

## EFEITO DO EXTRATO DE NÓDULOS SOBRE O CRESCIMENTO DO FEIJÃO-CAUPI EM CASA DE VEGETAÇÃO

Marcelo de Sousa Pinheiro<sup>1</sup>; Mayara Gama da Cunha<sup>2</sup>; Suzana Cláudia Silveira Martins<sup>3</sup>; Claudia Miranda Martins<sup>4</sup>; Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini<sup>5</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade Federal do Ceará; <sup>(2)</sup>Universidade Federal do Ceará <sup>(3)</sup> Universidade Federal do Ceará, suzanac@ufc.br;

<sup>(4)</sup>Universidade Federal do Ceará, claudia.miranda.martins@gmail.com; <sup>(5)</sup>Universidade Federal do Ceará, candida\_bertini@yahoo.com.br

### Introdução

O feijão-caupi assim como outras leguminosas tem grande importância como fonte nutricional e de subsistência para pequenos produtores principalmente nas regiões norte e nordeste do Brasil, assim como em grande parte do continente Africano. Nigéria, Niger e Burquina Faso são os principais produtores mundiais.

Boa parte das regiões onde o feijão-caupi é cultivado apresentam solos pobres em nutrientes, sobretudo de nitrogênio (COSTA *et al.*, 2014). Tal problema pode ser sanado com adoção da adubação química nitrogenada, entretanto, essa prática aumenta muito os custos de produção inviabilizando sua adoção por pequenos produtores e além do que aplicação de adubos nitrogenados em excesso pode contribuir para a poluição dos solos e lençol freático (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Por isso a adoção da fixação biológica de nitrogênio (FBN) com instrumento de fornecimento do nutriente as plantas tem se mostrado bastante promissor, tendo em vista sua eficiência e baixo custo de aplicação e entre os sistemas biológicos é considerado o de maior expressão econômica (FRANCO *et al.*, 2002). Além disso, a leguminosa se adapta bem a condições edafoclimáticas adversas, pois é tolerante a estresses: hídrico, térmico e salino capaz, portanto de se beneficiar da FBN quando associada aos rizóbios (MARTINS; NEVES; RUMJANEK, 1997).

O sucesso no estabelecimento da interação simbiótica é coordenado por ambas às partes, planta e bactéria e resulta na formação da estrutura do nódulo na raiz da planta que contém milhões de bacteroides fixadores de nitrogênio (TERPOLILLI; HOOD; POOLE, 2012). Outro fator que contribui para a adoção da fixação biológica de nitrogênio por pequenos produtores é que esse processo é regulado pela necessidade nutricional das espécies fixadoras de nitrogênio, tendo em vista que a enzima responsável pela redução do N<sub>2</sub> é inativada na presença de amônio no solo, isto é a FBN só é bem sucedida em solos degradados ou nutricionalmente pobres que quase não apresentam fontes de nitrogênio (MOREIRA *et al.*, 2010; RUDNICK *et al.*, 1997).

Apesar de ser bastante utilizada, principalmente na cultura da soja, a inoculação com estirpes de rizóbios no caupi não é tão difundida e muitas vezes não chega a pequenos e médios produtores, ficando restrita aos grandes empresários do agronegócio, e os pequenos produtores que mais necessitam de alternativas baratas para aumentarem suas produções ficam sem o acesso a tais tecnologias.

Para que a FBN seja eficiente é necessário que a densidade do inóculo seja alta, garantindo uma boa competitividade pelos sítios de ligação nas raízes dos hospedeiros (KRASOVA-WADE *et al.*, 2006). Em geral os solos brasileiros possuem elevadas populações de rizóbios nativos que interferem no estabelecimento dos inoculantes comerciais, pois são competitivos durante o processo

de estabelecimento nas raízes (LEITE *et al.*, 2009). Então devido a tal capacidade, vislumbra-se a possibilidade de explorar o potencial de estirpes nativas de rizóbios já presente no solo como inoculantes de baixo custo por meio do aumento de sua densidade sobre as sementes cultivadas.

Dessa forma, objetivou-se testar em condições de casa de vegetação a eficiência de extrato de nódulos como inoculante de baixo custo.

## **Material e Métodos**

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará durante os meses de abril a maio de 2016, foram cultivados em vasos de 2 litros. Para o plantio foi utilizada a cultivar de feijão-caupi Setentão. Os vasos foram preenchidos com solo proveniente de áreas de cultivo da Fazenda Experimental vale do Curu, localizada no município de Pentecoste (CE). A coleta do solo se deu pela retirada de amostras de solo na profundidade de 0-20 cm, todo o solo coletado foi homogeneizado e levado a casa de vegetação para preencher os vasos.

