

Processo de nodulação e teor de aminoácidos totais em *leucaena leucocephala* (lam.) de wit (fabaceae) em diferentes substratos nutritivos

Process of nodulation and total amino acids content of leucaena leucocephala (lam.) de wit (fabaceae) at different substrates nutritives

Alex Rezende de Carvalho¹, Josimara Nolasco Rondon²,
Luis Carlos Vinhas Ítavo², Rayssa Caldas Peccinin²

¹ Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

² Universidade Católica dom Bosco

Resumo

Plantas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit foram avaliadas quanto à nodulação e teor de aminoácidos em diferentes substratos nutritivos. As plantas (n=18) foram cultivadas em substratos em areia, em tubetes, nos tratamentos com água destilada (controle) e solução de Hoagland, por um período de cinco meses. As avaliações de crescimento (medidas de altura média e contado o número médio de folhas, número de nódulos ativos) e determinação de aminoácidos totais livres foram realizadas. No final de experimento, as plantas foram retiradas, a quantidade dos nódulos contada e o teor de aminoácidos totais quantificado. Os dados foram submetidos à análise de variância com 95% de probabilidade (Tukey 5%). Não houve diferença quanto ao crescimento caulinar e produção foliar entre os tratamentos. Porém, o número de nódulos foi maior em plantas tratadas com água destilada. Não houve diferença quanto ao teor de aminoácidos livres entre os tratamentos. Conclui-se que embora o crescimento de *L. leucocephala* em solos ácidos seja menor, este fator não interfere no teor de aminoácido e na formação de nódulos

Palavras-chave: *Rhizobium* sp., solução nutritiva, crescimento, nitrogênio.

Abstract

Plants of Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit were evaluated for nodulation and nitrogenous compounds. The plants (n = 18) were grown on substrates of sand, in plastic tubes, in treatments with distilled water (control) and Hoagland solution for a period of five months. Growth evaluations (measures of average height and counted the number of leaves, number of active nodes) and determination of total amino acids were performed. Data were subjected to analysis of variance with 95% probability (Tukey 5%). There was no difference in stem growth and leaf production among treatments. However, the number of nodules was higher in plants treated with distilled water. There was no difference in the content of free amino acids between treatments. We conclude that although the growth in acid soils is lower, this factor does not interfere with the content of amino acids and the formation of nodules.

Keywords: *Rhizobium* sp., nutrient solution, growth, nitrogen.

INTRODUÇÃO

Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit é uma leguminosa perene (citados com até 40 anos em utilização), arbórea, originária da América central e atualmente disseminada por toda região tropical, especialmente na região nordeste, devido às suas múltiplas formas de utilização (forragem, produção de madeira, carvão vegetal, melhoramento do solo, sombreamento, quebra-vento e cerca viva) (Carvalho et al., 2001). Outro diferencial da planta, são as micorrizas presentes em seu sistema radicular, que são associações de fungos com as raízes, capazes de transformar o fósforo inorgânico presente no solo na forma orgânica, podendo ser absorvida pela planta.

L. leucocephala não cresce bem em solos ácidos, latossólicos com alto teor de alumínio e geralmente deficientes em cálcio, molibdênio e zinco, sendo necessário, neste caso, a inclusão de calcário e fosfatos. Cresce melhor em solos com pH próximo ao neutro, e a nodulação e seu crescimento são afetados, adversamente, abaixo de pH 5,5. Essa espécie tem despertado grande interesse científico devido à sua grande versatilidade dentre as leguminosas de clima tropical.

A combinação de rizóbios, *L. leucocephala* e silicato de cálcio representa um fator-chave para a remediação de áreas contaminadas por metais pesados, pois aumenta o pH do solo e reduz zinco e cádmio (Ferreira et al., 2013).

Considerada por muitos produtores da região semi-árida como sendo a “rainha” das leguminosas, *L. leucocephala* apresenta boa produtividade, que pode variar, dependendo do ano, de dois até oito toneladas de matéria seca comestível e de até 750 Kg de sementes/ha/ano, possui também excelente qualidade nutricional, apresentando uma boa composição química e alta aceitabilidade pelos animais (Carvalho et al., 2001).

A farinha de folha de leucena é um ingrediente com potencial de utilização em rações comerciais para juvenis de tambaqui, já que não houve alteração na composição corporal dos animais. O bom aproveitamento deste ingrediente pelo peixe *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) o tambaqui da Amazônia, pode estar relacionado com a capacidade desta espécie aproveitar bem alimentos de origem vegetal (Pereira Junior et al., 2013).

