

VARIABILIDADE ENTRE LINHAS DE FORMAS SILVESTRES DE *PHASEOLUS VULGARIS* QUANTO A CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS COM A FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N₂¹

JESUÍNO ANDRIOLO², PEDRO ANTÔNIO ARRAES PEREIRA³ e ROBERT A. HENSON⁴

RESUMO - Foi avaliada, em casa de vegetação, a capacidade de 50 linhas de formas silvestres de *Phaseolus vulgaris* L. quanto a características relacionadas com a fixação biológica de N₂ e com o crescimento de planta. Houve variabilidade em todas as características avaliadas. Os feijões silvestres tendem a formar um grande número de pequenos nódulos, a acumular menor quantidade de matéria seca na raiz e parte aérea e a de apresentar menos nitrogênio-total e fixado na parte aérea do que as formas cultivadas. Entretanto, as linhagens de feijão silvestre G 12895, Sel 8-5a, G 12932 e Sel 8-5b alcançaram valores semelhantes, e até superiores, nas características relacionadas com a fixação de N₂, aos obtidos pela cv. Puebla 152, considerada como de alto potencial de fixação de N₂.

Termos para indexação: *Rhizobium*, N-total, número de nódulos.

VARIABILITY AMONG WILD COMMON BEAN LINES FOR TRAITS RELATED WITH N₂ FIXATION CAPACITY

ABSTRACT - The N₂ fixation capacity of 50 wild bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lines were evaluated in the greenhouse. Plants were sampled 50 days after planting and results indicated high variability among wild bean lines for most traits evaluated. The wild bean showed higher number of small nodules than the cultivated bean. Even though most wild bean lines accumulated less dry matter than the cultivated genotypes in the root and aerial parts, four wild bean lines, G 12895, Sel 8-5a, G 12932 and Sel 8-5b, performed as well as or even better on traits related with N₂ fixation than Puebla 152, considered a good N₂ fixer.

Index terms: *Rhizobium*, total-N, nodules number.

INTRODUÇÃO

O sucesso da simbiose rizóbio-feijão depende da compatibilidade genética de ambos, sendo que o hospedeiro desempenha papel preponderante (Pereira & Bliss, 1987). Muitos trabalhos têm dado ênfase à seleção de estirpes de superior ca-

pacidade fixadora, e poucos têm voltado a atenção para o genótipo do hospedeiro. Dentre estes últimos trabalhos, a maioria utilizou feijões cultivados (Graham & Halliday, 1977; Graham & Rosas, 1977; Pereira et al., 1984; Pereira & Bliss, 1989), tendo sido pouco utilizadas as formas silvestres do feijão, tanto em relação ao aumento da capacidade fixadora de N₂ quanto à melhoria de outras características agrônômicas.

A eficiência da fixação simbiótica de N₂ pode ser expressa em termos de crescimento e nutrição da planta, e está relacionada com diferenças genéticas entre estirpes de *Rhizobium* e entre hospedeiros compatíveis (Pacovsky et al., 1984). Já é conhecida a grande variabilidade genética inter e intra-específica nas espécies leguminosas quanto à capacidade de formar simbiose com *Rhizobium*. No caso do feijão, esta variabilidade reflete-se

¹ Aceito para publicação em 3 de janeiro de 1994

Extraído da tese apresentada à Univ. Fed. de Goiás (UFG) pelo primeiro autor para a obtenção do grau de Mestre em Biologia.

² Biól., M.Sc., Prof.-Adj., Dep. Biol. Geral, Inst. de Ciências Biol., UFG, Caixa Postal 131, CEP 74001-970 Goiânia, GO.

³ Eng.-Agr., Ph.D., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP), Caixa Postal 179, CEP 74001-970 Goiânia, GO.

