

CAPACIDADE DE GENÓTIPOS DE FEIJOEIRO DE FIXAR N₂ ATMOSFÉRICO¹

PEDRO ANTONIO ARRAES PEREIRA, RICARDO SILVA ARAUJO,
RICARDO EIRAS MOREIRA DA ROCHA² e SILVIO STEINMETZ³

RESUMO - Foi conduzido em campo, programa de triagem para avaliar a potencialidade de diversos genótipos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) para fixação de N₂ atmosférico. Observou-se uma ampla variabilidade no peso da matéria seca dos nódulos e na atividade da nitrogenase (N₂ - ase) dos genótipos estudados. A atividade média da nitrogenase (N₂ - ase) foi maior na floração do que no enchimento dos grãos das plantas de feijão, o que indicou uma senescência dos nódulos nesta fase fisiológica. Mais de 40% dos genótipos estudados apresentaram uma massa nodular superior a 92,5 mg de peso da matéria seca dos nódulos/planta, e alguns alcançaram 200 mg deste peso, podendo ser comparados à massa nodular de outras leguminosas tidas como eficientes na simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium*. Os genótipos CNF 1855, CNF 1882 e Valle 18 foram os melhores, enquanto CNF 1454, Lustroso Claro, Mulatinho e CNF 402 ficaram entre os piores.

Termos para indexação: *Phaseolus vulgaris*, nodulação, variabilidade, fixação de N₂.

BEAN GENOTYPES ABILITY OF FIXING N₂

ABSTRACT - A field screening program was conducted to evaluate the ability of several bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes to fix nitrogen biologically. Dry weight of nodules and nitrogenase activity were found to be highly variable. They were, higher at the flowering stage than at the middle pod-filling stage of bean plants. These results demonstrated that a senescence of the nodules occurred at this physiological phase. On the other hand, more than 40% of the genotypes studied showed nodule masses higher than 92,5 mg pl⁻¹, (dry weight of nodules). In addition, some genotypes showed as high as 200 mg pl⁻¹, which in turn can be compared to nodule masses obtained from other leguminous plants that are know to have efficient symbioses with bacteria of the genus *Rhizobium*. CNF 1855, CNF 1882 and Valle 18 were the best nodulating genotypes while CNF 1454, Lustroso Claro, Mulatinho and CNF 402 were some of the worst ones.

Index terms: *Phaseolus vulgaris*, nodulation, variability, N₂ fixation.

INTRODUÇÃO

O processo da nodulação é controlado geneticamente pela leguminosa e pelo *Rhizobium*. Todavia, o genótipo da planta parece ter maior influência sobre o mecanismo da nodulação que a bactéria (Nutman 1969). Apesar disto, a maior concentração da pesquisa de fixação biológica de N₂ está voltada principalmente para o *Rhizobium* e suas interrelações com o meio ambiente.

Reforçando a importância do genótipo da planta, alguns trabalhos mostram a grande variabilidade na capacidade de fixação biológica de N₂ entre os genótipos da planta. A variabilidade intra-específica já foi documentada em *Medicago sativa* L. (Seetin & Barnes 1977) e trifólio (Nutman 1967) e também em leguminosas de grão, como *Glycine*

max ((L.) Merrill) (Wacek & Brill 1976), *Vicia faba* L. (El-Shebeeney et al. 1977), *Vigna unguiculata* ((L.) Walp). (Zary et al. 1978) e *Phaseolus vulgaris* L. (Westermann & Kolar 1978, Graham & Rosas 1977 e Graham 1981).

Entretanto, nenhum trabalho foi publicado até o momento, no Brasil, visando encontrar genótipos de feijão (*P. vulgaris* L.) mais promissores para fixação biológica de N₂. Assim, o objetivo principal deste estudo é mostrar a variabilidade de capacidade existente nas cultivares de feijão, de nodular em condições de cerrado.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi feita uma triagem, em campo, com 339 cultivares de *Phaseolus vulgaris* L., de diversas procedências, no plantio de inverno de 1982. O ensaio foi plantado em um Latossolo Vermelho-Escuro, na fazenda experimental do Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP), Goiânia, GO. Foi feita uma adubação básica de 80 kg/ha de P₂O₅, como superfosfato simples, 30 kg/ha de K₂O, como KCl, 20 kg/ha de MgSO₄, 100 kg/ha de calcário

¹ Aceito para publicação em 3 de maio de 1984.

