

EFEITO DOS EXTRATOS DE QUATRO LEGUMINOSAS, UTILIZADAS COMO ADUBO VERDE, SOBRE A GERMINAÇÃO E O DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)¹

Alexandre Sylvio Vieira da Costa²
Gilberto Gastim Pessanha^{3,4}
Fernando Faria Duque⁴

1.INTRODUÇÃO

Alelopatia é a introdução de substâncias químicas elaboradas por plantas e por microrganismos no meio ambiente, os quais afetam os elementos de uma comunidade. As substâncias alelopáticas são também chamadas aleloquímicas ou substâncias secundárias (2).

É nas plantas que os produtos secundários se encontram com maior freqüência e em maior número. São também comuns nos fungos, nas bactérias e nos artrópodes e menos comuns em outros seres vivos. A sua síntese não é realizada por grupos especiais de células, nem continuamente e tampouco se distribuem por todo o organismo ou se acumulam nos mesmos tecidos (7). A concentração destas substâncias nas plantas pode ser afetada por fatores climáticos e edáficos (11).

¹ Parte da tese apresentada à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pelo primeiro autor, como um dos requisitos para obtenção do título de "*Magister Scientiae*" em Fitotecnia.

Aceito para publicação em 26.09.1996.

² Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa. 36571-000 Viçosa, MG.

³ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Km 47. 2385-970 Seropédica, RJ.

⁴ *In memoriam*.

Alguns efeitos dos compostos alelopáticos já foram identificados, tendo sido mostrado que eles podem agir sobre vários sítios dentro das células das plantas, alterando processos como a taxa de absorção de íons, síntese de proteínas, ativação e desativação de hormônios, fotossíntese, metabolismo de energia e divisão celular (9). Esses compostos, alterando o metabolismo de energia nas células das plantas, inibem ou estimulam a respiração (10).

Segundo CUBERO e MORENO (3), alguns compostos alelopáticos já estão identificados em algumas leguminosas. Os alcalóides, por exemplo, não são comuns em leguminosas, somente 10% delas os acumulam em suas sementes. Alcalóides de plantas fisiologicamente ativos são os principais responsáveis pelo envenenamento de gado e de outros animais domésticos e são encontrados em várias espécies de *Crotalaria*.

Dos aminoácidos tóxicos, a canavanina é típica das Papilionoideae e foi encontrada em 60% das espécies examinadas. A canavanina é predominante em feijão-de-porco, alcançando até 5% do total do peso da matéria seca.

A utilização de leguminosas como adubo verde propicia condições favoráveis para o bom desenvolvimento das plantas no solo com relação à aeração, umidade e textura. A adubação verde pode propiciar grandes vantagens à cultura subsequente, como fornecimento de nitrogênio para as plantas, adição de carbono orgânico ao solo e reciclagem de nutrientes (4). Apesar das vantagens, observou-se em alguns trabalhos efeitos negativos da massa vegetal de leguminosas incorporada ao solo sobre o desenvolvimento do feijoeiro. MIYASAKA *et alii* (8) observaram, em Botucatu (SP), que a crotalária incorporada ao solo poucos dias antes da semeadura do feijão prejudicou a sua germinação, diminuindo o *stand* final em 17%, mas, apesar disso, ela proporcionou aumento na produção de grãos. Em Ribeirão Preto (SP), mesmo com o plantio de feijão sendo efetuado 45 dias após a incorporação da crotalária, ocorreu redução de 16% na germinação.

ABBOUD e DUQUE (1) observaram que a incorporação de plantas de mucuna-preta foi desfavorável ao feijoeiro, provavelmente por causa dos efeitos deletérios promovidos na cultura pelas substâncias alelopáticas nestes materiais.

Este trabalho tem por objetivo verificar os efeitos de extratos aquosos de diferentes leguminosas sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de feijão (*Phaseolus vulgaris*), em laboratório.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos no laboratório do Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia/EMBRAPA.

Foram utilizados extratos aquosos de quatro leguminosas: mucuna-preta (*Mucuna aterrima*), feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), feijão-bravo-do-ceará (*Canavalia brasiliensis*) e crotalária (*Crotalaria juncea*). As plantas foram coletadas completas, parte aérea e raiz, durante o início da fase reprodutiva. O material vegetal foi triturado em liquidificador com água na proporção de 5:1 (água:planta). Após a trituração, o material foi prensado em pano fino até a obtenção de uma massa fibrosa, com baixo teor de umidade. O extrato obtido foi armazenado em refrigerador.

No primeiro experimento foram utilizadas placas de petri esterilizadas em estufa a 170°C durante duas horas e meia. No segundo experimento foram utilizadas mamadeiras com capacidade volumétrica de 260 cm³ e esterilizadas em autoclave a 120°C durante uma hora.

Utilizaram-se nos experimentos sementes de feijão do cultivar Carioca. As sementes de aspecto sadio foram selecionadas e tratadas com hipoclorito de sódio a 5% (12), durante 10 minutos e, posteriormente, lavadas com água estéril. Este procedimento foi realizado para a esterilização externa das sementes.

No segundo experimento foram utilizadas sementes germinadas. As sementes foram colocadas em placa de petri com meio ágar e permaneceram durante 20 horas em sala de incubação à temperatura de 30°C, oscilando em cerca de 2°C até o surgimento da radícula.

Os meios para colocação dos extratos foram feitos com solução de água destilada e ágar. Os extratos dos adubos verdes foram adicionados ao meio ágar de modo a se obter concentrações de 0, 5, 15, 30, 45 e 60% e uma consistência final semi-sólida.

Os experimentos foram conduzidos em sala de incubação que apresentava temperatura controlada em torno de 30°C, variando em 2°C.

