solo através de secagem na estufa até peso constante. O valor obtido em função do peso do solo seco foi de 23,4%.

Empregou-se também cama de aviário com 170 dias de formação, 12,3% de umidade, 2,65% de N total, 919 ppm de N-NH₄, 81 ppm de N-NO₃, 3,07% de P, 2,80% de K, 43,74% de C e pH em H₂O = 7,44.

Os resultados da análise química do solo utilizado indicaram os seguintes resultados: pH em H₂O = 5,5; Al=0,0meq.100 ml⁻¹; Ca= 3,0 meq.100 ml⁻¹; Mg= 2,0 meq.100 ml⁻¹

P= 10 ppm; K= 300 ppm; C= 1,28% e N= 0,14%. Estes resultados e os de esterco foram obtidos nos Laboratórios do CNPAB/EMBRAPA.

A análise granulométrica foi feita nos laboratórios do Depto. de Solos da UFRRJ e obteve 36% de argila total, 56% de areia grossa, 1% de areia fina e 7% de silte.

3.4.2. Esquema experimental

Nos meses de abril e maio de 1992 foram conduzidos 2 experimentos (7 e 8) em casa de vegetação utilizando o esquema fatorial 2X8 com 4 blocos ao acaso. Empregaram-se duas doses de cama de aviário: 0 e 170 g vaso⁻¹ (85 g. planta⁻¹) em base seca, equivalente a 4 t.ha⁻¹. As fontes de N foram constituídas por 3 estirpes de *Rhizobium* selecionadas dos ensaios de vaso Leonard, uma estirpe de baixa eficiência, duas misturas de estirpes e dois controles sem inoculação, sendo o controle N com adição de 310 mg.planta⁻¹ de N sob forma de uréia, parcelada em 3 doses, aos 11, 18 e 22 DAE. A procedência das estirpes está na tabela 1.

Experimento 7-

Foi utilizada a cultivar Alessa e os tratamentos com estirpes foram: BR 829, BR 10008 a F87.1 (selecionadas). BR10022 (pouco efetiva), as misturas BR322 + BR860 + BR10008 (mistura de estirpes selecionadas dos ensaios precedentes) e BR266 + BR281 + BR322 (inoculante comercial-CNPAB). A coleta

deu-se aos 28 DAE.

Experimento 8 -

A cultivar usada foi Teresepólis e os tratamentos com estirpes foram: BR 322, BR 10048 e AV4 (selecionadas). BR365 (pouco efetiva), as misturas BR 10047+BR 10048 (mistura de estirpe selecionada) e BR 266+BR 281+BR 322 (inoculante comercial-CNPAB). A coleta foi aos 36 DAE.

Observação: Na época de execução dos experimentos o inoculante comercial para feijoeiro do CNPAB/EMBRAPA continha as estirpes citadas acima mas para facilidade de compreensão do texto optou-se pelo termo "mistura", seguida das estirpes que a compõe.

3.4.3. Instalação e condução

Os Experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, utilizando vasos de plástico contendo 3,5 kg de solo e providos de furos na parte inferior para drenagem da água. Uma semana antes do plantio foram misturados ao solo a cama de aviário e o superfosfato simples na dose de 30 g.vaso⁻¹ (120 kg P₂O₅.ha⁻¹). Procedeu-se a irrigação dos vasos com água destilada suficiente para manter a umidade do solo de 70 a 90% da capacidade de campo do solo e incubação por 10 dias.

As sementes das duas cultivares foram esterilizadas com hipoclorito sódio a 5% (reagente analítico) segundo Scott

e Porter (1986) e a semeadura foi feita com 6 sementes por vaso. Utilizou-se 3 ml de inóculo por vaso e nos controles 3 ml de meio 79 sem sacarose. Logo após o plantio foi adicionado 3,5 ml por vaso de uma solução de micronutrientes que continha : $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,063 M). $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,031 mM). H_3BO_3 (4,853 mM), $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1,799 mM), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,072 mM) $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2,958 mM) e ácido cítrico (2,958 mM).

Aos 5 DAE foi feito o desbaste deixando-se 2 plantas por vaso. Os vasos foram regados diariamente procurando-se manter a umidade do solo em torno de 70 a 90% da capacidade de campo.

3.5. Coleta e Análises

A época de coleta dos plantas de todos os experimentos foi entre a fase de floração plena e o início da formação de vagens. Fez-se o corte do caule das plantas a 2 cm acima do nível dos substratos para colheita da parte, aérea. As raízes foram retiradas dos substratos lavadas em água corrente e expostas ao ar para secagem com auxílio de papel absorvente. Em seguida os nódulos foram retirado e contados.

A atividade da nitrogenase foi estimada e calculada nos ensaios 1, 2, 3, 4, 6, 7 e 8. As raízes, destacadas do substrato, foram colocadas em recipientes de 250 ml onde foram incubadas, em atmosfera com 12% de acetileno por 10

minutos. Com exceção da cv. Teresópolis, no experimento 1. as raízes eram separadas sempre que o volume de duas raízes juntas era grande em relação ao recipiente. A leitura de etileno foi feita num cromatógrafo com detector de ionização de chama, e os cálculos feitos segundo Boddey et al. (1990).

A parte aérea das plantas e os nódulos obtidos de todos os ensaios bem como as raízes dos experimentos 7 e 8, foram levadas a estufa com 65°C por 3 a 5 dias para secagem a peso constante. Após isto procedeu-se a pesagem do material. A parte aérea das plantas dos experimentos 5, 6, 7 e 8 e as raízes dos experimentos 7 e 8 foram moídas e as amostras submetidas a digestão para determinação do N total, segundo metodologia dos laboratórios do CNPAB/EMBRAPA.

As análises estatísticas foram feitas através do programa MSTATC, sendo as médias comparadas pelo teste Duncan a 5%.

4. RESULTADOS

4.1. Experimentos em vasos Leonard

4.1.1. Nodulação

Na tabela 2 o peso de nódulos representa a nodulação das duas cultivares no experimento 1. As estirpes PA1 e BR10048, na cultivar Toresópolis, produziram as melhores médias superando $190 \text{ mg.planta}^{-1}$ de nódulos secos. Para a cv. Alessa destacaram-se as estirpes BR298, PA1 e AV4, que apresentaram médias abaixo de $80 \text{ mg.planta}^{-1}$. O tratamento com BR10048 foi perdido neste experimento mas reaparece no experimento 2.

Os tratamentos inoculados com as estirpes BR281, BR322, BR860, BR10024 e F87.1 apresentaram, na cv. Alessa (experimento 2), médias de peso de nódulos secos

estatisticamente acima das obtidas pelos controles (tabela 3). Outras treze tratamentos não diferiram dos controles, com médias inferiores a 120 mg.planta⁻¹.

O número de nódulos da cv. Alessa indica o mesmo comportamento, mas o tratamento da estirpe BR10024 não diferiu dos controles, com 57 nódulos.planta⁻¹. As médias de nodulação dos tratamentos BR304, BR298 e BR10019 foram numericamente inferiores ao controle absoluto. A nodulação praticamente nula do tratamento com a estirpe BR298 não era esperada, pois no experimento anterior ela se destacou com a cv. Alessa. Este fato será analisado no capítulo seguinte.

Os dados da cv. Teresópolis, no experimento 3 (tabela 3) revelam que o tratamento com a estirpe isolada da planta coletada de Avelar (AV4), produziu massa nodular seca superior a outros 15 tratamentos, incluindo os controles. Não contrastou, porém, das estirpes AV5, BR838, BR860 e BR10048, que juntamente a outras quatro tiveram médias maiores que a do controle N mineral. Este não diferiu dos demais tratamentos. A média obtida com a estirpe BR322 foi 1,8 vezes menor que a alcançada por AV4. O tratamento com BR10048 esteve entre as melhores médias, confirmando resultados do experimento 1.

No entanto, o número de nódulos de AV4 não teve o mesmo desempenho, igualando-se no teste, às médias dos controles. Com exceção de BR10047 e F87.1, as demais

estirpes que superaram os controles em massa de nódulos também o fizeram para número de nódulos.

No experimento 4 (tabela 4) a cultivar Teresópolis atingiu a maior média geral de peso de nódulos secos até aqui obtida ($179 \text{ mg.planta}^{-1}$). A massa nodular produzida pelas plantas inoculadas por BR838 destacou-se, mas não diferiu dos tratamentos AV4+AV5, BR(10047+10048), BR802 a BR322. Todas essas médias ficaram acima de $210 \text{ mg.planta}^{-1}$.

Os demais tratamentos produziram médias com mais de $100 \text{ mg.planta}^{-1}$, diferindo do controle absoluto, onde a nodulação foi ausente.

Em número, o tratamento BR838, superou em mais de $100 \text{ nódulos.planta}^{-1}$ tratamento com a mistura BR(10047+10048). Porém, os inóculos AV4+AV5, BR802 e BR322 também alcançaram a mesma classe de médias. Esses cinco tratamentos produziram as maiores nodulações na cv. Teresópolis.

A tabela 5 mostra as 6 estirpes com melhores resultados entre todas as experimentadas anteriormente para a cultivar Alessa (experimento 5). O tratamento com a estirpe BR829 foi o que proporcionou maior valor numérico no peso de nódulos secos de todo o experimento. Médias estatisticamente iguais a esse tratamento foram alcançadas com as estirpes BR860 BR10008 e BR10024, cujos valores situaram-se acima de $110 \text{ mg.planta}^{-1}$. As estirpes BR855

BR10018 tiveram médias iguais às do controle absoluto.

O número de nódulos seguiu o mesmo comportamento da massa nodular e as estirpes BR860 e BR10024 forneceram os melhores resultados. As médias desses tratamentos contrastaram, inclusive da média produzida pelo tratamento BR322, que teve 35 nódulos planta⁻¹ a menos que a maior média. Cada controle, ficou com menos de 15 nódulos.planta⁻¹. O tratamento BR10018 igualou-se estatisticamente com os controles.

O contraste de médias do peso de nódulos secos do experimento 6, com a cv. Teresópolis (tabela 5), destaca a estirpes BR10047, a única que teve média acima do controle. A média geral foi 115 mg menor e o melhor resultado ficou abaixo de 100 mg.planta⁻¹.

Com relação ao número de nódulos dessa cultivar, todos os tratamentos inoculados foram superiores aos controles, sem distinção entre as médias produzidas.

4.1.2. Atividade da Radução de Acetileno (ARA)

As médias de ARA do experimento 1 (figura 1) indicam valores da ordem de nanomoles só para a cultivar Teresópolis. Isto ocorreu devido ao maior volume de raízes de duas plantas, o que teria dificultado a difusão do acetileno dentro do recipiente. Na cultivar Alessa os tratamentos BR10047 AV4, AV5, BR838 e BR860 tiveram médias acima de 10

umoles $C_2H_4.planta^{-1}.h^{-1}$ ficando entre as melhores do ensaio. As médias de AV3, PA6, BR266, BR298 e BR 304 foram iguais a do controle absoluto. Para Teresópolis não houve contrastes significativos entre as médias.

No experimento 2, para cv. Alessa (figura 2) o teste F detectou diferenças entre as médias apenas a 10% de probabilidade. Contudo, é possível comparar se os tratamentos com médias de maior valor corresponderiam a maiores acúmulos de matéria seca da parte aérea (MSPA). O que será feita mais adiante. Os maiores valores numéricos foram obtidos pelas tratamentos F87.1, BR838, BR860, BR322, AV5 e BR281.

Para a cv, Teresópolis (experimento 3) os tratamentos BR10047 e BR322 tiveram as maiores médias de ARA (figura 3). Outros 10 tratamentos apresentaram médias inferiores à taxa de 1 umol $C_2H_4.planta^{-1}.h^{-1}$, igualando-se aos controles.

As melhores estirpes do experimento 3 não repetiram o mesmo desempenho no experimentos 4 e 6 (cv. Teresópolis figuras 4 e 5). No segundo não houve diferenças entre os tratamentos, mas no primeiro as estirpes BR838 e BR(10047+10048) tiveram maior destaque.

Para a cv. Alessa (experimento 5), os resultados das medições foram muito baixos e decidiu-se desprezá-los, em vista da determinação do N total da parte aérea.

4.1.3 Matéria Seca da Parte Aérea (MSPA)

Para o experimento 1 (tabela 8) as médias de peso da parte aérea seca da cv. Teresópolis revelam superioridade para as estirpes BR10048, BR838 e para o controle N. Para a cv. Alessa apenas a estirpe BR10047 destacou-se do controle, apresentando média estatisticamente igual ao controle N.

Na cv. Alessa, experimento 2 (tabela 9), o controle N proporcionou um acúmulo de MSPA em quantidade equivalente aos obtidos com as estirpes BR860, BR10008, BR10024, AV5, BR322 e F87.1. A rigor, porém, só as duas primeiras tiveram médias de maior destaque. Os tratamentos com valores maiores de atividade da nitrogenase tiveram maior expressão em MSPA, principalmente BR860 e F87.1. Outras 11 estirpes não influenciaram significativamente na MSPA, igualando-se ao controle.

Para a cultivar Teresópolis os 3 melhores tratamentos do 3º experimento (tabela 9) produziram mais que $2,50 \text{ g.planta}^{-1}$ planta. Foram 9 os tratamentos inoculados que apresentaram médias rigorosamente iguais ou superiores ao controle N, de acordo com o teste de Duncan a 5%. Os valores mais altos de MSPA ficaram com os tratamentos BR322, BR10048, AV4, BR10008 e BR10047.

Comparando os resultados de MSPA de cv. Teresópolis nos experimentos 4 (tabela 10) e 6 (tabela 11) verificam-se comportamentos semelhantes. No primeiro, os

valores de acúmulo foram maiores e 4 tratamentos tiveram médias acima de $2,10 \text{ g.planta}^{-1}$, incluindo BR(10047+10048) e BR322. Todos os 9 tratamentos inoculados igualaram-se estatisticamente neste ensaio e 6 deles foram superiores ao controle. Além dos dois acima citados estão BR838, BR10024, BR10048 e BR10047. Os inóculos BR(10047+10048) e BR322 mais os tratamentos BR10047 e BR10048 confirmaram estar entre os melhores para a cultivar Teresópolis (experimento 6). Com exceção de BR855, todos os demais apresentaram médias acima do controle, igualando-se ao controle N.

Os resultados de MSPA do experimento 5, empregando a cv. Alessa estão na tabela 11. Esta cultivar é mais sensível a adversidades e apresentou sintomas de leve clorose aos 20 DAE, provavelmente relacionada à fase de estresse de nitrogênio. As temperaturas máxima acima de 32°C que ocorreram, ainda fora da casa de vegetação em alguns dias, na floração, também sensibilizaram o desenvolvimento das plantas e os resultados de ARA foram muito baixos. Contudo, as estirpes BR10008, BR829, BR10024, BR10047, F87.1 e BR322 acumularam médias de MSPA iguais ou superiores à média do controle N. Estas 6 médias ficaram com valores em torno de $1,5 \text{ g.planta}^{-1}$ diferindo dos tratamentos que produziram menos de $0,70 \text{ g.planta}^{-1}$ cada, incluindo o controle.

