



III SINPROVS
III SIMPÓSIO NACIONAL DE ESTUDOS PRRR
PRODUÇÃO VEGETAL NO SEMIÁRIDO

contato@sinprovs.com.br
WWW.SINPROVS.COM.BR
(83) 3322-3222

BRADYRHIZOBIUM COMO ATENUADOR DE DÉFICIT HÍDRICO EM FEIJÃO CAUPI

BRADYRHIZOBIUM AS ATTRACTOR OF WATER DEFICIT IN COWPEA

Jales-Filho, RC¹; Melo, AS¹; Melo, YL¹; Andrade, WL¹; Fernandes-Junior, PI²

¹Universidade Estadual da Paraíba, Unidade Acadêmica de Campina Grande, Campina Grande-PB.

Brasil. renatto_jales@hotmail.com; yurimelo86@gmail.com; welerson.rocker@hotmail.com;
alberto@uepb.edu.br

²Embrapa Embrapa Semiárido, Petrolina-PE, paulo.ivan@embrapa.br

Resumo: Microrganismos como *Bradyrhizobium* podem proporcionar um aumento da tolerância ao déficit hídrico tendo em vista a interação positiva que ele exerce na planta, em relação ao fornecimento de compostos nitrogenados. Com isso, o presente estudo objetivou avaliar a influência do uso do isolado bacteriano ESA 17 na resposta de enzimas antioxidantes e em níveis de prolina de feijoeiro submetido à deficiência hídrica. Plantas de feijoeiro do genótipo Marataoã foram cultivadas em vasos de polietileno, preenchidos com material de solo de textura franco-arenosa. Dois mililitros do caldo bacteriano contendo o isolado ESA 17 foram inoculados em cada semente a fim de tornar mais eficaz o estabelecimento das cepas na presença de um solo com alta concentração deste isolado. A pesquisa foi elaborada em esquema fatorial 2 X 2, correspondendo a duas lâminas de irrigação: W100 (sem estresse) e W50 (com estresse), com 100% e 50% da reposição hídrica da evapotranspiração; e duas aplicações do inoculante: RY- (sem rizóbio) e RY+ (com rizóbio), correspondendo a 4 tratamentos, distribuídos no delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições, totalizando 16 unidades experimentais. Após 40 dias da aplicação dos tratamentos, folhas de plantas de feijoeiro foram coletadas e analisadas quanto à atividade das enzimas superóxido dismutase, ascorbato peroxidase, catalase, além da concentração de prolina livre. O déficit hídrico promove o aumento na atividade de superóxido dismutase e nos níveis de prolina em plantas de feijoeiro Marataoã. Já o inoculante bacteriano ESA 17 influencia de maneira positiva o aumento da atividade das enzimas ascorbato peroxidase e superóxido dismutase, além de aumentar os níveis de prolina no genótipo Marataoã, em condições de déficit hídrico.

Palavras-chave: Deficiência hídrica; Prolina; ESA 17.

Introdução

O feijão-caupi é uma das principais leguminosas cultivadas e consumidas em território nacional, esta cultura apresenta alto valor nutritivo, sendo uma das principais fontes de aminoácidos, proteínas e nutrientes. Além do seu valor nutricional, destaca-se o seu valor comercial, por representar umas das principais fontes de renda para as populações rurais em especial nas regiões norte e nordeste (PÚBLIO-JÚNIOR et al., 2017).

Embora esta cultura se adapte razoavelmente bem às condições de solo, clima e sistemas de cultivo, em relação a outras leguminosas, nem sempre alcança bons níveis de produtividade (SILVA et al., 2016). Um dos mais agravantes fatores em relação à perda de produtividade é a deficiência hídrica, pois quando ela acomete as culturas vegetais promove danos como: alterações fisiológicas em nível de área foliar, matéria seca total, fotossíntese, condutância estomática, transpiração, concentração interna de CO₂ e potencial hídrico foliar que refletem na produtividade final do vegetal (FREITAS et al., 2017).





III SINPROVS
III SIMPÓSIO NACIONAL DE ESTUDOS EM
PRODUÇÃO VEGETAL NO SÍTIO

contato@sinprovs.com.br
WWW.SINPROVS.COM.BR
(83) 3322-3222

O estresse por déficit hídrico ocasiona no vegetal respostas bioquímicas, como a produção de espécies reativas de oxigênio. Com isso, a elevação da atividade de enzimas como superóxido desmutase (SOD), catalase (CAT) e Ascorbato peroxidase (APX) visam a degradação desses radicais livres que por vez são danosos a planta, quando em altas concentrações, podendo promover o surgimento do estresse oxidativo (DUTRA et al., 2017).