Parte do solo coletado foi colocada em vasos e em seguida foi plantada sementes de feijão-caupi para obtenção de nódulos. Após 35 dias do plantio os nódulos foram coletados para preparar o extrato de nódulos, onde os mesmos eram macerados e recebiam adição de água, sendo então homogeneizados. O processo de inoculação consiste em adicionar as sementes de feijão-caupi dentro de um recipiente contendo o inoculante, no qual deve permanecer por 10 minutos, em seguida são retiradas e acondicionadas sobre papel para remover o excesso de umidade das sementes e depois acondicionadas em sacos plásticos até o momento do plantio. O plantio deve ser realizado em no máximo 24 horas após a inoculação das sementes, sob o risco de perda acentuada de qualidade das sementes. Para o extrato de nódulos foi adotada duas concentrações de inoculante, 10% e 20%, estes valores eram obtidos pela proporção do volume de nódulos antes de serem macerados em relação ao volume das sementes a serem inoculadas.

Depois de inoculadas as sementes foram plantadas em número de três por vaso, após oito dias do plantio houve o desbaste permanecendo uma planta por vaso e depois de 35 dias foi feita a coleta. O delineamento adotado foi blocos casualizados com seis repetições e cinco tratamentos, o primeiro, extrato de nódulos a 10% (ENOD10), extrato de nódulos a 20% (ENOD20), inoculante comercial (IC), mais adubação química (TN) com fonte de nitrogênio (sulfato de amônio) mais testemunha absoluta isenta de nitrogênio e inoculantes (T0).

A avaliação fisiológica das plantas foi feita usando analisador portátil de fotossíntese Li 6400 XT (LI-COR, Lincoln, Nebraska, EUA) onde foram coletados dados de Fotossíntese (A), Condutância estomática (Cond), concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (Ci) e Taxa respiratória (Tr). As demais variáveis foram: altura de planta (ALT), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR) e número de nódulos (NN). Os dados foram submetidos à análise de variância e depois foi realizado o teste de comparação de médias.

## **Resultados e Discussão**

Foi observado que as plantas tiveram uma altura média de 23,90 cm, e as plantas inoculadas com o extrato de nódulos a 10% e 20% mantiveram uma média semelhante com 23,58 cm e 23,75

cm respectivamente, enquanto que as plantas que receberam o inoculante comercial tiveram uma média de 25,67 cm (Tabela 01).

Para todas as variáveis, o tratamento nitrogenado apresentou médias inferiores aos demais, isso provavelmente foi em decorrência da fonte de N (sulfato de amônio parcelada em duas aplicações) empregada na adubação química que pode ter causado alguma desordem fisiológica nas plantas.

A MSPA não apresentou diferenças estatísticas entre os tratamentos, porém é observada uma tendência de aumento se comparado os dois extratos de nódulos, sendo que o ENOD10 foi de 0,69 g planta<sup>-1</sup>, já o ENOD20 foi de 0,89 g planta<sup>-1</sup>. A testemunha nitrogenada também não diferiu dos demais tratamentos, possivelmente em decorrência da presença de nutrientes no substrato usado e também em decorrência do curto período de avaliação, espera-se que maiores diferenças sejam perceptíveis caso o período de condução seja maior.

Para MSR apenas o tratamento nitrogenado foi significativamente inferior, os valores tiveram uma amplitude indo de 0,12 g no TN até 0,38 g com o ENOD20.

O número de nódulos assim como a MSPA não diferiu entre os tratamentos, possivelmente o curto período do experimento também tenha influenciado essa resposta. Como consequência disso a média da variável foi de aproximadamente sete nódulos. Quando é feita aplicação de suspensão de células concentradas são obtidas quantidades significativamente maiores, em geral superiores a 30 nódulos por planta e esse número aumenta à medida que a concentração de células é elevada (SILVA *et al.*, 2012).

Tabela 01: Altura de plantas (ALT), Massa seca da parte aérea (MSPA), Massa seca de raízes (MSR) e Número de nódulos (NN) para plantas de feijão-caupi inoculadas com extrato de nódulos radiculares.

TRAT.	ALT (cm)	MSPA (g)	MSR (g)	NN
T 0	27,00 a	0,83 a	0,36 a	9,50 a
T N	19,50 b	0,41 a	0,12 b	3,16 a
T IC	25,67 a	0,83 a	0,26 ab	8,16 a
T ENOD10	23,58 ab	0,69 a	0,31 ab	6,33 a
T ENOD20	23,75 ab	0,89 a	0,38 a	9,83 a
MÉDIA	23,90	0,73	0,28	7,40
CV	10,69	42,27	41,60	57,06

As plantas que receberam inoculação tiveram maiores taxa fotossintética, sendo que o maior valor foi obtido pelo tratamento 5 (extrato de nódulos a 20%) atingindo 18,85  $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$  (Tabela 02), tal tratamento também apresentou maior MSPA, MSR e NN. Apenas o tratamento nitrogenado (T N) que apresentou média significativamente inferior. Plantas que tem carência de nitrogênio, elemento essencial à síntese proteica, podem apresentar severa deficiência em todo o complexo enzimático revelando o impacto causado pela escassez desse nutriente na planta (CARNEIRO *et al.*, 2015).