4.1.4. N total acumulado na MSPA

Na cultivar Teresópolis, experimento 4 (tabela 10), as maiores médias superaram o controle absoluto ficando acima de 50 mg de N.planta⁻¹, destacando-se os tratamentos BR10024, BR10047, BR10048 e BR10047+BR10048.

Na tabela 11 os dados de N total da parte aérea das plantas confirmam o comportamento do acúmulo de biomassa no experimento 5 (cv. Alessa). As estirpes BR10008, BR10047 e BR829 forneceram as maiores médias mas ficaram no limite de 33 mg N.planta⁻¹.

Dos tratamentos inoculados no experimento 6 com a cv. Teresópolis (tabela 11), apenas o da estirpe BR855 proporcionou menor acúmulo de N total do que o controle N, que apresentou o maior valor de N acumulado na parte aérea.

4.2. Experimentos em vasos com solo

4.2.1. Nodulação

Na tabela 6 estão os dados de nodulação de cultivar Alessa. A estirpe BR829 na ausência de esterco foi a única que resultou em médias de nodulação (peso e número) superior às médias dos controles. Atingiu mais de 150 mg.planta⁻¹ enquanto todos os demais tratamentos ficaram com médias abaixo de 90 mg.planta⁻¹. O controle N mineral não produziu nódulos.

O tratamento com BR829 sem esterco também

destacou-se da mistura selecionada (BR322+BR860+BR10008), de F87.1 e do controle N. Esse tratamento também foi o único que superou às médias dos tratamentos com esterco. Apesar do teste ($P= 1\%$) não ter detectado contraste entre algumas médias sem e com esterco, a média dos tratamentos sem esterco foi estatisticamente superior à média na presença daquele insumo. Houve interação significativa somente na estirpe BR829. A média de peso de nódulos sem esterco foi superior e o efeito do esterco na redução da massa nodular foi drástico quando se usou esta estirpe.

No número de nódulos os resultados foram similares, confirmando a superioridade do tratamento com BR829 e também a redução significativa de nodulação devido a adição de esterco nos vasos.

Para a cultivar Teresópolis, no experimento 8 (tabela 7) a nodulação foi representada por maiores valores de médias que as de Alessa. Com exceção do controle N, as médias de peso de nódulos de todos os demais tratamentos sem esterco superaram seus similares com esterco, o maior valor numérico atingido foi com a estirpe BR322 ($507 \text{ mg.planta}^{-1}$) que não contrastou da estirpe nativa AV4 ($342 \text{ mg.planta}^{-1}$) nem do a mistura BR(266+281+322) ($382 \text{ mg.planta}^{-1}$) .

A média geral de peso de nódulos dos tratamentos sem esterco foi superior à média daqueles com esterco. Para o fator que contém estirpes e controles constatou-se que todas

as médias sem esterco foram maiores que a obtida pela controle N, não havendo contraste entre essas sete médias. Houve igualdade estatística entre as médias com esterco e os controles.

Para número de nódulos os tratamentos sem adição de esterco e uréia foram iguais entre si. Assim também ocorreu em todos os que receberam esterco. Com exceção do controle, apenas os tratamentos com a mistura selecionada BR(10047+ 10048), AV4 e BR10048, sem esterco, não diferiram de todos os tratamentos com esterco.

As médias dos tratamentos na presença de esterco reiteraram, também para cv. Teresópolis, a redução significativa da nodulação particularmente na massa nodular. As médias dos tratamentos inoculados e do controle foram maiores que a do controle N. No número de nódulos o efeito foi menor, mas em média, o esterco prejudicou significativamente este parâmetro que também sofreu efeitos da interação esterco X tratamentos (estirpes).

4.2.2. Atividade de Redução de Acetileno (ARA)

No ensaio em vasos com solo (experimento 7), a cultivar Alessa inoculada na ausência de esterco, apresentou média geral de ARA maior do que a produzida pelos tratamentos com esterco (figura 6). Entretanto, revelou-se igualdade estatística entre tratamentos ao nível de 5% de

probabilidade. Apenas os tratamentos BR829 e F87.1 sem esterco resultaram em médias acima de 5 $\mu\text{moles.planta}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

Para Teresópolis (experimento 8, figura 7) as taxas de ARA foram mais elevadas, mas também só houve diferença significativa entre as médias com e sem esterco. Todavia, notam-se médias com valores acima de 10 $\mu\text{moles.planta}^{-1}.\text{h}^{-1}$ obtidas por BR10048 e BR(10047+10048).

4.2.3. Matéria seca da parte aérea (MSPA)

Os resultados da cultivar Alessa em vasos com solo (experimento 7) constam na tabela 12. O controle N destacou-se na produção de parte aérea seca. Todos os outros tratamentos igualaram-se. Assim ocorreu também entre as médias dos oito tratamentos. Pela observação das médias gerais do fator esterco houve um efeito depressivo deste sobre o acúmulo de matéria seca. Isto também se confirma na interação com o controle N sem esterco.

Na tabela 13, as médias da cultivar Teresópolis (experimento 8) indicam igualdade estatística entre os tratamentos inoculados sem esterco e o controle absoluto. Na presença do esterco ocorreu o mesmo. O controle N sem esse adubo superou todos os demais tratamentos. Isto ocorreu também nas médias dos oito tratamentos.

A média de acúmulo de MSPA na presença de esterco foi maior que a média na ausência deste. Verificou-se

interação significativa dessa natureza em BR365, os tratamentos AV4, BR365, BR(266+281+322) e controle N, com esterco apresentaram maior MSPA que o controle absoluto.

O controle N com esterco teve média significativamente inferior ao mesmo tratamento sem esterco, sugerindo uma possível toxidez das plantas por amônia, o que será discutido adiante.

Nos tratamentos que receberam esterco foi constatada a ocorrência de queima em folhas, perto da fase de floração. Houve maior intensidade em frequência nos tratamentos que receberam além de esterco uréia (controle N).

4.2.4. N total acumulado na MSPA

Na tabela 12 (experimento 7) o ensaio com solo revela que o acúmulo de N total foi maior na parte aérea, para Alessa quando o esterco foi presente, distintamente dos resultados de MSPA. O controle N produziu o maior acúmulo de N em média e os demais tratamentos igualaram-se. As plantas que receberam uréia na ausência de esterco acumularam, em média, 275 mg N.planta⁻¹ na parte aérea e superaram a todos os demais tratamentos cujas médias ficaram abaixo dos 200 mg N-planta⁻¹. O esterco adicionado aos tratamentos com BR829, e controle N resultou em médias superiores ao controle absoluto e BR10008 sem esterco. A

adição de uréia forneceu maior média de N total acumulado na ausência de esterco.

Para a cv. Teresópolis o controle N da tabela 13 (experimento 8), proporcionou média de 315 mg N.planta⁻¹, isolando-se acentuadamente de todas as médias que o sucederam. A média de BR(10047+10048) sem esterco representou um ganho significativo de 85 mg N.planta⁻¹ em relação ao controle absoluto. A média dessa mistura de estirpes igualou-se com todas as que receberam esterco.

A aplicação do adubo orgânico em média resultou no maior acúmulo de N total na parte aérea das plantas. O controle N teve resultado similar e os demais tratamentos nivelaram-se. As estirpes AV4, BR365 e o controle apresentaram maiores médias de N total acumulado na presença de esterco, evidenciando uma interação positiva. Além de BR(10047+10048), nota-se que os tratamentos com BR(266+281+322), BR322 e BF10048 também tiveram médias estatisticamente iguais às obtidas pelos tratamentos com esterco, porém, não diferenciaram do controle. Da mesma forma a ausência de esterco todos os tratamentos, exceto no tratamento que recebeu uréia, e resultou em massa nodular muito superior às obtidas com a adição do esterco.

4.2.5. Matéria seca das raízes (MSR)

Pelos dados de MSR contidos na tabela 14

(experimento 7), nota-se que a cultivar Alessa teve maior média quando o esterco foi presente. Não houve diferenças entre os demais tratamentos, nem tão pouco interações.

Em alguns vasos com esterco ocorreu estado de redução do substrato, provocado por condições de alta retenção de umidade o que implica em anaerobiose do meio. Isso prejudicou o desenvolvimento normal das raízes e conseqüentemente da parte aérea. Para efeitos de análise estatística esses vasos foram considerados como parcelas perdidas.

Para a cultivar Teresópolis (tabela 15), a média de MSR dos tratamentos com esterco, também foi significativamente maior que aquela obtida na ausência do mesmo. Na média, a estirpe BR322 proporcionou maior peso de raízes que a mistura BR(10047+10048) e o controle, mas igualou-se aos demais tratamentos. O tratamento com a estirpe citada mais a adição de esterco produziu a maior média destacando-se dos demais tratamentos com $g.planta^{-1}$ de raízes secas. Ocorreram interações positivas da presença de esterco com os tratamentos da mistura BR(266+281+322). BR322 e BR10048.

4.2.6. N total acumulado na MSR.

O esterco também confirmou a influência significativa no acúmulo de N total nas raízes da cultivar

Alessa (tabela 14). A média dos tratamentos em sua presença foi maior. A média do controle N superou todos os tratamentos inoculados mas a contribuição do esterco igualou os dois controles.

Houve interações positivas com a presença de esterco em todos os tratamentos, com exceção do a mistura BR(266+281+322). As raízes do controle N com esterco e do controle absoluto com esterco acumularam mais N total que os demais tratamentos sem esterco.

Na cultivar Teresópolis (tabela 15) o teste de Duncan ($P=1\%$) detectou, também, o maior acúmulo de N total nas raízes de tratamentos com esterco. Porém, não houve distinção entre as médias dos oito tratamentos. A maior média foi obtida com a estirpe BR332 com esterco, reiterando o resultado de mspa já relatado. Nos tratamentos que só receberam inoculação, houve igualdade com o controle.

Os tratamentos do a mistura BR(266+281+322), BR10048 e BR322 interagiram com a presença de esterco constituindo-se nos maiores valores de N total em raízes no ensaio.

5. DISCUSSÃO

5.1. Experimentos em vasos Leonard

5.1.1. Nodulação

Na análise da nodulação do experimento 1 (tabela 2) é notável a superioridade da cultivar Teresópolis, onde 14 dos 20 tratamentos inoculados produziram médias acima de 100 mg.planta⁻¹, destacando-se PA1 e BR10048. Em contraste, Alessa teve apenas 6 tratamentos com médias acima de 50 mg.planta⁻¹. A maior capacidade de nodulação de variedades trepadoras também em campo já havia sido comentada por Graham (1981), que cita o maior suprimento de carboidratos para os nódulos como um dos componentes favoráveis dessas variedades.

A única estirpe que teve melhores médias nas duas cultivares foi PA1, que, no entanto, não correspondeu a

maiores médias de MSPA, como será visto mais adiante.

As estirpes AV3, PA6 e BR266 não produziram nódulos. Para BR266 este fato não era esperado, pois esta fazia parte da mistura (BR266+281+322) na época em que foi usada. Considerando estas cultivares de feijão-de-vagem as estirpes em questão seriam de especificidade muito baixa e os eventos de multiplicação dessas estirpes na superfície da raiz e encurvamento dos pelos absorventes teriam sido prejudicados (Siqueira e Franco, 1988). Para testar essa hipótese a estirpe BR266 tornou a ser usada nos dois ensaios seguintes.

Enquanto que, no primeiro ensaio apenas um tratamento para a cv. Alessa superou $70 \text{ mg.planta}^{-1}$ de nódulos secos no experimento 2 (tabela 3) houve 10 tratamentos em que isto ocorreu, mas apenas 5 foram superiores ao controle (BR281, BR860, BR322, BR10024 e F87.1).

O tratamento com a estirpe BR298 teve média de 1 mg.planta^{-1} , contrariando a média de $72 \text{ mg.planta}^{-1}$ do experimento anterior. Deve-se considerar a possibilidade de que, no experimento 2, os eventos iniciais da nodulação tenham sido prejudicados pela alta temperatura. Pela figura 8 pode-se observar que, no mês de plantio do experimento 1 (setembro/1990) a média de temperaturas máximas foi inferior a 30°C , enquanto que no mês de plantio do ensaio seguinte

(abril/91) a média ficou acima dessa marca. Além disso em seis dias logo após a emergência das plântulas as máximas ultrapassaram a marca de 35°C (PESAGRO-Itaguaí, 1993, informação pessoal). É possível que, dentro da casa de vegetação as temperaturas fossem ainda maiores, prejudicando principalmente o estágio de formação de nódulos (Siqueira e Franco, 1988) da estirpe BR298. Portanto, seria maior a sensibilidade dessa estirpe às temperaturas ocorridas nesse período.

É possível também que a estirpe citada não tenha atingido população suficiente de células. Siqueira e Franco (1988) citam que, aproximadamente 10^4 células.mm⁻¹ de raiz já seriam suficientes para se ter efeito de nodulação nesta.

Já no experimento 3 (cv. Teresópolis) houve maior número de tratamentos com médias superiores à do controle. A estirpe AV4 foi a única que superou a estirpe BR322 (estirpe padrão) em peso de nódulos, apresentando alta densidade nodular com 4,8 mg.nódulo⁻¹. Esse valor revela o potencial relevante dessa estirpe nativa, em especificidade de nodulação com a cultivar usada.

As estirpes BR266, BR304, BR298 e BR10019 proporcionaram as médias mais baixas de nodulação nas duas cultivares. Seus resultados, confirmaram a fraca capacidade de infecção e desenvolvimento de nódulos com a cv. Teresópolis.

A cultivar Teresópolis teve maiores médias de peso de nódulos no experimento 4 (tabela 4) que foi conduzido em julho, época de temperaturas mais amenas (figura 8). As maiores médias desse ensaio ficaram acima de 210 mg.planta⁻¹, havendo um tratamento que produziu 317 mg.planta⁻¹. Cultivares de feijão comum selecionadas para fixação de N₂ apresentaram médias entre 204 e 465 mg.planta⁻¹ (Barradas et al., 1989), indicando que a cv. Teresópolis tem um potencial considerável para nodulação.

A nodulação nos ensaios 5 e 6 (tabela 5) indicou maiores médias de peso de nódulos secos para a cultivar Alessa (experimento 5). Observou-se que a cv. Teresópolis teve um desenvolvimento vegetativo menor que o esperado e isto pode estar relacionado ao efeito das temperaturas máximas do período. No mês de maior incremento de biomassa (outubro/91) foram registrados 10 dias com temperaturas máximas acima de 32°C (PESAGRO-Itaguaí, 1993. informação pessoal). O comentário se justifica porque a cv. Teresópolis foi adaptada em região serrana onde as temperaturas são mais amenas que as de região de Baixada, na qual foram conduzidos os experimentos.

As estirpes BR829, BR860, BR10008 e BR10024 destacaram-se na nodulação do ensaio 5 (Alessa). As duas últimas tiveram resultados mais expressivos desde o ensaio anterior. Para a cv. Teresópolis, nos experimentos 4 e 6, as

estirpes BR838, BR10047, BR10048, BR322, e a mistura BR(10047+10048) estiveram entre as de maior peso e/ou número de nódulos.

