

Lilian Lopes DEVITO\*\*

Lázara CORDEIRO\*\*\*

## RESUMO

Verificou-se diferenças no padrão de nodulação de *Chamaecrista desvauxii* (Colladon) Killip em áreas de barranco e de acostamento. Observações realizadas em campo mostraram que havia diferenças no número e tamanho de nódulos entre as plantas que cresciam em área de barranco e aquelas que cresciam em área de acostamento (próximas e distintas da rodovia Engenheiro Wilson Finardi), entre as cidades de Rio Claro e Charqueada (SP). Tendo como base estas observações, foi realizado um experimento para testar a nodulação de *Chamaecrista desvauxii* desenvolvida em solos coletados destas duas áreas, em condições de casa de vegetação. As plantas que cresceram em solo da região de acostamento apresentaram maior quantidade de nódulos, maior teor de nitrogênio na parte aérea e melhores resultados de biomassa da planta.

Palavras-chave: nodulação; *Chamaecrista desvauxii*; Caesalpinioideae; rizóbio; Leguminosae.

## 1 INTRODUÇÃO

Rizóbios são bactérias capazes de invadir as raízes das plantas leguminosas que iniciam a formação de nódulos contendo os microssimbiontes que fixam nitrogênio. A infecção e o desenvolvimento dos nódulos são altamente específicos e dependem de ambas as partes, bactéria e planta, para serem efetivos (Firmin *et al.*, 1986; Carlson *et al.*, 1993).

A família Leguminosae compõe o terceiro maior grupo do reino vegetal, com 650 gêneros e 20.000 espécies sendo, a maioria, árvores tropicais

## ABSTRACT

The pattern of nodulation of *Chamaecrista desvauxii* (Colladon) Killip in very close areas from the highway Engenheiro Wilson Finardi between Rio Claro and Charqueada (ravine area and highway shoulder area) and the results from the greenhouse were compared to those observed in the field. The plants developed in highway shoulder soil presented higher amounts of nitrogen in the shoots and nodules, and best biomass results.

Key words: nodulation; *Chamaecrista desvauxii*; Caesalpinioideae; rhizobia; Leguminosae.

(Doyle, 1994); é também a maior família entre as Angiospermae, depois de Compositae e Orchidaceae (Polhill *et al.*, 1981). As espécies estão distribuídas nas subfamílias Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae. Esta última é a mais estudada pela suma importância econômica e pelo papel essencial nos sistemas agrícolas de todo o mundo (Polhill *et al.*, 1981), possuindo 5 tribos (13 gêneros diferentes) economicamente importantes (Adams & Pipoly III, 1980). Análises filogenéticas evidenciam que Papilionoideae e Mimosoideae são grupos monofiléticos, enquanto a subfamília Caesalpinioideae constitui um grupo parafilético (Doyle, 1994).

(\*) Aceito para publicação em junho de 2002.

(\*\*) Universidade Estadual Paulista, Departamento de Botânica, Campus de Rio Claro, Av. 24-A, 13506-900, Rio Claro, SP, Brasil. E-mail: lilianld@bol.com.br

(\*\*\*) Universidade Estadual Paulista, Departamento de Botânica, Campus de Rio Claro, Av. 24-A, 13506-900, Rio Claro, SP, Brasil. E-mail: lazarac@ms.rc.unesp.br

Com poucas exceções, a nodulação parece ser geral em Mimosoideae e Papilionoideae (Corby, 1981) e, a aparente baixa capacidade em nodular das Caesalpinioideae é conhecida há muitos anos (Allen & Allen, 1961; Sprent, 2001). Segundo Sutherland & Sprent (1993) a nodulação nas espécies de Caesalpinioideae é rara (23% das espécies analisadas). Corby (1981) e Faria *et al.* (1984) notaram que, em geral, a morfologia e a estrutura dos nódulos nesta subfamília são primitivas, informações estas confirmadas por Naisbitt *et al.* (1992). Um dos gêneros nodulantes de Caesalpinioideae é *Chamaecrista*, cujos nódulos contêm correntes de infecção permanentes (Faria *et al.* 1987; Naisbitt *et al.*, 1992).