Foi observado que o ENOD20 teve maior taxa fotossintética, e maior taxa respiratória, entretanto teve menor concentração intercelular de CO<sub>2</sub>, pois maior atividade fisiológica resulta em maior consumo de CO<sub>2</sub> intercelular.

Para condutância estomática todos os tratamentos foram semelhantes com exceção do tratamento nitrogenado, com valor inferior.

Referente a concentração intercelular de CO<sub>2</sub> a média foi de 249,6 mmol CO<sub>2</sub> m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, e a amplitude desses valores foi de 231 a 2676 mmol CO<sub>2</sub> m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, sendo que plantas de metabolismo C<sub>3</sub> situam-se entre 200 e 250 mmol CO<sub>2</sub> m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup> (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Tabela 02: parâmetros fisiológicos avaliados nas plantas: Taxa de fotossíntese líquida (A), condutância estomática (COND), concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci) e taxa respiratória (Tr) para plantas de feijão-caupi inoculadas com extrato de nódulos radiculares.

TRAT.	A μmol m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup>	COND mol m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup>	Ci mmol m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup>	Tr mmol m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup>
T 0	13,355 b	0,19517 a	267,08 a	3,720 b
T N	5,627 c	0,04378 b	236,62 a	1,504 c
T IC	18,536 a	0,24903 a	247,75 a	4,425 ab
T ENOD10	17,705 a	0,27283 a	265,45 a	5,142 a
T ENOD20	18,852 a	0,23323 a	231,06 a	4,400 ab
MÉDIA	14,81	0,2	249,59	3,84
CV	12,49	31,27	10,42	19,53

A taxa respiratória apresentou as maiores variações sendo o ENOD10 foi o maior valor e significativamente superior que ambos os tratamentos controle.

Os resultados indicam pouca ou nenhuma variação dos tratamentos em relação às testemunhas, porém vale salientar que o substrato era composto por solo coletado de uma área de plantio que naturalmente apresenta rizóbios e assim justificando tais resultados, ao mesmo tempo observa-se que o inoculante comercial não variou em relação aos extratos de nódulos e isso pode indicar que existem interações com microrganismos do solo reduzindo a eficácia do inoculante comercial. Esse comportamento pode justificar a adoção do extrato de nódulos que apesar de ter baixa eficiência pode gerar pequenos ganhos mais que seriam vantajosos tendo em vista a facilidade e custo reduzido de sua produção pelo pequeno agricultor.

### Conclusões

O aumento na concentração do extrato de nódulos tende a aumentar a capacidade produtiva das plantas, porém em nível baixo;

A eficiência pode aumentar em solos que apresentem estirpes mais eficientes na capacidade de fixar nitrogênio;

Os parâmetros fisiológicos revelaram poucas alterações sobre as plantas inoculadas.

### Referências Bibliográficas

CARNEIRO, M. M. L. C. et al. Fotorrespiração e metabolismo antioxidante em plantas jovens de seringueira cultivadas sob diferentes fontes de nitrogênio (NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). **Revista Brasileira de**

**Ciencias Agrarias**, v. 10, n. 1, p. 66–73, 2015.

COSTA, E. M. et al. Resposta de duas cultivares de feijão-caupi à inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Ciencias Agrarias**, v. 9, n. 4, p. 489–494, 2014.

FRANCO, M. C. et al. Nodulação em cultivares de feijão dos conjuntos gênicos andino e meso-americano. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 37, n. 8, p. 1145–1150, 2002.

KRASOVA-WADE, T. et al. Water-condition effects on rhizobia competition for cowpea nodule occupancy. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. August, p. 1457–1463, 2006.

LEITE, J. et al. Biodiversity of rhizobia associated with cowpea cultivars in soils of the lower half of the São Francisco River Valley. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 5, p. 1215–1226, 2009.

MARTINS, L. M. V.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Growth characteristics and symbiotic efficiency of rhizobia isolated from cowpea nodules of the north-east region of Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n. 5–6, p. 1005–1010, 1997.

MOREIRA, F. M. D. S. et al. Bactérias diazotróficas associativas: Diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74–99, 2010.

MOREIRA, F. M. D. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729p.

RUDNICK, P. et al. Regulation of nitrogen fixation by ammonium in diazotrophic species of proteobacteria. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n. 5–6, p. 831–841, 1997.

SILVA, M. F. et al. Nodulação e eficiência da fixação do N<sub>2</sub> em feijão-caupi por efeito da taxa do inóculo. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 36, n. 5, p. 1418–1425, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954p.

TERPOLILLI, J. J.; HOOD, G. A.; POOLE, P. S. What Determines the Efficiency of N<sub>2</sub>-Fixing Rhizobium-Legume Symbioses? In: **PHYSIOLOGY, R. K. P. B. T.-A. IN M. (Ed.). . Advances in Microbial Physiology**. Cambridge: Academic Press, 2012. v. 60p. 325–389.