No primeiro experimento, após a colocação de 20 ml do meio de cultura (ágar + extrato vegetal das leguminosas) nas placas de petri, foram colocadas 20 sementes de feijão em cada placa. As sementes foram colocadas com a região do hilo e da micrópila inseridos no meio de cultura. Após 15 minutos, 10 sementes foram retiradas desta posição em que se encontravam e foram colocadas deitadas no meio de cultura, com a região do hilo e da micrópila para fora e as demais permaneceram na posição original. As placas foram colocadas em caixas fechadas sem entrada de luminosidade, em sala de incubação. Após 40 horas, avaliou-se a germinação. As sementes de feijão foram consideradas germinadas quando sur-

giam os primeiros sinais da radícula.

Em ambos os experimentos foi realizada preliminarmente uma análise de variância para verificar a existência de interação significativa entre os fatores. Na análise dos dados, para comparação da posição das sementes e do tipo de leguminosa, foi utilizado o teste de Tukey. Para comparação dos níveis de concentração de extrato aquoso, foi utilizada a técnica de análise de regressão. No primeiro experimento foi realizado o delineamento experimental do tipo inteiramente casualizado no esquema fatorial 4 x 6 x 2 com cinco repetições. Os tratamentos utilizados foram os extratos de quatro leguminosãs, em seis concentrações (0, 5, 15, 30, 45 e 60%) e em duas posições de colocação das sementes nas placas de petri (posição horizontal com as sementes posicionadas com o hilo e a micrópila fora do meio de cultura e a posição vertical com o hilo e a micrópila das sementes inseridas no meio de cultura).

No segundo experimento após a autoclavagem das mamadeiras com o meio ágar, foram acrescentados os extratos vegetais, proporcionando volume final do meio de cultura de 50 ml/mamadeira. Em virtude do maior período em que esta etapa ficaria implantada, os extratos das leguminosas sofreram tratamento de pasteurização, sendo aquecidos a 75-80°C em banho-maria durante 20 minutos. Após este período fez-se resfriamento rápido em freezer, seguindo a metodologia de GAVA (6), de modo a diminuir o conteúdo de microrganismos no seu meio. Após o resfriamento das mamadeiras foram colocados quatro sementes de feijão pré-germinadas por mamadeira. As mamadeiras foram colocadas na sala de incubação durante um período de 96 horas. Após esse período, foram realizadas as avaliações do comprimento da radícula e da parte aérea, número de raízes secundárias e a matéria seca das plântulas que era obtida após secagem em estufa a 65°C durante três dias até a obtenção de peso constante.

No segundo experimento foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado no esquema fatorial 4 x 6 com cinco repetições, correspondendo à utilização de quatro leguminosas nas seis diferentes concentrações de seus extratos, semelhantes ao experimento anterior.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro experimento, verificando-se o efeito dos extratos das leguminosas sobre a região da semente de feijão por onde ocorre a entrada de água e a troca de gases, constatou-se que sementes que apresentaram a sua micrópila permanentemente em contato com o meio de cultura (posição vertical) apresentaram menor germinação que as que ficaram

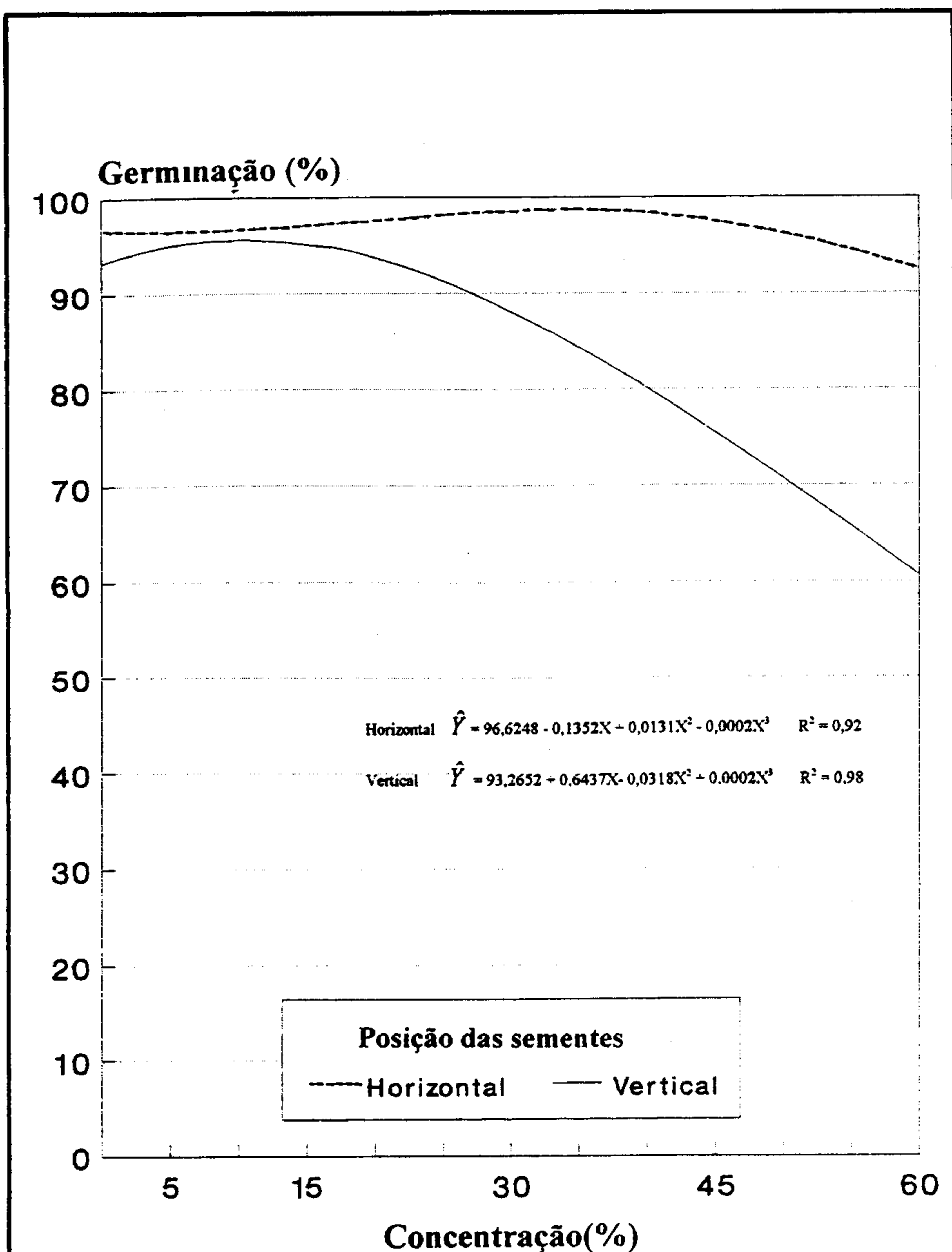


FIGURA 1 - Efeito da posição das sementes de feijão no substrato e as concentrações dos extratos de adubo verde sobre a percentagem de germinação das sementes de feijão (experimento em placas de petri).

