

EFICIÊNCIA FIXADORA DE ESTIRPES DE RIZÓBIO EM DUAS CULTIVARES DE FEIJOEIRO⁽¹⁾

I. C. MENDES⁽²⁾, A. R. SUHET⁽²⁾, J. R. R. PERES⁽²⁾ & M. A. T. VARGAS⁽²⁾

RESUMO

Foram desenvolvidos, em 1985, dois experimentos de campo na área experimental do CPAC/EMBRAPA, com o objetivo de avaliar a eficiência fixadora de dezessete estirpes de rizóbio em duas cultivares de feijoeiro. Foi utilizado um solo de várzea recuperado através de drenagem, no qual a população nativa de rizóbio era muito baixa. As maiores respostas à inoculação foram observadas na cultivar CNPAF-178 com as estirpes UMR 1020, UMR 1135 e CIAT 899, as quais promoveram, em relação às plantas não inoculadas, ganhos de até 1.776 kg/ha a mais que o obtido com 100 kg/ha de N. No experimento com a 'Capixaba Precoce', as melhores estirpes foram UMR 1024, UMR 1135 e CPAC V-23, com ganhos de até 1.085 kg/ha em relação às plantas não inoculadas, mas inferiores ao obtido com a adubação nitrogenada. Os resultados demonstram os benefícios da incubação do feijoeiro com estirpes eficientes, podendo reduzir ou eliminar o uso de adubos nitrogenados nessa cultura.

Termos de indexação: várzea, feijão, fixação biológica do N₂, inoculação, estirpes de rizóbio, eficiência.

SUMMARY: NITROGEN FIXING EFFICIENCY OF RHIZOBIUM IN TWO DRY BEAN CULTIVARS

Two field experiments were carried out in 1985 at Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados/Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária in order to evaluate the N₂-fixing efficiency of 17 strains of Rhizobium spp. in two dry bean cultivars. The experimental site was a reclaimed lowland, formerly flooded soil where the rhizobial population was very low. The highest responses were observed in the CNPAF-178 cultivar with strains UMR 1020, UMR 1135 and CIAT 899, that promoted grain yield increases up to 1,776 kg/ha as compared to non-inoculated plants, that was higher than yield increases with 100 kg/ha N. In the experiment with Capixaba Precoce cultivar, the best strains were UMR 1024, UMR 1135 and CPAC V-23, with grain yield gains up to 1,085 kg/ha as compared to non-inoculated plants, but smaller than plants that received N fertilizer. These results demonstrate the importance of dry bean inoculation which may allow the reduction or elimination of N fertilizer in this crop.

Index terms: low land, dry bean, biological N₂ fixation, inoculation, strains of Rhizobium, efficiency.

⁽¹⁾ Recebido para publicação em dezembro de 1991 e aprovado em outubro de 1994.

⁽²⁾ Pesquisador do Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados/EMBRAPA, Caixa Postal 08223, CEP 73301-970 Planaltina (DF).

INTRODUÇÃO

Embora seja uma leguminosa com elevado potencial de fixação de nitrogênio (Rennie & Kemp, 1983a, b), o cultivo do feijoeiro no Brasil é efetuado, em sua grande parte, sem inoculação e com doses de nitrogênio que variam de 0 a 100 kg/ha.

A presença de estirpes de rizóbio nativas no solo (Graham, 1981; Saito, 1982); o ciclo curto da cultura (Barradas et al., 1989); a senescência precoce dos nódulos (Hungria & Franco, 1988); a grande variabilidade genética entre as cultivares (Graham & Hallyday, 1977; Graham & Rosas, 1977; Duque et al., 1985), aliados aos baixos níveis de fertilidade dos solos (Graham, 1981; Pereira & Bliss, 1989), têm sido citados como fatores limitantes à fixação biológica do nitrogênio pelo feijoeiro. Nesse contexto, é de grande importância a seleção de estirpes de rizóbio de baixa especialidade hospedeira, boa capacidade de competição pelos sítios de infecção nodular e elevada eficiência fixadora, capazes de suprir, durante todo o ciclo do feijoeiro, o nitrogênio necessário para o seu desenvolvimento e obtenção de boa produtividade.

