

## AVALIAÇÃO DA NITROGENASE EM DOIS GENÓTIPOS DE FEIJÃO SUBMETIDOS À INOCULAÇÃO COM RIZÓBIO.

Lucas Casavechia Penha (PIBIC/AF - IS), Cassiele Uliana Facco (PPG UEM), Carlos Alberto de Bastos Andrade (Orientador), e-mail: ra69071@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Agronomia / Centro de Ciências Agrárias / Maringá, PR.

### Fitotecnia / manejo e tratos culturais

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris* L., Fixação biológica de nitrogênio, estádios fenológicos.

### Resumo:

O experimento foi realizado em casa de vegetação no campus da Universidade Estadual de Maringá, em Maringá-PR, no período de agosto a dezembro de 2017, visando analisar a atividade da enzima nitrogenase (AN), através do método de redução do acetileno em linhagens de feijão. Foram estudados dois tipos de feijão, o Carioca LEC 01 11, e o Preto LEP 02 11, os quais foram submetidos a dois tipos de inoculantes - UFLA 02-100 e CIAT 899 e a testemunha, a qual não houve a presença de inoculante. Outro fator analisado foram três estádios de desenvolvimento fenológicos do feijoeiro, sendo eles: R5, R6 e R8 com 38, 43 e 63 dias após semeadura (DAS) respectivamente. Desta forma, através das análises estatísticas, dos resultados obtidos experimentalmente, como análise de variância (quadrados médios) e teste T, comparou-se os resultados de cada tratamento com e sem os inoculantes, e em cada estágio fenológico, objetivando inferir se algum dos inoculantes tem efeito real sobre a AN e se existem diferenças desse possível efeito em cada estágio de desenvolvimento da planta de feijão.

### Introdução

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das culturas mais importantes na agricultura brasileira já que tem importância não só econômica, mas também social e cultural, pois está presente na mesa da maioria dos brasileiros, independentemente de sua classe social (Vieira et al., 1998).

O feijoeiro é bastante exigente em relação aos nutrientes, e dentre eles o nitrogênio é um dos que mais limita sua produção e o mais extraído e exportado pelo vegetal. As fontes desse elemento são: o solo (por meio da decomposição da matéria orgânica), os fertilizantes nitrogenados e a fixação biológica de N<sub>2</sub> atmosférico (FBN). O aproveitamento dos benefícios da FBN é de fundamental importância, mas, dentre as leguminosas, o feijão comum é aquele em que a FBN se apresenta com menor eficiência, devido a várias

características das estirpes do rizóbio, como baixa capacidade competitiva e eficiência no processo de FBN.

Apesar da inoculação constituir uma tecnologia de baixo custo para fornecimento de nitrogênio, na cultura do feijoeiro ainda possui descrédito, devido à existência dos fatores limitantes. Entretanto, um número cada vez maior de pesquisas evidencia a possibilidade da cultura realmente se beneficiar da FBN em condições de campo, desde que estabelecidas boas práticas de inoculação e adaptação no manejo dos fatores relacionados.

Por fim, o trabalho teve como objetivo avaliar a fixação biológica de nitrogênio nos diferentes estádios fenológicos de duas linhagens de feijão comum, e estimar a atividade da enzima nitrogenase.

### Material e métodos

As plantas da linhagem de feijão comum do grupo carioca LEC 01 11 e do grupo preto LEP 02 11 foram cultivadas em vasos plásticos com capacidade total de 0,005 m<sup>3</sup>, alocados em bancadas em casa de vegetação. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com três repetições e três tratamentos, sendo: testemunha (sem inoculação), inoculante UFLA 02-100 e inoculante CIAT 899. A coleta dos dados foi realizada nos estádios R5 (38 DAS), R6 (45 DAS) e R8 (63 DAS) do feijoeiro.

A atividade da nitrogenase foi mensurada pelo método da redução do acetileno (ARA) (HARDY et al., 1968) por meio das leituras de cromatografia gasosa. Para isto, as raízes das plantas foram lavadas retirando todo o solo presente no sistema radicular. Foram colocadas 3 gramas de raízes e nódulos em frascos de penicilina de 50 ml. Após isso, os frascos foram hermeticamente fechados com tampa de borracha (tipo *sub seal*) e lacrados com lacres metálicos para evitar a perda do gás acetileno. O acetileno foi aplicado à base de 10% do volume do frasco com seringa de injeção. Os frascos foram incubados em lugar sombreado, com temperatura média de 25°C por 30min. Após este período, foi coletada e injetada uma amostra de 0,5 ml da fase gasosa para leitura da concentração de etileno em cromatografia gasosa.

O padrão de etileno foi determinado injetando-se no cromatógrafo 0,5 ml de etileno puro, na concentração de 500 ppm. Os valores de etileno produzido foram convertidos para  $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ planta}^{-1}$ , considerados como a atividade da nitrogenase.