Existe ainda na planta uma estratégia contra o estresse por déficit hídrico denominada ajustamento osmótico, promovido pelo acúmulo de osmólitos compatíveis em nível de citoplasma (OLIVEIRA-NETO et al., 2016). Tal mecanismo promove uma diminuição do potencial hídrico da planta e, conseqüentemente, a manutenção da turgescência por meio da absorção de água do solo; além disso, osmólitos como a prolina podem atuar na proteção de estruturas celulares e estímulo do crescimento radicular (GONZALEZ et al., 2010).

Tendo em vista que em condições estressantes as plantas podem exibir perdas em sua produtividade é necessário que o produtor faça uso de práticas ou compostos que minimizem os danos causados pelo estresse. Dentre estas práticas, o uso de inoculantes bacterianos tem sido estudado para minimizar os efeitos negativos do déficit hídrico e maximizar a produtividade, mesmo em condições adversas (BRITO et al., 2016). Microrganismos como *Bradyrhizobium*, a partir da fixação biológica de nitrogênio, podem proporcionar um aumento da tolerância ao déficit hídrico.

Com isso, o presente estudo objetivou avaliar a influência do uso do isolado bacteriano ESA 17 em feijoeiro submetido à deficiência hídrica, por meio da atividade de enzimas antioxidantes e dos níveis de prolina.

Metodologia

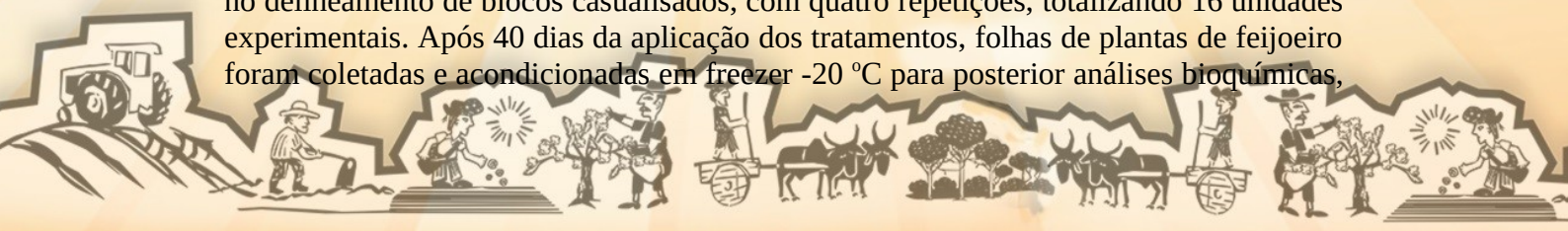
O referido trabalho foi realizado no Viveiro Florestal, situado a 07° 12' 39; 42,99'' de latitude Sul, 35° 54' 36,27'' longitude Oeste a uma altitude de 521 metros, pertencente à Universidade Estadual da Paraíba, Campus I, Campina Grande – PB, com clima Aw tropical segundo Köppen-Geiger.

Plantas de feijoeiro do genótipo Marataoã foram cultivadas em vasos de polietileno com capacidade volumétrica de 20 litros, preenchidos com material de solo de textura franco-arenosa. Após se elevar a umidade do solo ao nível próximo ao da capacidade de campo, foram alocadas seis sementes por vaso a uma profundidade média de 2 cm e após 5 dias da emergência foi realizado o desbaste para padronização das plantas. Irrigações foram realizadas normalmente durante 25 dias após a emergência das mesmas.

Após esse período, as plantas de feijoeiro foram submetidas a duas lâminas de irrigação: W100 (sem estresse) e W50 (com estresse), com 100% e 50% da reposição hídrica da evapotranspiração, respectivamente, monitoradas com auxílio de um evaporímetro instalado na área experimental, além dos tratamentos sem (RY-) e com (RY+) a aplicação do inoculante bacteriano (2 mL/semente).

Para a preparação do inóculo, os isolados bacterianos foram cultivados em meio líquido YM sob agitação constante por 5 dias, no final do crescimento exponencial, atingindo cerca de 109 células por mililitro. Dois mililitros do caldo bacteriano foram inoculados em cada semente a fim de tornar mais eficaz o estabelecimento das cepas na presença de um solo com altas concentrações das cepas no solo (MARINHO et al., 2014).

A combinação dos fatores resultou em esquema fatorial de 2 (lâminas de irrigação) X 2 (aplicações de inoculante), correspondendo a 4 tratamentos, distribuídos no delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições, totalizando 16 unidades experimentais. Após 40 dias da aplicação dos tratamentos, folhas de plantas de feijoeiro foram coletadas e acondicionadas em freezer -20 °C para posterior análises bioquímicas,



correspondendo a determinação da concentração de Prolina e às enzimas antioxidantes: Superóxido Dismutase, Ascorbato Peroxidase e Catalase.