L. leucocephala é altamente nutritiva, palatável e de boa digestibilidade, mas sua utilização como forrageira tem sido limitada por seu teor em mimosina, a qual possui efeitos tóxicos caracterizados por alopecia e menos freqüentemente,

catarata, atrofia de gengiva, ulcerações da língua e esôfago, bócio, infertilidade e menores ganho de peso para ruminantes. Segundo Jones (1979) toda a parte vegetal contém este aminoácido tóxico, podendo alcançar um nível de 12% na matéria seca, especialmente nas folhas, vagens e sementes, sendo que o cultivar Cunningham apresentam teores insignificantes desse aminoácido (Lima et al., 2006). Contudo, esta intoxicação só ocorre quando a leucena é ministrada como alimentação exclusiva ou em excesso na dieta animal (Jones, 1979; Ramos et al., 1997). Desta forma a toxidez pode ser evitada usando-se a leucena em pastejo controlado por cerca de duas horas ao dia, ou não permitindo que seu fornecimento ultrapasse 30% do total ingerido pelo animal/MS/dia.

L. leucocephala não cresce bem em solos ácidos, latossólicos com alto teor de alumínio e geralmente deficientes em cálcio, molibdênio e zinco, sendo necessário, neste caso, a inclusão de calcário e fosfatos. Cresce melhor em solos com pH próximo ao neutro, e a nodulação e seu crescimento são afetados, adversamente, abaixo de pH 5,5.

As condições climáticas no Brasil, no período que vai de maio a outubro, fazem com que as plantas forrageiras parem de crescer, tornem-se maduras e com baixo valor nutritivo. Este é um dos fatores responsáveis pela diminuição de ganho de peso, tradicionalmente registrados em rebanhos bovinos de corte desta região (Carvalho et al. 2001).

As mudanças climáticas causadas por emissão de gases na atmosfera levou pesquisadores a investigar o papel de *L. leucocephala* na mitigação de gás metano liberados por ruminantes (Soltan et al., 2013).

As leguminosas feijão-guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp), *Stilosantes* (*Stilosanthes capitata* Vogel) e leucena (*L. leucocephala*) são as mais usadas isoladamente ou consorciadas com gramíneas. Essa última, é perene, além de ser mais produtiva do que as demais. Entretanto, sua implantação é limitada com relação, principalmente às condições de pH (Furlani & Furlani, 1988).

A associação ente bactérias e leguminosas reflete parâmetros evolutivos entre os hospedeiros, pelo reconhecimento de sinais moleculares e especificidade simbiótica.

Leguminosas primitivas eram árvores da região tropical e muitas espécies evoluíram e diversificaram-se em várias partes do mundo. Hoje, espécies introduzidas se desenvolvem bem longe de seus centros de origem. Uma leguminosa introduzida formará nódulos e se beneficiará da

fixação biológica de N₂ (FBN), em dado local, se populações nativas de rizóbios compatíveis estiverem presentes no solo. A eficiência do processo depende, porém, de fatores da planta, da bactéria, do clima e do solo (Cordeiro & Salatino, 1995), assim como a nutrição vegetal.

O estado nutricional de plantas cultivadas em solução nutritiva pode ser influenciado pelo tipo de solução utilizada, afetando desta forma seu adequado crescimento. Um tipo de solução nutritiva muito utilizada é a solução Hoagland, desenvolvida por Hoagland e Arnon (1950). Essa solução fornece macro e micronutrientes essenciais para o crescimento das plantas de muitas espécies.

O objetivo desse trabalho foi avaliar se a aplicação de solução de Hoagland interferiria no teor de aminoácidos totais e na nodulação de plantas de *L. leucocephala* cultivadas em casa de vegetação.

METODOLOGIA

Plantas de *L. leucocephala* foram cultivadas em tubetes contendo em substratos em areia, nos tratamentos com água destilada (controle) e solução de Hoagland & Arnon (1950) por um perí-

odo de cinco meses. Semanalmente, era realizada a aplicação da solução e feitas as avaliações de crescimento (medidas de altura média e o número médio de folhas). No final de experimento, as plantas foram retiradas dos tubetes e o número de nódulos avaliado. O material vegetal foi secado em microondas por 5 minutos para extração e determinação de aminoácidos totais livres. Os dados foram analisados estatisticamente pela Anova em uma direção (Tukey 5%).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número médio de folhas de *L. leucocephala* em plantas tratadas e não tratadas com solução nutritiva não variou estatisticamente ao longo do tempo. Porém, ao longo do período de avaliação, observou-se um número maior de folhas em plantas que receberam solução nutritiva (Figura 1).