O gênero *Cassia*, ao qual *Chamaecrista desvauxii* (Colladon) Killip pertencia anteriormente, foi promovido à subtribo Cassiae por Irwin & Barneby (1982) e, dividido em três gêneros: *Cassia*, *Senna* e *Chamaecrista*. Em adição às características florais, o subgênero anterior *Chamaecrista* pode ser distinguido de *Cassia* e *Senna* por sua aparente capacidade genérica de formar nódulos radiculares fixadores de nitrogênio (Corby, 1981). A planta quando adulta, é um subarbusto com cerca de 1,5 m de altura, com folhas verde-esbranquiçadas, nervação paralela e flores amarelas em inflorescências com duas a três flores axilares. Floresce e frutifica de outubro a janeiro (Garcia, 1992). Segundo Irwin & Barneby (1982) a distribuição geográfica dessa planta vai de Rondônia até a Argentina, passando por Goiás, Mato Grosso, Bahia, Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Paraguai, sendo encontrada ao longo de estradas e rios, preferencialmente em áreas que sofreram alteração, podendo ser considerada, portanto, uma espécie ruderal, isto é, que se desenvolve em áreas sob influência antrópica.

*C. desvauxii* produz nódulos de crescimento indeterminado, do tipo astragalóide e vermelhos internamente, indicativos de eficiência na fixação de nitrogênio (Corby, 1981). Quando comparadas com as exóticas, as variedades brasileiras de *C. desvauxii* variam em muitos aspectos, incluindo o número de bacteróides por unidade de tecido nodular (Faria *et al.*, 1984; Naisbitt *et al.*, 1992), possivelmente resultando em maior eficiência na fixação de nitrogênio (Sprent, 1994).

O objetivo do trabalho foi estudar o desenvolvimento dos nódulos em *C. desvauxii* comparando o padrão de nodulação em duas áreas próximas e distintas, com características físico-químicas diferentes, na rodovia Engenheiro Wilson Finardi.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

**ÁREA DE COLETA** - a coleta de sementes e de solo foi feita nos quilômetros 5 a 10 da rodovia Engenheiro Wilson Finardi, sentido Rio Claro-Charqueada (22°24'S e 47°33'W). Foram coletados solos em duas áreas distintas e próximas dessa rodovia: área de acostamento, composta por um solo mais arenoso e área de barranco, composta por um solo mais argiloso, sendo parte deste na forma de rocha ainda em processo de decomposição, conforme análise química e mineralógica (TABELA 1).

**PREPARO DAS SEMENTES** - sementes desinfestadas (Vincent, 1975; Somasegaran & Hoben, 1985) de *C. desvauxii* foram escarificadas mecanicamente com o auxílio de uma lâmina de aço (Naisbitt *et al.*, 1992) e, em seguida, semeadas dez sementes por saco. Após a germinação foi realizado o desbaste, mantendo-se duas plantas por saco.

**PREPARO DO SUBSTRATO** - o experimento foi composto de quatro tratamentos com cinco repetições por tratamento, totalizando 20 sacos pretos de polietileno com capacidade de 4 L, sendo: SA - solo coletado no acostamento da rodovia; SB - solo coletado no barranco da rodovia (TABELA 1); ISA - substrato areia e vermiculita na proporção de 3:1 mais inoculação de solo de acostamento; ISB - substrato areia e vermiculita na proporção de 3:1 mais inoculação de solo de encosta. A inoculação do solo nos dois últimos tratamentos foi feita colocando-se 20 mL/saco da solução composta de 10 g de solo em 90 mL de água destilada.

A coleta foi realizada quando as plântulas apresentavam 2 meses de idade.