As maiores médias de peso de nódulos de cultivar Alessa em experimentos de vaso Leonard ficaram entre 115 e 193 mg.planta⁻¹, obtidas em período médio de 30 DAE. Em cultivares de feijão comum de boa nodulação como Negro Argel e Venezuela 350 as maiores médias podem ficar em torno de 160 mg.planta⁻¹ (Hungria e Neves, 1986 b), mas também alcançam facilmente 200 mg (Barradas e Hungria, 1989) e podem até ultrapassar 400 mg.planta⁻¹ (Hungria e Neves, 1986 a).

5.1.2. Atividade da Redução de acetileno (ARA)

Apesar da nodulação não ter sido muito alta, as cinco maiores taxas (numéricas) de redução de acetileno da cultivar Alessa no 1º experimento (figura 1), ficaram acima de 10 umoles C₂H₄.planta⁻¹.h⁻¹. Estes valores obtidos pela cultivar citada, foram semelhantes aos obtidos por Hungria e Neves (1986 a), que empregaram as cultivares Negro Argel e Carioca, consideradas eficientes na FBN. A estirpe BR10047 destacou-se, com 13 umoles de C₂H₄.planta⁻¹.h⁻¹ e essa taxa de atividade da nitrogenase expressou-se também na MSPA como será visto adiante.

Não houve contraste entre médias na cv. Alessa, no experimento 2 (figura 2), mas as estirpes AV5, BR281, BR860,

BR322 e F87.1 tiveram valores mais próximos das maiores médias do experimento 1 com a cv. Alessa.

Para a cv. Teresópolis, no experimento 3 (figura 3) houve, distinção com destaque para BR10047 e BR322, mas a maioria dos tratamentos inoculados teve médias abaixo de 1 $\mu\text{mol.planta}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Provavelmente a separação de raízes para melhor acomodação nas mamadeiras provocou perturbação para o sistema simbiótico, inibindo as taxas de redução. Mesmo para a estirpe BR10047 houve redução da taxa, se comparada com a do experimento 1 (13 $\mu\text{moles.planta}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Contudo as maiores médias produziram mais de 3 $\mu\text{moles.planta}^{-1}.\text{h}^{-1}$ de etileno, superando numericamente médias de plantas de feijão de vagem cv. Stokes, inoculadas em solo, que ficaram abaixo de 2 $\mu\text{moles.planta}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (Sundstrom et al., 1983).

O tratamento com a estirpe BF10048 apresentou igualdade estatística com BR322, como indica a figura 3. Isto também aconteceu com o peso de nódulos. No entanto, verificou-se que, BR10048 apresentou maior média de matéria seca da parte aérea (MSPA) indicando que a atividade da nitrogenase estimada apenas dá um valor pontual, o que impossibilita fazer uma análise mais apurada. Possivelmente a taxa cumulativa de acetileno reduzido foi maior para BR10048 o que explicaria as maiores médias de peso de nódulos e MSPA desse tratamento e também de AV4.

Taxas com maior destaque voltaram a aparecer no

experimento 4 (cv. Teresópolis), com as estirpes BR838 e BR(10047+10048) que ainda assim ficaram abaixo dos 3 $\mu\text{moles.planta}^{-1}.\text{h}^{-1}$. A mesma perturbação ocorreu com maior intensidade no experimento 6 (figura 5), pois as médias mais altas foram inferiores a 2 $\mu\text{moles.planta}^{-1}.\text{h}^{-1}$, havendo contraste entre elas.

Nos experimentos 2 e 6 (figuras 2 e 5), além dos altos coeficientes de variação, houve ausência de contraste entre as medias. Se as variações fossem menores, haveria maior possibilidade de detecção de contrastes. Provavelmente, nestes ensaios, a maior demora entre a decapitação da parte aérea e a incubação com acetileno foi decisiva para a ocorrência de menores taxas em algumas repetições. Isso indica uma menor reprodutividade na execução do método nestes ensaios.

A separação de raízes é mais um agravante na contribuição para um maior distúrbio no sistema simbiótico. Essa perturbação pode estar também relacionada à queda do metabolismo das raízes. Boddey et al. (1990) considera as condições de temperatura, pressão parcial de CO_2 e O_2 e conteúdo de umidade, relevantes para a determinação da ARA. Possivelmente, as variações drásticas desses fatores, ocorreram e foram mais incisivas durante os experimentos e as coletas que determinaram médias estatisticamente iguais, mesmo na comparação com os controles.

5.1.3. Matéria Seca (MSPA) e N total acumulado na parte aérea.

A relação linear entre N acumulado e de matéria seca produzida por planta nas simbioses efetivas tem sido aceita para diversas leguminosas como citam Haydock et al. (1980). Para a cv. Goldie de feijão-de-vagem, Lalande et al. (1986) observaram que o aumento da matéria seca e o teor de N das plantas inoculadas indicaram estirpes efetivas. Pelo método do balanço do N total eles encontraram que até 74% do N presente na matéria seca de alguns vasos foi proveniente da FBN.

Para a cultivar Alessa os tratamentos que se destacaram na produção de parte aérea e N total acumulado corresponderam mais àqueles de maior nodulação do que aos de maiores médias de taxas de ARA. A nodulação como melhor parâmetro que ARA ocorre na maioria dos tratamentos inoculados que tiveram as maiores médias sendo que as estirpes BR829, BR860 e BR10008 foram selecionadas para o ensaio final. A estirpe F87.1 esteve entre as maiores médias de nodulação. ARA e MSPA do 2º ensaio e também foi selecionada. As médias provenientes desses tratamentos são comparáveis às obtidas com a cultivar Carioca coletada na mesma época (Mercante e Franco, 1990) e Venezuela-350 (Hungria e Ruschel, 1989).

Observou-se, porém que Alessa é uma cultivar mais sensível às condições de cultivo em vaso Leonard, especialmente no que concerne a falta de sincronização entre o final do suprimento de N dos cotilédones para a plântula e o início da fixação (Hungria et al., 1991). A observação já relatada, de clorose marcante em todos os tratamentos inoculados dos ensaios de vaso Leonard, principalmente no experimento 5, predispôs alguns tratamentos a um atraso ou a um incremento menor no desenvolvimento das plantas. Assim, com frequência, a cv. Alessa apresentou médias abaixo de $1,5 \text{ g.planta}^{-1}$, correspondentes a plantas desses tratamentos.

Na cv. Teresópolis a clorose não ocorreu e confirmou maiores médias de parâmetros de fixação obtidas também por Graham (1981) em cultivares de crescimento indeterminado.

As maiores médias de acúmulo de N total na parte aérea da cv. Alessa ficaram entre 23 e $33 \text{ mg.planta}^{-1}$, enquanto que resultados obtidos com a cultivar Negro Argel, incluindo 3 estirpes usadas em Alessa, apontam acúmulo de 28 a $38 \text{ mg.planta}^{-1}$ (Barradas & Hungria, 1989).

No entanto há variações consideráveis mesmo entre experimentos com a mesma cultivar e o mesmo inóculo. Entre dois ensaios com a cv. Negro Argel o acúmulo de N na parte aérea coletada na mesma época (floração), alcançou diferenças superiores a $60 \text{ mg N.planta}^{-1}$ (Hungria & Franco, 1988;

Barradas et al., 1989).

Entre diferentes cultivares de mesmo porte também existem diferenças quando se usa o mesmo inóculo como no trabalho de Hungria & Ruschel (1989), onde aos 40 DAE, a diferença de N acumulado entre as cultivares Venezuela-350 e Moruna chegou a 37 mg N.planta⁻¹.

Nos 2 ensaios onde as estirpes BR10047 e F87.1 foram testadas, na cv. Alessa houve pequena vantagem para a última na comparação de médias de MSPA. Sendo assim ela foi escolhida para compor o último experimento. O fato de ser da espécie *R. tropici*, conhecida por sua maior tolerância a temperaturas na faixa de 38°C (Martinez-Romero et al. 1991), também pesou em sua escolha, pois na fase inicial do experimento as temperaturas máximas do ar passaram com frequência os 30°C.

Na cultivar Teresópolis os melhores resultados de N acumulado na MSPA através da inoculação ficaram entre 34 e 65 mg N.planta⁻¹ (dos experimentos 6 e 4, respectivamente), portanto, maiores que os de Alessa mas ainda menores que valores de N contido nas cultivares Carioca 80, Negro Argel, CNPAF 2234 e Moruna (hábitos de crescimento II e III), no mesmo estágio de crescimento, e que atingiram uma faixa de 50 a 130 mg N.planta⁻¹ (Hungria & Franco, 1988; Hungria & Ruschel, 1989). Os melhores resultados na cv. Teresópolis foram obtidos pelos tratamentos BR(10047+1008), BR10048,

BR322 e BR10024.

O tratamento com a estirpe BP838 resultou também nas maiores médias de ARA, peso de nódulos e MSPA no experimento 4. Entretanto isso não ocorreu para N acumulado, o que indica a possibilidade de um maior fluxo de nitrogênio fixado diretamente para as folhas mais jovens e brotos foliares, em detrimento das folhas mais velhas. Isso indicaria que essa estirpe interferiu na mobilização de N dentro da planta através do aumento da proporção de N exportado como ureído, que nesta composição vai preferencialmente para as partes produtivas da planta (Siqueira e Franco, 1988).

A estirpe AV4 foi escolhida no lugar de BR 10024 para compor o experimento de vaso com solo, devido a sua, condição de estirpe nativa. Ela proporcionou bons resultados quando testada sozinha ou com AV5.

O tratamento com a estirpe BR10024 apresentou o maior acúmulo de N total na cv. Teresópolis porém a seleção final dos tratamentos foi feita com base nas médias de MSPA. Pela tabela 10 observa-se que a média do tratamento citado está entre as maiores médias, porém optou-se pela seleção dos tratamentos com maior valor numérico. Isto não tira o mérito da estirpe BR10024 que deveria ser testada posteriormente em experimentos com solo, utilizando a cv. Teresópolis ou cultivares de comprovada capacidade de FBN.

As médias de N total da parte aérea dos controles com N mineral em vasos Leonard poderiam ter sido maiores comparando-se com outros trabalhos (Hungria e Ruschel, 1989). Percebeu-se na análise dos dados, que as doses parceladas de N mineral foram muito altas na fase de maior crescimento, principalmente na cultivar Teresópolis. Em alguns vasos teria ocorrido um ambiente redutivo, provocado pelo crescimento de bactérias anaeróbicas. A presença dessas bactérias alterou a solução nutritiva nos vasos (como foi observado) e, provavelmente, elas impediram a maior absorção de nitrogênio pelas plantas. Isto teria causado um desenvolvimento menor que o esperado nos tratamentos citados.

5.2. Experimentos em vasos com solo.

5.2.1. Nodulação

A maior capacidade de nodulação da cv. Teresópolis em relação a cv. Alessa é confirmada quando se comparam os experimentos 7 e 8 (tabelas 6 e 7). A cultivar de porte indeterminado atingiu o máximo de $507 \text{ mg.planta}^{-1}$ de nódulos secos com média dos tratamentos sem esterco de 348 mg, enquanto que em Alessa a média máxima atingiu 161 mg e a média geral sem esterco foi de 78 mg. Confirmou-se, portanto a superioridade da cultivar de maior porte, como já havia constatado Graham (1981).

A nodulação ocorrida na cv. Alessa destacou apenas

a estirpe BR829 que, na ausência de esterco propiciou aumento significativo de número e peso de nódulos quando comparada com o controle. Certamente esta estirpe proporcionou uma maior contribuição para a simbiose devido a suas características genéticas, já que pertence a espécie *Rhizobium tropici* tendo se destacado em ensaios com feijão Carioca submetido a choques térmicos de 38°C (Mercante e Franco, relatório CNPAB 1990). As temperaturas máximas do ar, acima de 31°C, que ocorreram em doze dias durante a época de condução do experimento 7 (PESAGRO-Itaguaí, 1993, informação pessoal), provavelmente favoreceram o melhor desempenho da estirpe, em comparação com as demais.

As demais estirpes e o controle produziram médias de massa e número de nódulos semelhantes mas relativamente baixos, indicando menor especificidade da estirpe nativa (Peres, 1979) e reduzida competitividade e especificidade dos inóculos usados, já que não se observou contribuição da inoculação para o aumento da média obtida no controle.

No número de nódulos observa-se o mesmo comportamento, com destaque para BR829. A média obtida pelos tratamentos com misturas de estirpes e pelas demais estirpes sugere que a competição com as estirpes nativas pode ter causado efeito danoso à FBN.

A adição de esterco inibiu a nodulação nos dois ensaios. Por ocasião da coleta de raízes para isolamento de

Rhizobium spp., observou-se que, em plantas com solo estercoado havia, em média, menos de 50 nódulos.planta⁻¹. scholles et al. (1986) também constataram que a reaplicação de 4 t.ha⁻¹ de cama de aviário reduziu em 50% a nodulação do feijoeiro comum em relação à testemunha. A inibição da nodulação provocada pelo esterco, foi causada pelo seu alto teor de N combinado (NH₄⁺ e NO₃⁻), que impede ou reduz a infecção e a formação dos nódulos. Há evidências de que o NO₂⁻ age na redução do número de cordões de infecção pela destruição do ácido indolacético (AIA), podendo ocorrer também a inativação da leghemoglobina (Siqueira e Franco, 1988). O NO₂⁻ é o primeiro produto da redução de NO₃⁻ para assimilação do N.

Na média do fator que contém as estirpes e controles o efeito de BR829 foi diminuído devido ao esterco, mas este tratamento ainda permaneceu no destaque do peso de nódulos.

Comparando várias cultivares de feijão comum à cultivar Alessa, pode-se classificar esta como material de baixa a média nodulação e FBN, considerando apenas 1 coleta e a média dos resultados obtidos, de acordo com avaliações feitas em campo por Pereira et al. (1984).

O esterco teve o mesmo efeito inibitório na nodulação da cultivar Teresópolis, no experimento 8 (tabela 7), mas não anulou-a como aconteceu com a cv. Alessa em 4

tratamentos. Isso revela maior especificidade daquela cultivar no tocante a formação e crescimento de nódulos na presença de esterco, como já havia observado Graham e Rosas (1977). Entretanto o teste de médias considerou iguais todas as médias de peso dos tratamentos que receberam esterco. Estes ainda ficaram com médias inferiores às médias dos tratamentos inoculados sem esterco e sem uréia.

Mesmo com teor de 0,14% de N total no solo usado, as médias de número e peso de nódulos foram relativamente altas, discordando de resultados obtidos na cultivar Rio Tibagi em solo com 0,13% de N (Neves e Fernandes, 1982). Mas houve concordância com maiores nodulações obtidas nesse mesmo solo por feijão caupi (*Vigna unguiculata*) cv. Vita 34 e em solo com 0,39% de N total, com feijão comum (Ssali & Keya, 1986). Isso indica claramente a influência da variedade e da espécie de feijão na nodulação, mesmo em condições aparentemente restritivas à nodulação.