⁴ Eng.-Agr., Ph.D., INIAP, Est. Exp. Sta. Catarina, Casilla Postal 340 - Quito, Ecuador.

em diferenças no peso, número e eficiência dos nódulos, na atividade da nitrogenase e no N-total acumulado pela planta.

A capacidade de fixar N_2 atmosférico é um caráter quantitativo e de herança complexa. Diferenças na habilidade fixadora, tanto da estirpe quanto da eficiência da simbiose com o hospedeiro, parecem ter distribuição normal, com frequência baixa de genótipos altamente eficientes (Mytton, 1984).

Estudos sobre a variabilidade em relação a marcadores genéticos, especialmente à faseolina, entre formas silvestres e cultivadas, parecem indicar que estas últimas são originadas de alguns poucos representantes das formas silvestres em dois ou três centros de domesticação na América do Sul e Central (Gepts, 1984; Pereira, 1990). Esta e outras diferenças permitem sugerir que o isolamento geográfico levou à formação de diferentes complexos gênicos na Meso-América e nos Andes, como possível resposta adaptativa às condições climáticas e edáficas particulares. As cultivares comerciais originadas de diferentes regiões mostram diferentes adaptações ambientais, e as semelhanças intra-classes podem ser explicadas pela estreita base genética das cultivares comerciais (Ghaderi et al., 1982; Gepts, 1984; Gepts & Bliss, 1986; Gepts et al., 1988).

O processo de domesticação e seleção de genótipos de feijão quanto a determinadas características comerciais desejáveis e seu cultivo em terras férteis podem ter sido acompanhados de um processo inconsciente de seleção negativa da capacidade fixadora de N_2 (Mytton, 1984).

Tendo em vista que as formas cultivadas de feijão apresentam respostas inconsistentes à inoculação, procurou-se conhecer o potencial das formas selvagens em relação à fixação biológica de N_2 e ao crescimento da planta, para possível introdução de genes favoráveis que governam essas características nas formas cultivadas de feijão, nos programas de melhoramento.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em casa de vegetação da Fazenda Capivara, do Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP), município de Goianira, GO,

em vasos contendo areia lavada e vermiculita, na proporção de 2:1, arranjados em blocos ao acaso, com quatro repetições.

Cinquenta linhagens de formas silvestres foram comparadas com as cvs. Puebla 152 e Rio Tibagi, de elevada e baixa capacidade fixadora, respectivamente, além da soja não-nodulante cv. Clay.

Foram plantadas cinco sementes por vaso, previamente escarificadas e com a superfície esterilizada com $HgCl_2$ a 0,1%, como descrito por Somasegaran & Hoben (1985). Após a emergência, foi feito o desbaste, deixando-se duas plântulas por vaso. A inoculação com *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* foi feita por ocasião do plantio, diretamente nos vasos, com 1,5 ml de inoculante líquido contendo $2,6 \times 10^6$ bactérias/ml e constituído por uma mistura de três estirpes, sendo uma de reconhecida capacidade fixadora (CIAT 899) e duas nativas e isoladas de feijão em solo de cerrado em Goiás (IS 24 e IS 35). Uma alíquota de 100 ml/vaso de solução nutritiva (Summerfield et al., 1977) isenta de N, foi aplicada semanalmente, e a capacidade de campo do substrato foi mantida com irrigações periódicas.

As plantas foram colhidas 50 dias após o plantio, quando as formas silvestres encontravam-se no estágio R_3 (pleno florescimento) e os controles no estágio R_5 (enchimento de vagens), de acordo com a classificação de Lebaron (1974). Os parâmetros avaliados foram: peso de matéria seca da raiz, da parte aérea e dos nódulos; número e tamanho de nódulos; N-total e fixado na parte aérea. A quantificação do N-total foi feita pelo método Kjeldahl (Bremner, 1965; Cataldo et al., 1974). O N fixado foi calculado pela subtração do valor do N-total da soja não-nodulante do valor total de cada linha de feijão (Pereira et al., 1989).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito altamente significativo das linhas de feijão sobre todas as características estudadas (Tabela 1). Os resultados indicam a existência de ampla variabilidade nas características relacionadas com a nodulação e com o crescimento da planta, entre as formas silvestres.