² Eng^o - Agr^o, EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP), Caixa Postal 179, CEP 74000 Goiânia, GO.

³ Eng^o - Agr^o, M.Sc., EMBRAPA/CNPAP.

prontamente solúvel e 800 g/ha de molibdênio, como libdato de amônio. A triagem foi realizada nas duas condições, ou seja, com inoculação de *Rhizobium phaseoli* (inoculante misto com as estirpes SEMIA 487, 4026, 4002, 4021 e 492) e com nitrogênio (20 kg/ha no plantio e 80 kg/ha aos 25 dias após a emergência das plantas). A atividade da nitrogenase e o peso dos nódulos secos foram determinados no início da floração e no início do enchimento dos grãos. As parcelas tinham duas linhas de 4 m, sem repetição. Em uma das linhas, foram feitas as análises citadas acima, e na outra, fez-se a estimativa da produção de grãos.

A atividade da nitrogenase foi estimada pelo método de redução de acetileno em um cromatógrafo a gás, com ionização de chama.

O peso da matéria seca dos nódulos foi determinado depois de o material permanecer em estufa por 72 horas, a 75°C, com temperatura controlada. A temperatura do solo foi medida diariamente, às 15 h, através de dois conjuntos de geotermômetros instalados a três profundidades (5, 10 e 15 cm). A amplitude da temperatura foi considerada entre os valores extremos registrados no mês. A temperatura do ar foi medida através de um higrôtermômetro, modelo Bendix 594, instalado no interior de um abrigo termométrico, a 40 cm do solo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se ampla variabilidade no peso da matéria seca dos nódulos e na atividade da nitrogenase das cultivares estudadas (Tabela 1). Constatou-se que existem certas cultivares com maior capacidade de nodulação precoce. Todavia, não houve correlação entre essa nodulação precoce e maior nodulação na floração. Assim, em campo, as plantas que nodulam precocemente não são necessariamente aquelas que apresentarão maior nodulação durante todo o ciclo da cultura.

Outro fato é que a atividade média da N_2 -ase foi maior na floração do que no início do enchimento dos grãos, o que indica uma senescência dos nódulos nessa fase fisiológica. Essa diminuição foi de até 300%.

Wilson (1931) já havia relatado essa senescência precoce dos nódulos, indicando que esse fenômeno está diretamente relacionado com o teor de umidade do solo. Entretanto, no presente estudo, foi feito um controle sistemático da umidade do solo, através de irrigações semanais. Outro parâmetro medido diariamente foi a temperatura do solo e do ar (Tabelas 2 e 3). Verificou-se que as temperaturas, tanto do ar como do solo, man-

tiveram-se em níveis ideais para o perfeito desempenho dos nódulos. Assim, acredita-se que a senescência precoce dos nódulos e sua perda de eficiência sejam devidas à competição da planta por energia para a formação dos frutos, quando os fatores ambientais não são limitantes. Reforçando essa hipótese, se o peso do fruto é reduzido (Lawn & Brun 1974, Benthlenfalvay et al. 1978), ou se as plantas mantêm-se em estado vegetativo (Roponen & Virtanen 1968), a atividade da N_2 -ase mantém-se muito mais alta que nas plantas que entram no período reprodutivo. Ainda Graham & Halliday (1977) mostraram que existem cultivares, com a mesma massa radicular, que diferem muito na disponibilidade de carboidratos para os nódulos. Embora, na maioria dos genótipos, a atividade da N_2 -ase tenha diminuído no começo do enchimento das vagens, alguns não apresentaram redução precoce de nódulos. Portanto, os dados mostram que existe bastante variabilidade para esse caráter, o que pode propiciar uma seleção de plantas que não apresentem o fenômeno.

Mais de 40% das cultivares de feijão (*P. vulgaris* L.) apresentaram massa nodular superior a 92,5 mg de peso de matéria seca de nódulos/planta (Fig. 1); alguns desses nódulos alcançaram o peso de 200 mg, podendo ser comparados à massa nodular de outras leguminosas tidas como eficientes na simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium*.

Determinou-se uma correlação positiva ($R = 0,65^{**}$) entre o peso da matéria seca dos nódulos e a atividade da nitrogenase no início da floração, o que não foi verificado no início do enchimento dos grãos.

