

HERBICIDAS NA NODULAÇÃO E NA FIXAÇÃO DE N₂ EM CAUPI¹

JOSÉ CARLOS C.SILVA², WALDECIRO COLAÇO³, HÉLIO DE A. BURITY⁴, NEYDSON C. M. FERREIRA⁵, MÁRCIA V.B. FIGUEIREDO⁶ e COSME R. MARTINEZ⁷

RESUMO - Objetivando avaliar os efeitos da aplicação de distintos herbicidas na nodulação e na fixação do N₂ em caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp], foi instalado um experimento em casa de vegetação, utilizando um Latossolo Vermelho-Amarelo, da Zona da Mata Norte de Pernambuco. Os tratamentos incluíram a aplicação de herbicidas em doses correspondentes às recomendadas e ao dobro destas (trifluralin 1,8 e 3,6 L.ha⁻¹; EPTC 5,0 e 10,0 L.ha⁻¹; pendimethalin 2,0 e 4,0 L.ha⁻¹; metribuzin 1,1 e 2,2 L.ha⁻¹; linuron 2,4 e 4,8 L.ha⁻¹; e imazaquim 1,0 e 2,0 L.ha⁻¹), além de um tratamento sem herbicida (controle). Em todos os tratamentos as sementes de caupi (variedade BR-IPA-206) foram infectadas com a estirpe de *Bradyrhizobium* NFB 09. O desenvolvimento do caupi foi avaliado aos 20, 40, 60 e 80 dias após o plantio. Os resultados mostraram que a nodulação foi afetada na presença dos herbicidas trifluralin (1,8 L.ha⁻¹), linuron (2,4 L.ha⁻¹) e imazaquim (1,0 L.ha⁻¹), mas os efeitos ocorreram apenas nos estádios iniciais do desenvolvimento da variedade de caupi estudada. A atividade total da enzima nitrogenase foi reduzida no solo tratado com herbicidas. O metribuzin e o linuron apresentaram elevado grau de fitotoxicidade para a cultura, inibindo o seu desenvolvimento vegetativo. Apesar dos efeitos observados na nodulação e na fixação do nitrogênio, os herbicidas não afetaram diretamente a acumulação de nitrogênio pelas plantas de caupi.

Termos para indexação: *Bradyrhizobium*, fixação de N₂, *Vigna unguiculata*.

HERBICIDES ON NODULATION AND N₂-FIXATION IN COWPEA

ABSTRACT - An experiment was carried out under greenhouse conditions in order to evaluate the effects of soil applications of different herbicides on nodulation and nitrogen fixation in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp]. Treatments included a control (without herbicide) and application of the herbicides at the recommended rates and at the double of these rates (trifluralin 1.8 and 3.6 L.ha⁻¹; EPTC 5.0 and 10.0 L.ha⁻¹; pendimethalin 2.0 and 4.0 L.ha⁻¹; metribuzin 1.1 and 2.2 L.ha⁻¹; linuron 2.4 and 4.8 L.ha⁻¹; imazaquim 1.0 and 2.0 L.ha⁻¹). All treatments were inoculated with *Bradyrhizobium*, strain NFB 09. Growth of cowpea was evaluated at 20, 40, 60, and 80 days after planting. The data suggested that cowpea nodulation was affected by trifluralin (1.8 L.ha⁻¹), linuron (2.4 L.ha⁻¹), and imazaquim (1.0 L.ha⁻¹), but the effects occurred only at the earlier stages of cowpea growth. Total nitrogenase activity was reduced in the soil treated with herbicides. Metribuzin and linuron showed a large degree of fitotoxicity to the crop, inhibiting its vegetative growth. Notwithstanding these effects observed on nodulation and nitrogen fixation, the herbicides seem not to have affected nitrogen uptake.

Index terms: *Bradyrhizobium*, N₂-fixation, *Vigna unguiculata*.

¹ Aceito para publicação em 19 de junho de 1997.

Extraído da Dissertação de Mestrado do primeiro autor, apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco.

² Eng. Agr., M.Sc., Ministério de Agricultura e Reforma Agrária/DFARA, Av. General San Martín 1000, Bongi, CEP 50630-060 Recife, PE.

³ Farm. Bioquímico, Dr., Dep. de Energia Nuclear, UFPE, Av. Prof. Luiz Freire, 1000, CEP 50740-540 Recife, PE. Bolsista do CNPq.

⁴ Eng. Agr., Ph.D., Empresa Pernambucana de Pesquisas Agropecuárias (IPA)/Embrapa, Caixa Postal 1022, CEP 50761-000 Recife, PE. Bolsista do CNPq.

⁵ Eng. Agr., Dr., Dep. de Agronomia, UFRPE, Caixa Postal 2071, CEP 50761-000 Recife, PE.

⁶ Bióloga, M.Sc., Dep. de Microbiologia do Solo, Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado de Alagoas (EPEAL), Caixa Postal 699, CEP 57060-000 Maceió, AL.

INTRODUÇÃO

Dentre as leguminosas cultivadas no Nordeste do Brasil, destaca-se o feijão caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp], considerado excelente fonte de proteína de baixo custo e alimento básico para a população, constituindo principal cultura de subsistência no sertão semi-árido da região. Algumas características dessa cultura, como resistência às pragas e doenças, adaptabilidade às condições climáticas da região, pouca exigência quanto à fertilidade do solo e boa produtividade, induzem à sua maior difusão. O emprego dos herbicidas para o controle químico das plantas daninhas tem sido incrementado, o que, além de evitar prejuízos na cultura, propicia redução nos custos de mão-de-obra, em comparação com a capina exclusiva (Blanco et al., 1969; Barreto & Dynia, 1988). Alguns herbicidas têm sido empregados com relativa eficiência, em cultivos do caupi nas instituições de pesquisa destinados à produção de sementes básicas (Barreto & Dynia, 1988). O caupi é uma leguminosa muito sensível aos herbicidas, e o grau de seletividade pode variar com as cultivares (Araújo et al., 1984).