**AVALIAÇÃO** - após a coleta foram avaliados comprimento da parte aérea e da raiz principal, em centímetros, massa fresca e seca da parte aérea, do sistema radicular e dos nódulos, em gramas, número e coloração interna dos nódulos e porcentagem de nitrogênio encontrada na parte aérea. A coloração interna dos nódulos considerada foi rosa claro, rosa escuro ou vermelha. Os nódulos foram divididos em três classes de diâmetro: menores que 2 mm, entre 2 e 4 mm e maiores que 4 mm, utilizando-se para as medições, peneiras (Mesh) com 2 e 4 mm de abertura. A porcentagem de nitrogênio na parte aérea foi determinada através do método micro-kjeldahl descrito por Sarruge & Haag (1974).

Os resultados foram analisados ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o teste Student-Newman-Keuls (Zar, 1999).

TABELA 1 - Análises química e mineralógica dos solos coletados nas áreas de encosta e acostamento da rodovia Engenheiro Wilson Finardi.

Análise Química								
Tipo de solo	M.O%	pH	Ca*	Mg*	H + Al*	CTC	K*	P**
acostamento	0,30	4,00	2,10	1,90	10,90	7,80	0,13	2,00
barranco	0,60	4,20	2,10	1,10	4,50	15,00	0,11	4,00

  

Análise Mineralógica				
Tipo de solo	Argila %	Silte %	Areia %	
			Grossa	Fina
acostamento	10,00	26,00	15,00	59,00
barranco	17,00	28,00	11,00	44,00

(\*) Valores expressos em mg/ 100 cm<sup>3</sup>.

(\*\*) Valor expresso em µg/cm<sup>3</sup>.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Embora a literatura referente às características das leguminosas quando associadas ao rizóbio seja extensa, refere-se praticamente a plantas economicamente importantes, exploradas na agronomia, sendo poucas aquelas sobre plantas nativas perenes e mesmo anuais ou bianuais, arbustivas ou herbáceas.

No momento da coleta as folhas das plantas apresentavam coloração verde sem pontos amarelados ou necrosados, não havendo sinais de deficiência de nutrientes. Essa coloração se mostrou similar à encontrada nas plantas observadas no campo.

O comprimento da raiz principal (TABELA 2) foi praticamente o mesmo para todos os tratamentos, podendo, este fato, ser explicado pela limitação de espaço imposta pelos sacos. Cordeiro & Salatino (1995) salientaram que, em experimentos de vaso o crescimento normal do sistema radicular pode ser comprometido, observação também feita por Fernandes (1999).

Para a maioria dos parâmetros analisados, as plantas do tratamento que recebeu solo de acostamento como substrato apresentaram os melhores resultados (TABELAS 2 e 3).

Os nódulos coletados em todos os tratamentos apresentavam formato arredondado e coloração interna rosa, sendo o primeiro, de acordo com Corby (1981), indicativo de fase jovem. Segundo o autor, os nódulos de *Chamaecrista desvauxii* geralmente são de crescimento indeterminado, do tipo astragalóide e coloração interna vermelha. Segundo Sutherland & Sprent (1993), os nódulos de crescimento indeterminado, quando jovens,

são pequenos, globosos, produzem meristema apical e crescem em comprimento, podendo ou não se ramificar. Para Virtanen *et al.* (1947), Emerich & Evans (1980), Cordeiro & Beltratti (1989) e Cordeiro *et al.* (1996), a coloração vermelha interna está relacionada com a presença de leghemoglobina nos nódulos, sendo esta presença considerada um pré-requisito para a fixação do nitrogênio atmosférico.

Para Cordeiro & Cordeiro (1985) as condições físicas e/ou químicas do substrato podem determinar a formação, o número de nódulos, bem como sua eficiência e distribuição dentro do sistema radicular. Segundo Cadwell & Vest (1977) e Porter (1979) a distribuição do nódulo no sistema radicular tem sido utilizada como critério para a avaliação da eficiência nodular. Desta forma, a presença de nódulos grandes localizados ao redor da raiz principal seria uma indicação de nodulação efetiva. Em todos os tratamentos os maiores nódulos encontrados localizavam-se ao redor da raiz principal, sendo este, mais um fator que pode auxiliar na confirmação da eficiência da simbiose na fixação de nitrogênio.