A média de peso de nódulos dos tratamentos sem esterco ($348 \text{ mg.planta}^{-1}$) é comparável a médias obtidas por Graham e Rosas (1977) em cultivares de feijão de crescimento indeterminado ($240 \text{ mg.planta}^{-1}$).

A maior nodulação de 7 tratamentos com a ausência de esterco revela novamente o efeito da alta concentração de N-NH_4^+ do material. No controle N não houve maior nodulação, pois o N proveniente da ureia adicionada inibiu a nodulação

já na ausência de esterco, assim como obtiveram, nas mesmas condições de vaso, Osório e Freire (1982) com 80 ppm de N em forma de sulfato de amônio.

Não houve contribuição das misturas de estirpes para o aumento da nodulação em relação ao controle. Houve tendência a maior peso de nódulos nos tratamentos com BR322 e com a mistura BR10047+BR10048. Esses tratamentos destacaram-se no acúmulo de N total da cv. Teresópolis (tabela 11). A mistura de estirpes teve efeito sobre o maior acúmulo de N na MSPA no último experimento, como será visto mais adiante, revelando maior efetividade da FBN, segundo o conceito dado por Packovsky (1984).

5.2.2. Atividade de redução de acetileno (ARA)

No experimento 7 não houve diferenças entre médias, mas o tratamento BR829 sem esterco foi o único que teve média acima de $6 \text{ umoles.planta}^{-1}.\text{h}^{-1}$. A média dos tratamentos sem esterco foram estatisticamente superiores às médias com esterco. Este efeito pode ser decorrente das menores nodulações verificadas.

O crescimento de nódulos e a atividade da nitrogenase são os eventos mais sensíveis a níveis altos de N (Franco e Siqueira, 1988), os quais ocorreram tanto no controle N quanto nos tratamentos com esterco.

Não houve diferenciação entre médias também no

experimento 8 (cv. Alessa). Contudo, a cultivar Teresópolis apresentou valores mais altos de ARA, justificados pelo uso das raízes juntas, sem separação, o que evitou uma maior perturbação do sistema. Novamente a média de redução sem esterco destacou-se e a média que mais contribuiu foi obtida por BR10848, valor comparável as médias obtidas por Barradas e Hungria (1989) e Hungria e Neves (1986 b) com as cultivares N. Argel e Venezuela-350.

Perturbações desenvolvidas pela maior exposição de raízes (desligadas da parte aérea) à variações bruscas de temperatura, umidade, pressão parcial de CO_2 e O_2 podem ter influenciado na ausência de contraste entre as médias dos tratamentos nos dois ensaios em questão. De forma semelhante à discutida nos experimentos de vasos Leonard, esse aspecto pode ter contribuído para um aumento da variabilidade entre as repetições dos experimentos de vasos com solo.

5.2.3. Matéria Seca (MSPA) e N total acumulado na parte aérea.

A maior nodulação proporcionada pela estirpe BR829 no último ensaio com a cv. Alessa (tabela 6) não teve efeito sobre a produção de parte aérea dessa cultivar (tabela 12). O controle N sem esterco foi superior neste parâmetro, indicando um maior aproveitamento do N parcelado em forma de uréia nos tratamentos sem esterco.

A presença de esterco para a cultivar Alessa não trouxe ganhos de MSPA. Pela média dos tratamentos foi inclusive, detectada uma redução de peso da parte aérea seca. No entanto, a média de N acumulado dos tratamentos com esterco foi significativamente maior.

É necessário ressaltar que a cultivar Alessa é mais sensível ao ambiente de vasos, além disso, comparada à Teresópolis, ela tem menor crescimento de raízes devido a seu menor hábito de crescimento, e conseqüentemente menor capacidade de absorção por fluxo de massa. Isto será mais comentado na análise de matéria seca e N total de raízes. O que teria ocorrido está relacionado simultaneamente a dois processos. O volume de solo da metade inferior dos vasos com esterco levou mais tempo a ser explorado pelas raízes da cultivar. O substrato foi absorvendo quantidades cumulativas de água de irrigação tornando-se saturado, o que formou uma zona de anaerobiose, como foi observado na coleta. Haveria pouco O_2 , que é um fator limitante da nitrificação em solos (Victoria et al. 1988), para a transformação a NO_3^- . Esse mesmo ambiente favorece a denitrificação, reduzindo ainda mais o NO_3^- do solo.

O esterco tinha um alto teor de NH_4^+ (919 ppm) e pH maior que 7,0 dando possibilidade para maior formação de $NH_3(aq.)$ (Nelson, 1982). A alta concentração de amoníaco inibe a atividade biológica do solo. A oxidação do nitrito é

mais inibida que a oxidação do amônio, e o nitrito se acumula onde é aplicado o fertilizante (Magalhães, 1985, citado por Victoria et al. 1988; Franco, 1981). Esse processo é reforçado pelo excesso de umidade acumulada proporcionando um bloqueio da nitrificação.

Nestas circunstâncias teria havido absorção em excesso de N-NH_4^+ no vaso, implicando em aumento do N total acumulado. Porém, constatou-se que não houve aumento da média na produção de biomassa, como ocorreu com a cv. Teresópolis e isto foi atribuído ao excesso do amônio (Fernandes 1984, Pereira et al., 1989). A absorção de níveis tóxicos de N-NH_4^+ associados à aplicação de esterco de galinha sozinho e com N mineral foi também proposta por Pereira et al. (1989) em experimento de campo com alface.

Os valores de peso de MSPA e N total para a cv. Alessa foram superiores à faixa de peso da cultivar de feijão comum obtida em casa de vegetação (vasos) por Guss e Döbereiner (1972) e bem maiores que as MSPA obtidas em campo com a cultivar Carioca, por Saito (1982), ambas provenientes de plantas inoculadas. A acumulação de N total e MSPA do controle N foi muito semelhante à obtida no campo com uma cultivar comercial de feijão preto, após aplicação de 20 Kg N/ha por Dean e Clark (1980), ficando na média, entre 133 e 173 mg N.planta⁻¹.

Para a cultivar Teresópolis a MSPA (tabela 13) teve

maiores valores de médias do que na cultivar Alessa. O esterco contribuiu para o aumento da média geral do fator (na presença de esterco) e também para o tratamento com a estirpe BR365, que curiosamente foi a única que apresentou interação significativa com a presença de esterco, além de ter superado o controle absoluto, como ocorreu também com a mistura (BR266+BR281+BR322), AV4 e controle N com esterco.

A resposta de formação de biomassa no tratamento com BR365 e também do controle se refletiram nos menores valores de MSPA e N total do experimento. Este fato contribuiu decisivamente para que ocorressem as interações com o uso de esterco nos dois tratamentos em questão o que não ocorreu nos outros tratamentos inoculados. Assim, confirmou-se a baixa eficiência da estirpe BR365.

A cultivar Teresópolis apresentou resultados de matéria seca e N total maiores que os obtidos nas cultivares Carioca (tipo III) e Bico de Ouro (Ruschel & Saito, 1977), em solo com relação C/N de 10. A relação C/N do solo dos últimos ensaios era de 9. Os valores de %N total dos solos são praticamente iguais e contribuíram para esses resultados nas duas cultivares. Mas para a cv. Teresópolis houve maior evidência.

Tomando como referência o controle N sem esterco das duas cultivares, constatou-se a queda de MSPA e de N total acumulado (tabelas 12 e 13) quando foi adicionado o

esterco. Verificou-se, no entanto que isso não ocorreu com as percentagens de N total, cujos valores numéricos foram até maiores na presença de esterco (3,57%) do que na ausência (3,25%) - valores obtidos por cálculo direto.

Pode-se constatar que os valores de MSPA dos controles com esterco foram menores, o que teria fornecido um efeito de concentração de nitrogênio nos tecidos. Assim os tratamentos sem esterco que tiveram uma produção de biomassa mais alta sofreram o efeito oposto, ou seja, de diluição do N nos tecidos de suas plantas. As porcentagens de N total citadas confirmam esses efeitos.

É possível que tenha ocorrido um limite na absorção de N proveniente do esterco tanto para a cv. Alessa quanto para a cv. Teresópolis. Isto pode ser justificado devido a absorção de níveis tóxicos de N-NH_4^+ provenientes do esterco em condições de vaso. Como foi comentado, o alto teor de N-NH_4^+ contido neste insumo resultaria no acúmulo de N-solúvel sob a forma de aminoácidos e amidos, indicativos de toxidez potencial. Verificou-se maior queima nos bordos das falhas de plantas da cv. Teresópolis no caso do controle N com esterco.

A uréia quando adicionada ao solo inicialmente libera NH_3 (amônia), elevando ainda mais o pH juntamente com a amônia proveniente do esterco e isto inibiria ainda mais a atividade microbiana. A oxidação do nitrito é mais inibida do que a oxidação do amônio e o nitrito se acumula no ponto de

aplicação do fertilizante (uréia) reduzindo drasticamente a nitrificação (Victoria et al., 1988). No caso do tratamento em questão, as plantas não poderiam absorver mais NH_4^+ sem que houvesse o sintoma da queima das folhas, como ocorreu de maneira mais severa na cv. Teresópolis.

O esterco, teve efeito negativo no acúmulo de matéria seca da parte aérea da cv. Alessa, devido a baixa capacidade de adaptação dessa cultivar a um ambiente com um nível mais alto de esterco de aves.

5.2.4. Matéria seca (MSR) e N total acumulado nas raízes

Constata-se claramente o menor acúmulo de MSR e N total da cv. Alessa (tabela 14) em relação a Teresópolis (tabela 15) pelas médias dos tratamentos. A média de Peso de MSR com esterco para a cv. Alessa foi praticamente a metade da atingida pela cv. Teresópolis. Essa proporção também ocorreu em termos de N total acumulado, comprovando a menor capacidade de absorção e desenvolvimento das raízes da cv. Alessa, especialmente na presença do nível de esterco usado.

O esterco apesar de promover aumento da média dos tratamentos (MSR), resultou em médias iguais quando se analisou as interações dentro dos tratamentos (estirpes e controles). O efeito similar na parte aérea dentro dos tratamentos seu "start" (princípio), definido basicamente pela menor

capacidade de absorção de água e nutrientes pelo sistema radicular da cv. Alessa em comparação com a cv. Teresópolis (maior porte). Houve uma saturação da capacidade de absorção de água pelas raízes da cv. Alessa, o que proporcionou a redução do incremento do seu peso, inversamente ao que ocorreu na cv. Teresópolis. Essas limitações da cv. Alessa foram condicionadas pelas reações anaeróbicas que culminaram em putrefação de parte das raízes da cv. Alessa.

As médias de acúmulo de N total das raízes dos tratamentos inoculados também indicam um menor suprimento de N pela FBN, comparativamente à cv. Teresópolis. A nodulação e o enraizamento relativamente baixos desses tratamentos foram componentes de resultados semelhantes também na cv. Negro Argel inoculada com CNPAF146, CFN299 e C05(II) (Barradas et al. 1989).

O controle N com esterco destacou-se dos demais tratamentos, com exceção do controle, cujo enraizamento na presença de esterco aumentou a média de N total do tratamento. Na cultivar Bico de Ouro tratada com composto orgânico ocorreu o mesmo fato (Ruschel e Saito, 1977).

Os controles na presença de esterco tiveram as maiores médias de N total acumulado, verificando-se os maiores aumentos, através da aplicação do material como também observaram Ben et al. (1981) com a aplicação semelhante de 4t.ha^{-1} de esterco de aviário curtido em condições de

campo. Todos os tratamentos interagiram positivamente com a adição de esterco, aumentando o N acumulado nas raízes, exceto a mistura (BR266+BR281+BR322).

No caso do tratamento F87.1 com esterco, que teve um acúmulo de N total superior aos inoculados na presença de esterco (exceto a BR10022), não se pode afirmar que a nodulação foi responsável pelo aumento do N. A superioridade mínima de aproximadamente 3 mg de N, em relação a três dos tratamentos inoculados, foi importante no teste de médias por destacar esse tratamento. Mas foi insuficiente para causar efeito significativo na MSPA ou mesmo na MSR.

Para a cv. Teresópolis (tabela 15) o esterco teve seu efeito acentuado em relação a cv. Alessa, confirmando o melhor aproveitamento do adubo auxiliado pelo maior desenvolvimento radicular, inerente dessa cultivar.

Os tratamentos da mistura BR(266+281+322). BR322 e BR10048 interagiram com a presença de esterco e apresentaram as maiores médias de peso de raízes e N total acumulado. A nodulação desses tratamentos, porém, não se destacou no teste de médias, sendo praticamente nula no caso da estirpe BR322 que apresentou as maiores médias. Pode ter ocorrido um efeito pontual em que as raízes desses três tratamentos teriam encontrado condições de umidade mais satisfatórias resultando em seu melhor desenvolvimento.

Existe uma estreita faixa crítica de umidade para o

feijoeiro em que os fatores de crescimento podem se modificar. Isto muito provavelmente está relacionado ao seu sensível sistema radicular como sugerem Freire e Kolling (1986). Portanto é possível que pequenas variações de umidade possam resultar em diferenças maiores de peso radicular, mas que, neste caso foram insuficientes para produzir maiores médias de N total acumulado e biomassa na parte aérea.

É muito provável que a alta concentração de N-NH_4^+ , durante todo o ciclo das plantas tratadas com esterco, tenha resultado em absorção de níveis excessivos desse cátion o que implicaria no acúmulo de aminoácidos e amidas sendo estes indicadores de níveis tóxicos de N-NH_4^+ (Fernandes, 1984). Os altos níveis desses íons nas plantas teriam provavelmente, provocado um distúrbio na incorporação de proteínas e componentes estruturais da biomassa fotossinteticamente ativa das plantas. Isto interferiu no maior acúmulo de matéria seca da parte aérea, como ocorreu em alface tratada com o mesmo, material orgânico (Pereira et al., 1989). Esse fenômeno teria se intensificado no tratamento com BR322, possivelmente pelo fato da ausência de nódulos implicar em maior acúmulo de carboídratos mantidos para a massa das raízes.

No controle N sem esterco verifica-se que o acúmulo de N total das raízes não foi tão alto, pois as doses de uréia foram parceladas. E mesmo em doses menos concentradas, as plantas incorporaram mais N estrutural e N total na parte

aérea fato já relatado. A presença de esterco e uréia parcelada, voltou a mostrar o fenômeno de interrupção no acúmulo de N total e MSPA.

Para a cv. Alessa o controle N sem esterco teve média de N total da MSR, menor que o controle N com esterco, apresentando média de acúmulo de matéria seca numericamente inferior a este último (tabela 14). Isso pode indicar uma característica peculiar dessa cultivar, na presença de uma fonte de N mais rapidamente aproveitável (uréia). Nessas condições suas raízes parecem não necessitar de um maior acúmulo de N para manter a assimilação deste pelas demais partes da planta. Assim o N dispensado proveniente da uréia, é assimilado com maior intensidade pela parte aérea, propiciando maior acúmulo de N total e maior desenvolvimento desta em comparação com o mesmo tratamento na presença de esterco (tabela 12).