Informações de que o emprego de herbicidas na cultura do feijão apresentou comportamento satisfatório, sem influenciar a nodulação e sem apresentar fitotoxicidade para a planta, têm sido apresentadas (Deuber & Forster, 1974, 1978; Victoria Filho & Godoy Junior, 1978). Entretanto, efeitos prejudiciais sobre a fixação do N₂, nodulação, crescimento e produção, também têm sido informados (Hamdi & Tewfik, 1969; Neves, 1983). Diferenças são possíveis, devido aos diferentes padrões de degradação ou adsorção em diferentes tipos de solo (Grossbard, 1976). Além disso, em estudos sobre a compatibilidade dos herbicidas com *Bradyrhizobium* sp. e com a simbiose das leguminosas, De Polli et al. (1986) mostraram que os herbicidas apresentaram efeitos prejudiciais em 42% dos testes efetuados. Todos esses aspectos mostram que é de fundamental interesse a realização de estudos sobre a ação dos herbicidas na associação caupi/*Bradyrhizobium*.

O presente trabalho tem por objetivo avaliar os efeitos da aplicação de herbicidas, em diferentes dosagens, na nodulação e na fixação do nitrogênio em caupi.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação, utilizando-se um Latossolo Vermelho-Amarelo franco-argiloarenoso com pH (H₂O; 1:2,5) 5,4; carbono orgânico 13,8 g.kg⁻¹; nitrogênio total 1,0 g.kg⁻¹, areia, silte e argila, respectivamente 630, 80 e 290 g.kg⁻¹. As amostras de solo, coletadas a 0-20 cm de profundidade, foram compostas, bem misturadas, secadas ao ar e peneiradas (5,00 mm). Foram utilizados vasos de plástico providos de drenos na sua parte inferior, lateralmente, os quais foram recobertos internamente com uma camada fina de brita, por cima da qual foi colocada, como filtro, uma esponja de náilon de 1,0 cm de espessura. Nos vasos assim preparados, distribuiu-se o solo (8,0 kg.vaso⁻¹), o qual, após aplicação de calcário dolomítico em quantidades equivalentes a 1,5 t.ha⁻¹, foi incubado por 60 dias. Durante esse tempo, foi feito o acompanhamento da elevação do pH, por determinações potenciométricas periódicas. O teor d'água no solo, durante essa fase e no transcorrer do experimento, foi mantido a 80% da capacidade de vaso (0,18 kg.kg⁻¹).

O experimento constou de um fatorial 6 x 2 x 4, em blocos completos casualizados, com três repetições, correspondendo às combinações de herbicidas (trifluralin; EPTC; pendimethalin; metribuzin; linuron; imazaquim), doses (recomendada - DR e dobro da recomendada - DDR) e épocas de desenvolvimento do caupi (20, 40, 60, 80 dias após plantio - DAP), compreendendo 48 tratamentos, incluindo ainda um Controle (sem aplicação de herbicida), para cada época considerada, perfazendo um total de 52 tratamentos.

Na designação dos tratamentos foram mantidos os nomes comuns dos herbicidas. Os produtos comerciais (p.c.) aplicados conforme recomendações dos fabricantes foram empregados nas formas de concentrados emulsionáveis - CE - (Trifluralina, Eptam, Herbadox), de suspensões concentradas - SC - (Sencor, Afalon) e de solução aquosa concentrada - SAC - (Scepter). As doses constaram de 1,8 e 3,6 L.ha⁻¹ de Trifluralina (p.c. 45% do ingrediente ativo - i.a. - trifluralin), 5,0 e 10,0 L.ha⁻¹ de Eptan (p.c. 72% do i.a. Eptc), 2,0 e 4,0 L.ha⁻¹ de Herbadox (50% do i.a. pendimethalin), 1,1 e 2,2 L.ha⁻¹ de Sencor (p.c. 48% do i.a. metribuzin), 2,4 e 4,8 L.ha⁻¹ de Afalon (p.c. 45% do i.a. linuron) e, 1,0 e 2,0 L.ha⁻¹ de Scepter (15% do i.a. imazaquim). Na aplicação dos herbicidas, estabeleceu-se uma área de 30 m² (3 m de largura; 10 m de comprimento), na qual foram colocados todos os vasos de um mesmo tratamento. Os vasos enfileirados receberam a aplicação dos herbicidas por meio de um pulverizador costal a CO₂, à pressão de 300 kPa, com volume de calda de 400 L.ha⁻¹. Na aplicação dos produtos, o pulverizador foi posicionado a 1,0 m de altura em relação ao nível do solo. EPTC, imazaquim, pendimethalin e trifluralin foram aplicados em pré-plantio incorporado, e o plantio foi efetuado cinco dias após a aplicação. Os produtos foram imediatamente incorporados e misturados a uma profundidade de 8,0 cm. Linuron e

metribuzin foram aplicados em pré-emergência, um dia após o plantio. Para a aplicação, os vasos foram irrigados e trazidos ao teor de água desejado, e assim, mantidos por uma semana, e depois, deixados em repouso, por três dias, sem irrigação, procedendo-se o tratamento com estes herbicidas. Os vasos não tratados com herbicida (Controle) foram preparados de modo idêntico aos que receberam os produtos.

A estirpe de *Bradyrhizobium* utilizada foi a NFB 09, recomendada pela Rede de Laboratórios para Recomendações de Estirpes (RELARE), de comprovada eficiência para o caupi; é originária do Núcleo de Fixação Biológica do N₂ nos Trópicos (NFBNT-UFRPE). No preparo do inoculante, a estirpe foi purificada por repicagens para placas-de-Petri contendo meio extrato de levedura-manitol-ágar (ELMA), inoculada em 50 mL do meio extrato de levedura-manitol (ELM), e, em seguida, desenvolvida sob agitação rotativa, à temperatura ambiente ($\pm 28^{\circ}\text{C}$), por 72 horas. A cada vaso, no momento da sementeira, foram aplicados 5 cm³ desta suspensão contendo 10⁸ células viáveis/cm³.