apenas alguns minutos em contato com o meio (posição horizontal) (Quadro 1). Observa-se que para todos os extratos avaliados houve diferenças entre as posições das sementes com relação a inibição da germinação, com exceção da mucuna-preta. Na Figura 1, verifica-se que na posição horizontal os efeitos inibitórios só ocorreram na concentração de 60%, enquanto na posição vertical estes efeitos começavam a partir de 15%.

QUADRO 1 - Efeito da interação dos extratos dos adubos verdes e da posição das sementes de feijão nos substratos sobre a percentagem de germinação das sementes de feijão (experimento em placas de petri)*

Leguminosas	Posição das sementes		Médias
	Horizontal	Vertical	
Mucuna-preta	97,00 Aa	91,7 Aa	94,3
Feijão-bravo-do-ceará	95,7 Aa	83,3 Bb	89,5
Crotalária-juncea	94,7 Aa	80,7 Bb	87,7
Feijão-de-porco	96,0 Aa	85,0 Bb	90,5
Médias	95,8	85,2	90,5

C.V.(%) = 10,8

* As médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5%. As letras maiúsculas correspondem às diferenças dentro das colunas, e as minúsculas, às diferenças dentro das linhas.

A utilização de extratos de mucuna-preta não promoveram grandes efeitos na inibição da germinação de feijão (Figura 2), e na média geral apresentaram bons resultados, mostrando neste caso, não causar muitos danos sobre a germinação das sementes de feijão (Quadro 1). Extratos de feijão-de-porco começaram a promover inibição na germinação do feijão a partir da concentração de 30%, o mesmo acontecendo com a crotalária e o feijão-bravo-do-ceará (Figura 2).

Verifica-se, portanto, que para a ocorrência da inibição da germinação das sementes de feijão é necessário que o hilo e a micrópila estejam em contato permanente com as substâncias inibidoras dos extratos vegetais das leguminosas. No campo, as leguminosas utilizadas como adubo verde quando deixadas na superfície ou incorporadas apresentam grande parte de sua massa na camada superficial do solo, na região próxima da deposição das sementes de feijão. Esta proximidade pode promover falhas de germinação como observado por MIYASAKA *et alii* (8), mesmo após