A variabilidade na eficiência fixadora de estirpes de rizóbio e a interação entre estirpes e cultivares de feijão têm sido reportadas por diversos autores, como Saito (1982); Rennie & Kemp (1983a, b); Pacovsky et al. (1984); Hungria & Neves (1986, 1987), através da determinação de parâmetros, como taxas de atividade da nitrogenase e evolução de H₂ nos nódulos, assimilação e transporte do N₂ fixado na seiva do xilema, N total na parte aérea e nos grãos.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência fixadora de 17 estirpes de rizóbio nas cultivares Capixaba Precoce e CNPAF-178 de feijoeiro, cultivadas sob irrigação num solo de várzea.

MATERIAL E MÉTODOS

Em 1985, foram desenvolvidos dois experimentos de campo na área experimental da EMBRAPA/CPAC, Planaltina (DF), em solo glei húmico de várzea, com pH = 4,8; 18,5 mmol_cdm⁻³ de Al³⁺; 5,3 mmol_cdm⁻³ de Ca²⁺; 1,2 mmol_cdm⁻³ de Mg²⁺; 1,3 mg dm⁻³ de P e 14 mg dm⁻³ de K na camada de 0-20 cm. Utilizou-se a cultivar Capixaba Precoce para um experimento e a CNPAF-178, para outro. A adubação e a calagem foram efetuadas nas doses de 1 e 5 t/ha de calcário dolomítico (PRNT 100%), 60 e 240 kg/ha de P₂O₅ (superfosfato simples) e 40 e 100 kg/ha de K₂O (cloreto de potássio), respectivamente, para Capixaba Precoce e CNPAF-178, e 40 kg/ha de FTE ("Fritted Trace Elements") BR-12 para ambas. Os níveis de calagem e adubação foram diferenciados, tendo em vista a maior tolerância à toxicidade de alumínio da 'Capixaba Precoce' (Vargas & Graham, 1989).

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com 3 repetições e 19 tratamentos: um testemunha, um com nitrogênio e 17 com inoculação com

estirpes de *Rhizobium* spp. (Quadro 1). As parcelas possuíam uma área de 12 m² (3 x 4 m). As cultivares de feijão foram semeadas em 9/4/85, para uma densidade de 20 plantas por metro linear, com um espaçamento de 0,50 m entre linhas, sendo os experimentos irrigados por aspersão. A dose de nitrogênio foi de 100 kg/ha, na forma de uréia, e sua aplicação foi parcelada em seis vezes, espaçadas de uma semana, a partir da primeira semana após a emergência.

Quadro 1. Estirpes de *Rhizobium* spp. utilizadas nos experimentos

Identificação	Outras designações	Instituição de origem
UMR 1020	SEMIA 4049, C-18	Univ. de Minnesota
UMR 1024	Não disponível	Univ. de Minnesota
UMR 1025	Não disponível	Univ. de Minnesota
UMR 1026	Não disponível	Univ. de Minnesota
UMR 1049	Não disponível	Univ. de Minnesota
UMR 1090	Não disponível	Univ. de Minnesota
UMR 1116	Não disponível	Univ. de Minnesota
UMR 1135	SEMIA 4064, UFRGS 196	Univ. de Minnesota
UMR 1144	Não disponível	Univ. de Minnesota
UMR 1149	Não disponível	Univ. de Minnesota
UMR 1166	SEMIA 4059, CIAT 166	Univ. de Minnesota
UMR 1632	Não disponível	Univ. de Minnesota
UMR 1640	Não disponível	Univ. de Minnesota
CIAT 899	SEMIA 4077, UMR 1899	Univ. de Minnesota
CENA C-05	SEMIA 492, TAL 1382	CENA
CPAC H-21	Não disponível	CPAC/EMBRAPA
CPAC V-23	SEMIA 4048	CPAC/EMBRAPA

Os inoculantes foram produzidos com turfa esterilizada, com pH corrigido para 6,5, e possuíam concentrações de 6×10^8 a 35×10^8 células/grama (método de diluição em plantas, MPN). Para a preparação da pasta de inoculante, foi utilizada solução de sacarose (25%) na proporção de 1 kg do inoculante para 40 kg de semente.