A cultivar de caupi empregada foi a BR-IPA-206, selecionada pela Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA) e recomendada para todo o Estado de Pernambuco, apresentando planta semi-ereta, crescimento indeterminado, ciclo médio (semeadura ao início da maturação) de 70 dias e, peso médio de 100 sementes, de 22 g. As sementes de caupi foram desinfetadas em álcool 95° GL e em HgCl₂ (1:500), por três minutos, sendo, em seguida, lavadas oito vezes com água fervida. Foram semeadas cinco sementes por vaso, procedendo-se a administração do inoculante em todos os tratamentos. Após doze dias, foi realizado o desbaste para três plantas por vaso. Todos os vasos foram irrigados, a cada três dias após o desbaste, sendo administrada, semanalmente, uma solução nutritiva livre de N (Munns, 1968). A coleta das plantas foi realizada nas quatro épocas do desenvolvimento do caupi, especificadas. Em cada época de avaliação, três vasos de cada tratamento eram escolhidos, ao acaso, para realização das avaliações programadas. Os parâmetros avaliados incluíram: peso de matéria seca e N total da parte aérea (caules e folhas), número e peso de matéria seca de nódulos, e atividade global da enzima nitrogenase. Foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação de médias, dos fatores estudados.

Para a determinação do N-total nas diferentes partes da planta, o material vegetal, após secagem em estufa (65°C, 72 horas), foi passado em moinho Wiley (0,84 mm), e, posteriormente, analisado, de acordo com o método Kjeldhal, segundo Sarruge & Haag (1974), em auto-analisador Tecator (Kjeltec Autoanalyzer 1030). A atividade da nitrogenase foi determinada pelo método de redução de acetileno, como estabelecido em Turner & Gibson (1980), utilizando-se um cromatógrafo em fase gasosa CG 27, equipado com detector de ionização de chama, com coluna de Porapak N (2,0 m de comprimento: 0,3 cm de diâmetro externo) operada isotermicamente a 40°C, tendo N₂ como gás de arraste. As temperaturas do injetor e do detector foram 140 e 160°C, respectivamente. A identificação e a quantificação do etileno, nas amostras analisadas, foram feitas por comparação aos resultados obtidos (alturas de pico) de mistura padrão similar à descrita por Turner & Gibson (1980), com pureza mínima de 95,5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Acumulação de N e rendimento de matéria seca

Os valores médios das quantidades do N total acumulado e do rendimento de matéria seca em diferentes partes da planta do caupi, obtidos em função dos tratamentos estudados, estão informados na Tabela 1. Os resultados sugerem, na maior parte dos casos, semelhanças de comportamento das quantidades médias do N-total acumulado nos caules e folhas, em resposta aos diferentes herbicidas estudados. O metribuzin, nas duas dosagens aplicadas, e o linuron, na DDR, afetaram drasticamente o desenvolvimento das plantas, sendo letais para a cultivar de caupi estudada, permitindo a germinação e, em alguns casos, um pequeno desenvolvimento das plantas na fase inicial do experimento, possibilitando realizar apenas a avaliação aos 20 DAP. Nos demais tratamentos, embora tenham existido tendências de redução, as quantidades acumuladas em cada parte da planta não se mostraram significativamente diferentes entre si, não diferindo, também, do tratamento sem herbicida (Controle). Tendências semelhantes foram observadas quanto aos dados de matéria seca produzida nos caules e folhas do caupi, notando-se, ainda, em relação ao Controle, redução significativa na matéria seca de caules no tratamento com linuron (DR), correspondente ao mais baixo valor encontrado.

O andamento seguido na acumulação do N total nas folhas e caules do caupi, em diferentes tratamentos e épocas de avaliação estabelecidas, é representado na Fig. 1. Tomando-se como referência o comportamento do Controle, nota-se que houve aumento nas quantidades de N nas folhas, dos 20 aos 40 DAP, seguido da diminuição dessas quantidades até os 60 DAP, com aumento posterior aos 80 DAP. O comportamento observado assemelha-se ao geralmente informado em estudos sobre a absorção de N pelo caupi (Oliveira & Dantas, 1988). As quantidades determinadas, embora compatíveis com dados informados na literatura (Stanford et al., 1988), tornam a comparação difícil, refletindo pequenas diferenças, obviamente referentes às condições em que o experimento se realizou, características da variedade, e características e propriedades do

solo utilizado. Os teores de N determinados nas folhas, entretanto, apresentaram-se na faixa normalmente considerada adequada na cultura do caupi (Araújo et al., 1984; Oliveira & Dantas, 1988).

Na aplicação dos herbicidas na DR, as quantidades do N acumulado nas folhas, aos 20 DAP, não se mostraram significativamente diferentes entre si, e não diferiram do Controle. Aos 40 DAP, as quantidades obtidas nos tratamentos com pendimethalin e trifluralin também não se mostraram significativamente diferentes entre si, nem do Controle, embora, em comparação a este, tenham-se apresentado mais elevadas, no primeiro, e mais baixas, no segundo herbicida. As quantidades obtidas nos tratamentos com EPTC, linuron e imazaquim não se mostraram diferentes entre si, mas foram significativamente reduzidas em relação ao tratamento com pendimethalin; as determinadas nos dois últimos tratamentos também foram diferentes das do Controle. O N presente nas folhas, aos 60 e 80 DAP, não foi significativamente afetado pelos distintos herbicidas, embora valores mais elevados, ou mais baixos, tenham sido observados, em relação aos apresentados pelo Controle. O N acumulado nas folhas de caupi também não foi significativamente afetado pela aplicação dos diferentes herbicidas, na dosagem equivalente ao dobro da recomendada, em cada uma das épocas de avaliação. Observou-se, também, que a quantidade determinada no tratamento com EPTC, aos 60 DAP, foi significativamente reduzida em relação à do tratamento com imazaquim, embora estes dois tratamentos não se tenham apresentado significativamente diferentes do Controle. Vale observar, ainda, que o N acumulado no tratamento com imazaquim aumentou significativamente com a duplicação da dose. Para os demais herbicidas aplicados na DDR, as quantidades do N acumulado nas folhas não se mostraram significativamente diferentes das obtidas na DR.