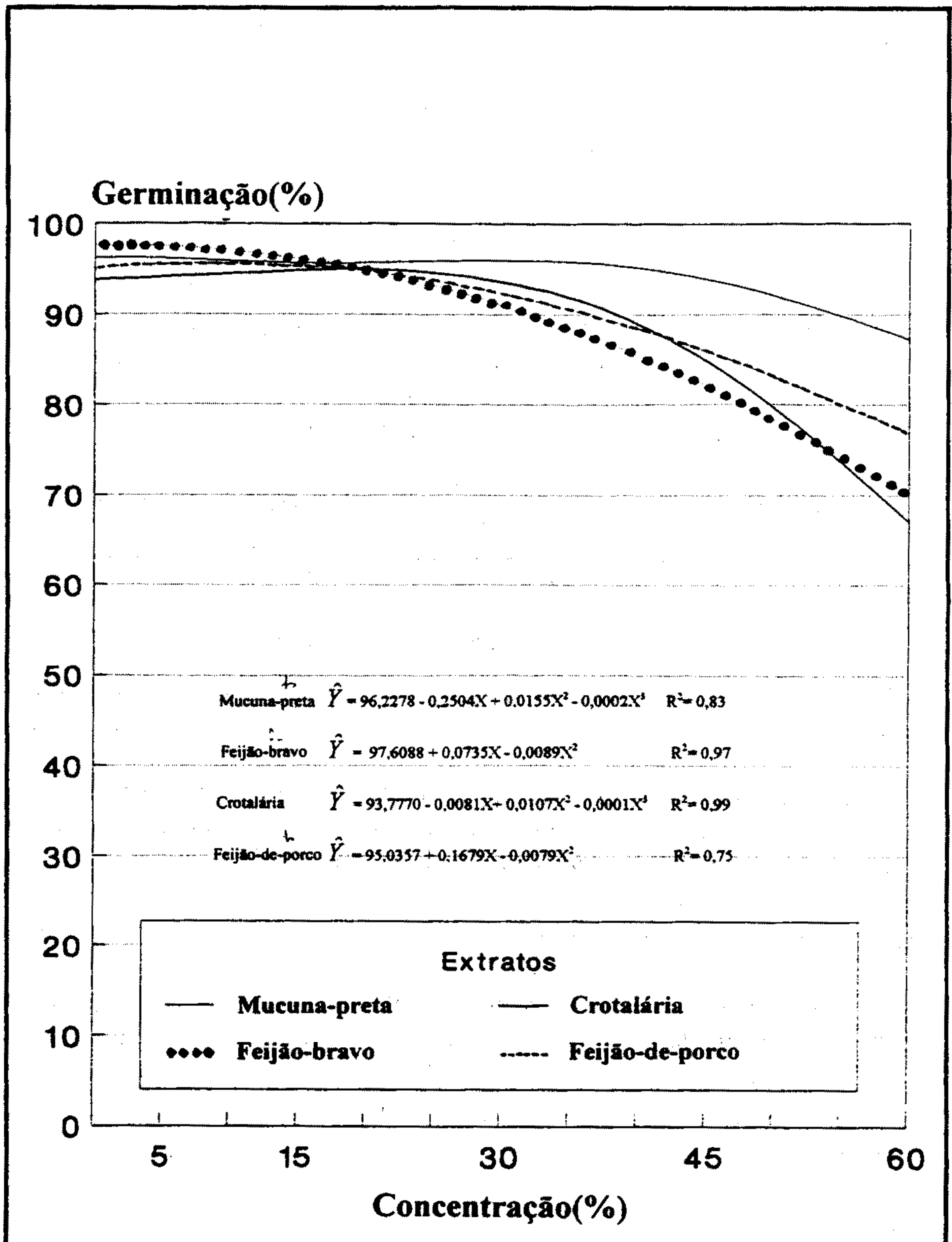


FIGURA 2 - Efeito dos extratos dos adubos verdes e suas concentrações sobre a percentagem de germinação de sementes de feijão (experimento em placas de petri).

breve período de decomposição do material vegetal. Estes efeitos inibitórios também podem ser variáveis, dependendo da leguminosa utilizada.

No segundo experimento, as raízes das plântulas de feijão ficaram em contato direto com o substrato. Na avaliação da parte aérea das plântulas de feijão crescidas nestas novas condições, observou-se que o extrato de feijão-bravo-do-ceará foi o que menos afetou o desenvolvimento do feijão (Quadro 2). Na Figura 3, constatou-se um pequeno estímulo no crescimento da parte aérea das plântulas de feijão quando em contato com baixas concentrações do extrato de feijão-bravo-do-ceará. Nas concentrações dos extratos das demais leguminosas obteve-se uma redução no desenvolvimento da parte aérea do feijão, já nas concentrações mais baixas, sendo a queda contínua até a concentração de 60%. O feijão-bravo-do-ceará afetou menos a parte aérea do feijão, nas suas concentrações mais elevadas, enquanto as demais leguminosas promoveram quedas de até 60% no crescimento da parte aérea, nas concentrações de 60% dos extratos em relação a testemunha (Figura 3).

QUADRO 2 - Efeito dos extratos dos adubos verdes sobre o comprimento da parte aérea e da radícula, número de raízes secundárias e peso das plântulas secas de feijão (experimento em mamadeiras)*

Leguminosas	Comprimento da parte aérea (centímetros)	Comprimento da radícula (centímetros)	Número de raízes secundárias	Peso (gramas)
Mucuna-preta	14,8 B	5,2 A	26,6 A	0,60 A
Feijão-bravo-do-ceará	17,5 A	4,6 B	24,8 A	0,58 A
Crotalária-juncea	13,4 B	3,8 C	24,1 A	0,59 A
Feijão-de-porco	13,7 B	3,3 D	18,7 B	0,58 A
Médias	14,9	4,2	23,6	0,59
C.V.(%)	20,7	15,7	17,1	13,3

* As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

No comprimento das radículas das plântulas de feijão, os extratos das leguminosas apresentaram efeitos bastante distintos. O feijão-de-porco foi o que mais prejudicou o desenvolvimento da radícula do feijão, seguido pela crotalária-juncea e feijão-bravo-do-ceará, sendo o extrato de mucuna-preta o que menos prejudicou a radícula do feijão (Quadro 2). Na avaliação das concentrações dos extratos, os efeitos deletérios sobre as