De modo geral, as formas silvestres tendem a produzir menor peso de matéria seca da raiz e da parte aérea do que as formas cultivadas Puebla 152 e Rio Tibagi (Fig. 1 e 2). O peso da raiz seca variou de 0,219 a 0,842 g, com média de 0,443 g. O sistema radicular da maioria das formas silvestres é do tipo fasciculado, com raízes longas, del-

TABELA 1. Quadrados médios para algumas características de 50 linhas de feijão selvagem, dois controles Puebla 152 e Rio Tibagi, crescidos em casa de vegetação. Goiás, Brasil, 1988.

Fator	GL	Quadrados médios ¹						
		PRS	PPAS	PNS	NN ²	PMN	N-Total	N-Fixado
Genótipos	52	0,099***	1,127***	5621,739***	36,799***	0,113***	866,273***	2953,915***
Erro	156	0,012	0,215	1359,274	5,745	0,015	209,016	209,016
C.V. (%)	-	24,29	14,68	24,62	15,28	20,11	16,20	28,62

¹PRS = peso de raiz seca (g/planta).

PPAS = peso da parte aérea seco (g/planta).

PNS = peso de nódulos seco (mg/planta).

NN = número de nódulos/planta.

PMN = peso médio de nódulos.

N-Total = nitrogênio total da parte aérea (m/planta).

N-Fixado = nitrogênio fixado na parte aérea (mg/planta).

²Valores transformados para $(x + 1)^{1/2}$

*** = Significante ao nível de 0,001.

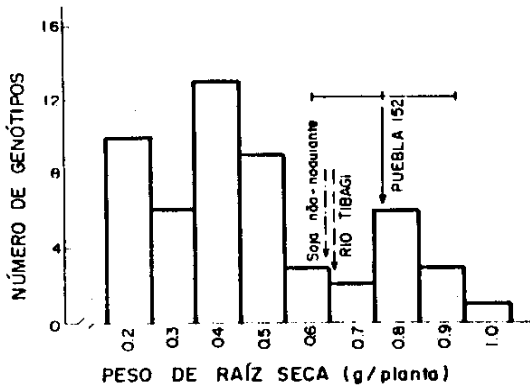


FIG. 1. Distribuição do peso da raiz seca de 50 linhas de feijão selvagem e dos controles Puebla 152, Rio Tibagi e soja não-nodulante, em casa-de-vegetação.

A barra horizontal indica mais ou menos um desvio-padrão.

gadas, pouco fibrosas, com pouca diferenciação da raiz principal e mais numerosas. As formas cultivadas apresentam raiz principal bem desenvolvida, raízes secundárias mais grossas, curtas e fibrosas. Estas diferenças morfológicas da raiz podem refletir diferentes capacidades de exploração, extração de nutrientes e de água do solo, entre os dois grupos de feijão. O fato de algumas li-

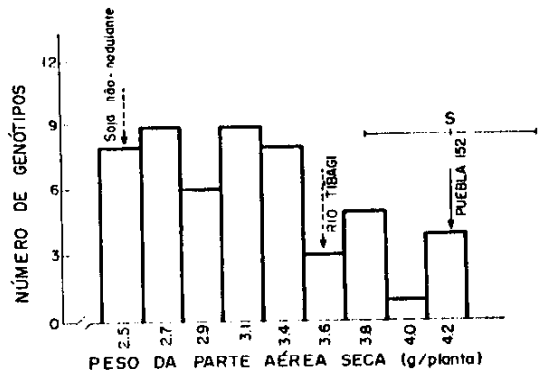


FIG. 2. Distribuição do peso da parte aérea seca de 50 linhas de feijão selvagem e dos controles Puebla 152, Rio Tibagi e soja não-nodulante, em casa-de-vegetação.