6. CONCLUSÕES

- A cultivar Teresópolis tem maior capacidade de nodulação e fixação biológica de N_2 que a cultivar Alessa.
- A estirpe de *Rhizobium tropici* BR829 contribuiu significativamente na nodulação da cultivar Alessa na ausência de esterco.
- O inoculante BR10047+BR10048, na ausência de esterco, contribuiu para um acúmulo de N total, na parte aérea da cv. Teresópolis, semelhante a aplicação de 170 g.vaso⁻¹ de esterco. Apresentou um considerável grau de efetividade com essa cultivar, permitindo futuros testes para avaliação da redução do uso de N mineral.
- Os controles que receberam uréia na ausência de

esterco, foram superiores no acúmulo de matéria seca e N total da parte aérea nas duas cultivares. Os tratamentos que receberam uréia e esterco juntos tiveram efeito negativo no acúmulo de N total e matéria seca da parte aérea, em relação aos que só receberam uréia. Ao que tudo indica, houve um processo crônico de toxidez por NH_3 , principalmente na cv. Teresópolis.

- A dose de esterco usada inibiu a nodulação das duas cultivares e aumentou a média do nitrogênio acumulado.

7. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- ALEXANDER, M. Research to enhance nitrogen fixation: misplaced emphasis? In Proceedings of the Workshop on Priorities in Biotechnology Research for International Development. p.208-229. BOSTID, Washington. National Academy Press. 1982.
- BARRADAS, C.A.A.; BODDEY, L.H.; HUNGRIA, M. Seleção de cultivares de feijão e estirpes de *Rhizobium* para nodulação precoce e senescência tardia de nódulos. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas v.13. n.2. p.169-179. 1989.
- BARRADAS, C.A.A. & HUNGRIA M. Seleção de estirpes do *Rhizobium* para o feijoeiro. I. Precocidade para a nodulação e fixação do nitrogênio, Turrialba. San Jose v.39. n.2. p.236-342. 1989.
- BEN, J.R.; VIEIRA, S.A.; BARTZ, H. Efeito da adubação com esterco de galinha na cultura do feijoeiro. Pesquisa agropecuária brasileira. Brasília. v.16. n.2, p.165-170, 1981.
- BEUNARD, P. & MICHELLON, R. Effect of inoculating *Phaseoli vulgaris* with two strains of *Rhizobium phaseoli*. Agronomie Tropicale. v.41, n.2, p.128-131. 1986.

- BODDEY, L.H. & HUNGRIA M. Seleção do estirpe do *Rhizobium* para o feijoeiro II. Senescência tardia de nódulos. Turrialba, San Jose, v.40, n.1. p.33-39, 1990.
- BODDEY, R.M.; BODDEY, L.H.; URQUIAGA, S. A técnica de redução de acetileno na medição da fixação biológica de nitrogênio. Itaguaí. Ed. Universidade Rural. 1990. 37p. EMBRAPA-CNPBS. Documentos. 6.
- BROM, S.; SANTOS, G.; FLORES, M.; STEPKOWSKI, T.; D-VILA, G.; ROMERO, D.; PALÁCIOS, R. Several *Rhizobium leguminosarum* bv. phaseoli plasmids participate in competition for nodule formation on *Phaseolus vulgaris* roots. In International Congress on Nitrogen Fixation, 9. Program and Abstracts, Cancun. México, resumo n.702. 1992.
- CAME, M.C.V. Anmonia Production and future developments In STEAM-ICI Science Teachers Magazine. n.7, p.2-6, 34p. Conentry-West Midlands-EUA, April. 1987.
- CASTELLANE, P.D.; VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. Feijão de vagem (*Phaseolus vulgaris* L.): cultura e produção de sementes Jaboticabal. FUNEP/FCAV-UNESP. 1988. 60 p.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). CIAT Report/Informe CIAT 1990. Cali. Colômbia. 1990. 192 p.
- CONCEIÇÃO, M.; PEREIRA, N.N.C.; DE-POLLI, H.; FRANCO A.A.; DÖBEREINER, J. Seleção de estirpes de *Rhizobium leguminosarum* para inoculação da cultura da ervilha-vagem na região serrana do Rio de Janeiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília. v.16. n.4. p.477-482. 1981.
- CRESPO, G.M.; KLUSON, F.; SCHRÖER, E.C. Nitrogen levels and *Rhizobium* inoculation and yields of native white bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico, Mayaguez. v.71, n.1. p.1-6. 1987.
- DAVIS, R.J.; HALLIDAY, J.; CADY, F.B. Preliminary data from worldwide legume inoculation trials. In Advance in Nitrogen Fixation Research. Eds. Veeger, C. and Newton, W.E. p.333. Nijhoff/Junk. The Hague, 1984.
- DEAN, J.R. & CLARK, K.W. Effect of low level nitrogen fertilization on nodulation, acetylene reduction and dry matter on fababeans and three other legumes. Canadian Journal of Plant Science. v.60. p.121-130. 1980.

- DIATLOFF, A. & SAINT-SMITH, J. Failure of navy beans to respond to inoculation with *Rhizobium* soil and Fertilizers Farnham Royal, Stough v.49 n.11. 1984.
- DÖBEREINER, J. & BALDANI, J.I. Bases científicas para uma agricultura biológica. Ciência e Cultura. São Paulo, v.34, n.7, p.869-881. 1982.
- DREYFUS, B.L.; DIEM, H.G.; DOMMERGUES Y.R. Future directions for biological nitrogen fixation research. Plant and Soil. Dordrecht. v.108. p.191-199. 1988.
- EDITORA ABRIL. As culturas do A até Z. Guia Rural Abril, São Paulo. p. 269-270. 370p. 1988.
- FERNANDES M.S. N-carriers, light and temperature influences on uptake and assimilation of nitrogen by rice seedlings. Turriaba. San Jose. v.34, n.1, p.9-19. 1984.
- FERNANDES G.C.J. & MILLER. J.C., Jr. Analysis of host genotype x Rhizobial strain interaction in N₂ fixation. Euphytica, Wageningen, v.36, p.903-911, 1987.
- FILGUEIRAS, F.A.R. Manual de Olericultura e comercialização de hortaliças. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres. 336 p., 1981.
- FRANCO, A.A. Acidity factors limiting nodulation nitrogen fixation and growth of *Phaseolus vulgaris*. Davis University of California, 1981. 144p. Tese de Doutorado.
- FRANCO A.A.; PEREIRA. J.C.; NEYRA, C.A. Seasonal patterns of nitrate reductase and nitrogenase activities in *Phaseolus vulgaris* L. Plant Physiology. Bethesda. v.63. p.421-424. 1979.
- FREIRE, J.R. & KOLLING, J. Algumas tópicos para a maximização da Fixação de N₂ pela simbiose Rhizobium/Leguminosas (1) In REUNIÃO LATINOAMERICANA DE RHIZOBIUM 12. ALAR. p.461. Campinas. 1986.
- GRAHAM, P.H. & ROSAS, R.H. Growth and development of indeterminate bush and climbing cultivars inoculated with *Rhizobium*. Journal of Agriculture Science. Cambridge, v.88, p.503-508, 1977.

- GRAHAM, P.H. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L.: A review. Field Crops Research. Amsterdam, v.4, n.2, p.93-112. 1981.
- GRAHAM, P.H.. Problems of soybean inoculation in the tropics. In World Soybean Research Conference, 3: Proceedings, ed. R. Shibbes: p.951-959. Westview Press. Boulder, 1985.
- GUSS, A. & DÖBEREINER, J. Efeito da adubação nitrogenada e da temperatura do solo na fixação do nitrogênio. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Rio de Janeiro. v.7. p.87-92. 1972.
- HABISH, H.A. & ISHAG, H. Nodulation of legumes in the Sudan III. Response of haricot bean to inoculation. Experimental Agriculture. Cambridge, v.10, p.45-50. 1974.
- HAYDOCK, K.P.; NORRIS, D.O.; MANNETJE, L. T. The relation between nitrogen percent and dry weight of inoculated legumes. Plant and Soil. Dordrecht. v.57, n.2, p.333-362. 1980.
- HENZELL, E. F. The role of biological nitrogen fixation research in solving problems in tropical agriculture. Plant and Soil. Dordrecht. v.108, n.1, p.15-21. 1988.
- HUNGRIA, M. & FRANCO, A.A. Nodule senescence in *Phaseolus vulgaris* L. Tropical Agriculture. St. Guildford. v.65, n.4, p.341-346. 1988.
- HUNGRIA, M. & NEVES, M.C.P. Ontogenia da fixação biológica de nitrogênio em *Phaseolus vulgaris*. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília. v.21, n.1, p.9-24. 1986a.
- HUNGRIA, M. & NEVES, M.C.P. Interação entre cultivares de *Phaseolus vulgaris* e estirpes de *Rhizobium* na fixação e transporte do nitrogênio. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília. v.21, n.2, p.127-140. 1986b.
- HUNGRIA, M. & NEVES, M.C.P. Cultivar and *Rhizobium* strain effect on nitrogen fixation and transport in *Phaseolus vulgaris* L. Plant and Soil. Dordrecht. v.103, p.111-121. 1987.

- HUNGRIA, M. & RUCHEL, A.P. Acetylene reduction, hydrogen evolution and nodule respiration in *Phaseolus vulgaris*. *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, v.3, n.4, p.351-358, 1989.
- HUNGRIA, M. & THOMAS, R.J. Effects of cotyledons and nitrate on the nitrogen assimilation of *Phaseolus vulgaris*. *MIRCEN Journal of Applied Microbiology Biotechnology*. Oxford, v.3, p.411-419, 1987.
- INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS. Instruções Agrícolas para o Estado de São Paulo. Campinas. 233p., 1980.
- ISHAG, R.M. Haricot beans. In Ed Damer. Sudan Hudeiba Research Station. Annual Report. p. 11-12, 1971.
- JANSEN, W. Produccion y demanda de habichuela en los países en desarrollo. Datos preliminares. In El Mejoramiento Genético de la Habichuela en la America Latina. Memórias de un Taller. Docum. nº30. CIAT, Colômbia. p.24-27, 1987. 230p.
- KEENEY, D.R. Nitrogen manegmment for maximum efficiency and minimum polution. In Stevenson, P.J. ed. 1982.
- KIPE-NOLT, J.; SYLVESTER-BRADLEY, R.; HARRIS, D.J. Results and impact of BNF research at CIAT. CIAT, Cali. Colômbia. 1986.
- LALANDE, R.; ANTOUN, H.; PARÉ T.; JUYAL, P. Effects of inoculation with strains of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* on the yield and nitrogen content of wax bean. (*Phaseolus vulgaris*). *Naturaliste Canadien*. Saint Foy. 113(4), p.337-346, 1986.
- LA RUE, T.A. & PATTERSON. T.G. How much nitrogen do legumes fix? *Advances in Agronomy* v. 34, p.15-38, 1982.
- LEAL, N.R.; COELHO, R.G.; LIBERAL, M.T. Cultura do Feijão-de-vagem. EMBRAPA-Instituto de Pesquisa Agropecuária do Cento Sul. Itaguaí. 1974. Circular nº 17, 7p.
- LEAL, N.R. Feijão de vagem (*Phaseolus vulgaris*) In Manual do Adubação para o Estado do Rio de Janeiro. Ed. Universidade Rural. Itaguaí. p.124-125, 1988, Coleção Universidade Rural. Ciências Agrárias, n.2.

- LOPES, J.C.S.; DUQUE, P.P.; PESSANHA, G.G. Efeito da inoculação na nodulação e índice de colheita em cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Turrialba. San Jose. 1992. (aceito para publicação)
- LOVATO, P.E.; PEREIRA, J.C.; VIDOR, C. Sobrevivência de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* em solo e sua relação com a ocorrência em nódulos fixação. Revista Brasileira de Ciência do Solo. Campinas. v.15, n.3. p.277-282, 1991.
- EDITORA MACHETE. Feijão adubado com inoculante de nitrogênio Revista Manchete Rural, Rio de Janeiro. n.67, p.70. novembro de 1992.
- MARTINEZ-ROMERO, E. & ROSENBLUETH, M. Increasead bean (*Phaseolus vulgaris* L.) nodulation competitiveness of genetically modified *Rhizobium* strains. Applied and Environmental Microbiology. Washington, v.56, n.8. p.2384-2388, 1990.
- MARTINEZ-ROMERO, E.; SERGOVIA, E.; MERCANIE, F.M.; FRANCO, A.A.; GRAHAM, P. and PARDO, M.A. *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena* sp. trees. International Journal of Systematic Bacteriology, Washington, v.41, n.3, p.417-426, 1991.
- MILLION, J.B. *Rhizobium*-related constrains to grain legume production in St. Kitts. West Indies. Gainesville, University of Florida. 197 p., 1987, PhD Thesis, Resumo.
- MYIASAKA, S.; FREISE, E.S.; MASCARENHAS, H.S. Modo e época de aplicação de nitrogênio na cultura do feijoeiro. Bragantia. Campinas. v.22, p.511-519, 1963.
- NELSON, D.W. Gaseous losses of nitrogen other than through denitrification. In STEVENSON, F.J. ed. Nitrogen in agricultural soils. 2. ed. Madison, ASA/CSSA/SSSA. 1982, p.327-363, (Agronomy, v.22).
- NEVES, M.C.P.; FERNANDES, M.S.; SÁ, M.F.M. Nitrogen assimilation by nodulated plants of *Phaseolus vulgaris* L. and *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília. v.17, n.5, p.689-695, 1982.
- NEVES, M.C.P. & HUNGRIA, M. The physiology of nitrogen fixation in tropical grain legumes. CRC Critical Reviews in Plant Sciences. Knoxville, v.6, n.3. p.267-321. 1987.

- NORRIS, D.O.; LOPBS, E.S.; WEBER, D.P. Incorporação de matéria orgânica ("mulching") aplicação do pellets de calcário ("pelleting") para testar estirper de *Rhizobium* em experimentos de campo sob condições tropicais. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Rio do Janeiro. v.5. p.129-146. 1970.
- OSÓRIO, C.A.S. & FREIRE, J.R.J. Experimento sobre os efeitos do nitrogênio mineral na simbiose *Phaseolus vulgaris* L./ *Rhizobium phaseoli*. Agronomia SulRiograndense. Porto Alegre. v.18, n.2, p.67-77, 1982.
- PACKOVSKY, R.S.; BAYNE, H.G.; LENFALVAY, B.G.J. Symbiotic Interactions between strains of *Rhizobium phaseoli* and cultivars of *Phaseolus Vulgaris* L. Crop Science, Madison. v.24(1), p.101-105, 1984.
- PEREIRA, N.N.C.; FENANDES, M.S.; ALMEIDA, D.L. de Adubação nitrogenada na cultura da alface, fontes de N e inibidor da nitrificação. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília, v.24, n.6, p.647-654, 1989.
- PEREIRA, P.A.A.; ARAÚJO, R.S.; ROCHA, R.E.M.; STEINMETZ, S. Capacidade de genótipos de feijoeiro de fixar N₂ atmosférico. Pesquisa agropecuária brasileira. Brasília. v.19, n.7, p.811-815, 1984.
- PEREIRA, J.C.; VIDOR, C.; LOVATO P.E.; PENTEADO A.F. Eficiência da capacidade competitiva de estirpes de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* em feijão, Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília. v.26, n.7, p.1073-1080, 1991.
- PERES, J.R.R. & SUHET, A.R. Relações de especificidade na Fixação de N₂. REUNIÃO LATINOAMERICANA DE RHIZOBIUM 12. Campinas. Brasil. 1986. Anais... Campinas. ALAR. 1986, p.445.
- RAIJ, B. van. Fertilidade do Solo e Adubação. Ed. Ceres/Potafos. Piracicaba, p.241-266, 1991. 343p.
- ROBLETO, E. A.; BEATTIE, G.A.; HANDELSMAN, J. Relationship between rhizosphere colonization and nodulation competitiveness of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*. In International Congress on Nitrogen Fixation. 9. Program and Abstracts. Cancun. México. resumo n.732, 1992.