A concentração de prolina foi determinada segundo metodologia descrita por Bates (1973), expressa $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ de massa fresca, com leitura realizada em espectrofotômetro a 520 nm. A avaliação da atividade da SOD foi quantificada de acordo com a metodologia de Gianopolitis e Ries (1977) com modificações, onde os resultados obtidos foram expressos em unidade de atividade por grama de matéria fresca por minuto ($\text{UA} \cdot \text{gMF}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), sendo que uma unidade de atividade corresponde a 50% da inibição da redução do NBT. A atividade da APX foi realizada segundo Nakano e Asada (1981), com algumas modificações, onde foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de $2,8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ e expressa em μmol de ácido ascórbico. $\text{gMF}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$. A atividade da Catalase foi determinada através do método proposto por Beer-Júnior e Sizer (1952) onde a atividade foi estimada pelo decréscimo na absorbância a cada 10 segundos durante 1 min, expresso em μmol de H_2O_2 . $\text{gMF}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$.

Foram procedidos teste de média pelo teste t Student para amostras independentes das lâminas de irrigação e para o inoculante ($p < 0,05$), utilizando-se do software Sisvar 5.6.

Resultados e discussão

O déficit hídrico aumentou a atividade da enzima SOD em 64,8% e as concentrações de prolina em 123,07%, na ausência da aplicação do inoculante bacteriano (Figura 1 B e D). Contudo, a atividade da catalase foi reduzida (26,03%) no genótipo de feijoeiro em condições de déficit hídrico, na ausência da aplicação do inoculante bacteriano (Figura 1 C) resultados semelhantes foram encontrados por Araújo (2017) ao estudar a atividade enzimática do genótipo BR 17 Gurgueia observou uma redução da enzima catalase e um aumento dos níveis de prolina, SOD e APX a medida que as plantas foram submetidas ao estresse.

Em condições de restrição hídrica (W50), o isolado ESA 17 exerce uma ação positiva em relação aos níveis de prolina, promovendo o aumento de cerca de 58% em relação ao tratamento W100 com RY+, além de aumentar em XX% e XX% as atividades das enzimas APX e SOD, respectivamente, comparadas ao tratamento W100 com RY+. Entretanto, não demonstra diferenças significativas na atividade da enzima catalase (Figura 1 C).

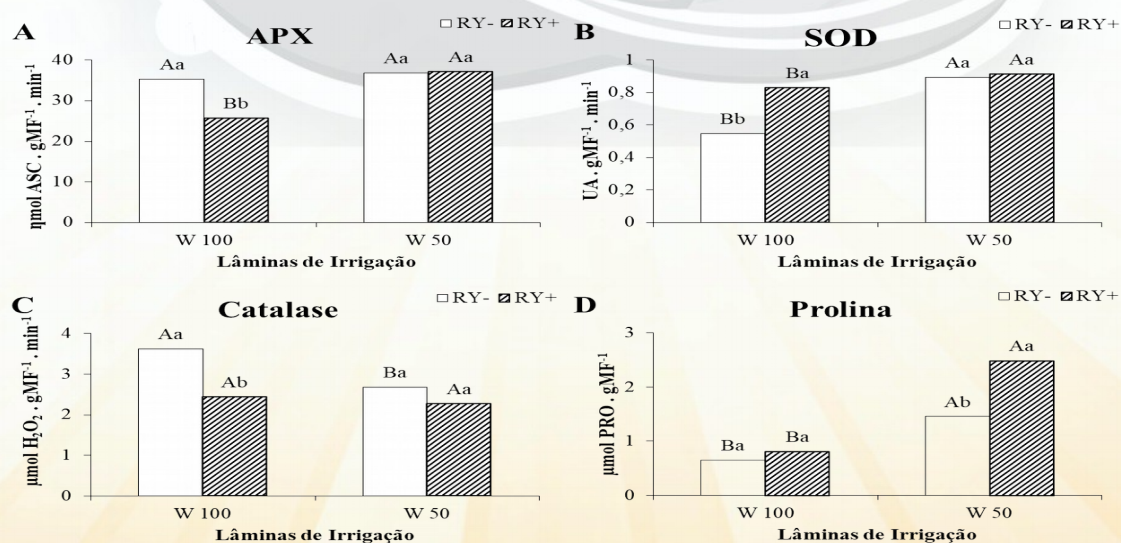
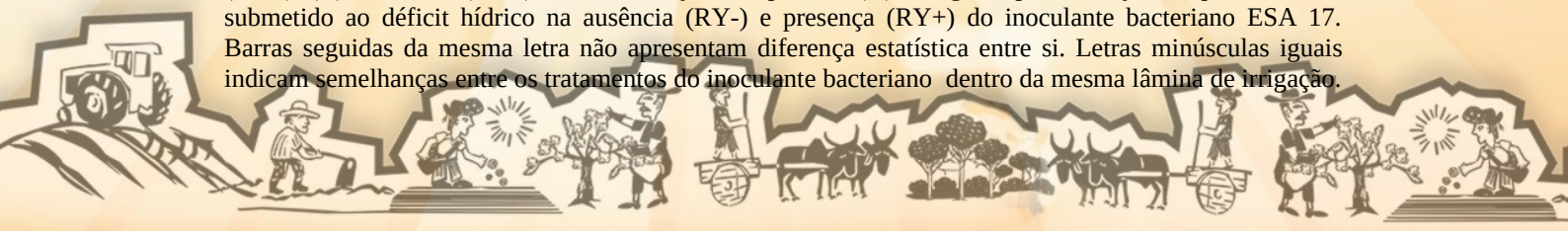