O cálculo da atividade da nitrogenase foi efetuado através da seguinte equação:

$$AN = \frac{Hp \text{ etileno amostra} \times At \times 500 \times \text{volume do frasco}}{22,4 \times 0,5 \text{ hora} \times Hp \text{ etileno padrão} \times At}$$

Em que:

AN = atividade da nitrogenase ( $\mu\text{moles C}_2\text{H}_4 \cdot \text{h}^{-1}$ ); Hp = altura do pico;

At = atenuação; 500 = etileno puro, na concentração de 500 ppm;

22,4 = 22,4 L de gás equivale a 1 mol.

A análise estatística da variável atividade da nitrogenase (AN) foi submetida primeiramente ao teste de homogeneidade das variâncias por meio do Teste Levene () e normalidade dos erros pelo Teste Shapiro-Wilk, a 5% de probabilidade. Uma vez atendida as pressuposições básicas da análise de variância, nos casos de efeito significativo, procederam-se a comparação das médias pelo teste t (5%) para os inoculantes e estádios fenológicos. Foi utilizado o programa estatístico Sisvar® (Ferreira, 2000) para realização das análises

## Resultados e Discussão

Identificou-se variação da atividade enzimática em função dos inoculantes utilizados nas duas linhagens de feijão comum testadas. As plantas inoculadas apresentaram maior atividade da nitrogenase (AN) durante todo o período experimental, quando comparadas à testemunha sem o inoculante. De acordo com o Quadro 1, observa-se que a atividade da enzima apresentou valores máximos em épocas diferentes do ciclo da cultura em relação ao inoculante utilizado

**Quadro 1** – Valores médios da atividade da nitrogenase – AN ( $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ planta}^{-1}$ ) em função da interação dos estádios x inoculantes nas linhagens LEC 01 11 e LEP 02 11 na safra das “Águas” de 2017 em casa de vegetação (Maringá/PR).

Estádios	LEC 01 11	LEP 02 11
	Testemunha	
Estádio R5	3,7814 b	3,7179 b
Estádio R6	23,0571 a	4,0237 b
Estádio R8	23,3283 a	4,5581 a
	UFLA 02 100	
Estádio R5	76,9205 b	34,0780 b
Estádio R6	83,7089 a	60,7851 a
Estádio R8	31,5047 c	12,0780 c
	CIAT 899	
Estádio R5	59,4486 c	26,8168c
Estádio R6	81,0569 b	36,7001 b
Estádio R8	138,5003 a	87,2142 a

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, para cada fonte de N, não diferem entre si, pelo teste t, a 5% de probabilidade.

Observa-se que a testemunha na linhagem LEC 01 11 apresentou um aumento da AN entre os estádios R5 com 3,7814 e R6 com 23,0571  $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ planta}^{-1}$ , sendo o último estatisticamente igual ao R8. De maneira diferente ocorre na LEP 02 11, em que há aumento somente no estádio R8 com 4,5581  $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ planta}^{-1}$ .

A estirpe UFLA 02 100 teve um comportamento ao longo dos estádios de maneira semelhante nas linhagens LEC 01 11 e LEP 02 11, ocorrendo pico de AN no estádio R6 com 83,7089 e 60,7851  $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ planta}^{-1}$  respectivamente e decréscimo no estádio R8, de 31,5047 e 12,0780  $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ planta}^{-1}$ . Ademais, observa-se um crescimento da AN para a CIAT 899 entre os estádios R5, R6 e R8 para as duas linhagens nesta ordem: 59,4486, 81,0569 e 138,5003  $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ planta}^{-1}$  para a LEC 01 11, e de 26,8168, 36,7001 e 87,2142  $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ planta}^{-1}$  para LEP 02 11.

## Conclusões

A testemunha apresentou resultado estatisticamente inferior aos inoculantes testados, evidenciando a eficiência destes. Entretanto o UFLA 02 100 teve um pico de atividade no estádio R6 e posteriormente de caiu, diferentemente o CIAT 899 apresentou maior atividade da enzima nas duas linhagens permanecendo até o estádio R8 ajudando a suprir a necessidade de nitrogênio do feijoeiro. Com estes resultados conclui-se que o inoculante CIAT 899, dentre os testados, é o mais eficiente no auxílio do sistema simbiótico que aumenta a atividade da nitrogenase e conseqüentemente a fixação de nitrogênio na planta.

## Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da bolsa de I.C.;  
A Pós Graduanda do PGM Cassiele Uliana Facco, por ter disponibilizado parte dos dados de sua Tese, referente a este trabalho;  
Ao meu Orientador Prof Dr Carlos Alberto de Bastos Andrade pelo apoio.  
A minha família, por ser a base da minha educação.

## Referências

FERREIRA, D.F. **SISVAR - Sistema de análise de variância**. Versão 5.3. Lavras-MG: UFLA, 2010.

HARDY, R.W. F.; HOLSTEN, R.D.; JACKSON, E. K.; BURNS, R. C. The acetylene-ethylene assay for N<sub>2</sub> fixation: laboratory and field evaluation. **Plant Physiology**, Washington, v.43, p.1185-1207, 1968

VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T.J.; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 596 p.