A barra horizontal indica mais ou menos um desvio-padrão.

nhagens das formas selvagens terem apresentado peso da raiz seca superior ao das cultivadas poderia servir para a obtenção de cultivares melhor adaptadas a solos de baixa fertilidade e/ou no incremento da resistência ao estresse hídrico (Fig. 1).

O peso da matéria seca da parte aérea também mostrou tendência de ser menor entre as linhas

silvestres (Fig. 2). O intervalo da variação foi de 2,38 e 4,30 g, com média de 3,16 g. Deve-se destacar que as formas silvestres utilizadas apresentam crescimento indeterminado e hábito trepador, ao passo que as cultivadas têm crescimento indeterminado e hábito arbustivo. Graham & Rosas (1977) já haviam observado não haver diferenças no desenvolvimento do sistema radicular entre formas cultivadas de hábito trepador e arbustivo, mas encontraram diferenças no acúmulo de matéria seca na parte aérea, com os feijões trepadores apresentando menor massa no estágio de florescimento. Os resultados obtidos parecem indicar que os feijões trepadores tendem a apresentar menor desenvolvimento tanto do sistema radicular quanto da parte aérea em relação às formas cultivadas, embora as diferenças encontradas no peso de raiz seca sejam menores que as da parte aérea. Mesmo assim, quatro linhagens de feijão silvestre apresentaram peso de raiz seca superior ao do Puebla 152. É importante ressaltar que os feijões silvestres são materiais pouco adaptados ao ambiente em que foram testados.

Quanto à nodulação, algumas linhagens silvestres mostraram formação de grande número de pequenos nódulos, com peso total inferior ao dos cultivados. O número de nódulos variou de 105 a

472, com média de 258 nódulos/planta (Fig. 3), resultado semelhante ao obtido por Pereira & Bliss (1989). O número de nódulos fornece apenas uma indicação da maior ou menor susceptibilidade do hospedeiro à infecção da raiz pelo *Rhizobium* (Graham, 1981). O intervalo de variação de 105 a 472 nódulos/planta e a forma da distribuição de frequência indicam a existência de grande variabilidade e o caráter quantitativo do número de nódulos, o que reforça a possibilidade de existência de mecanismos de controle genético por parte do hospedeiro, conferindo-lhe certa independência em relação ao genótipo do *Rhizobium* (Date, 1982; Hardarson & Zapata, 1984; Mytton, 1984; Pereira & Bliss, 1987; Vance et al., 1988).

A massa nodular variou de 74,75 a 218,50 mg, com média de 149,74 mg (Fig. 4), superior aos valores obtidos por Pereira et al. (1984), com formas cultivadas, e inferior aos valores obtidos por Pereira & Bliss (1989), em famílias de feijão melhoradas em relação à fixação de N_2 . Por outro lado, o peso médio do nódulo variou de 0,36 a 1,14 mg, com média de 0,61 mg (Fig. 5). A tendência das formas silvestres de apresentar maior número de nódulos com menor tamanho pode significar maior susceptibilidade ao rizóbio, de

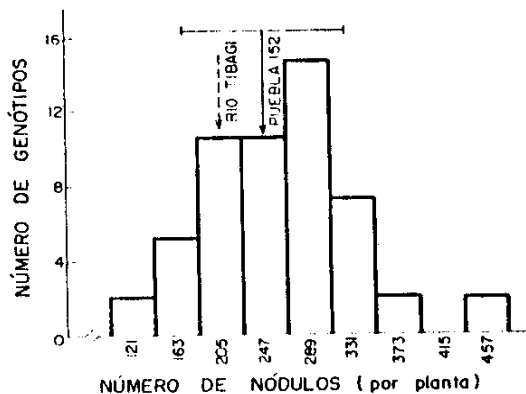


FIG. 3. Distribuição do número de nódulos por planta em 50 linhas de feijão silvestre e dos controles Puebla 152 e Rio Tibagi, em casa-de-vegetação.