TABELA 1. Efeito de herbicidas no N acumulado e na matéria seca produzida em diferentes partes do caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], em casa de vegetação¹.

Tratamento	N acumulado		Matéria seca		
	Dose	Caule	Folha	Caule	Folha
Herbicida	(L.ha ⁻¹)	----- (mg.pl ⁻¹) -----		----- (g.pl ⁻¹) -----	
Controle	-	31,97 a	50,70 a	1,83 a	1,30 a
Trifluralin	1,8	25,13 a	39,14 a	1,49 ab	0,99 a
	3,6	27,73 a	51,15 a	1,70 ab	1,28 a
EPTC	5,0	25,79 a	44,81 a	1,47 ab	1,03 b
	1,0	27,95 a	40,54 a	1,68 ab	1,08 a
Pendimethalin	2,0	26,81 a	50,90 a	1,81 ab	1,26 a
	4,0	30,16 a	43,86 a	1,34 ab	1,07 a
Metribuzin	1,1	0,87 b	0,93 b	0,03 c	0,02 b
	2,2	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00 b
Linuron	2,4	21,28 a	38,98 a	1,19 b	0,94 a
	4,8	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00 b
Imazaquim	1,0	27,15 a	39,88 a	1,25 ab	0,95 a
	2,0	29,63 a	52,70 a	1,70 ab	1,35 a
CV (%)		45,79	37,52	32,40	38,38

¹ Média de 12 repetições; valores seguidos pelas mesmas letras, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

O andamento seguido na acumulação de N total no caule do caupi, nos diferentes tratamentos e épocas de avaliação estabelecidas (Fig. 1), seguiu, de modo geral, o apresentado pelas folhas. Entretanto, a diminuição na acumulação do N nas folhas, observada dos 40 aos 60 DAP, não ocorreu nos caules, no tratamento com imazaquim, mostrando-se bastante reduzida no tratamento com pendimethalin, ambos na DR. Essas diferenças de comportamento foram também observadas, nestes tratamentos, na DDR, embora neste caso tenham-se dado de modo oposto ao observado na DR. À exceção dos tratamentos com linuron e EPTC, que na dosagem recomendada, aos 80 DAP, reduziram significativamente o N acumulado no caule, em relação ao Controle, os demais herbicidas, nas duas dosagens estudadas, não se mostraram significativamente diferentes entre si, nem do Controle, em cada uma das diferentes épocas de avaliação consideradas. Vale informar, também, que a acumulação do N seguiu aproximadamente o andamento observado quanto ao rendimento de matéria seca. Entretanto, a diminuição no rendimento, a partir dos 40 DAP, foi mais lenta e relativamente menor do que a das quantidades do N acumulado na parte aérea das plantas do caupi, o que indica, talvez, uma maior translocação do nutriente para as vagens e grãos. Além disso, observa-se, em alguns casos, nos

estádios finais de desenvolvimento, uma tendência de aumento nas quantidades do N acumulado, mesmo na DDR, o que sugere uma possível absorção do nutriente, e uma provável recuperação das plantas do caupi por efeito dos herbicidas, nos estádios mais tardios. Informações semelhantes foram apresentadas em outros trabalhos (Giardini et al., 1979; Rosolem et al., 1985).