Avaliou-se o rendimento de grãos (tomando-se 3 m² como área útil); o número de nódulos por planta aos 12 e 16 dias após a emergência (dae) da 'Capixaba Precoce' e da 'CNPAF-178' respectivamente; o número e o peso de nódulos secos por planta na fase de floração (33 e 39 dae das cultivares Capixaba Precoce e CNPAF-178 respectivamente). As avaliações de nodulação foram efetuadas na segunda linha de cada lateral das parcelas, coletando-se, ao acaso, 12 e 6 plantas por parcela na primeira e na segunda avaliação respectivamente. Os nódulos foram secos a 60°C por 72 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos quadros 2 e 3 encontram-se os dados médios de nodulação e rendimento de grãos das duas cultivares de feijoeiro. Verifica-se, através da ausência de

Quadro 2. Número e peso de nódulos e rendimento de grãos da cultivar de feijão Capixaba Precoce, em função da adubação nitrogenada e da inoculação com estirpes de rizóbio. Dados médios de três repetições⁽¹⁾

Tratamentos	Nódulos			Grãos
	12 d.a.e.	33 d.a.e.	33 d.a.e.	
—número/planta—				kg/ha
UMR 1020	41a	64a	105a	1381bcd
UMR 1024	27bc	37abc	39b-g	1661ab
UMR 1025	10de	4def	7fg	1201c-f
UMR 1026	41a	36abc	79ab	1482bcd
UMR 1049	42a	33bcd	69a-d	1111def
UMR 1090	34ab	32b-e	63a-e	1190def
UMR 1116	26bc	25b-f	52b-g	776fg
UMR 1135	42a	21c-f	35b-g	1627abc
UMR 1144	20cd	13c-f	26c-g	1062def
UMR 1149	40a	34bcd	52b-g	1234b-e
UMR 1166	44a	52ab	72abc	1417bcd
UMR 1632	26bc	7c-f	3g	871efg
UMR 1640	36ab	16c-f	31b-g	1255b-e
CIAT 899	39a	18c-f	19d-g	1431bcd
CENA C-05	34ab	25b-f	58a-f	1090def
CPAC H-21	25bc	12c-f	9fg	1354bcd
CPAC V-23	26bc	21b-f	26c-g	1653ab
Testemunha	0e	0f	0g	576g
100 kg/ha de N	0e	1e-f	3g	1894a
C.V. (%)	23	73	73	18

⁽¹⁾ Valores seguidos das mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5%.

Quadro 3. Número e peso de nódulos e rendimento de grãos da cultivar de feijão CNPAF-178, em função da adubação nitrogenada e da inoculação com estirpes de rizóbio. Dados médios de três repetições⁽¹⁾

Tratamentos	Nódulos			Grãos
	16 d.a.e.	39 d.a.e.	39 d.a.e.	
—número/planta—				kg/ha
UMR 1020	34abc	32b-e	51abc	2354ab
UMR 1024	39ab	42a-d	71abc	1257def
UMR 1025	24cde	23b-e	90ab	1681b-e
UMR 1026	39ab	27b-e	61abc	1479cde
UMR 1049	27bcd	28b-e	62abc	1902a-e
UMR 1090	38ab	58ab	74abc	1752b-e
UMR 1116	23cde	30b-e	36bc	1182ef
UMR 1135	43a	51abc	100ab	2526a
UMR 1144	24cde	25b-e	46abc	1773b-e
UMR 1149	42a	50abc	119a	1759b-e
UMR 1166	27bcd	30b-e	61abc	1702b-e
UMR 1632	20de	35a-e	68abc	1437c-f
UMR 1640	39ab	17cde	25bc	1727b-e
CIAT 899	40ab	69a	52abc	2056abc
CENA C-05	20de	25b-e	65abc	1683b-e
CPAC H-21	24cde	19cde	39bc	1571cde
CPAC V-23	12ef	10de	10c	1413c-f
Testemunha	0f	0e	0c	750f
100 kg/ha de N	0f	1e	1c	1991a-d
C.V. (%)	26	63	73	23