A barra horizontal indica mais ou menos um desvio-padrão.

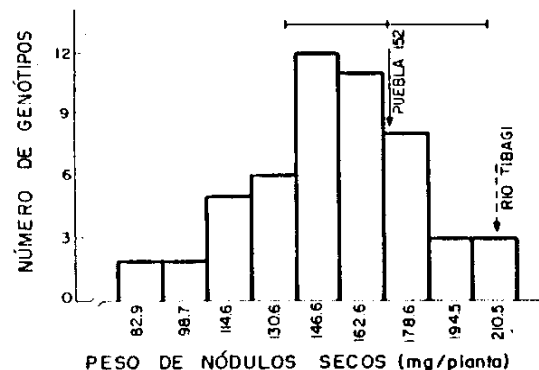


FIG. 4. Distribuição do peso de nódulos secos em 50 linhas de feijão silvestre e dos controles Puebla 152 e Rio Tibagi, em casa-de-vegetação.

A barra horizontal indica mais ou menos um desvio-padrão.

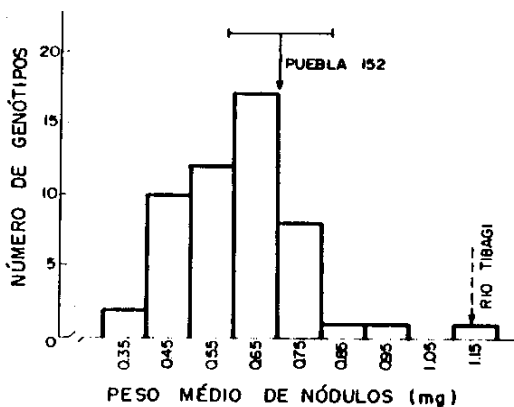


FIG. 5. Distribuição do peso médio de nódulos de 50 linhas de feijão silvestre e dos controles Puebla 152 e Rio Tibagi, em casa-de-vegetação.

A barra horizontal indica mais ou menos um desvio-padrão.

forma semelhante à relação que existe entre o número de infecções (pústulas) e a susceptibilidade do hospedeiro a uma doença específica (Buddenhagen, 1981). Não foram encontradas evidências que pudessem indicar que muitos nódulos pequenos sejam menos eficientes do que a mesma massa de nódulos grandes, o que concorda com os achados de Hungria & Neves (1986) e Piha & Munns (1986).

O N-total e o fixado na parte aérea também apresentaram grande variabilidade (Fig. 6 e 7). O N-total variou de 57,72 a 121,52, com média de 89,22 mg/planta. O N-fixado apresentou intervalo de variação de 19,01 a 82,81 mg/planta e média de 50,51 mg/planta. Algumas linhagens silvestres - G 12895, Sel 8-5a, G 121932 e Sel 8-5b - acumularam tanto N quanto o Puebla 152, considerado de elevada capacidade fixadora, o que indica a existência de genótipos com potencial para utilização em programas de melhoramento das cultivares comerciais, tanto da fixação de N_2 quanto de outras características de interesse agrônomo.

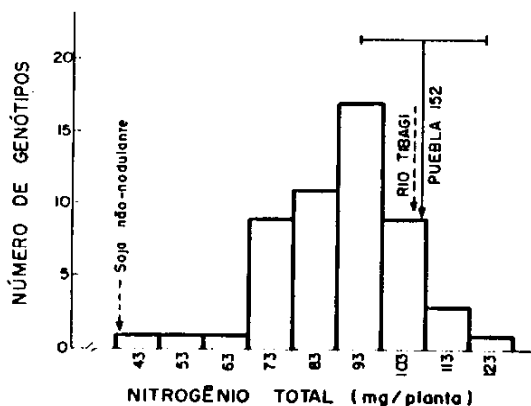


FIG. 6. Distribuição do nitrogênio total da parte aérea em 50 linhas de feijão silvestre e dos controles Puebla 152, Rio Tibagi e soja não-nodulante, em casa-de-vegetação.