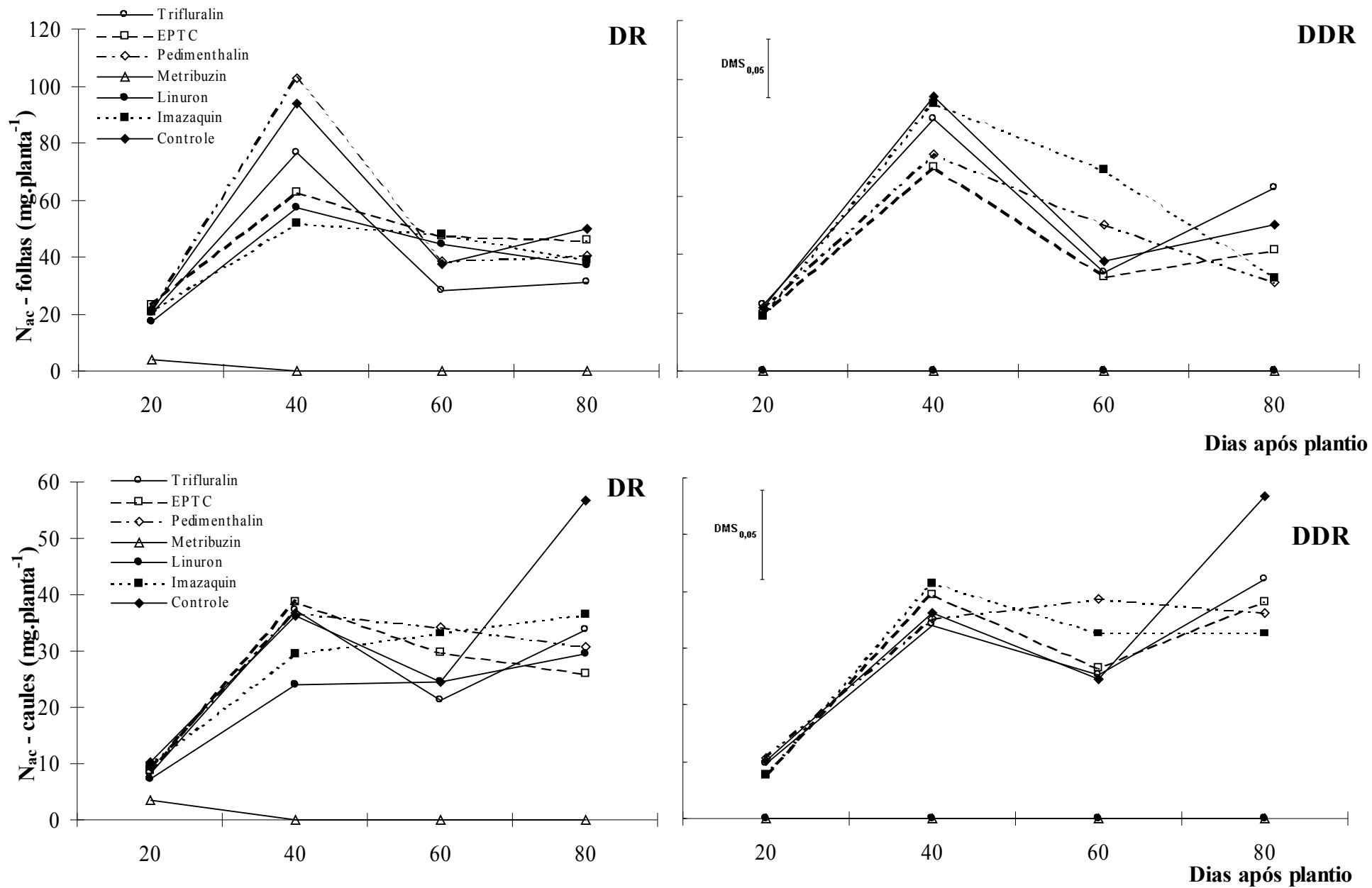


FIG. 1. Andamento seguido na acumulação de nitrogênio (N_{ac}) total nas folhas e caules das plantas da cultivar de caupi BR-IPA-206, infectadas com *Bradyrhizobium* NFB 09, em diferentes tratamentos estabelecidos (média de 3 repetições; DR = dose recomendada; DDR = dobro da dose recomendada).

Os resultados obtidos indicam que os herbicidas metribuzin e linuron apresentaram elevado grau de fitotoxicidade às plantas da variedade de caupi utilizada. Informações da literatura em estudos com soja indicam que o linuron reduz significativamente o teor de N fixado na parte aérea das plantas (Lorenzi & Araújo, 1974) e que o metribuzin, além de reduzir o peso de matéria seca das plantas (Mallik & Tesfai, 1985; Mendes et al., 1988), afetou o N total acumulado (Mallik & Tesfai, 1985), apresentando efeitos fitotóxicos sobre a cultura (Mendes et al., 1990). Os efeitos decorrentes destas aplicações do metribuzin e do linuron podem ter ocorrido, como esclarece Grossbard (1976), por serem, estes herbicidas, inibidores da fotossíntese. Adicionalmente, estes efeitos podem refletir certa sensibilidade da cultivar em face da aplicação em pré-emergência, realizada um dia após o plantio, como estabelecido em Araújo et al. (1984). Entretanto, efeitos sobre a estirpe de *Bradyrhizobium* empregada não devem ser descartados, particularmente nos tratamentos em que os herbicidas foram aplicados na dose dobro da recomendada. Efeitos prejudiciais em *Bradyrhizobium* têm sido evidenciados em diferentes estudos (Garcia & Jordan, 1969; Mallik & Tesfai, 1985; De Polli et al., 1986). Para Curley & Burton, (1975), os efeitos bactericida ou bacteriostático de herbicidas, foram dependentes da quantidade aplicada, da sensibilidade da estirpe e do tempo decorrido entre a inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e a aplicação dos produtos na cultura da soja.

Os resultados evidenciam, também, de modo geral, que os herbicidas trifluralin, EPTC, pendimethalin e imazaquim, influenciaram o desenvolvimento, mas não se mostraram prejudiciais ao caupi, mesmo na dosagem dobro da recomendada, nas condições em que o experimento se realizou. Informações semelhantes são apresentadas na literatura, embora considerando outras culturas e não contemplando em um mesmo estudo os mesmos herbicidas e doses aplicadas (Deuber & Forster, 1974, 1978; VictoriaFilho & Godoy Junior, 1978; Rosolem et al., 1985).

Nodulação e atividade global da nitrogenase

A nodulação, aos 20 DAP, mostrou-se bastante incipiente em todos os tratamentos; não foi possível realizar, nesta época, sua avaliação. Considerando a média geral das outras três épocas de avaliação (Tabela 2), observa-se que o número de nódulos foi significativamente reduzido em relação ao Controle, pela aplicação, na dosagem recomendada, dos herbicidas trifluralin, linuron e imazaquim. O peso de matéria seca de nódulos também foi significativamente reduzido pela aplicação do linuron, na dosagem recomendada. Nos demais casos, embora tenham sido observadas reduções no peso e na matéria seca de nódulos, em relação ao Controle, os valores obtidos não se mostraram significativamente afetados, mesmo nas aplicações na dosagem dobro da recomendada. Considerando os resultados obtidos nas diferentes épocas de avaliação, na maior parte dos casos houve reduções tanto no número como na matéria seca de nódulos, as quais foram significativas apenas para número de nódulos no tratamento com linuron (DR) aos 40 e 60 DAP (2,03 e 1,58 nod.pl⁻¹), em relação ao Controle (4,11 e 4,57 nod.pl⁻¹, respectivamente). Entretanto, não foram detectadas diferenças entre esses mesmos tratamentos, na última época de avaliação (80 DAP). Os demais tratamentos, mesmo aplicados na dosagem dobro da recomendada, também não se mostraram significativamente diferentes entre si, nem do Controle. O número de nódulos por planta, obtidos aos 80 DAP, variou entre 6,29 (linuron) e 11,82 (Controle). Verificou-se, ainda, no geral dos casos, que o sistema radicular das plantas provenientes dos tratamentos com herbicidas apresentou-se com nódulos em profundidades maiores que os observados nas raízes do Controle. Além do mais, em alguns tratamentos, o efeito de redução do número de nódulos parece ter sido compensado por um aumento no seu tamanho. Resultados semelhantes são encontrados na literatura (Lesniuc, 1975; Giardini et al., 1979; Rosolem et al., 1985; Mendes et al., 1990).

TABELA 2. Efeito de herbicidas na nodulação e na atividade da nitrogenase do caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], em casa de vegetação¹.