⁽¹⁾ Valores seguidos das mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5%.

nódulos nas plantas do tratamento testemunha, que a área na qual os experimentos foram instalados não possuia rizóbios nativos capazes de nodular o feijoeiro. Isso se deve ao fato de os solos de várzea permanecerem inundados antes de sua drenagem para o cultivo, criando um ambiente desfavorável para o rizóbio. Em contraste, solos bem drenados geralmente apresentam população nativa de rizóbio (Saito, 1982; Vargas et al., 1991).

À exceção dos tratamentos inoculados com as estirpes UMR 1025, na cultivar Capixaba Precoce, e CPAC V-23 na 'CNPAF-178', todos os tratamentos com inoculação apresentaram nodulação inicial abundante, o que é extremamente desejável em plantas de ciclo curto como o feijoeiro (Barradas et al., 1989), uma vez que a planta passa a se beneficiar da simbiose a partir dos estádios iniciais do seu desenvolvimento. As estirpes UMR 1026, UMR 1135, UMR 1149 e CIAT 899 destacaram-se entre as que mais nodularam nos dois experimentos. Além dessas, as estirpes UMR 1020, UMR 1049 e UMR 1166 na cultivar Capixaba Precoce e UMR 1024, UMR 1090 e UMR 1640 na 'CNPAF-178' também se destacaram nessa avaliação, formando em média 40 nódulos/planta. As duas cultivares apresentaram boa nodulação aos 12 dae,

embora tenham sido utilizados níveis mais baixos de fertilizantes e calcário no experimento com a 'Capixaba Precoce'. A maior influência do pH ocorre no processo de infecção dos pelos radiculares (Vargas & Graham, 1989) e formação dos nódulos (Dughi & Bottomley, 1983). Assim, o bom nível de nodulação inicial da 'Capixaba Precoce' pode ser atribuído a sua tolerância à toxicidade de alumínio.

A segunda avaliação de nodulação foi prejudicada nos dois experimentos, por um ataque de larvas do besouro *Cerotoma* spp., as quais se alimentam dos nódulos do feijoeiro. Procurou-se controlar seu ataque através do combate à sua forma adulta (vaquinha), com três pulverizações à base de inseticida sistêmico efetuadas aos 10, 18 e 31 dias após a emergência. Mesmo assim muitos nódulos foram destruídos, conforme se pode verificar nos quadros 2 e 3, onde, em alguns tratamentos inoculados, verifica-se uma redução do número de nódulos entre a primeira e a segunda avaliação de nodulação. O ataque ocorreu de forma irregular e foi a causa principal dos elevados coeficientes de variação observados nessa avaliação. As estirpes UMR 1020, UMR 1026, UMR 1049, UMR 1090, UMR 1149, UMR 1166 e CENA C-05 destacaram-se nos dois experimentos, propiciando massas nodulares

que variaram de 51 a 119 mg de nódulos/planta. Além dessas, as estirpes UMR 1024, UMR 1025, UMR 1135, UMR 1632 e CIAT 899 destacaram-se na 'CNPAF-178', com massas nodulares de 76 mg/planta, em média.

Apesar do ataque das larvas da vaquinha aos nódulos, os dados de rendimento de grãos evidenciam que houve ganhos de produção com a inoculação que variaram em função das estirpes testadas (Quadros 2 e 3).