Os genótipos foram agrupados em bons, médios e ruins, em relação à nodulação apresentada nas duas épocas de amostragem, e ainda caracterizados quanto à existência, ou não, de resposta à adubação nitrogenada, na produção de grãos, conforme se segue (os números entre parênteses referem-se ao total de genótipos em cada grupo e são apresentados os três ou quatro melhores dentre eles):

Genótipos bons: apresentaram mais de 100 mg de nódulos secos por planta nas duas amostragens (25):

a. sem resposta à adubação nitrogenada (3):
CNF 1855, CNF 1882, Valle 18;

TABELA 1. Variabilidade de 339 genótipos de *Phaseolus vulgaris* L. em alguns parâmetros relacionados com a sua capacidade de fixação biológica de N₂ atmosférico.

	Início da floração		Começo enchimento de grãos	
	Média*	Intervalo de variação	Média*	Intervalo de variação
Peso da matéria seca dos nódulos (mg/planta)	75,4	7,5 - 263,5	33,5	0 - 225,0
Atividade N ₂ - ase ($\mu\text{Mol C}_2\text{H}_4/\text{planta/hora}$)	6,2	0,3 - 28,8	2,1	0 - 11,1

* Média de 339 amostras

TABELA 2. Temperatura do solo (°C) durante o ciclo de uma cultura de feijão de inverno, a três profundidades (5 cm, 10 cm e 15 cm), no inverno de 1982.

Temperatura* (°C)	Profundidade (cm)	Junho	Julho	Agosto
Média	5	26,6	23,9	22,1
	10	26,8	23,0	21,7
	15	22,9	21,3	21,2
Amplitude de temp. mensal	5	24,3 - 29,0	20,5 - 28,2	18,9 - 24,7
	10	24,5 - 28,7	19,4 - 28,1	19,1 - 24,0
	15	21,4 - 24,7	19,3 - 22,9	19,9 - 24,0

* Cada valor é a média de duas repetições.

TABELA 3. Variação da temperatura do ar (°C) durante o ciclo de uma cultura de feijão de inverno, a 40 cm do solo*.

Temperatura		Junho	Julho	Agosto
Média	(9 h)	20,1	21,9	22,2
	(15 h)	30,5	28,5	28,6
	(21 h)	21,8	19,3	21,1
Máxima Absoluta	(9 h)	25,0	24,0	26,0
	(15 h)	32,0	31,0	33,0
	(21 h)	23,5	21,5	24,5
Mínima Absoluta	(9 h)	14,5	19,0	17,0
	(15 h)	29,0	23,5	26,5
	(21 h)	19,0	16,5	18,5
Variação da temp. média diurna e noturna (\bar{T} 15 h - \bar{T} 6 h)		15,1	14,6	12,2

*-Inverno de 1982.

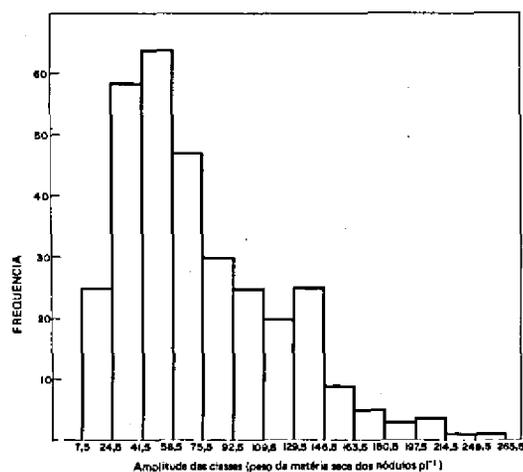
FIG. 1. Variabilidade do peso da matéria seca dos nódulos em 339 variedades de feijão (*P. vulgaris* L.), no estágio de início da floração.

TABELA 4. Variabilidade na produção de grãos de 339 cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. inoculadas com *Rhizobium phaseoli* ou com adubação nitrogenada*.

Produção (g/planta)	Com nitrogênio		<i>Rhizobium phaseoli</i>	
	Média	Intervalo de variação	Média	Intervalo de variação
	13,0	5,2 - 27,0	9,0	2,0 - 23,0

* 20 kg/ha de N no plantio e 80 kg/ha de N em cobertura, aos 25 dias após a emergência das plantas.