Tratamento	Nodulação ²		Atividade da nitrogenase ³	
	Dose	Nº nódulos		Matéria seca
	L.ha ⁻¹	nº.pl ⁻¹	mg.pl ⁻¹	µmol C ₂ H ₄ .h ⁻¹ .pl ⁻¹
Controle	-	16,34 a	77,44 a	14,98 a
Trifluralin	1,8	8,21 bc	42,61 abc	6,21 de
	3,6	14,53 ab	86,25 a	9,03 bc
EPTC	5,0	8,76 abc	51,04 ab	7,66 bcd
	10	8,72 abc	54,82 ab	4,75 e
Pendimethalin	2,0	11,11 ab	71,81 ab	6,07 de
	4,0	20,82 ab	56,04 ab	6,31 cde
Metribuzin	1,1	0,00 d	0,00 c	0,00 f
	2,2	0,00 d	0,00 c	0,00 f
Linuron	2,4	4,31 c	29,85 b	4,76 e
	4,8	0,00 d	0,00 c	0,00 f
Imazaquim	1,0	7,48 bc	43,58 abc	9,76 b
	2,0	9,26 abc	64,64 ab	8,07 bcd
CV (%)		28,44	61,19	33,92

¹ Médias seguidas pelas mesmas letras, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

² Médias de 9 repetições; valores de número de nódulos transformados em (x)^{1/2}, para análise da variância.

³ Média de 12 repetições.

Considerando as médias de épocas de avaliação, nota-se que a atividade global da enzima nitrogenase, de modo geral, foi significativamente inibida em relação ao Controle, pela aplicação dos distintos herbicidas nas duas dosagens estudadas (Tabela 2). Nos tratamentos com herbicida, a média mais elevada ocorreu na aplicação do imazaquim, na DR (9,76 µmol C₂H₄.h⁻¹.planta⁻¹). Esta não se mostrou significativamente diferente da obtida quando este herbicida foi aplicado na dosagem dobro da recomendada, da observada no tratamento com trifluralin (na DDR), nem das encontradas nos tratamentos com EPTC e pendimethalin (ambos na DR); entretanto, foi significativamente reduzida pelas aplicações do trifluralin e linuron, na DR, e pendimethalin e EPTC, na DDR.

O comportamento da atividade da nitrogenase, em resposta aos distintos tratamentos, nas diferentes épocas de avaliação, é representado na Fig. 2. Embora a nodulação tenha-se mostrado incipiente aos 20 DAP, como anteriormente informado, foi determinada a atividade da nitrogenase no sistema radicular do caupi, nesta época. Observou-se, de modo geral, que a atividade da nitrogenase aumentou dos 20 aos 40 DAP, apresentando-se máxima (33,54 e 32,09 µmol C₂H₄.h⁻¹.planta⁻¹, respectivamente em relação ao Controle e imazaquim) nesta época, decrescendo dos 40 aos 60 DAP e, daí aos 80 DAP, continuando a decrescer, ou permanecendo em níveis semelhantes. Na dosagem dobro da recomendada, as respostas sugerem um certo retardamento da atividade da nitrogenase em resposta aos herbicidas imazaquim e pendimethalin, com valores máximos aos 60 DAP (20,53 e 16,18 µmol C₂H₄.h⁻¹.planta⁻¹, respectivamente), bastante próximos do alcançado, nesta época, pelo Controle (18,75 µmol C₂H₄.h⁻¹.planta⁻¹), mas inferiores ao determinado neste tratamento, aos 40 DAP.

A atividade global da enzima nitrogenase, aos 20 DAP, não se mostrou significativamente afetada pelos distintos herbicidas, tanto na DR, como na DDR. Aos 40 DAP, na DR, a atividade da nitrogenase no tratamento com imazaquim não diferiu da do Controle, sendo reduzida pela aplicação dos demais herbicidas, que não se diferenciaram entre si. Na DDR, todos os herbicidas também reduziram significativamente a atividade da nitrogenase. Observou-se, ainda, em relação aos

valores obtidos na DR, que esta atividade foi significativamente reduzida com a duplicação das doses de pendimethalin e de imazaquim, revelando-se aumentada com a duplicação da dose de trifluralin. Aos 60 DAP, embora os tratamentos com pendimethalin e imazaquim (ambos na DDR) não se tenham mostrado significativamente afetados, todos os demais evidenciaram reduções significativas na atividade da nitrogenase. Aos 80 DAP, foi observada certa recuperação da atividade enzimática em relação ao efeito dos herbicidas, não sendo detectadas diferenças significativas entre os tratamentos com e sem herbicidas, nas duas dosagens estudadas, embora algumas reduções tenham sido observadas.

Os resultados obtidos sugerem, como observado para a nodulação, que a aplicação dos herbicidas trifluralin, EPTC, pendimethalin e imazaquim, causou inibição da atividade da nitrogenase nos estádios iniciais de desenvolvimento da cultura, com recuperação posterior da fixação simbiótica do N. Tais efeitos na nodulação e na fixação de N, entretanto, não parecem afetar diretamente a acumulação de N pelo caupi. Informações semelhantes, em estudo da aplicação de trifluralin em soja, são apresentadas (Rosolem et al., 1985).

Os efeitos observados na nodulação e na fixação do N podem ser decorrentes da ação dos herbicidas na formação do sistema radicular, afetando o desenvolvimento normal dos pêlos radiculares, dificultando, então, a infecção e mudando a efetividade dos rizóbios (Garcia & Jordan, 1969; Rosa et al., 1978). A capacidade de fixação do N também pode ter sido diminuída pela inibição da fotossíntese, decorrente da aplicação dos herbicidas, causando redução na disponibilidade de carboidratos para os nódulos (Neves, 1983). Além disso, em estudos desenvolvidos paralelamente, Silva et al. (1995) observaram que os herbicidas trifluralin, EPTC, pendimethalin e imazaquim, estimularam o processo de amonificação, o que, além de evidenciar estimulação da mineralização provocada pela degradação dos produtos (Grossbard, 1976), provavelmente pode influenciar ou inibir a nodulação e a fixação do N. Mais ainda: a volatilização tem sido informada como importante via de perdas de herbicidas, particularmente trifluralin e pendimethalin, seguindo sua aplicação ao solo (White Junior et al., 1977; Grover et al., 1988; Cooper et al., 1990), o que pode contribuir para que os efeitos sejam menos efetivos, ou menos intensos nos estádios finais do desenvolvimento da cultura.