A barra horizontal indica mais ou menos um desvio-padrão.

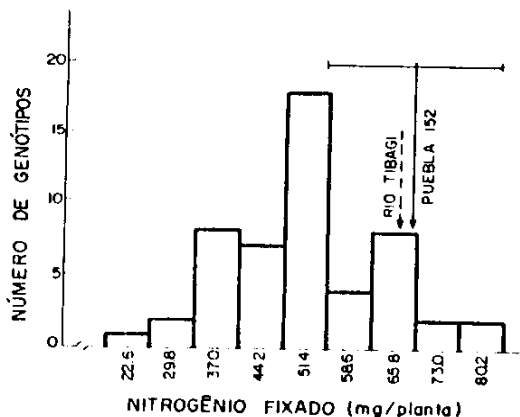


FIG. 7. Distribuição do nitrogênio fixado em 50 linhas de feijão silvestre e dos controles Puebla 152 e Rio Tibagi, em casa-de-vegetação. A barra horizontal indica mais ou menos um desvio-padrão.

CONCLUSÕES

1. Existe grande variabilidade entre as características relacionadas com a nodulação e com o crescimento da planta, nas linhagens silvestres.

2. Diversas formas silvestres formaram, no seu sistema radicular, grande número de pequenos nódulos, com peso total inferior ao das formas cultivadas.

3. De maneira geral, os feijões silvestres de hábito trepador e crescimento indeterminado apresentam menor desenvolvimento da parte aérea, em relação às cultivares arbustivas. Entretanto, quatro materiais selvagens apresentaram o mesmo acúmulo de matéria seca que a cultivar Puebla 152.