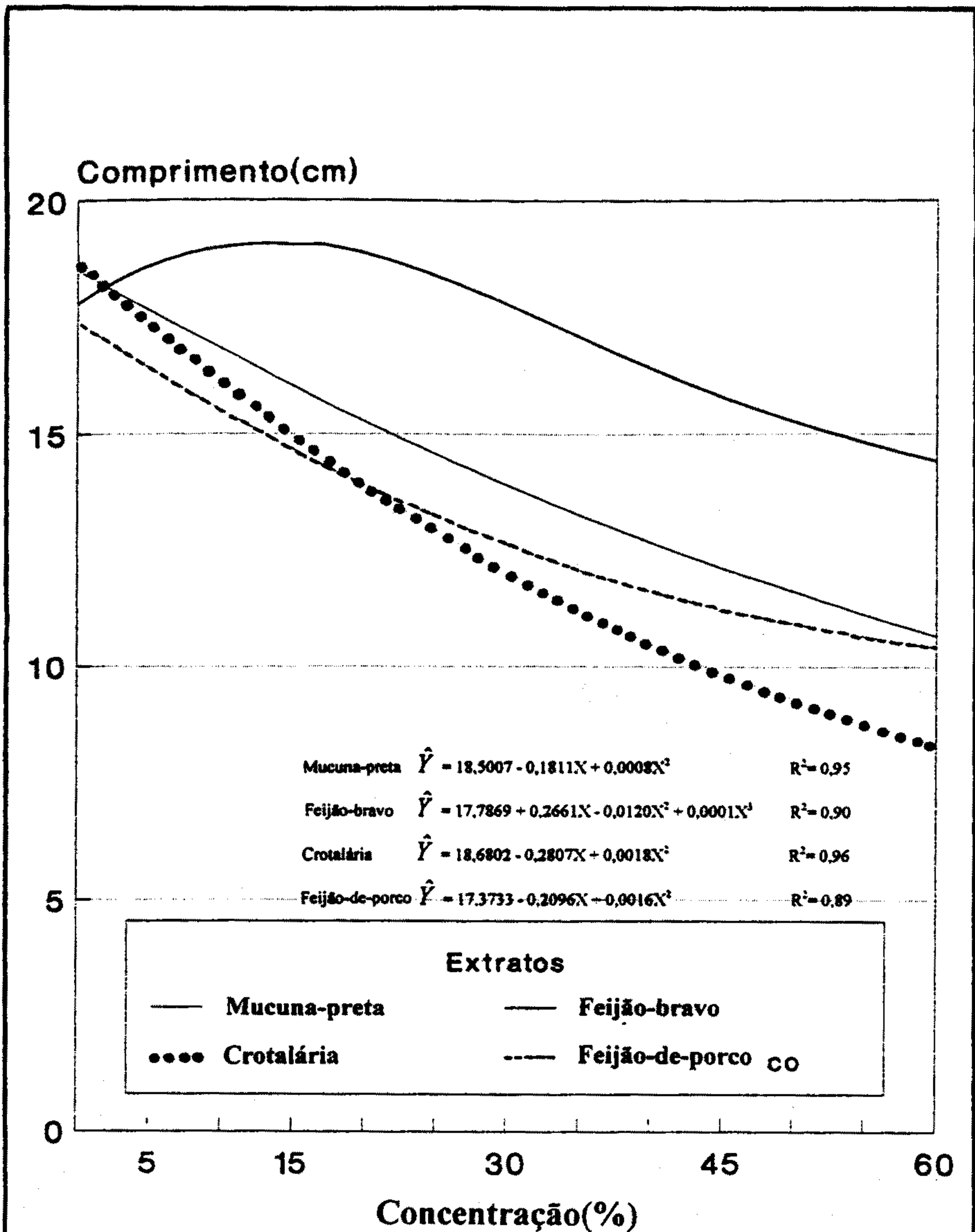


FIGURA 3 - Efeito da concentração dos extratos de adubos verdes sobre o comprimento, em centímetros da parte aérea das plântulas de feijão (experimento com mamadeiras).

radículas de feijão foram observados já na menor concentração (5%) e estes efeitos negativos aumentavam com o acréscimo destas (Figura 4). Estas quedas no desenvolvimento da radícula, quando comparadas à testemunha nas concentrações de 5 e 60%, são de aproximadamente 45 e 75%, respectivamente, para a crotalaria e feijão-de-porco.

No número de raízes secundárias das radículas do feijão (Quadro 2), o extrato de feijão-de-porco mais uma vez se mostrou bastante prejudicial em relação ao extrato das demais leguminosas, que não mostraram diferenças entre si. A presença de 5% dos extratos das leguminosas no meio de cultura foi suficiente para promover inibição no número de raízes secundárias (Figura 5). Na concentração de 15%, os efeitos inibitórios foram superiores aos das concentrações de 0 e 5%. Entre 15 e 60% de concentração, porém, houve um certo equilíbrio na inibição das radículas em cada tratamento. No efeito de cada extrato de leguminosa, registrou-se comportamento similar ao ocorrido com o crescimento da radícula, em que o feijão-de-porco apresentou a tendência de promover efeitos mais prejudiciais, mesmo com a menor concentração de 5%.

Na Figura 6 nota-se um comportamento diferenciado das curvas de concentração dos extratos em relação às demais características avaliadas. Observa-se que as concentrações 0% (testemunha) que haviam apresentado maior comprimento da parte aérea e da radícula e número de raízes secundárias do feijão, neste caso foram as que apresentaram menor quantidade de matéria seca, em praticamente todos os extratos avaliados. As concentrações de 60% dos extratos das leguminosas foram as que promoveram maior quantidade de matéria seca nas plântulas de feijão, mostrando-se superior à testemunha e à concentração de 5%. No acúmulo de matéria seca, o que ocorreu foi um impedimento da utilização das reservas dos cotilédones do feijão para o seu crescimento, à medida que se aumentava a concentração dos extratos das leguminosas no meio. Alguma substância presente nos extratos provavelmente impediu a atuação das enzimas sobre as reservas cotiledonares, afetando a produção de energia e de novos compostos para o crescimento das plântulas de feijão.

Estes efeitos inibitórios também foram observados em trabalhos com outras leguminosas utilizadas como adubo verde. Tawata e Hongo citados por FREITAS *et alii* (5) demonstraram que a utilização de mimosina inibe o desenvolvimento radicular do feijão e de outras culturas, e esta substância é muito encontrada em *Leucaena leucocephala*. Outros compostos identificados nesta mesma planta foram: ácidos cis-p-coumárico, hidroxibenzóico e p-hidroxifenilático, dentre outros.