Por outro lado, a quantidade de herbicidas requerida para inibir a nodulação, o peso de matéria seca e a acumulação de N total, nas leguminosas, é muito pequena (Garcia & Jordan, 1969; Grossbard, 1976). Concentrações maiores são requeridas para inibir o crescimento de rizóbios, o que sugere que os efeitos no crescimento e na nodulação da planta, em geral, são devidos à ação tóxica sobre o hospedeiro, e não, sobre a bactéria (Grossbard, 1976). Entretanto o aparecimento, ou não, dos efeitos de herbicidas, podem estar relacionados à estirpe de rizóbios utilizada (Lorenzi & Araújo, 1974). Mais ainda: a seletividade de herbicidas com respeito a diferentes estirpes de rizóbios é muito pronunciada, destacando-se o linuron como um dos mais inibidores (Grossbard, 1976). Vale considerar, ainda, que no solo, a sensibilidade de determinados organismos a herbicidas afetando a habilidade de fixar N, pode ser mascarada pela maior resistência de outros fixadores de N de vida livre, ou o oposto pode ocorrer; contudo, a fixação de N pode proceder, em ambos os casos, devido à atividade de espécies microbianas resistentes a um dado herbicida.

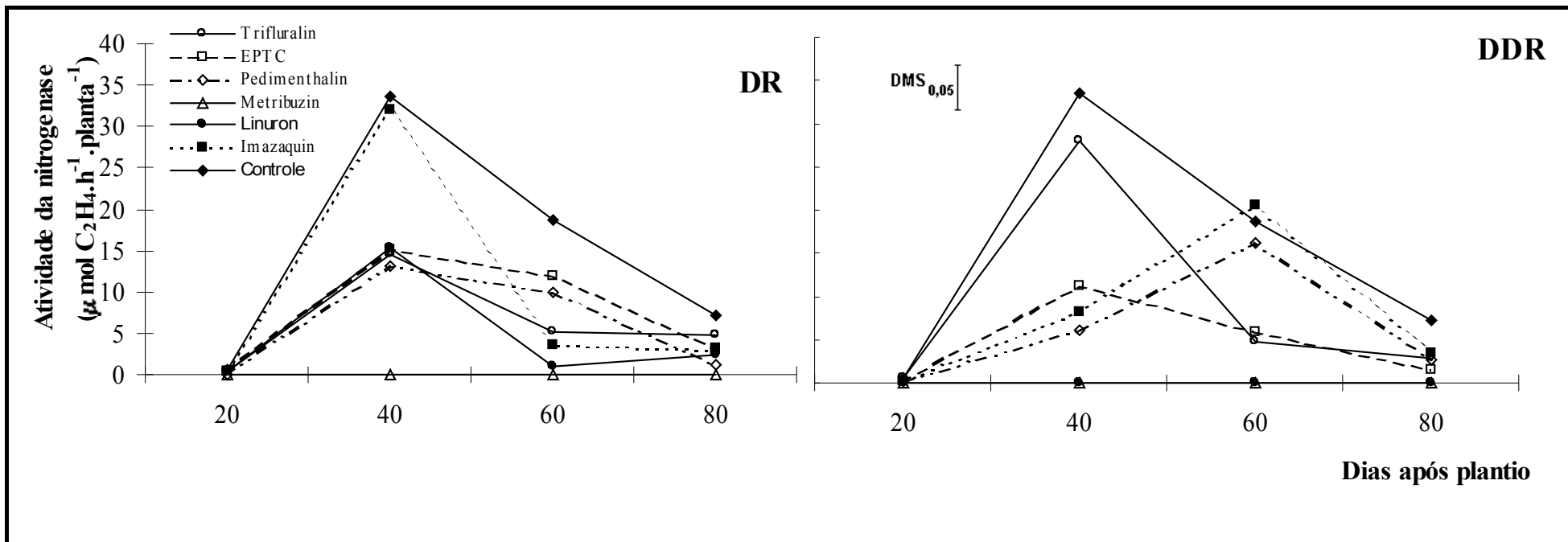


FIG. 2. Atividade global da nitrogenase determinada em quatro épocas de desenvolvimento da cultivar de caupi BR-IPA-206, infectada com *Bradyrhizobium* NFB 09, em diferentes tratamentos estabelecidos (média de 3 repetições; DR = dose recomendada; DDR = dobro da recomendada).