4. As linhagens silvestres G 12895, Sel 8-5 e G 12932 fixaram tanto N_2 quanto o Puebla 152, em condições controladas.

REFERÊNCIAS

- BREMNER, J.M. Total nitrogen. In: BLACK, C.A. (Ed.). *Methods of soil analysis: chemical and microbiological properties*. Madison: American Society of Agronomy, 1965. p.1149-1178.
- BUDDENHAGEN, I.W. Conceptual and practical considerations when breeding for tolerance or resistance. In: STAPLES, R.C.; TOENNIENSEN, G.H. *Plant disease control: resistance and susceptibility*. New York: John Wiley, 1981. p.221-234.
- CATALDO, D.A.; SCHRADER, L.E.; YOUNGS, V.L. Analysis by digestion and colorimetric assay of total nitrogen in plant tissues high in nitrate. *Crop Science*, Madison, v.14, n.6, p.854-856, 1974.
- DATE, R.A. Collection, isolation, characterization and conservation of *Rhizobium*. In: VINCENT, J.M. (Ed.). *Nitrogen fixation in legumes*. Sidney: Academic Press, 1982. p.95-109.
- GEPTS, P.L. *Nutritional and evolutionary implications of phaseolin seed protein variability in common bean (Phaseolus vulgaris L.)*. Madison: University of Wisconsin, 1984. 209p. Tese de Doutorado.
- GEPTS, P.; BLISS, F.A. Phaseolin variability among wild and cultivated common beans (*Phaseolus vulgaris*) from Colombia. *Economic Botany*, New York, v.40, n.4, p.469-478, 1986.
- GEPTS, P.L.; KMIECIK, K.; PEREIRA, P.; BLISS, F.A. Dissemination pathways of common bean phaseolin electrophoretic variability. I. The Americas. *Economic Botany*, New York, v.42, n.1, p.73-85, 1988.
- GHADERI, A.; ADAMS, M.W.; SAETTLER, A.W. Environmental response patterns in commercial classes of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, New York, v.63, p.17-22, 1982.
- GRAHAM, P.H.; HALLIDAY, J. Inoculation and nitrogen fixation in the genus *Phaseolus*. In: VICENT, J.M.; WHITNEY, A.; BOSHA, J. (Ed.). *Exploiting the legume-Rhizobium symbiosis in tropical agriculture*. Hawaii: University of Hawaii, 1977. p.313-334.
- GRAHAM, P.H.; ROSAS, J.C. Growth and development of indeterminate bush and climbing cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. inoculated with *Rhizobium*. *Journal of Agricultural Science*, Cambridge, v.88, p.503-508, 1977.
- GRAHAM, T.L. Recognition in *Rhizobium*-legumes symbiosis. In: BOURNE, G.H.; DANIELLI, J.F. (Eds.). *International review of cytology*. New York: Academic Press, 1981. p.127-148.
- HARDARSON, G.; ZAPATA, F. Effect of plant genotype and nitrogen fertilizer on symbiotic nitrogen fixation by soybean cultivars. *Plant and Soil*, v.82, p.397-405, 1984.
- HUNGRIA, M.; NEVES, M.C.P. Interação entre cultivares de *Phaseolus vulgaris* e estirpes de *Rhizobium* na fixação de transporte do nitrogênio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.21, n.2, p.127-140, 1986.
- LEBARON, M.J. A description of developmental stages of the common bean plant. Moscow: University of Idaho/College of Agriculture, 1974. p.1-2. (Current Information Series, 228).
- MYTTON, L.R. Developing a breeding strategy to exploit quantitative variation in symbiotic nitrogen fixation. *Plant and soil*, v.82, p.329-335, 1984.
- PACOVSKY, R.S.; BAYNE, H.G.; BETHLEN-FALVAY, G.J. Symbiotic interactions between strains of *Rhizobium phaseoli* and cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. *Crop Science*, v.24, n.1, p.101-115, 1984.
- PEREIRA, P.A.A. Evidências de domesticação e disseminação do feijoeiro comum e conseqüências

- para o melhoramento genético da espécie. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.25, n.1, p.19-23, 1990.
- PEREIRA, P.A.A.; ARAÚJO, R.S.; ROCHA, R.E.M. de; STEINMETZ, S. Capacidade de genótipos de feijoeiro fixar N_2 atmosférico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, n.7, p.811-815, 1984.
- PEREIRA, P.A.A.; BLISS, F.A. Nitrogen fixation and plant growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) at different levels of phosphorus availability. **Plant and soil**, v.104, p.79-84, 1987.
- PEREIRA, P.A.A.; BLISS, F.A. Selection of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) for N_2 fixation at different levels of available phosphorus under field and environmentally-controlled conditions. **Plant and Soil**, v.115, p.75-82, 1989.
- PEREIRA, P.A.A.; BURRIS, R.H.; BLISS, F.A. ^{15}N -determined dinitrogen fixation potential of genetically diverse bean lines (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant and Soil**, v.120, p.171-179, 1989.
- PIHA, M.I.; MUNNS, D.N. Nitrogen fixation potential of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) compared with other grain legumes under controlled conditions. **Plant and soil**, v.98, p.169-182, 1986.
- SOMASEGARAN, P.; HOBEN, H.J. **Methods in legume-Rhizobium technology**. Hawaii: University of Hawaii, 1985. 367p.
- SUMMERFIELD, R.S.; HUXLEY, P.A.; MICHIN, F.R. Plant husbandry and management techniques for growing grain legumes under simulated tropical conditions in controlled environments. **Experimental Agriculture**, v.13, p.81-92, 1977.
- VANCE, C.P.; EGLI, M.A.; GRIFFITH, S.M.; MILLER, S.S. Plant regulated aspects of nodulation and N_2 fixation. **Plant, Cell and Environment**, v.11, n.5, p.413-427, 1988.