O maior número de nódulos com diâmetros até 2 mm e entre 2 e 4 mm, e total de nódulos foi obtido para o tratamento que recebeu solo de acostamento como substrato. Apenas para o diâmetro maior que 4 mm é que o número de nódulos não diferiu entre os tratamentos (TABELA 3). É possível observar também que nódulos desta magnitude só foram encontrados nos tratamentos com inoculação de solo (TABELA 3). Este fato pode ser explicado pela maior aeração proporcionada pela areia e vermiculita quando comparada com solo, facilitando o crescimento dos nódulos.

TABELA 2 - Valores médios com respectivos desvios padrão para os parâmetros relacionados à biomassa de *Chamaecrista desvauxii*.

Tratamento	Comprimento (cm)		Massa fresca (g)		Massa seca (g)		% de nitrogênio parte aérea
	parte aérea	raiz principal	parte aérea	sistema radicular	parte aérea	sistema radicular	
Inoculação de solo de barranco	15,00 ± 8,67 b	46,20 ± 19,64 a	0,55 ± 0,25 b	0,54 ± 0,09 a	0,30 ± 0,48 b	0,08 ± 0,01 b	1,29 ± 0,23
Inoculação de solo de acostamento	18,90 ± 12,17 b	37,42 ± 21,50 a	1,29 ± 0,30 b	0,41 ± 0,12 a	0,50 ± 0,61 b	0,15 ± 0,03 b	1,60 ± 0,42
Solo de barranco	13,23 ± 2,13 b	29,14 ± 7,26 a	0,80 ± 0,61 b	0,10 ± 0,09 a	0,15 ± 0,06 b	0,02 ± 0,01 b	1,46 ± 0,07
Solo de acostamento	33,02 ± 6,33 a	41,70 ± 11,79 a	4,31 ± 3,58 a	0,65 ± 0,41 a	1,06 ± 0,58 a	0,30 ± 0,21 a	1,80 ± 0,09
F	12,9	1,78	-	-	7,49	7,77	-
CV(%)	45,09	39,66	-	-	95,76	57,86	-

Valores médios seguidos de letras iguais na vertical não diferem entre si ao nível de 5%.

TABELA 3 - Valores médios com os respectivos desvios padrão para os parâmetros relacionados à nodulação em *Chamaecrista desvauxii*.

Tratamentos	Número de nódulos por faixa de diâmetro				Coloração Interna	Massa dos nódulos (g)	
	< 2 mm	2 a 4 mm	> 4 mm	Total		fresca	seca
Inoculação de solo de barranco	0,0 ± 0,0	3,20 ± 2,77	1,00 ± 0,70	4,20 ± 3,35 b	rosa	0,16 ± 0,12 a	0,08 ± 0,05 a
Inoculação de solo de acostamento	3,60 ± 5,12	7,00 ± 6,96	1,00 ± 1,22	11,60 ± 11,93 b	rosa	0,11 ± 0,09 a	0,08 ± 0,05 a
Solo de barranco	8,60 ± 4,15	0,80 ± 1,30	0,0 ± 0,0	9,48 ± 4,98 b	rosa	0,16 ± 0,09 a	0,04 ± 0,03 b
Solo de acostamento	44,20 ± 25,66	6,60 ± 2,07	0,0 ± 0,0	50,8 ± 27,07 a	rosa	0,16 ± 0,05 a	0,04 ± 0,03 b
F	-	-	-	8,90	-	1,60	1,00
CV(%)	-	-	-	41,03	-	94,82	31,27

Valores médios seguidos de letras iguais na vertical não diferem entre si ao nível de 5%.