Não houve diferença estatística (Tukey 5%) quanto à altura média de plantas tratadas com solução nutritiva ou água destilada ao longo dos cinco meses (Figura 2).

De acordo com Carvalho et al. (2001), a *L.*

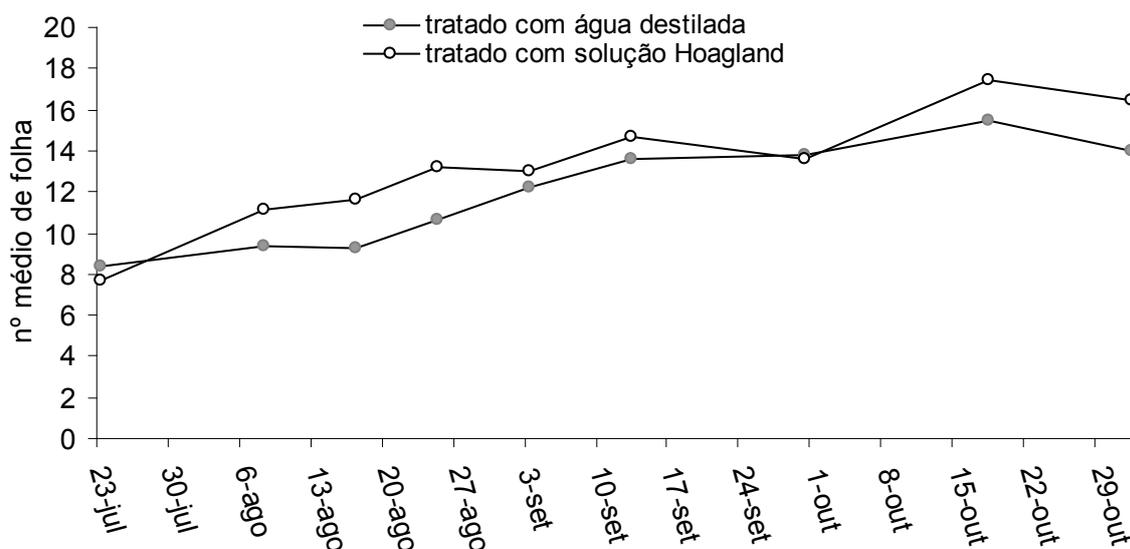


Figura 1. Número médio de folhas de plantas de *L. leucocephala* durante cinco meses.

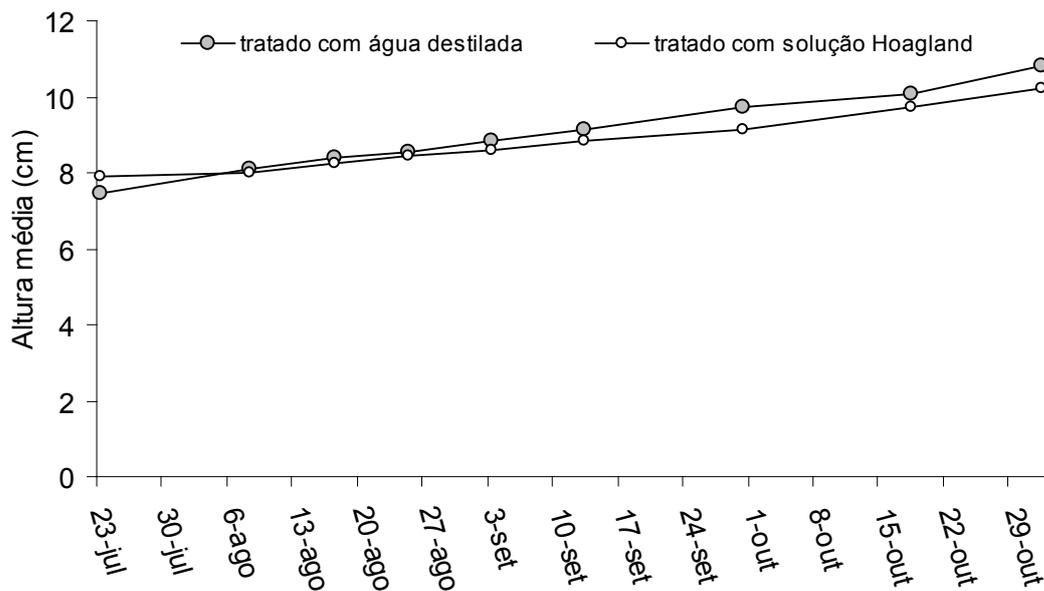


Figura 2. Altura média de plantas de *L. leucocephala* durante cinco meses.