- RODRIGUEZ BARRUECO, C.R.; GARCIA, F.S.; SUBRAMANIAN, P. La Fijacion de nitrogeno Atmosferico. Una Biotecnologia en la Producción Agraria. Salamanca. CSIC. 1988. 72p.
- ROSAS, J.C.; CASTRO, J.A.; HANDELSMAN J.M.; ROBLETO, E.A. Rapid screening of bean germplasm for preferential nodulation In International Congress on Nitrogen Fixation. 9. Program and Abstracts. Cancun, México, resumo n.813, 1992.
- RUSCHEL, A.P. & SAITO, S.M. Efeito da inoculação de *Rhizobium*. Nitrogênio e Matéria orgânica na Fixação Simbiótica de Nitrogênio em Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista Brasileira de Ciência do Solo. Campinas. v.1, p.21-24, 1977.
- SAITO, S.M.T. Avaliação em campo da capacidade de fixação simbiótica de estirpes de *Rhizobium Phaseoli*. Pesquisa Agropocuíria Brasileira. Brasília. v.17, n.7, p.999-1006. 1982.
- SCHOLLES, D.; KOLLING, J.; PEREIRA, J.S. Adubação orgânica, nitrogenada e inoculação em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). REUNIÃO LATINOAMERICANA DE RHIZOBIUM, 12, Campinas, Brasil. 1986. Anais... Campinas. ALAR. 1986. p.256-264.
- SCOTT, J.M. & PORTER, F. An analysis of the accuracy of a plant infection technique for counting Rhizobia. soil Biology and Biochemistry. Oxford, v.18, n.4, p.355-362. 1986.
- SIQUEIRA, J.O. & FRANCO, A.A. Biotecnologia do Solo. Fundamentos e Perspectivas. Brasília. MEC Ministério da Educação/ABEAS; Lavras: ESAL/FAEPE. 1988. 236p.
- SONNENBERG, P.E. Olericultura Especial. 2. As culturas de repolho, couve-flor, brócolo, couve, rabanete e rábano, beterraba, feijão de vagem, quiabo, pimentão, abóboras, melancia, chuchu e pepino. Goiânia. Universidade Federal de Goiás. 1980. 143p.
- SSALI, H. & KEYA, S.O. The effects of phosphorus and nitrogen fertilizer level on nodulation of three bean cultivars. Tropical Agriculture. St. Guildford. v.63, n.2, p.105-109. 1986.
- STEPHEN R. G. Species interactions and community ecology in low external-input agriculture. American Journal of agriculture Alternative. v.2, n.4, p.160-163 1987.

- STRALIOTO, R.; MERCANTE, P.M.; JAMES, E.K.; NEVBS, M.C.P.; FRANCO, A.A. Tolerance of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) symbiosis with *Rhizobium tropici* to heat shock. In International Congress on Nitrogen Fixation. 9. Program and Abstracts. Cancun, México resumo n.802, 1992.
- SUNDSTROM, F.J.; NEAL, J.L.; MORSE, R.D.; BENDER, D.A. The effect of delayed inoculation on nitrogen fixation by *Phaseolus vulgaris* L. grown in minesoil. Communication, in soil Science and Plant Analizes. New York. v.14. n.1, p.15-27, 1983.
- VARGAS, A.A.T.; DENARDIN, N.D.; VAN BERKUN, P. Tolerância de Rhizóbios nativos do feijoeiro a antibióticos e sua relação com fatores do acidez do solo. Revista Brasileira de Ciência do Solo. Campinas. v.16, n.4, p.331-336, 1992,
- VICTORIA, R.L.; COLAÇO W.; MAGALHÃES, A.M.T. Mineralização e volatilização de nitrogênio do solo. In A Responsabilidade Social da Ciência do Solo, Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 1988. xxxii 526p.
- VIDOR, C.; SANGOI, L.; GRIEBLER; DUTRA, L.M.C.; BROSE, E.; KOLLING, I.G.; PEREIRA, J.S. Seleção de ertirpes de *Rhizobium phaseoli* em feijão. In REUNION LATINO AMERICANA DE RHIZOBIUM, 11, Lima, Peru. 1982. Memórias... Lima. ALAR. 1982, p.14.
- VOSS, M. Fixação Biológica de nitrogênio. In FUNDAÇÃO INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. O Feijão no Paraná. Londrina-PR. Instituto Agrônômico do Paraná. p.101-114. 1989. Circular n.63.

8. APÊNDICE

Tabela 2. Peso de nódulos secos das cultivares Alessa e Teresópolis (experimento 1) na época da floração: N=3.

TRATAMENTOS	CULTIVARES		
	Alessa	Teresópolis	médias
-----mg.planta ⁻¹ -----			
AV3	0 m	0 m	0 e
AV4	66 j - l	118 e - h	92 bc
AV5	59 j - l	103 g - j	81 bc
PA1	67 j - l	199 a	133 a
PA2	41 k - m	121 d - h	81 bc
PA3	35 k - m	162 b - e	98 bc
PA4	43 k - m	169 b - e	106 ab
PA5	37 k - m	138 d - g	87 bc
PA6	0 m	0 m	0 e
BR266	0 m	0 m	0 e
BR281	60 j - l	78 h - k	69 c
BR298	74 h - k	1 i	37 d
BR304	1 m	21 lm	11 de
BR365	0 k - m	110 f - i	80 bc
BR829	42 k - m	147 c - g	94 bc
BR838	52 k - m	173 b - d	112 ab
BR860	33 k - m	122 d - h	77 bc
BR10047	36 k - m	169 b - e	102 a - c
BR10048	----	191 ab	0 e
BR322	47 k - m	159 b - f	103 a - c
CONTROLE	0 m	0 m	0 e
CONTROLE	1 m	3 m	2 e

CV% 38,92

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste Duncan (P=5%).

Tabela 3. Peso e número (n) de nódulos secos dos experimentos 2 (cv. Alessa) e 3 (cv. Teresópolis) na época da floração: N=2.

TRATAMENTOS	CULTIVARES			
	2-Alessa		3-Teresópolis	
	mg.planta ⁻¹	n. planta ⁻¹	mg.planta ⁻¹	n. planta ⁻¹
AV4	99 a-d	67 a-d	189 a	39 b-f
AV5	115 a-d	50 a-d	119 a-d	83 a
PA5	64 cd	60 a-d	74 e-h	18 d-f
BR266	14 d	9 cd	1 h	1 f
BR28	175 a-c	125 a	112 b-e	78 ab
BR298	1 d	1 d	1 h	1 f
BR304	1 d	1 d	27 f-h	8 ef
BR365	23 d	6 d	84 d-g	54 a-d
BR838	114 a-d	56 a-d	162 a-c	63 a-c
BR860	193 a	104 ab	134 a-d	62 3-c
BR10008	72 b-d	52 a-d	106 c-e	61 3-c
BR10019	1 d	1 d	8 h	18 df
BR10022	22 d	21 b-d	18 gh	43 b-e
BR10024	150 a-c	57 a-d	68 e-h	32 c-f
BR10047	65 cd	24 b-d	93 b-f	40 b-f
BR10048	72 b-d	25 b-d	170 ab	60 a-c
BR322	148 a-c	110 ab	102 b-e	62 a-c
F87.1	185 ab	99 abc	107 b-d	35 c-f
CONTROLE N	19 d	12 cd	20 gh	12 ef
CONTROLE	8 d	7 d	5 h	2 f

cv% 58,27 cv% 84,16 cv% 34,05 cv% 42,32

Médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada ensaio, não diferem entre si pelo teste Duncan (P= 5%).

Tabela 4. Peso e número de nódulos (n) secos do experimento 4 (cv.Teresópolis) na época da floração: N=4.

Tratamentos	mg.planta ⁻¹	n. planta ⁻¹
AV4+AV5	234 ab	173 ab
BR(266+ 281+365)	80 b	111 b
BR802	214 ab	159 ab
BR829	154 b	98 bc
BR838	317 a	234 a
BR10008	119 b	105 bc
BR10024	194 b	118 b
BR10047	150 b	98 bc
BR10048	060 b	80 bc
BR(10047 +10048)	211 ab	97 bc
BR322	213 ab	155 ab
CONTROLE	0 c	0 c
	cv% 40,21	cv% 55,14

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Duncan (P= 5%).

Tabela 5. Peso e número (n) de nódulos secos dos experimentos 5 (cv. Alessa) e 6 (cv. Teresópolis) na época da floração: N=4.

Tratamentos	CULTIVARES			
	5-Alessa		6-Teresópolis	
	mg.planta ⁻¹	n.planta ⁻¹	mg.planta ⁻¹	n.planta ⁻¹
AV4+AV5+ BR838			90 ab	125 a
BR1(10024+ 10048+322)			78 ab	96 a
BR829	153 a	76 a - c		
BR855	64 de	60 bc	71 ab	134 a
BR860	128 ab	79 ab		
BR10008	115 a - c	75 a - c	58 b	85 a
BR10018	15 f	14 ef		
BR10024	114 a - c	87 a		
BR10047	92 b - d	71 a - c	93 a	121 a
BR10048			79 ab	88 a
BR(10047 +10048)			79 ab	76 a
BR322	81 cd	52 cd	73 ab	113 a
F87.1	74 cd	37 de		
CONTROLE N	9 f	7 f	6 b	0 b
CONTROLE	27 ef	13 f	1 b	3 b
cv% 33,73 cv% 30,05 Cv% 30,04 cv% 41,76				

Médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada ensaio e variável, não diferem entre si pelo teste Duncan (P= 5%).

Tabela 6 - Peso e número (n) de nódulos secos do experimento 7 (cv. Alessa) na época da floração: N=4.

Tratamentos	níveis de esterco					
	0		1		1	
	mg.planta ⁻¹		médias		n.planta ⁻¹	
					médias	
BR(266+281) 322)	70 bc	8 bc	39 ab	65 bc	25 bc	45 ab
BR(860+10008 +322)	39 bc	0 bc	25 b	33 bc	0 c	21 bc
BR829	161 a	0 bc	81 a	166 a	0 c	83 a
BR10008	66 bc	0 c	33 ab	47 bc	0 c	24 bc
BR10022	46 bc	13 bc	35 ab	63 bc	32 bc	47 ab
F87.1	52 bc	1 c	26 b	65 bc	3 c	34 bc
CONTROLE N	0 c	0 c	0 c	0 c	0 c	0 c
CONTROLE	84 bc	6 c	45 ab	31 bc	0 c	25 bc
médias	78 A	3B		59 A	10 B	
cv% 93			cv% 78			

Níveis de esterco: 0- sem esterco; 1- 85 g.planta⁻¹ de esterco. Médias seguidas pela mesma letra minúscula ou maiúscula, dentro de cada variável não diferem entre si pelo teste Duncan (P= 1%).

Tabela 7. Peso e número (n) de nódulos secos do experimento 8 (cv. Teresópolis) na época da floração: N=4.

Tratamentos	níveis de esterco							
	0		1		0		1	
	mg.planta ⁻¹		médias		n. planta ⁻¹		médias	
BR(266+281+ BR322)	382 a	53 b	218 A		223 a	88 a-c	155 A	
BR(10047 + 10048)	421 a	44 b	233 A		174 a-c	18 c	96 A	
AV4	342 a	44 b	193 A		157 a-c	39 bc	98 A	
BR365	357 a	50 b	203 A		224 a	86 a-c	155 A	
BR10048	362 a	32 b	197 A		172 a-c	24 c	98 A	
BR322	507 a	1 b	254 A		256 a	1 c	128 A	
CONTROLE N	24 b	3 b	14 B		13 c	7 c	10 B	
CONTROLE	390 a	2 b	196 A		260 a	6 c	132 A	
médias	348 A	29 B			185 A	34 B		
	P=1%	cv% 45,35			P=5%	cv% 64,59		

Níveis de esterco: 0- sem esterco; 1- 85 g.planta⁻¹ de esterco. Médias seguidas pela mesma letra, minúscula (tratamentos dos fatores) ou maiúscula (médias), dentro de cada variável, não diferem entre si pelo teste Duncan.

Tabela 8. Matéria seca da parte aérea (MSPA) das cultivares Alessa e Teresópolis (experimento 1) na época da floração: N=3.

TRATAMENTOS	CULTIVARES					
	Alessa		Teresópolis		médias	
	-----g.planta ⁻¹ -----					
AV3	0,87	e-i	0,70	f-i	0,79	d-f
AV4	1,08	d-i	1,57	b-f	1,33	a-e
AV5	1,00	d-i	1,20	d-i	1,10	b-e
PA1	1,02	d-i	1,53	b-f	1,30	a-e
PA2	0,97	d-i	1,30	c-h	1,28	a-e
PA3	0,70	f-i	0,75	f-i	0,73	ef
PA4	0,97	f-i	1,12	d-i	1,05	b-e
PA5	0,88	d-i	1,80	b-d	1,34	a-e
PA6	1,07	d-i	0,85	e-i	0,96	c-f
BR266	1,02	d-i	0,97	d-i	1,00	c-f
BR281	0,87	d-i	1,12	d-i	1,00	c-f
BR298	1,07	d-i	0,82	e-i	0,95	d-f
BR304	1,08	d-i	0,75	f-i	0,92	d-f
BR365	0,85	e-i	0,58	g-i	0,72	ef
BR829	0,97	d-i	1,80	b-d	1,39	a-d
BR838	1,15	d-i	2,12	a-c	1,64	ab
BR860	1,02	d-i	1,73	b-e	1,38	a-d
BR10047	1,45	b-g	1,70	b-e	1,58	a-c
BR10048	-----		2,75	a	-----	
BR322	1,18	d-i	1,42	b-h	1,30	a-e
CONTROLE N	1,45	b-g	2,27	ab	1,86	a
CONTROLE	0,28	i	0,50	hi	0,39	f

cv% 39,82

Médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada cultivar, não diferem entre si. Letras maiúsculas indicam contraste dentro da cultivar. Duncan (P= 5%).