CONCLUSÕES

1. Os herbicidas metribuzin e linuron apresentam elevado grau de fitotoxicidade para a variedade de caupi estudada, inibindo seu desenvolvimento vegetativo.
2. Há redução da nodulação na presença de herbicidas, refletindo a ocorrência dos efeitos apenas nos estádios iniciais de desenvolvimento da variedade.
3. A aplicação dos herbicidas causa inibição da atividade total da nitrogenase nos estádios iniciais de desenvolvimento da cultura, com recuperação posterior da fixação simbiótica do nitrogênio.
4. Os herbicidas não afetam diretamente a acumulação de nitrogênio nos caules e folhas da variedade de caupi estudada.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, J.P.P. de; RIOS, G.P.; WATT, E.E.; NEVES, B.P. da; FAGERIA, N.K.; OLIVEIRA, I.P.; GUIMARÃES, C.M.; SILVEIRA FILHO, A. **Cultura do caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp.**: descrição e recomendações técnicas de cultivo. Goiânia: Embrapa-CNPAP, 1984. 82p. (Embrapa-CNPAP. Circular técnica, 18).
- BARRETO, P.D.; DYNIA, J.F. Sistemas de produção de caupi em monocultura no trópico semi-árido brasileiro. In: ARAÚJO, J.P.P.; WATT, E.E. (Orgs.). **O caupi no Brasil**. Brasília: IITA/Embrapa, 1988. p.387-404.
- BLANCO, H.G.; OLIVEIRA, D.A.; ARAÚJO, J.B.M. Competição de plantas daninhas com a cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). **O Biológico**, São Paulo, v.35, n.12, p.304-308, 1969.
- COOPER, R.J.; JENKINS, J.J.; CURTIS, A.S. Pendimethalin volatility following application to turfgrass. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.19, p.508-513, 1990.
- CURLEY, R.L.; BURTON, J.C. Compactibility of *Rhizobium japonicum* with chemical seed protectants. **Agronomy Journal**, Madison, v.67, n.6, p.807-808, 1975.
- De POLLI, H.; SOUTO, S.M.; FRANCO, A.A. **Compatibilidade de agrotóxicos com *Rhizobium* spp. e a simbiose das leguminosas**. Seropédica, RJ: Embrapa-UAPNPBS, 1986. 75p. (Embrapa-UAPNPBS. Documentos, 3).
- DEUBER, R.; FORSTER, R. **Ensaios de herbicidas em cultura de feijão**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1974. 29p. (Boletim técnico, 13).
- DEUBER, R.; FORSTER, R. Influência do EPTC na nodulação natural do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Planta Daninha**, Campinas, v.1, p.38-43, 1978.
- GARCIA, M.M.; JORDAN, D.C. Herbicide action on trefoil symbiosis. **Plant and Soil**, The Hague, v.30, p.317-334, 1969.
- GIARDINI, A.R.; LOPES, E.S.; DEUBER, R. Influência de herbicida na nodulação da soja (*Glycine max* L. Merrill). **Planta Daninha**, Campinas, v.2, n.1, p.21-32, 1979.
- GROSSBARD, E. Effects on the soil microflora. In: AUDUS, L.J. (Ed.). **Herbicides: physiology, biochemistry, ecology**. New York: Academic Press, 1976. p.99-147.
- GROVER, R.; SMITH, A.E.; SHEWCHUK, A.J.; CESSNA, A.J.; HUNTER, J.H. Fate of trifluralin and triallate applied as a mixture to a wheat field. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.17, n.3, p.543-550, 1988.
- HAMDI, Y.A.; TEWFIK, M.S. Effects of the herbicide trifluralin on nitrogen fixation in *Rhizobium* and *Azotobacter* and on nitrification. **Acta Microbiologica**, Polonia, v.1, n.18, p.53-57, 1969.

- LESNIUC, O. Influence of herbicides on the development of nodule bacteria on the roots of soybeans. **Proceedings of the British Weed Control Conference**, v.12, p.1101-1108, 1975.
- LORENZI, H.J.; ARAÚJO, S.C. Estudo da ação de alguns herbicidas na fixação simbiótica do nitrogênio em plantas de soja (*Glycine max* L. Merrill). In: REUNION LATINOAMERICANA SOBRE *RHIZOBIUM*, 7., Resistencia, Argentina. **Anais...** Resistencia: Instituto Agrotecnico, Fac. Ci. Agr., 1974. p.222-231.
- MALLIK, M.A.B.; TESFAI, K. Pesticidal effect on soybean-rhizobia symbiosis. **Plant and Soil**, The Hague, v.85, p.33-41, 1985.
- MENDES, I.C.; PERES, J.R.R.; SUHET, A.R.; VARGAS, M.A.T. **Efeito de herbicidas na microflora celulolítica, associações micorrízicas e nodulação da soja cultivada em um LV de cerrado**. Brasília: Embrapa-CPAC, 1988. 4p. (Embrapa-CPAC. Pesquisa em andamento, 26).
- MENDES, I.C.; PERES, J.R.R.; VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. **Efeitos de herbicidas na nodulação da soja cultivada em solo de cerrado**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1990. 4p. (Embrapa-CPAC. Pesquisa em andamento, 42).
- MUNNS, D.N. Nodulation of *Medicago sativa* in solution culture. I. Acid sensitive steps. **Plant and Soil**, The Hague, v.28, p.129-146, 1968.
- NEVES, M.C.P. Efeito de herbicidas na nodulação, fixação de nitrogênio e produção de feijão (*Phaseolus vulgaris*) e caupi (*Vigna unguiculata*). **Arquivo da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, v.6, n.2, p.131-139, 1983.
- OLIVEIRA, I.P.; DANTAS, J.P. Nutrição mineral do caupi. In: ARAÚJO, J.P.P.; WATT, E.E. (Orgs.). **O caupi no Brasil**. Brasília: IITA/Embrapa, 1988. p.407-430.
- ROSA, F. de; HABER, O.; WILLIAMS, C.; MARGULIES, L. Inhibitory effects of the herbicide trifluralin on the establishment of the clover root nodule symbiosis. **Cytobios**, v.21, p.37-43, 1978.
- ROSOLEM, C.A.; NAKAGAWA, J.; MARCONDES, D.A.S. Efeito da trifluralina na nodulação e absorção de nitrogênio pela soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.20, n.11, p.1265-1271, 1985.
- SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análise química em plantas**. Piracicaba: USP-ESALQ, 1974. 56p.
- SILVA, J.C.C.; COLAÇO, W.; BURITY, H.A.; FERREIRA, N.C.M.; FIGUEIREDO, M.V.B.; MARTINEZ, C.R. Influência da aplicação de herbicidas na produção do caupi e nas transformações do N do solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 25., 1995, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SBCS/UFV, 1995. v.2, p.727-729.
- STANFORD, N.P.; VASCONCELOS, I.; ALMEIDA, R.T. de. Fixação biológica de nitrogênio em caupi na região nordeste brasileira. In: ARAÚJO, J.P.P.; WATT, E.E. (Orgs.). **O caupi no Brasil**. Brasília: IITA/Embrapa, 1988. p.477-504.
- TURNER, J.L.; GIBSON, A.H. Measurement of nitrogen fixation by indirect means. In: BERGENSEN, F.J. (Ed.). **Methods for evaluating biological nitrogen fixation**. Chichester: John Wiley, 1980. p.111-138.
- VICTORIA FILHO, R.; GODOY JUNIOR, C. Herbicidas na cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) controle, fitotoxicidade e persistência no solo. **Planta Daninha**, Campinas, v.1, p.25-37, 1978.
- WHITE JUNIOR, A.W.; HARPER, L.A.; LEONARD, R.A.; TURNBULL, J.W. Trifluralin volatilization losses from a soybean field. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.6, p.105-110, 1977.