leucocephala não cresce bem em solos ácidos com altos teores de alumínio e, geralmente, deficientes em cálcio, magnésio, molibdênio e zinco. Por isso o plantio deve ser feito em solos férteis ou fertilizados, em que o pH esteja acima de 6. Para solos ácidos recomenda-se, além da correção da acidez com 2 a 4 t/ha de calcário dolomítico (PRNT = 100%), a aplicação de 80 a 120 kg de P₂O₅/ha, preferencialmente sob a forma de superfosfato simples. Porém, o resultado obtido com plantas tratadas com água destilada poderia ser semelhante ao solo de cerrado.

O número de nódulos foi maior em plantas tratadas com água destilada (Tabela 1). O mesmo já foi observado em plantas de *L. leucocephala*

tratadas com soluções de Hoagland deficientes para macronutrientes (Rezende, 2010).

O teor de massa seca foi diferente entre os tratamentos, sendo maior em plantas tratadas com solução nutritiva (Tabela 1). Isso significa que as plantas assimilaram mais carbono e se desenvolveram mais quando receberam adição de macronutrientes como fósforo, potássio e nitrogênio.

O uso de *L. leucocephala* na nutrição de suínos, mostrou que não existem desvantagens nas características comportamentais quando os porcos são desmamados (Thompson, 2010).

Aos 68 dias de idade os porcos foram alimentados com níveis de até 21% de folhas frescas de *L. leucocephala*. Embora isso possa ter alguma

Tabela 1. Número médio de nódulos, teor de aminoácidos e determinação de massa de plantas de *L. leucocephala* após cinco meses de cultivo. Letras diferentes mostram diferença estatística quanto ao número de nódulos entre os tratamentos.

Tratamentos	Nº médio de nódulos	Aminoácidos (µmol.g MS)	Massa seca (gramas)
Solução de Hoagland	12a	1,215 a	2,541 a
Água destilada	25b	1,321 a	1,104 b

vantagem de natureza econômica, a utilização dessa espécie na dieta de suínos muito jovens, é o fato de poder usar um recurso alimentar localmente disponível em um país onde a maioria dos alimentos é importada. Sugere-se que não há nenhuma desvantagem em características de desempenho de suínos de engorda, quando as dietas com 25% de melaço foi substituído por uma dieta composta de 10% de folhas frescas de *L. leucocephala* (Thompson, 2010).

Não houve variação significativa do teor de aminoácidos em plantas tratadas com solução de Hoagland e plantas tratadas apenas com água destilada. Contudo houve diferença significativa no número médio de nódulos e na massa seca vegetal nos dois tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Número médio de nódulos, teor de aminoácidos e determinação de massa de plantas de *L. leucocephala* após cinco meses de cultivo. Letras diferentes mostram diferença estatística quanto ao número de nódulos entre os tratamentos.

Isso mostra que os nódulos assimilaram o nitrogênio em plantas tratadas apenas com água e repuseram o teor de aminoácidos necessários ao vegetal.

Os principais constituintes tóxicos de *L. leucocephala* são a mimosina, um aminoácido livre, cujo produto é a degradação ruminal, 3-hidroxi-4 (1H)-piridona (3,4 dihydroxypyridina; 3,4-DHP) e taninos condensados (Thompson, 2010).

Em ruminantes, a mimosina é o agente 3,4-DHP, descoberta em 1980, quando os trabalhadores australianos verificaram os limites geográficos de intoxicação com leucina, devido à ausência de bactérias ruminais capazes de degradar 3,4-DHP. Após essa descoberta, fez-se a introdução de bactérias degradantes de 3,4-DHP. Essas bactérias foram localizadas no rúmen de cabrito havaiano, e em caprinos e bovinos na Austrália. Várias cepas de bactérias que degradam 3,4-DHP têm sido identificados, como *Synergistes jonesii* que são capazes de degradar este composto, eliminando a toxidez (Thompson, 2010).

Métodos simples de seleção *in vitro* têm sido desenvolvidos para a detecção de outras bactérias degradadoras de 3,4-DHP em amostras de rúmen e fezes.