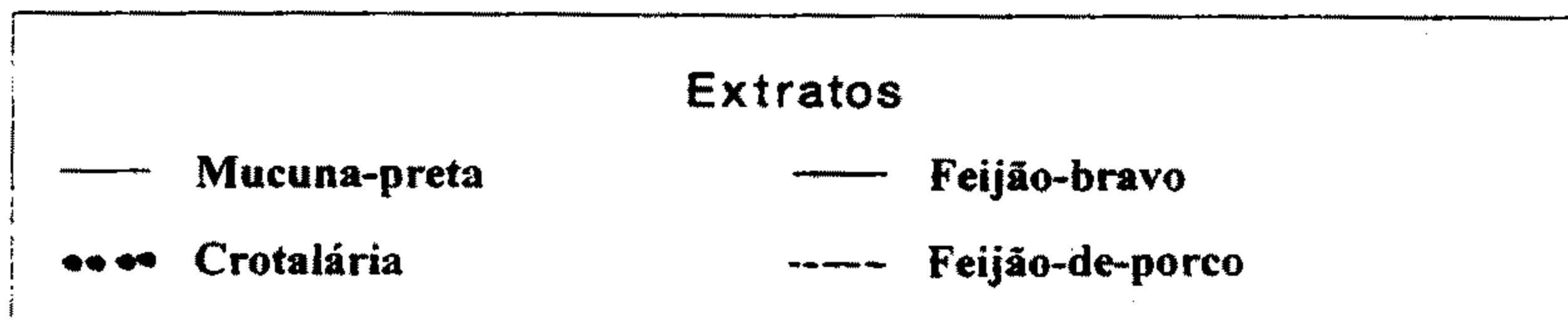
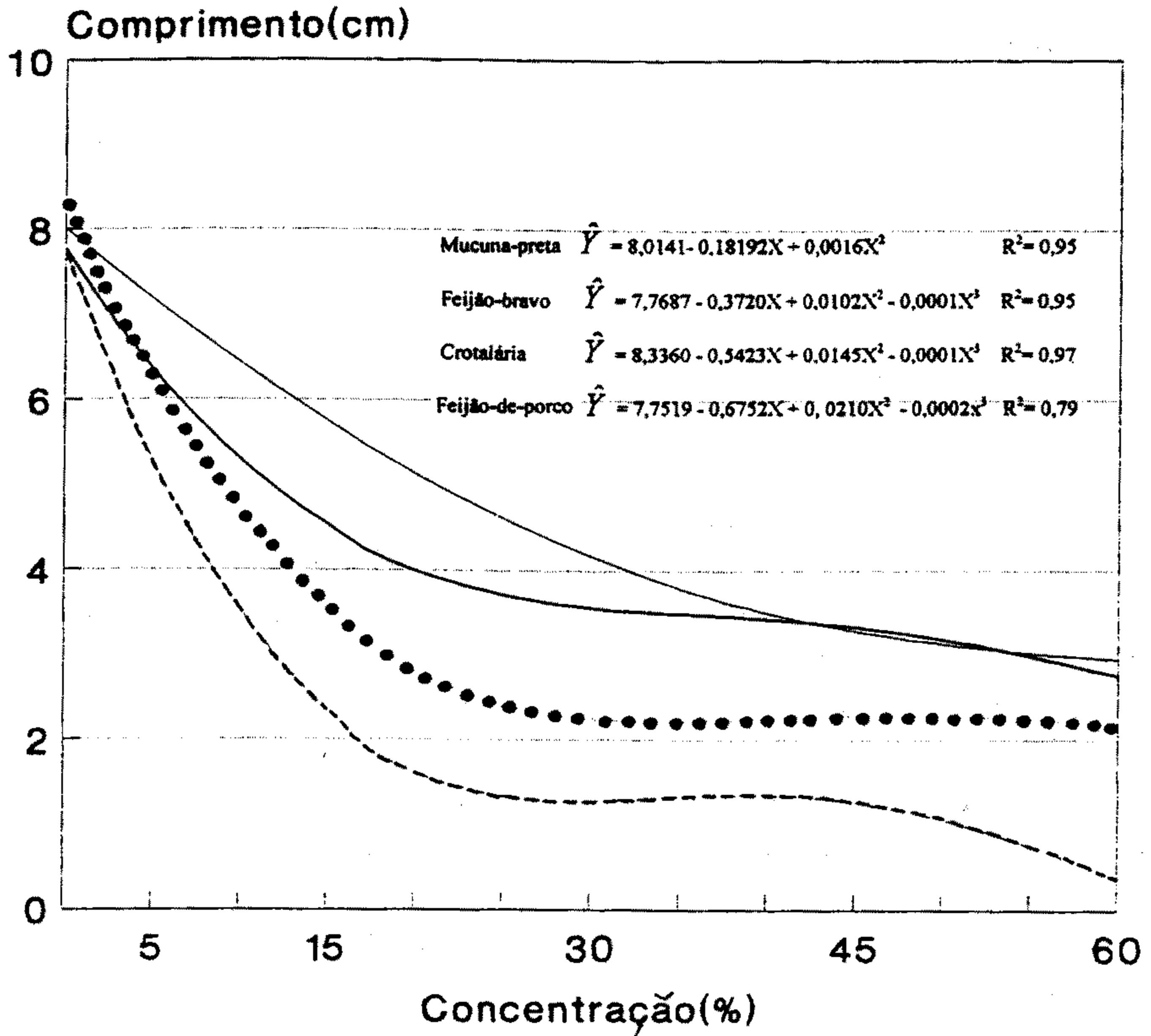


FIGURA 4 - Efeitos da concentração dos extratos dos adubos verdes sobre o comprimento, em centímetros, da radícula das plântulas de feijão (experimento em mamadeiras).