Os níveis de produtividade dos tratamentos-testemunha, assim como dos tratamentos com adubação nitrogenada, foram semelhantes nas duas cultivares. Por outro lado, as respostas à inoculação foram maiores na 'CNPAF-178'. Isso pode ser atribuído a um maior potencial de fixação biológica ou a um favorecimento do processo simbótico pelo melhor nível de fertilidade do solo do experimento com essa cultivar.

Houve um comportamento diferenciado entre as estirpes na eficiência em fixar N₂ nas duas cultivares testadas (Quadros 2 e 3). Provavelmente essas diferenças tenham ocorrido em função dos diferentes graus de especificidade hospedeira entre as estirpes e as cultivares, após o estabelecimento da simbiose.

No experimento com a 'Capixaba Precoce' nenhuma das estirpes promoveu ganhos superiores ao tratamento com 100 kg/ha N. As estirpes que mais se destacaram foram UMR 1024, UMR 1135 e CPAC V-23, que proporcionaram ganhos médios de 1.071 kg de grãos/hectare, em relação ao tratamento testemunha, mas que não diferiram significativamente do tratamento com 100 kg/ha de N. As estirpes UMR 1116 e UMR 1632 apresentaram os menores ganhos de produção, cerca de 247 kg de grãos/hectare, em relação à testemunha. As demais estirpes proporcionaram a obtenção de ganhos que variaram de 486 a 906 kg de grãos/hectare.

No tratamento com a 'CNPAF-178', as estirpes UMR 1020, UMR 1135 e CIAT 899 não diferiram estatisticamente do tratamento com 100 kg/ha de N, mas causaram, neste experimento, um acréscimo de até 27% na produção de grãos, o que, entretanto, não foi detectável em razão da alta variabilidade experimental. Esses ganhos foram, em média, 1.562 kg de grãos/hectare, em relação ao tratamento testemunha. As estirpes UMR 1024 e UMR 1116 obtiveram os menores ganhos de produção, cerca de 469 kg/ha em relação à testemunha. Para as demais estirpes, os ganhos variaram de 663 a 1.1152 kg/ha de grãos.

A baixa eficiência fixadora da estirpe UMR 1116 também foi reportada por Vargas & Graham (1989), que verificaram que, à medida que aumentava sua participação na nodulação das cultivares Negro Argel e Preto 23, ocorria uma redução na matéria seca da parte aérea das plantas.

Os resultados do presente trabalho, obtidos em condições de campo, evidenciaram as diferenças na eficiência fixadora das estirpes de rizóbio testadas e seu comportamento diferenciado com as cultivares de feijoeiro usadas, conforme também foi reportado com

base em experimentos em casa de vegetação, por outros autores, como: Pacovsky et al. (1984); Hungria & Neves (1986, 1987); Hungria & Ruschel (1987); Vargas & Graham (1989), e em campo, como Saito (1982).

CONCLUSÕES

1. Os maiores níveis de produtividade foram baseados no cultivar CNPAF-178 com a inoculação das estirpes UMR 1020, UMR 1135 e CIAT 899, enquanto na 'Capixaba Precoce', as mais eficientes foram UMR 1024, UMR 1135 e CPAC V-23.

2. O nível de resposta observado nas cultivares Capixaba Precoce e CNPAF-178 indicou que o feijoeiro pode beneficiar-se da inoculação, a ponto de dispensar totalmente o uso de adubos nitrogenados.

AGRADECIMENTOS

Ao técnico Agrícola Osmar Teago, aos Técnicos de Laboratório Vilderete de Castro Alves, Emílio Taveira, Ademildo dos Santos, Odete Justino e Maria das Dores Silva e aos Operários Rurais Moacir de Souza e Vanderley Claudino dos Santos, pelo valioso auxílio na instalação e condução dos experimentos.

