

# CAPACIDADE DE GENÓTIPOS DE FEIJOEIRO DE FIXAR N<sub>2</sub> ATMOSFÉRICO<sup>1</sup>

PEDRO ANTONIO ARRAES PEREIRA, RICARDO SILVA ARAUJO,  
RICARDO EIRAS MOREIRA DA ROCHA<sup>2</sup> e SILVIO STEINMETZ<sup>3</sup>

**RESUMO** - Foi conduzido em campo, programa de triagem para avaliar a potencialidade de diversos genótipos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) para fixação de N<sub>2</sub> atmosférico. Observou-se uma ampla variabilidade no peso da matéria seca dos nódulos e na atividade da nitrogenase (N<sub>2</sub> - ase) dos genótipos estudados. A atividade média da nitrogenase (N<sub>2</sub> - 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 N<sub>2</sub>.

## BEAN GENOTYPES ABILITY OF FIXING N<sub>2</sub>

**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<sup>-1</sup>, (dry weight of nodules). In addition, some genotypes showed as high as 200 mg pl<sup>-1</sup>, 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, N<sub>2</sub> 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 N<sub>2</sub> 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 N<sub>2</sub> 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 N<sub>2</sub>. 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 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, como superfosfato simples, 30 kg/ha de K<sub>2</sub>O, como KCl, 20 kg/ha de MgSO<sub>4</sub>, 100 kg/ha de calcário

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 3 de maio de 1984.

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

<sup>3</sup> Eng<sup>o</sup> - Agr<sup>o</sup>, 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 N<sub>2</sub> 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 <sub>2</sub> - ase (μMol C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> /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 (T̄ 15 h - T̄ 6 h)		15,1	14,6	12,2

\*-Inverno de 1982.

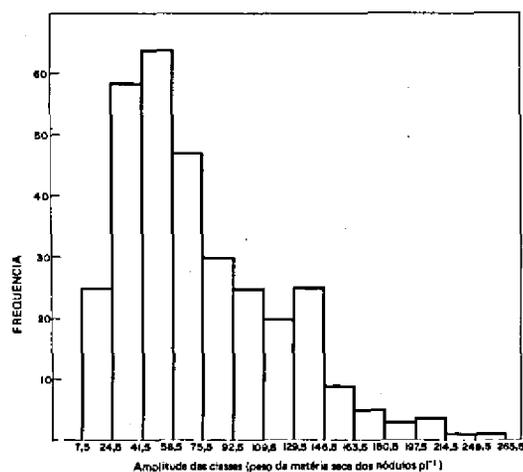
FIG. 1. Variabilidade do peso da matéria seca dos nódulos em 339 variedades de feijão (*P. vulgaris* L.), no estágio de início da floração.

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 Arroxeadado 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 N<sub>2</sub> (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) 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.