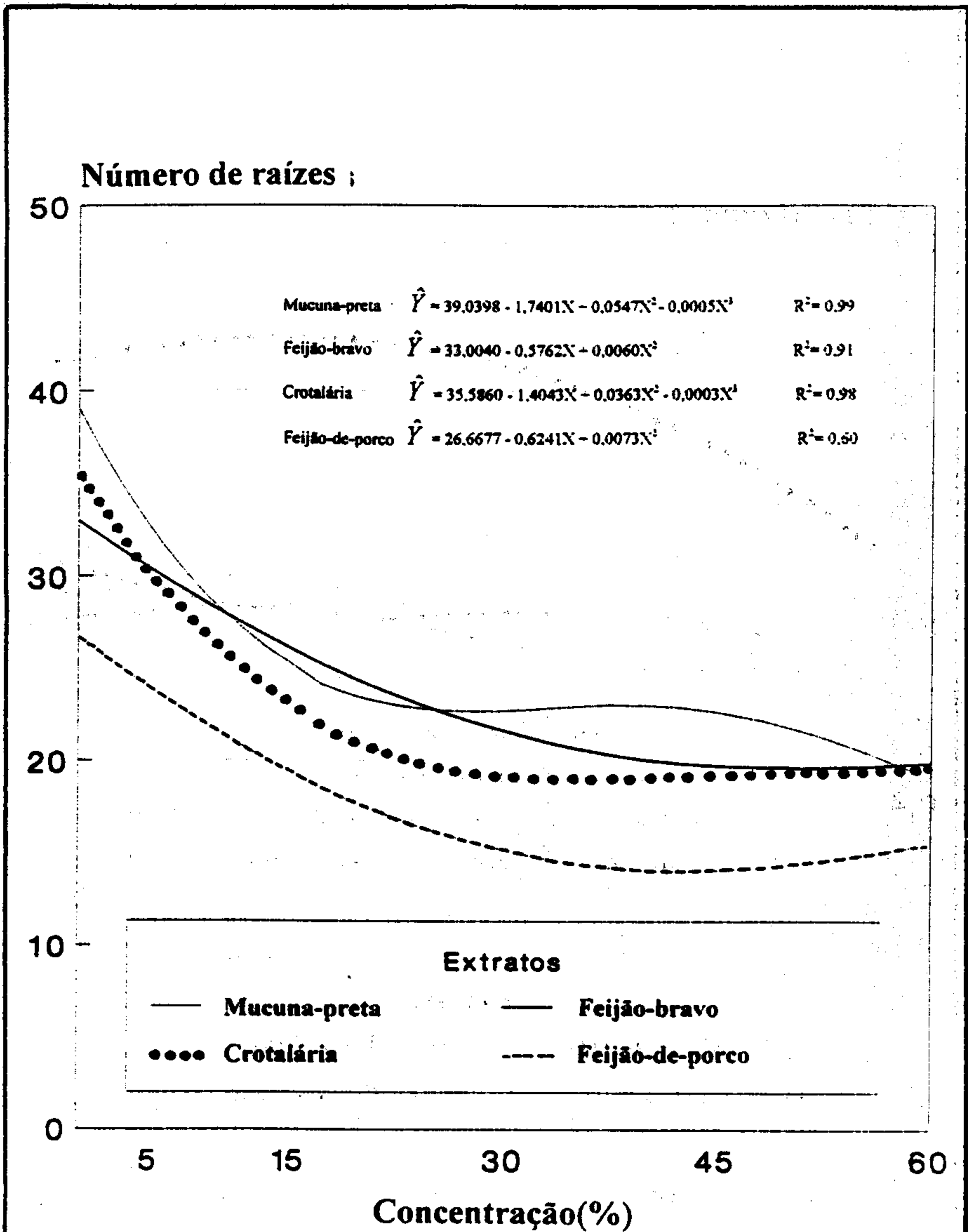


FIGURA 5 - Efeitos dos extratos dos adubos verdes e suas concentrações sobre o número de raízes secundárias das plântulas de feijão (experimento com mamadeiras).

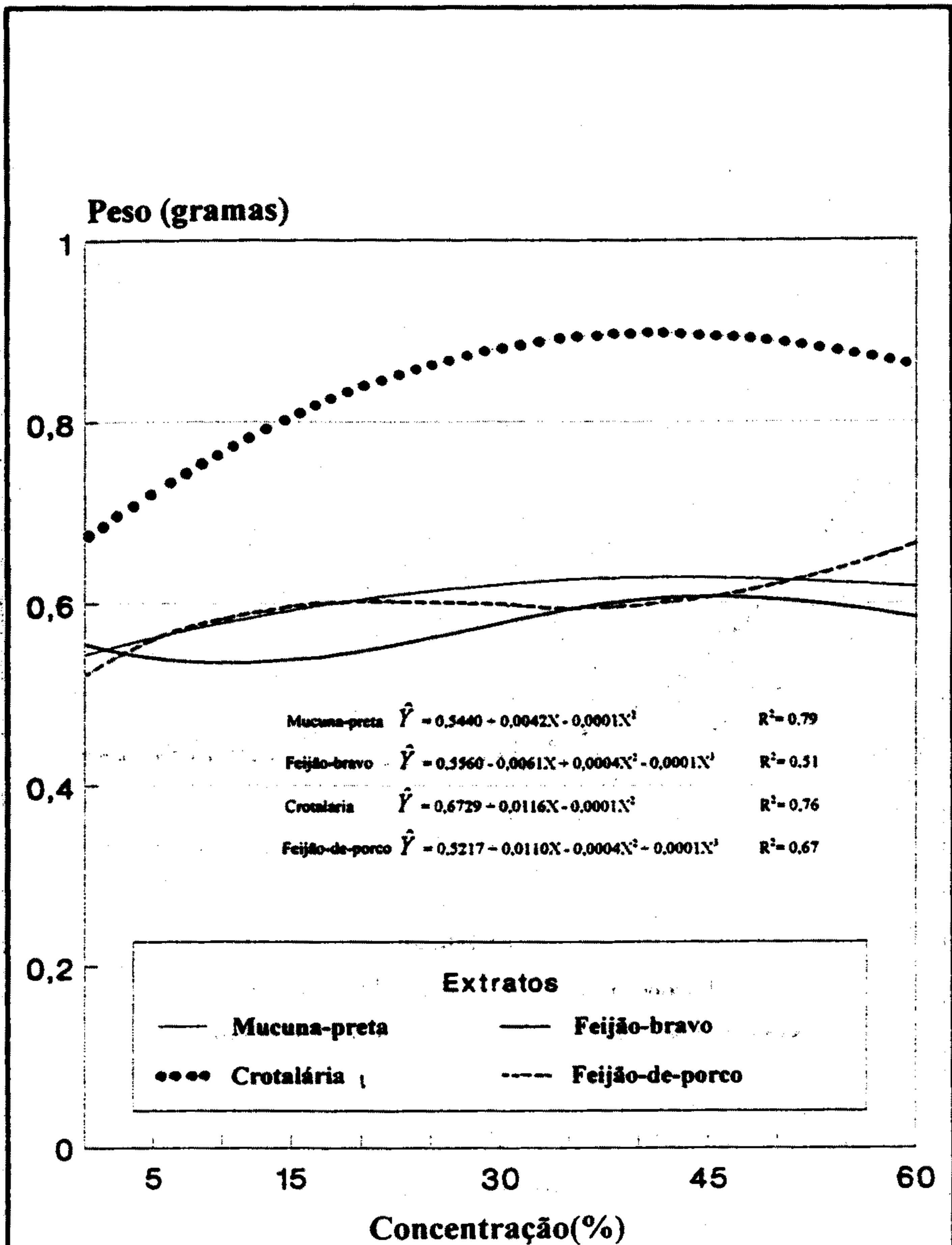


FIGURA 6 - Efeito dos extratos dos adubos verdes e suas concentrações sobre o peso em gramas, das plântulas secas de feijão (experimento em mamadeiras).