O solo de barranco e o solo de acostamento apresentaram praticamente o mesmo pH com pequenas diferenças para as quantidades de cálcio, magnésio, potássio e fósforo (TABELA 1). As maiores diferenças foram na porcentagem de matéria orgânica, que é duas vezes maior para o solo de barranco e na quantidade de H + Al, maior no solo de acostamento. A acidez do solo é um fator de estresse que afeta negativamente as correntes de rizóbio, a nodulação e a fixação de nitrogênio em leguminosas (Taurian *et al.*, 1998). Em áreas tropicais, a acidez do solo é frequentemente responsável pela queda no rendimento das culturas porque diminui a quantidade de nutrientes disponíveis e a atividade microbiana.

O solo de barranco apresenta uma quantidade maior de matéria orgânica indicio de maior quantidade de nitrogênio disponível, não ficando a planta totalmente dependente da fixação de nitrogênio. Esse fato fica demonstrado quando observamos os resultados das análises de nitrogênio (TABELA 2), onde os tratamentos compostos por solo de acostamento apresentam maior porcentagem de nitrogênio, provavelmente oriundo da fixação.

Quando comparados os dois solos, barranco e acostamento da rodovia, fica claro que o solo pertencente ao acostamento apresenta além de menor taxa de matéria orgânica, uma grande quantidade de H + Al e uma CTC baixa. Esses resultados, somados à baixa quantidade de argila, silte e grande quantidade de areia no solo de acostamento, fazem com que este seja mais facilmente lixiviável, sendo importante que as plantas localizadas nessa região fixem nitrogênio eficientemente para compensar a deficiência de nitrogênio do solo.

#### 4 CONCLUSÃO

Tendo em vista os resultados acima discutidos, pode-se concluir que as plantas de *Chamaecrista desvauxii* desenvolvidas em solo de acostamento produzem maior quantidade de nódulos, podendo ser potencialmente mais eficientes no processo de fixação de nitrogênio.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, M. W.; PIPOLY III, J. J. Biological structure, classification and distribution of economic legumes. In: SUMERFIELD, R. J.; BUNLING, A. H. (Ed.). **Advances in legume science**. Kew: University of Reading, 1980. p. 1-16.
- ALLEN, E. K.; ALLEN, O. N. The scope of nodulation. **Recent Adv. Bot.**, Toronto, v. 1, p. 585-588, 1961.
- CADWELL, B. E.; VEST, A. G. Genetic aspects of nodulation and dinitrogen fixation by legumes: the macrosymbiont. In: HARDY, R. W. I.; SILVER, W. A. (Ed.). **A treatise of dinitrogen fixation**. New York: John Wiley & Sons, 1977. p. 557-576. (Section III, Biology).
- CARLSON, R. W. *et al.* The structure and biological activities of the lipooligosaccharid nodulation signals produced by type I and type II strains of *Bradyrhizobium japonicum*. **J. Bio Chem.**, Rockville, v. 268, p. 18372-18381, 1993.
- CORBY, H. D. L. The systematic value of Leguminous root nodules. In: POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H. (Ed.). **Advances in legume systematics**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. part 2, p. 657-669.
- CORDEIRO, L.; BELTRATI, C. M. Estrutura e desenvolvimento de nódulos radiculares de *Anadenanthera falcata* Speg. **Revta brasil. Bot.**, São Paulo, v. 12, p. 61-70, 1989.
- \_\_\_\_\_; CORDEIRO, J. A. Distribuição de nódulos em *Glicine max* cv Santa Rosa em função da granulometria do substrato. **Revta brasil. Bot.**, São Paulo, v. 8, p. 21-26, 1985.
- \_\_\_\_\_; SALATINO, A. Efeito do pH na nodulação em *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wilt). **Revta brasil. Bot.**, São Paulo, v. 18, p. 191-195, 1995.
- \_\_\_\_\_; SPRENT, J. I.; McINROY, S. G. Some development and structural aspects of nodules of *Lonchocarpus muehebergianus* Hassl. **Naturalia**, São Paulo, v. 21, p. 9-21, 1996.
- DOYLE, J. J. Phylogeny of the legume family: an approach to understanding the origins of nodulation. **Ann. Rev. Ecol. Syst.**, Palo Alto, v. 25, p. 325-349, 1994.
- EMERICH, D. W.; EVANS, H. J. Biological nitrogen fixation with emphasis on the legumes. In: SAN PIETRO, A. (Ed.). **Biochemical and photosynthetic aspects of energy production**. New York: Academic Press, 1980. p. 117-145.