Tabela 9. Matéria seca da parte aérea (MSPA) dos experimentos 2 (cv. Alessa) e 3 (cv. Teresópolis) na época da floração: N=2.

TRATAMENTOS	CULTIVARES	
	2-Alessa	3-Teresópolis
-----g, planta ⁻¹ -----		
AV4	1,15 b - e	2,55 a b
AV5	1,25 a - e	1,90 a - e
PA5	0,80 de	0,72 d - f
BR266	1,10 b - e	0,47 f
BR281	1,17 b - e	1,55 b - f
BR298	0,90 c - e	0,57 f
BR304	1,00 b - e	0,92 c - f
BR365	0,65 e	1,13 c - f
BR838	1,07 b - e	1,97 a - e
BR860	1,95 a	1,55 b - f
BR10008	1,72 ab	2,25 a - c
BR10019	0,90 c - e	0,65 ef
BR10022	0,85 c - e	0,70 d - f
BR10024	1,30 a - e	1,95 a - e
BR10047	1,42 a - d	2,20 a - c
BR10048	0,80 de	2,70 ab
BR322	1,45 a - d	2,97 a
F87.1	1,60 a - c	0,57 f
CONTROLE N	1,70 ab	1,38 b - f
CONTROLE	0,55 e	0,42 f

	CV% 32,43	CV% 35,32

Médias seguidas pela mesma letra em cada ensaio, não diferem estatisticamente pelo teste Duncan 5%.

Tabela 10. Matéria seca da parte aérea (g.planta⁻¹) e N total acumulado na MSP do experimento 4 (cv. Teresópolis) na época da floração: N=4.

Tratamentos	g.planta⁻¹		mg N. planta⁻¹	
AV4+AV5	1,60	ab	34	b-d
BR(266+281+365	1,30	ab	32	b-d
BR802	1,36	ab	26	b-d
BR829	1,51	ab	31	b-d
BR838	1,84	a	19	cd
BR10008	1,54	ab	32	b-d
BR10024	1,75	a	65	a
BR10047	2,19	a	49	a-c
BR10048	2,20	a	53	ab
BR(10047+10048)	2,46	a	52	ab
BR322	2,14	a	35	b-d
CONTROLE	0,47	b	7	d

cv% 29,27 cv% 38,97
 Médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada variável, não diferam entre si pelo teste Duncan (P= 5%).

Tabela 11. Matéria seca da parte aérea (g.planta⁻¹) e N total acumulado na MSPA dos experimentos 5 (cv. Alessa) e 6 (cv. Teresópolis) na época da floração: N=4.

Tratamentos		CULTIVARES					
		5-Alessa			6-Teresópolis		
		g.planta ⁻¹	mg	N. planta ⁻¹	g.planta ⁻¹	mg	N. planta ⁻¹
AV4+AV5+							
BR838					1,61	ab	34 a
BR(10024+							
10048+322)					1,51	ab	29 ab
BR829		1,52	ab	28 ab			
BR855		0,62	d	9 d	0,80	b	15 b
BR860		1,10	bc	20 bc			
BR10008		1,65	a	33 a	1,77	ab	34 a
BR10018		0,61	d	8 d			
BR10024		1,25	ab	23 ab			
BR10047		1,35	ab	28 ab	1,95	a	38 a
BR10048					1,77	ab	37 a
BR(10047							
+10048)					1,55	ab	35 a
BR322		1,27	ab	25 ab	1,81	a	36 a
F87.1		1,32	ab	23 ab			
CONTROLE N		1,19	ab	23 ab	1,55	ab	44 a
CONTROLE		0,66	cd	11 cd	0,79	b	14 b

cv% 27,27 cv% 30,75 cv% 30,14 CV% 35,24
 Médias seguidas pela mesma letra dentro de cada ensaio e
 variável não diferem entre si pelo teste Duncan (P= 5%).

Tabela 12. Matéria seca da parte aérea (g.planta^{-1}) e N total da MSPA do experimento 7 (cv. Alessa) na época da floração; N=4.

Tratamentos		níveis de esterco									
		0					1				
		g.planta^{-1}				médias	mg N. planta^{-1}				médias
BR(266+281+322)		5,70	b	6,01	b	5,86 B	118	b-d	176	b-d	147 B
BR(860+10008+322)		5,46	b	5,04	b	5,25 B	101	d	152	b-d	126 B
BR829		5,70	b	5,20	b	5,45 B	139	b-d	193	bc	127 B
BR10008		5,25	b	5,85	b	5,55 B	99	d	155	b-d	166 B
BR10022		5,95	b	5,24	b	5,59 B	110	cd	160	b-d	135 B
F87.1		5,64	b	5,35	b	5,49 B	117	b-d	168	b-d	143 B
CONTROLE N		8,44	a	5,54	b	6,99 A	275	a	198	b	237 A
CONTROLE		5,76	b	5,00	b	5,38 B	104	d	172	b-d	138 B
médias		5,99	A	5,40	B		133	B	173	A	
		cv% 12,60					cv% 25,78				

Níveis de esterco: 0- sem esterco; 1- 85 g.planta^{-1} de esterco. Médias seguidas pela mesma letra, minúscula (tratamentos dos fatores) ou maiúscula (médias), dentro de cada variável não diferem entre si pelo teste Duncan (P=1%).

Tabela 13. Matéria seca da parte aérea (g.planta⁻¹) e N total acumulada na MSPA do experimento 8 (cv. Teresópolis) na época da floração: N=4.

Tratamentos	níveis de esterco											
	0		1		0		1					
	g.planta ⁻¹				médias		mg N. planta ⁻¹				médias	
BR(266+281+322)	6,43	b-d	7,35	b	6,89	B	177	b-e	206	b	192	B
BR(10047+ 10048)	6,39	b-d	6,71	b	6,54	B	190	b-d	188	b-d	189	B
AV4	6,30	b-d	7,50	b	6,30	B	129	c-e	205	b	177	B
BR365	5,28	d	7,58	b	6,90	B	117	d-e	209	b	163	B
BR10048	5,69	cd	6,91	bc	6,43	B	155	b-e	200	bc	177	B
BR322	6,25	b-d	6,45	b-d	6,30	B	175	b-e	165	b-e	170	B
CONTROLE N	10,85	a	7,55	b	9,20	A	315	a	225	b	270	A
CONTROLE	5,66	cd	6,75	b-d	6,21	B	105	e	220	b	162	B
médias	6,59	B	7,10	A			170	B	202	A		
	cv%		10,74				cv%		18,56			

Níveis de esterco: 0- sem esterco; 1- 85 g.planta⁻¹ de esterco. Médias seguidas pela mesma letra, minúscula (tratamentos dos fatores) ou maiúscula (médias), dentro de cada variável não diferem entre si pelo teste Duncan (P= 1%).

Tabela 14. Matéria seca de raiz (MSR.g.planta⁻¹) e N total da MSR do experimento 8 (cv.Alessa) na época da floração: N=4.

Tratamentos	níveis de esterco					
	0	1	0		1	
	g.planta ⁻¹		médias		mg N.planta ⁻¹	
BR(266+281 +BR322)	0,68	0,62	0,65 BC	8,98 e-g	9,10 e-g	9,04 C
BR(860+10008 +BR322)	0,54	0,66	0,60 C	6,25 h	11,27 cd	8,76 C
BR829	0,66	0,62	0,64 BC	8,45 e-g	11,67 c	10,63 BC
BR10008	0,77	0,68	0,72 A-C	9,48 ef	11,78 c	10,06 C
BR10022	0,64	0,83	0,74 AB	7,50 gh	13,01 bc	10,25 C
F87.1	0,66	0,85	0,76 AB	7,93 f-h	14,39 b	11,16 BC
CONTROLE N	0,58	0,73	0,65 BC	11,10 cd	17,93 a	14,89 A
CONTROLE	0,76	0,82	0,79 A	9,77 de	17,46 a	13,61 AB
médias	0,65 B		0,73 A	8,68 B		13,3 A
cv% 17,27			cv% 20,66			

Níveis de esterco: 0- sem esterco; 1- 85 g.planta⁻¹ de esterco. Médias seguidas pela mesma letra, minúscula (tratamentos dos fatores) ou maiúscula (médias), dentro de cada variável não diferem entre si pelo teste Duncan (P= 5%).

Tabela 15. Matéria seca da raiz (MSR, g.planta⁻¹) e N total acumulado na MSR do experimento 8 (cv.Teresópolis) na época da floração: N=4.

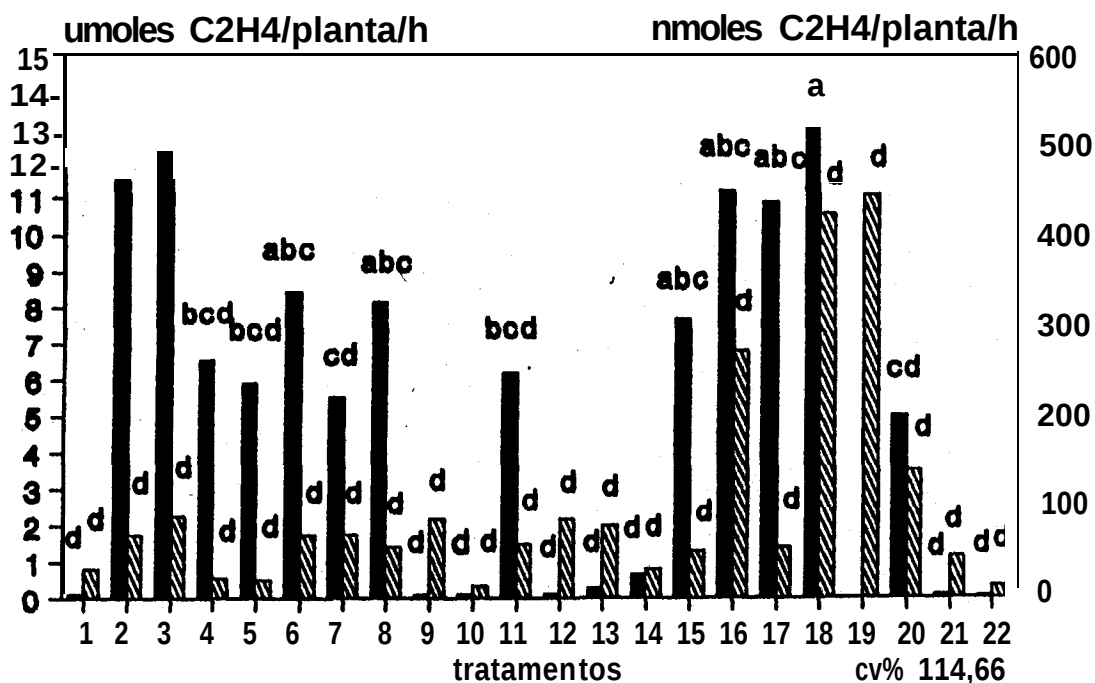
Tratamentos	níveis de esterco									
	0		1		0		1			
	g.planta ⁻¹				médias		mgN.planta ⁻¹		médias	
BR(266+281+322)	0,87	de	1,67	b	1,27	AB	18 d	34 b	26	
BR(10047 + 10048)	0,81	e	1,29	b-e	1,05	B	17 d	28 b-d	23	
AV4	1,27	b-e	1,14	c-e	1,21	AB	22 b-d	24 b-d	23	
BR365	1,00	de	1,35	b-e	1,17	AB	18 d	28 b-d	23	
BR10048	0,91	d e	1,54	b c	1,22	AB	17 d	33 b	25	
BR322	0,94	d e	2,20	a	1,57	A	16 d	46 a	31	
CONTROLE N	1,39	b-d	1,10	de	1,24	AB	31 bc	23 b-d	27	
CONTROLE	1,04	c-e	1,21	b-e	1,12	B	19 d	28 b-d	23	
médias	1,03	B	1,44	A			20 B	30 A		
cv%			19,95			cv%			22,29	

Níveis de esterco: 0- sem esterco; 1- 85 g.planta⁻¹ de esterco. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (tratamentoa dos fatores) ou maiúscula (médias), dentro de cada variável não diferem entre si pelo teste Duncan (P= 1%).

Figura 1. Atividade da nitrogenase nas raízes das cultivares Alessa e Teresópolis pelo método da redução de acetileno

N=3

■ cv. Alessa ▨ cv. Teresópolis

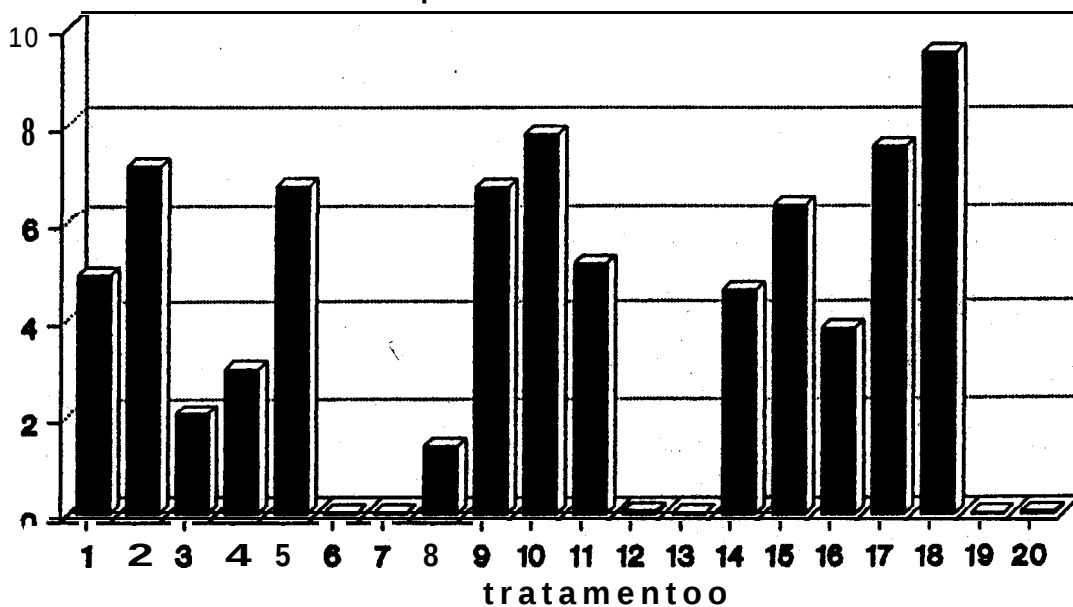


Médias com letras iguais não diferem estatisticamente. Duncan 5%

tratamentos:

1-AV3; 2-AV4; 3-AV5; 4-PA1; 5-PA2; 6-PA3; 7-PA4; 8-PA5;
9-PA6; 10-BR266; 11-BR281; 12-BR298; 13-BR304; 14-BR365;
15-BR289; 16-BR838; 17-BR860; 18-BR10047; 19-BR10048;
20-BR322; 21-CONTROLE N; 22-CONTROLE.

Figura 2. Atividade da nitrogenase nas raízes da cultivar Alessa (2) pelo método da redução de acetileno $N=2$ umoles C_2H_4 /planta/h.