4. CONCLUSÕES

De modo geral, a germinação e o crescimento das plântulas de feijão foram bastante prejudicados pelos extratos das leguminosas, variando a intensidade dos efeitos em função dos extratos e das concentrações. Desse modo, podem-se tirar as seguintes conclusões:

a) A maior inibição da germinação do feijão foi observada quando a região do hilo e da micrópila estiveram em contato direto e permanente com os extratos vegetais do feijão-bravo-do-ceará, crotalaria-juncea e feijão de porco;

b) As concentrações dos extratos das leguminosas no meio ágar até 5% não apresentaram grandes efeitos sobre a germinação das sementes de feijão com o hilo e a micrópila em contato permanente com o meio;

c) O extrato de feijão-de-porco foi o que mais prejudicou o sistema radicular do feijão;

d) Concentrações dos extratos vegetais das leguminosas acima de 5% já promoviam inibições no sistema radicular do feijão; e

e) A parte aérea das plântulas de feijão foi a que sofreu os efeitos menos prejudiciais dos extratos, enquanto o sistema radicular foi a estrutura mais prejudicada.

5. RESUMO

Avaliaram-se os efeitos dos extratos aquosos de quatro leguminosas sobre a germinação e crescimento do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Utilizaram-se a mucuna-preta (*Mucuna aterrima*), a crotalaria (*Crotalaria juncea*), o feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) e o feijão-bravo-do-ceará (*Canavalia brasiliensis*). Os extratos vegetais foram colocados em meio ágar nas concentrações de 0, 5, 15, 30, 45 e 60% , com cinco repetições. Foram utilizadas sementes de feijão do cultivar Carioca. Na avaliação da germinação em placas de petri, as sementes foram colocadas com o hilo e a micrópila inseridos no meio, permanecendo em contato permanente ou temporário (15 minutos) com o extrato. Na outra etapa, em frascos tipo mamadeira, avaliaram-se o crescimento e o desenvolvimento das plântulas de feijão. Os extratos vegetais das leguminosas apresentaram efeitos bastante diferenciados. Os extratos de feijão-de-porco foram os que mais prejudicaram o feijoeiro. A radícula em comparação à parte aérea foi a parte vegetativa mais prejudicada. Os extratos vegetais das leguminosas em concentração acima de 5% promoviam inibições no sistema radicular. Os efeitos sobre a germinação do feijão foram mais prejudiciais quando o hilo e a micrópila se encontravam em contato permanente com os extratos

vegetais. O menor tempo de contato não foi suficiente para promover efeitos deletérios significativos.

6. ABSTRACT

(EFFECT OF WATERY EXTRACTS OF GREEN MANURE LEGUMES ON THE GERMINATION AND DEVELOPMENT OF BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.) SEEDLINGS)

The effect of watery extracts of the legumes *Mucuna aterrima*, *Crotalaria juncea*, *Canavalia ensiformis*, and *Canavalia brasiliensis* on the germination and development of bean (*Phaseolus vulgaris*) seedlings was studied. The legumes were macerated in water and used at the concentrations of 0, 5, 15, 30, 45 and 60%. The germination and the development of the shoot and roots were evaluated. All the extracts influenced the bean seedling development, albeit in diverse manners. The inhibition intensity of *C. juncea* extracts depended on the plant contact with the culture medium. The root tip was the seedling part most affected. Root growth inhibition started with media containing 5% of the extract. The contact of the hilum and the micropyle of the bean seeds with the medium was essential for the germination inhibition. Even shorter times of contact caused no deleterious, significant effects.

7. LITERATURA CITADA

1. ABBOUD, A. C. de S. & DUQUE, F. F. Efeitos dos materiais orgânicos e vermiculita sobre a sequência feijão-milho-feijão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 21(3):227-236, 1986.
2. ALMEIDA, F. S. *A alelopatia e as plantas*. Londrina, IAPAR, 1988. 60p. (Circular 67).
3. CUBERO, J. I. & MORENO, M. T. *Leguminosas de grano*. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa, 1987. 359p.
4. DE POLLI, H. ; FRANCO, A. A. ; ALMEIDA, D. L. de ; DUQUE, F. F. ; MONTEIRO, E. M. & DÖBEREINER, J. *A biologia do solo na agricultura*. Seropédica, UAPNPBS, 1988. 48p. (Documentos 5).
5. FREITAS, A. R. de; OLIVEIRA, A. L. P. C. de; SILVA, B. A. da & DECICO, M. J. V. *Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit: Cultura e melhoramento*. São Carlos, UEPAE, 1991. 93p. (Documentos 12).
6. GAVA, A. J. *Principio de tecnologia dos alimentos*. São Paulo, Editora Nobel, 1986. 284p.
7. McCLURE, J. W. Physiology and functions of flavonoids. In: Harborne, J. B. ; Harbry, T. J. & Marbry, H. (eds.). *The flavonoids*. London, Chapman, 1975. p.970-1055.

8. MIYASAKA, S. ; FREIRE, E. S. ; MASCARENHAS, H. A. A. ; CAMPANA, M. ; NERY, C. & SORDI, G. de. Efeito da adubação verde com uma gramínea e quatro leguminosas sobre a produção do feijoeiro "da seca" em terra roxa misturada. *Bragantia*, 25(25): 277-289, 1966.
9. ORTEGA, R. C. ; ANAYA, A. L. & RAMOS, L. Effects of allelopathic compounds of corn pollen on respiration and cell division of watermelon. *Journal of Chemical Ecology*, 14(1): 71-86, 1988.
10. PUTNAM, A. R. *Allelopathic chemical, nature's herbicides inaction*. C & EN,1983. p.34-45. (Special Report).
11. PUTNAM, A. R. & DUKE, W. D. Biological supression of weeds: evidences for allelopathy in accessions of cucumber. *Science*, 185(4148): 370-372, 1974.
12. SCOTT, J. M. & PORTER, F. E. An analysis of the accuracy of a plant infection technique for counting *Rhizobia*. *Soil Biology and Biochemistry*, 18(4): 355-362, 1986.