Figura 1. Atividade antioxidante das enzimas ascorbato peroxidase (APX) (A); superóxido desmutase (SOD) (B), catalase (CAT) e concentração de prolina (D) no genótipo de feijão-caupi Marataoã, submetido ao déficit hídrico na ausência (RY-) e presença (RY+) do inoculante bacteriano ESA 17. Barras seguidas da mesma letra não apresentam diferença estatística entre si. Letras minúsculas iguais indicam semelhanças entre os tratamentos do inoculante bacteriano dentro da mesma lâmina de irrigação.



Letras maiúsculas iguais indicam semelhança dos tratamentos do inoculante bacteriano entre as lâminas de irrigação.

A maior atividade das enzimas em condição de deficiência hídrica indica que a concentração de compostos oxidativos se altera de acordo com a condição de estresse, logo, as enzimas demonstram uma maior atividade visando à degradação desses compostos que por vezes podem se tornar nocivos as plantas (DUTRA et al., 2017).

Ao investigar a atividade enzimática de exemplares de amendoim submetidas à deficiência hídrica, com o uso de diferentes estirpes de *Bradyrhizobium*, Brito et al. (2016) observaram um aumento da atividade da SOD e APX quando submetidas a estirpe ESA 123, assim como observado no presente estudo, após aplicação da estirpe ESA 17.

Houve uma acentuada elevação dos teores de prolina quando os exemplares foram submetidos à deficiência hídrica, esta característica é comum em plantas quando acondicionadas ao estresse abiótico, uma vez que o ajustador osmótico proporciona um balanceamento do conteúdo hídrico da planta com o ambiente e fornece condições favoráveis a absorção de água (OLIVEIRA-NETO et al., 2016).

Hungria (2011) observou, assim como no presente estudo, melhorias nos níveis de prolina em exemplares submetidos a inoculação com o gênero *Rhizobium*, além disso, melhorias no potencial hídrico, no crescimento da parte aérea, maior produção de biomassa e maior quantidade de água no apoplasto são notadas a medida que estes são submetidos aos inoculantes.

Conclusões

O déficit hídrico promove o aumento na atividade de superóxido dismutase e nos níveis de prolina em plantas de feijoeiro Marataoã. Já o inoculante bacteriano ESA 17 influencia de maneira positiva o aumento da atividade das enzimas ascorbato peroxidase e superóxido dismutase, além de aumentar os níveis de prolina no genótipo Marataoã, em condições de déficit hídrico.

Agradecimentos: CAPES, UEPB, Embrapa Algodão, Embrapa Semiárido, Ecolab.

Referências

ARAÚJO, E. D. de. Silício como atenuador do estresse hídrico em feijão-caupi por meio do mecanismo antioxidante e desempenho agrônômico. 2017. 91f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - PPGCA) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2017

BRITO, S. L.; BARBOSA, D.D.; LIMA; L.M. de; FERNANDES-JÚNIOR, P.V. Atividade antioxidante em genótipos de amendoim inoculados com *Bradyrhizobium* e submetidos a estresse hídrico. In: Embrapa Semiárido-Resumo em anais de congresso (ALICE). In: ENCONTRO DE GENÉTICA DO NORDESTE, 21., 2016, Recife. **Anais...** Ribeirão Preto: SBG; Recife: UFPE: UFRPE: UPE, 2016.

DUTRA, W. F.; MELO, A.S. de; SUASSUNA, J. F.; MAIA, J. M.; Dutra, A. F.; SILVA, D. C. Antioxidative Responses of Cowpea Cultivars to Water Deficit and Salicylic Acid Treatment. **Agronomy Journal**, v. 109, p. 895-905, 2017.

FREITAS, R.; DOMBROSKI, J. L. D.; FREITAS, F. C. L. D.; NOGUEIRA, N. W.; PINTO, J. R. D. S Physiological Responses of Cowpea Under Water Stress and Rewatering In No-Tillage And Conventional Tillage Systems. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 3, p. 559-567, 2017.