DEVITO, L. L.; CORDEIRO, L. Desenvolvimento de nódulos em *Chamaecrista desvauxii* (Colladon) Killip.

FARIA, S. M. de *et al.* New nodulating legume trees from South-East Brazil. **New Phytol.**, New York, v. 98, p. 143-147, 1984.

FARIA, S. M. de; McINROY, S. G.; SPRENT J. I. The occurrence of infected cells, with persistent infections threads in legume root nodules. **Can. J. Bot.**, Ottawa, v. 65, p. 553- 558, 1987.

FERNANDES, M. J. **Efeito de diferentes disponibilidades de fósforo no solo sobre o desenvolvimento de *Sesbania sesban* (L) Merr.** 1999. 115 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

FIRMIN, J. L. *et al.* Flavonoid activation of nodulation genes in *Rhizobium* reversed by other compounds present in plants. **Nature**, Minneapolis, v. 324, p. 90-92, 1986.

GARCIA, F. C. P. **A família Leguminosae na restinga no núcleo de desenvolvimento Picinguaba, município de Ubatuba, Parque Estadual da Serra do Mar-SP.** 1992. 115 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

IRWIN, H. S.; BARNEBY, R. C. The American Cassinae: a synoptical revision of Leguminosae tribe Cassiae subtribe Cassinae in the New World. **Memoirs of the New York Botanical Garden**, New York, v. 35, n. 1/2, p. 1-918, 1982.

NAISBITT, T.; JAMES, E. K.; SPRENT, J. I. The evolutionary significance of the legume genus *Chamaecrista* as determined by nodule structure. **New Phytol.**, New York, v. 122, p. 487-492, 1992.

POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H.; STIRTON, C. H. Evolution and systematics of Leguminosae. In: POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H. (Ed.). **Advances in legume systematics.** Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. part I, p. 1-26.

PORTER, R. **Microbial processes: promising technologies for developing countries.** Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 1979. 198 p.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas.** Piracicaba: ESALQ/USP, 1974. 56 p.

SOMASEGARAN, P.; HOBEN, H. I. **Methods in Legume - *Rhizobium* technology.** Paia: Niftal-Mircen, 1985. 367 p. (USAID contract no. DAN-0613-c-00-2064-00)

SPRENT, J. I. Evolution and diversity in Legume – *Rhizobium* symbiosis: chaos or theory? **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 161, p. 1-10, 1994.

\_\_\_\_\_. **Nodulation in legumes.** Kew: Royal Botanic Gardens, 2001. 144 p.

SUTHERLAND, J. M.; SPRENT, J. I. Nitrogen fixation by legume trees. In: RAOS, N. S. S.; RODRIGUEZ BARRUECO, C. (Ed.). **Symbioses in nitrogen fixing trees.** New Delhi: Oxford and IBH Publishing Co., 1993. p. 33-63.

TAURIAN, T.; CASTRO, S.; FABRA, A. Physiological response of two peanut rhizobia strains to acid pH. **Symbiosis**, Rehovot, v. 24, n. 3, p. 327-336, 1998.

VINCENT, J. M. **Manual practico de rhizobiologia.** Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur, 1975. 200 p.

VIRTANEN, A. I. *et al.* On the relation between nitrogen fixation and leghaemoglobin content of leguminous root nodules. **Acta Chem. Scand.**, Copenhagen, v.1, p. 90-111, 1947.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis.** 4. ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1999. 929 p.