- b. com resposta à adubação nitrogenada (22):
CNF 1887, CNF 1859, CNF 1873, IPA 1.
Genótipos médios: com mais de 100 mg de nódulos secos por planta em uma das amostragens.
Na floração (61):
- a. sem resposta à adubação nitrogenada (8):
Internacional 78180, CNF 1875, CNF 480, CNF 1878;
- b. com resposta à adubação nitrogenada (53):
Carioca, CNF 80, Feijão Vagem Roxa, CNF 1861.
- No enchimento de grãos (26):
- a. sem resposta à adubação nitrogenada (10):
CNF 1894, CNF 1913, Cubano XX, 3930 Col 1913 1B8.
- b. com resposta à adubação nitrogenada (16):
CNF 1057, Vagem Italiana Sete Lagoas, Mulatinho Arroxeado Vagem Roxa, CNF 1070.
- Genótipos ruins: apresentaram menos de 100 mg de nódulos secos por planta nas duas amostragens (205):
- a. sem resposta à adubação nitrogenada (32):
CNF 19, CNF 176, CNF 1911, CNF 241;
- b. com resposta à adubação nitrogenada (173):
CNF 1454, Lustroso Claro, Mulatinho, CNF 402.

CONCLUSÕES

A constatação de que existem genótipos de feijoeiros capazes de apresentar boas massas nodulares, bem como mostrar produções similares às obtidas com o uso de adubo nitrogenado (Tabela 4) abre uma nova perspectiva na solução da nutri-

ção nitrogenada do feijoeiro através da fixação biológica de N_2 . De posse dessas informações, podem ser selecionados genótipos que sejam usados em programas de melhoramento, visando incorporar a capacidade de nodular e fixar N_2 atmosférico às variedades comerciais de feijão.

REFERÊNCIAS

- BETHLENFALVAY, G.J.; ABU-SHAKRA, S.S.; FISHBECK, K. & PHILLIPS, D.A. The effects of source-sink manipulations on nitrogen fixation in peas. *Physiol. Plant.*, 43:31-4, 1978.
- EL-SHEBEENY, M.N.; LAWES, D.A. & MYTTON, L.R. Symbiotic in *Vicia faba*. 2. Genetic variation in *Vicia faba*. *Euphytica*, 26:377-83, 1977.
- GRAHAM, P.H. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L.; a review. *Fld. Crops Res.*, 4:93-112, 1981.
- GRAHAM, P.H. & HALLIDAY, J. Inoculation and nitrogen fixation in the genus *Phaseolus*. In: VICENT, S.M., ed. Exploiting the legume; *Rhizobium* symbiosis in tropical agriculture. s.l., Univ. Hawaii Coll. Trop. Agric., 1977. p.313-34. (Misc. Publ. Univ. Hawaii Coll. Trop. Agric., 145).
- GRAHAM, P.H. & ROSAS, J.C. Growth and development of indeterminate bush and climbing cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. inoculated with *Rhizobium*. *J. Agric. Sci., Camb.* 88:503-8, 1977.
- LAWN, R.J. & BRUN, W.A. Symbiotic nitrogen fixation in soybeans, Effect of Photosynthetic Source Sink Manipulations. *Crop Sci.*, 14:11-6, 1974.
- NUTMAN, P.S. Genetics of symbiosis and nitrogen fixation in legumes. *Proc. Roy. Soc. London, Ser. B.*, 127:417-37, 1969.
- NUTMAN, P.S. Varietal differences in the nodulation of subterranean clover. *Aust. J. Agri. Res.*, 18:381-425, 1967.
- ROPONEN, I.E. & VIRTANEN, A.I. The effect of prevention of flowering on the vegetative growth of inoculated pea plants. *Physiol. Plant.*, 21:655-67, 1968.

- SEETIN, M.W. & BARNES, D.K. Variation among alfalfa genotypes for rate of acetylene reduction. *Crop Sci.*, 17:783-7, 1977.
- WACEK, T.J. & BRILL, W.J. Simple, rapid assay for screening nitrogen fixing ability in soybean. *Crop Sci.*, 16:519-23, 1976.
- WESTERMANN, D.T. & KOLAR, J.J. Symbiotic N₂ (C₂H₂) fixation by *Phaseolus vulgaris* L. *Crop Sci.*, 18:986-90, 1978.
- WILSON, J.K. The shedding of nodules by beans. *J. Am. Soc. Agron.*, 2:670-4, 1931.
- ZARY, K.W.; MILLER, J.C.; WEAVER, R.W. & BARNES, L.W. Intraspecific variability for nitrogen fixation in southern pea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 103:806-8, 1978.