Após a suspensão do fornecimento da *L. leucocephala* na dieta, as bactérias degradadoras de 3,4-DHP persistem em números reduzidos por vários meses. Com a disponibilidade de métodos viáveis para o controle de intoxicação em ruminantes por detoxificação, processo realizado para

eliminação de ricina da torta de mamona.

Embora no estudo realizado foi determinado apenas a presença de nódulos sabe-se que o *Rhizobium sp.* está envolvido somente na formação dos nódulos e não na degradação do 3,4-DHP.

CONCLUSÕES

Com exceção do número médio de nódulos e de massa seca vegetal, não houve diferença estatística nos outros parâmetros avaliados. Diante do exposto, sugere-se que *L. leucocephala* pode ser plantada em qualquer tipo de solo pobre, pois essa condição não interfere no conteúdo de aminoácidos. Esse teor de aminoácidos sugere fortemente que *L. leucocephala* pode ser utilizada na produção de ração animal, desde que realizada a detoxificação da mimosina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARVALHO, M. M.; ALVIM, M. J.; CARNEIRO, J. C. Sistema agrofloretais pecuários: opções de sustentabilidade para áreas tropicais e subtropicais. Brasília: EMBRAPA, 2001. 413p.
- CORDEIRO, A.; SALATINO, A. Efeito do pH na nodulação em leucena (*Leucaena leucocephala* (Lim.) de Wit.). Revista Brasileira de Botânica, v.18, p. 191-195.1995.
- FERREIRA, P.A. A.; LOPES, G.; BOMFETI, C. A.; LONGATTI, S. M. O.; SOARES, C. R. S.; GUILHERME, G. L. R.; SOUZA, F. M. MOREIRA. Leguminous plants nodulated by selected strains of *Cupriavidus necator* grow in heavy metal contaminated soils amended with calcium silicate. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2013. Maio, 14.
- FURLANI, A.M.C.; FURLANI, P.R. 1988. Composição e Ph SA, J.P.G. Leucena: utilização na alimentação animal. Londrina-PR. IAPAR, 1997.21p. (IAPAR, Circular, 96). VEIGA, B. de V.; NETO, S.V. Leucena na alimentação animal. Belem-PA, 1992.4p. (EMBRAPA CPATU. Recomendações Básicas, 9).
- HAMMOND, A. C.. Intoxicação por leucena e seu controle em ruminantes. Journal of Animal Science, v.73, n.5, p. 1487-1492.1995.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water culture method for growing plants without soil. Berkeley: California Agriculture Experimental Study. 1950. 32 p. (Circular, 347).

JONES, R. J. El valor de *Leucaena leucocephala* como pienso para rumiantes en los tropicos. Revista Mundial de Zootecnia, v. 31, p.13-23, 1979.

LIMA, G. F. C.; AGUIAR, E. M.; VASCONCELOS, S. H. L. Produção e conservação de forragens para caprinos e ovinos. In: Criação familiar de caprinos e ovinos no Rio Grande do Norte. NATAL:EMPARN. p.145-191.2006.

RAMOS, G.M.; ITALIANO, E.C.; NASCIMENTO, M. do S.C.B.; ARAUJO NETO, R.B. Recomendações sobre o cultivo e uso da leucena na alimentação animal. Teresina, PI: EMBRAPA- CPAMN, 1997.16p.(EMBRAPACPAMN. Circular Técnica, 16.

SOLTAN, Y. A.; MORSY, A. S.; SALLAM, S. M.; LUCAS, R. C.; LOUVANDINI, H.; KREUZER, M.; ABDALLA, A. L. Contribution of condensed tannins and mimosine to the methane mitigation caused by feeding *Leucaena leucocephala*. Archives Animal Nutrition v.67, n.3, p. 169-184. 2013.

REZENDE, Alex. Crescimento inicial, longevidade cotiledonar e acúmulo de nitrogênio em plantas de *Leucaena leucocephala* (Leguminosae-Mimosoidae). 2010.

PEREIRA JUNIOR, G.; BARBOSA, P. S.; SHIMODA, E., PEREIRA FILHO, M. Composição corporal de tambaqui alimentado com rações contendo farinha de folha de leucena. Archivos de Zootecnia v. 62, n.238, p. 211-216, 2013.

THOMPSON, D. A. USE OF LEUCAENA (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit FOR PIG PRODUCTION. Instituto de Investigaciones Porcinas. Gaveta Postal No. 1, Punta Brava. La Habana, Cuba. 2010.