LITERATURA CITADA

- BARRADAS, C.A.; BODDEY, L.H. & HUNGRIA, M. Seleção de cultivares de feijão e estirpes de *Rhizobium* para nodulação precoce e senescência tardia dos nódulos. R. bras. Ci. Solo, Campinas, 13(2):169-179, 1989.
- DUGHRI, M.H. & BOTTOMLEY, P.J. Effect of acidity on the composition of an indigenous soil population of *Rhizobium trifoli* found in nodules of *Trifolium subterraneum* L. Appl. Environ. Microbiol., Baltimore, 46(5):1207-1213, 1983.
- DUQUE, F.F.; NEVES, M.C.P.; FRANCO, A.A.; VICTORIA, R.L. & BODDEY, R.M. The response of field grown *Phaseolus vulgaris* to *Rhizobium* inoculation and the quantification of N₂ fixation using ¹⁵N. Plant Soil, Dordrecht, 88(3):333-343, 1985.
- GRAHAM, P.H. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*: a review. Field crops res., Amsterdam, 4(2):93-112, 1981.
- GRAHAM, P.H. & HALLIDAY, J. Inoculation and nitrogen fixation in the genus *Phaseolus*. In: VINCENT, J.M., ed. Exploiting the legume-*Rhizobium* symbiosis in tropical agriculture. Hawaii, College of Tropical Agriculture, 1977. p.313-334 (Miscel. Publ., 145)
- GRAHAM, P.H. & ROSAS, J.C.C. Growth and development of indeterminate bush and climbing cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. inoculated with *Rhizobium*. J. Agric. Sci., Cambridge, 88(2):503-508, 1977.
- HUNGRIA, M. & FRANCO, A.A. Nodule senescence in *Phaseolus vulgaris*. Trop. Agric., Trinidad, 65(4):341-346, 1988.

- HUNGRIA, M. & NEVES, M.C.P. Ontogenia da fixação biológica do nitrogênio em *Phaseolus vulgaris*. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 21(7):715-730, 1986.
- HUNGRIA, M. & NEVES, M.C.P. Cultivar and *Rhizobium* strain effect on nitrogen fixation and transport in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Soil*, Dordrecht, 103(1):111-121, 1987.
- HUNGRIA, M. & RUSCHEL, A.P. Atividade da nitrogenase e evolução do hidrogênio pelos nódulos de *Phaseolus vulgaris*. *R. bras. Ci. Solo*, 11(3):269-274, 1987.
- PACOVSKY, R.S.; BAYNE, H.G. & BETHELENFAIVAY, G.J. Symbiotic interactions between strains of *Rhizobium phaseoli* and cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. *Crop Sci.*, Madison, 24(1):101-105, 1984.
- PEREIRA, P.A.A. & BLISS, F.A. Selection of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) for N₂ fixation at different levels of available phosphorus under field environmentally-controlled conditions. *Plant Soil*, Dordrecht, 115(1):75-82, 1989.
- RENNIE, R.J. & KEMP, G.A. N₂-fixation in field beans quantified by ¹⁵N isotope dilution. 1. Effect of strains of *Rhizobium phaseoli*. *Agron. J.*, Madison, 75(4):640-644, 1983a.
- RENNIE, R.J. & KEMP, G.A. N₂-fixation in field beans quantified by ¹⁵N isotope dilution. 2. Effects of cultivars of beans. *Agron. J.*, Madison, 75(4):645-649, 1983b.
- SAITO, S.M.T. Avaliação em campo da capacidade de fixação simbiótica de estirpes de *Rhizobium phaseoli*. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 17(7):999-1.006, 1982.
- VARGAS, A.A.T. & GRAHAM, P. Cultivar and pH effects on competition for nodule sites between isolates of *Rhizobium* in beans. *Plant Soil*, Dordrecht, 117(2):195-200, 1989.
- VARGAS, A.A.T.; SILVEIRA, J.S.M.; ATHAYDE, J.T. & PACOVA, B.E.V. Comparação entre genótipos de feijão quanto à capacidade nodulante e à produtividade com inoculação com rizóbios e ou adubação de N-mineral. *R. bras. Ci. Solo*, Campinas, 15(3):267-272, 1991.