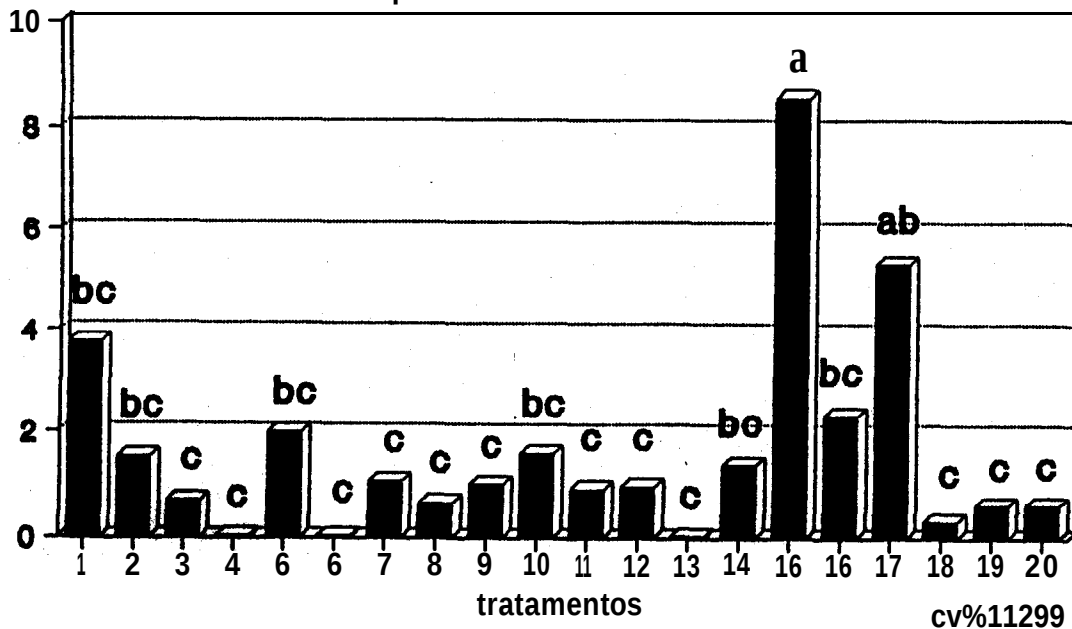


cv% 82,56

Tratamentos:

1-AV4; 2-AV5; 3-PA5; 4-BR266; 5-BR281; 6-BR298; 7-BR304;
 8- BR365; 9-BR838; 10-BR860; 11-BR10008; 12-BR10019; 13-
 BR10022; 14-BR10024; 15-BR10047; 16-BR10048; 17-BR322;
 18-F87.1; 19-CONTROLE N; 20- CONTROLE.

Figura 3. Atividade da nitrogenase nas raízes da cultivar Teresópolis (3) pelo método da redução de acetileno. N=2 umoles C₂H₄/planta/h.

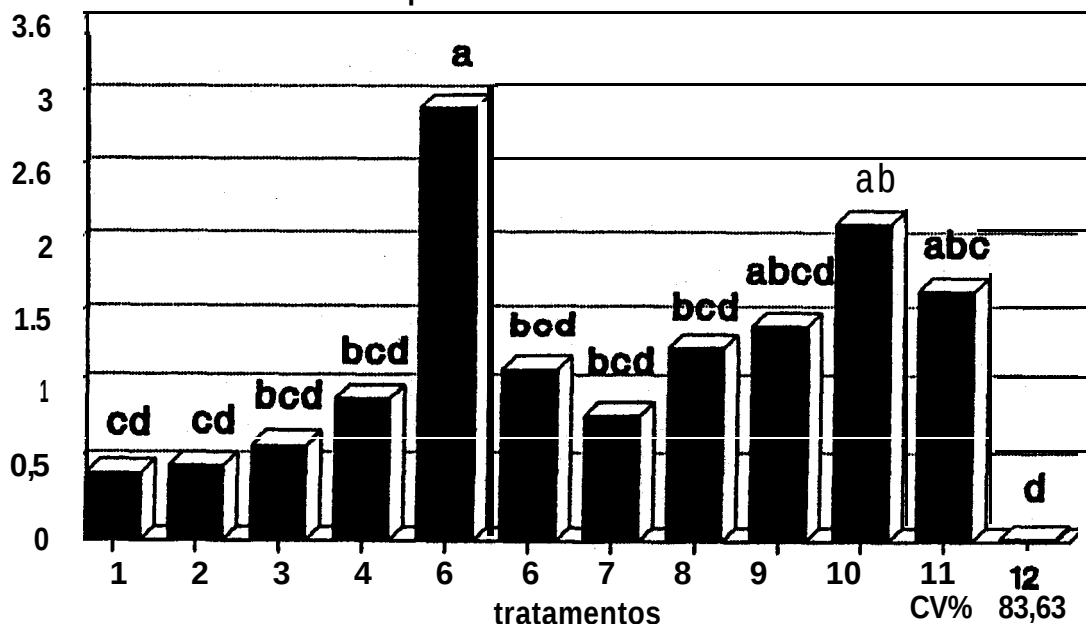


Médias com letras iguais não diferem estatisticamente Duncan 5%.

Tratamentos:

1-AV4; 2-AV5; 3-PA5; 4-BR266; 5-BR281; 6-BR298; 7-BR304; 8-BR365; 9-BR838; 10-BR860; 11-BR10008; 12-BR10019; 13-BR10022; 14-BR10024; 15-BR10047; 16-BR10048; 17-BR322; 18-F87.1; 19-CONTROLE N; 20-CONTROLE.

Figura 4. Atividade da nitrogenase nas raízes da cultivar Teresópolis (4) pelo método da redução de acetileno $N=4$ umoles C_2H_4 /planta/h.

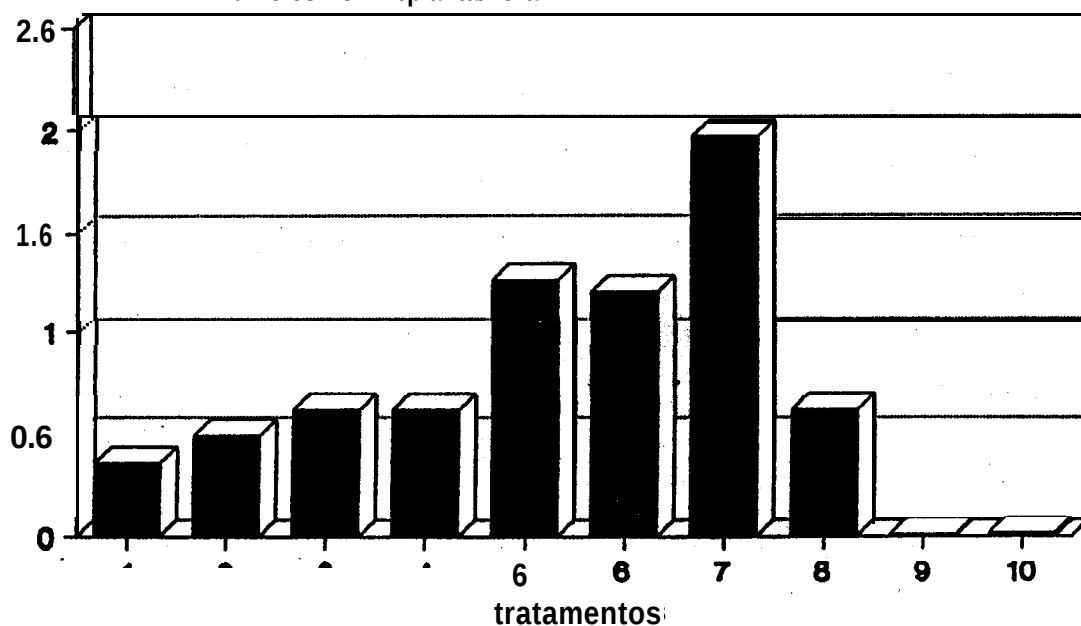


Médias com letras iguais não diferem estatisticamente Duncan 6%

Tratamentos:

1-AV4+AV5; 2-BR266+BR281; 3-BR802; 4-BR829; 5-BR838; 6-BR10008; 7-BR10024; 8-BR10047; 9-BR10048; 10-BR10047+BR10048; 11-BR322; 12-CONTROLE.

Figura 6. Atividade da nitrogenase nas raízes da cultivar Teresópolis pelo método da redução de acetileno N=4 umoles C₂H₄/planta/hora

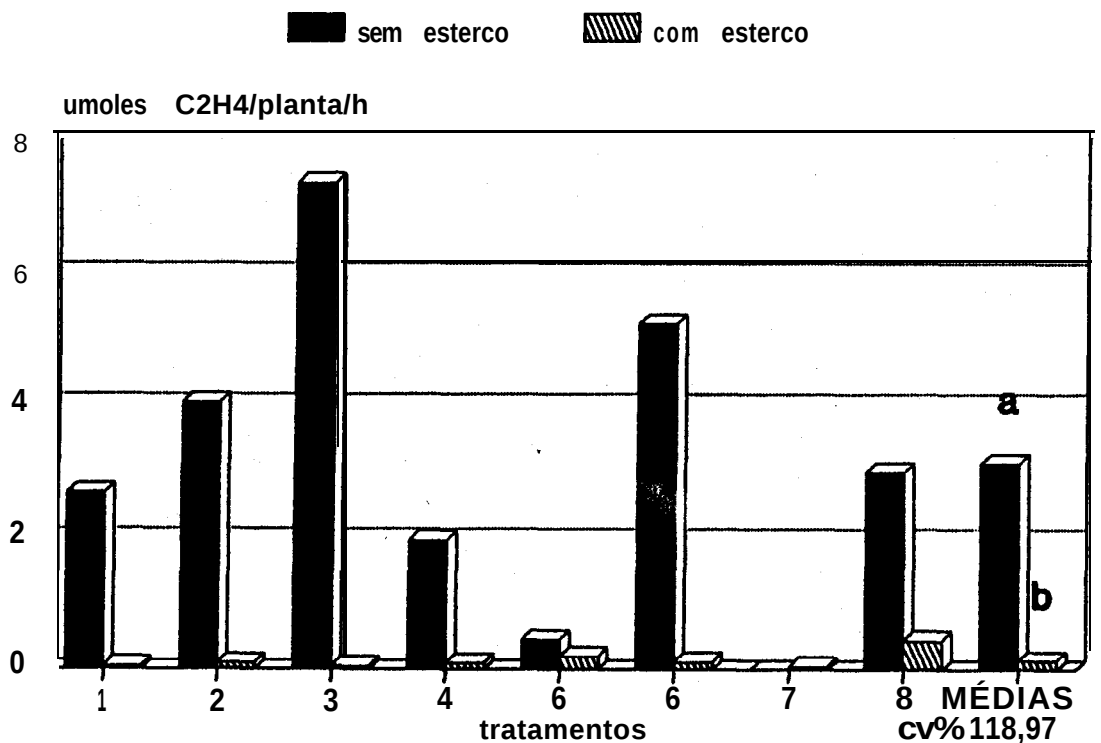


cv% 112,46

tratamantos:

**1-AV4+AV5+BR838; 2-BR855; 3-BR10008; 4-BR10024+BR10048+BR322;
5-BR10047; 6-BR10048; 7-BR10047+10048; 8-BR322; 9-CONTROLE N;
10- CONTROLE.**

Figura 6. Atividade da nitrogenase nas raízes da cultivar Alessa (7) pelo método da redução de acetileno N=4

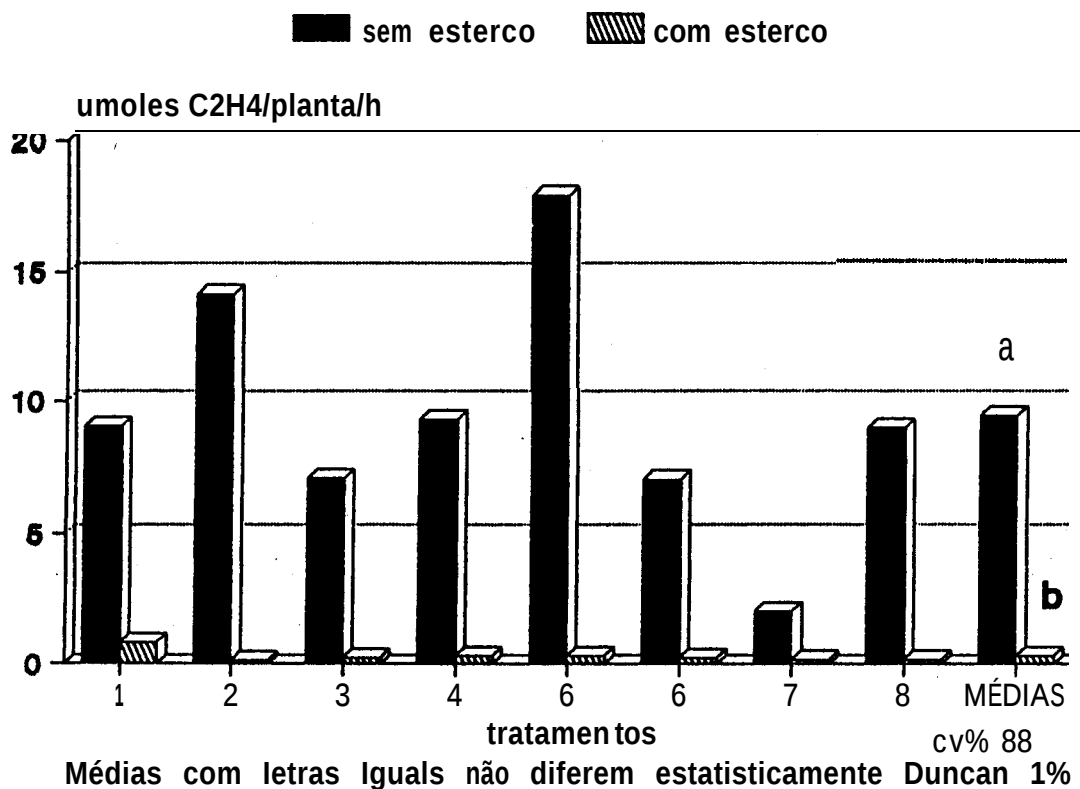


Médias com letras iguais não diferem estatisticamente Duncan 1%

Tratamentos:

1-BR266+BR281+BR322; 2-BR860+BR1008+BR320; 3-BR829; 4-BR10008; 5-BR10022; 6-F87.1; 7-CONTROLE N; 8-CONTROLE.

Figura 7. Atividade da nitrogenase nas raízes da cultivar Teresópolis (8) pelo método da redução de acetileno. N=4



Tratamentos:

1-BR266+BR281+B322; 2-BR10047+BR10048; 3-AV4; 4-BR365; 5-BR10048; 6-BR322; 7-CONTROLE ; 8-CONTROLE.

Figura 8. Médias de temperaturas extremas dos meses em que foram conduzidos os experimentos (Posto Est. Experimental da PESAGRO-ITAGUAÍ)

—•— mínimas —+— máximas

