

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL
LUCAS CALAZANS SANTOS



**CRESCIMENTO INICIAL DE LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS
INOCULADAS COM BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO**

ILHÉUS – BAHIA - BRASIL
Setembro de 2008

LUCAS CALAZANS SANTOS

**CRESCIMENTO INICIAL DE LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS
INOCULADAS COM BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, da Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Área de Concentração: Solos e nutrição de plantas em ambiente tropical úmido.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Gross.
Co-orientadora: Profa. Dra. Agna Almeida Menezes.

ILHÉUS – BAHIA - BRASIL

Setembro de 2008

LUCAS CALAZANS SANTOS

**CRESCIMENTO INICIAL DE LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS
INOCULADAS COM BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO**

Ilhéus, BA, 12/09/2008.

Eduardo Gross - DS
UESC/DCAA
(Orientador)

Paulo Cesar Lima Marrocos - DS
CEPLAC

José Marques Pereira - DS
CEPLAC

DEDICATÓRIA

A todos agricultores que procuram na pesquisa um apoio para produzir com técnicas sustentáveis, sendo que seus descendentes assim possam também realizá-las, dedico.

AGRADECIMENTO

A Deus, por nos permitir o dom da vida.

Aos meus pais Cleomário e Ana Lúcia, irmãos Anaclea e Luciana, irmãos Cláudio, Cleumo, Clayton e família Albuquerque, por ensinar-me a amar e valorizar esta vida.

A minha família, por estar presente em todos os momentos de minha vida.

De modo especial, queria agradecer a uma pessoa que me acompanha nos últimos oito anos de minha vida, pessoa que eu amo muito e que é um *elemento essencial* na minha vitória. Amo você Mayara.

Ao meu amigo, orientador e professor Eduardo Gross, por dedicar-se e amar ao próximo como a si mesmo, qualidade que mais admiro numa pessoa.

A tia Zene, tio Otávio e toda família Moreira de Santa Cruz da Vitória, por acolher-me como um filho.

As minhas amigas e colegas de trabalho Caroline Pinheiro e Marcela Venturini, que deram o melhor de si para o êxito deste trabalho, sobretudo foram e são amigas.

Aos meus colegas do laboratório da resenha e alegria Hellen, Daniel, James, Jocelino, Miguel, Raimundo, Thales e Valéria, pela ajuda e por tornar nossos dias mais prazerosos.

Aos meus amigos, irmãos, companheiros de Brasília, Ilhéus, Itabuna, Itajú do Colônia, Ituberá, Juazeiro da Bahia, Salvador, Santa Cruz da Vitória e Wenceslau Guimarães.

Aos colegas da turma de 2006, de modo especial a Natália Arantes, Renata Vital e Sandra Cardoso, pela amizade e companheirismo.

Aos meus professores do mestrado, pela ajuda na construção de meu conhecimento, de modo especial o professor Sérgio Oliveira que sempre se mostrou disposto a desembaraçar os “nós” da estatística.

A Agna Menezes, pela co-orientação e apoio nesse trabalho.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) e Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) pelo apoio financeiro e estrutural.

CRESCIMENTO INICIAL DE LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS INOCULADAS COM BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO

RESUMO

A família Leguminosae tem cerca de 670 gêneros e mais de 17.500 espécies as quais incluem plantas de interesse agrônomo como forrageiras e alimentares. São plantas capazes de estabelecer simbiose mutualística com bactérias fixadoras de nitrogênio (diazotróficas). Estes microrganismos são capazes de reduzir nitrogênio atmosférico (N_2) à amônia (NH_3), contribuindo para melhoria nutricional da planta, a qual em contrapartida fornece fotossintatos às bactérias. O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar a influência de rizóbios no crescimento inicial de três leguminosas herbáceas, *Calopogonium mucunoides* Desv. (calopogônio), *Desmodium heterocarpon* (L.) DC subsp. *ovalifolium* (Prain) H. Ohashi cv. Itabela (desmódio) e *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth (cudzu tropical), utilizadas como forragens na região sul baiana. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso num esquema fatorial 3x3 (três espécies e três tratamentos), utilizando solo não autoclavado, representativo da região cacauzeira, Latossolo Vermelho-Amarelo (analisado previamente em suas condições físicas e químicas). Os tratamentos foram realizados com inoculação de rizóbio, adubação nitrogenada e a testemunha para cada espécie. Após a 8ª semana de germinação foram analisados os parâmetros de biomassa (matéria seca da parte aérea), teor de nutrientes na parte aérea, número e peso seco de nódulos, grau de colonização micorrízica e diâmetro do colo. Foi constatado que a matéria seca da parte aérea e o diâmetro do colo foram maiores no cudzu tropical, seguido do desmódio e calopogônio, respectivamente. O cudzu, entretanto, foi a espécie que apresentou menor biomassa no tratamento adubado com nitrogênio mineral. O teor de nutrientes da parte aérea foi satisfatório, não sendo observado visualmente algum tipo de deficiência. No tratamento com N-mineral do cudzu tropical houve um aumento no teor de Mn. O coeficiente de correlação linear indica que 79%, 58% e 56% da variação observada no número de nódulos do desmódio, cudzu e calopogônio é em função da variação do peso seco e vice-versa. A colonização micorrízica foi muito baixa, não ultrapassando 17% em todas as espécies e tratamentos, provavelmente devido a dose de P utilizada no experimento. Os rizóbios inoculados e nativos do solo foram eficientes na fixação do nitrogênio e na translocação de amônia para a planta suprindo as exigências desse nutriente para todas as três espécies no período avaliado. A correção do solo juntamente com a adubação de base foram fundamentais para o pleno crescimento e desenvolvimento das culturas. As três espécies de leguminosas forrageiras apresentam bom potencial para produção de matéria seca e de proteína bruta.

Palavras-chave: leguminosas herbáceas; fixação biológica de nitrogênio; teor de nutrientes.

INITIAL GROWTH OF TROPICAL FORAGE INICULATED WITH SYMBIONT NITROGEN FIXERS BACTERIA

ABSTRACT

The Leguminosae family comprises about 670 genera and more than 17.500 species, that includes agronomic interest plants as forage and food crops. They are capable to establish mutualistic symbiosis with nitrogen fixer bacteria (diazotrophs). These microorganisms reduce atmospheric nitrogen (N_2) to ammonia (NH_3), contributing to improving nutrition to the plant, which on counterpart supplies photosynthetic products to bacteria. The aim of present study was to evaluate the influency of rhizobia on initial growth of three leguminous herbs, *Calopogonium mucunoides* Desv. (calopo), *Desmodium heterocarpon* (L.) DC subsp. *ovalifolium* (Prain) H. Ohashi cv. Itabela (ea-ea) e *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth (kudzu), used as forage on south region of Bahia. The experiment was conducted on randomly factorial delineate at 3x3 (three plant species and three treatments), using a non-autoclaved soil representative of cacao region, Haplorthox (previously analyzed in its chemical and physical properties). Treatments were: rhizobia inoculation, with N fertilization and control to the each species. After eight weeks from seed germination were analyzed the parameters biomass (shoot dry mass), shoot nutrient content, number and dry mass of nodules, percentage of mycorrhizal colonization and collar diameter. We observed that dry mass production of shoot was higher in kudzu, followed by ea-ea and calopo, respectively. Kudzu however presented lower biomass on nitrogen-fertilized treatment. Shoot nutrient content was satisfactory and were not visualized any deficiency. In N fertilizing treatment of kudzu, Mn content was augmented. The linear coefficient correlation explains that 79%, 58% e 56% of variation of nodule number observed in ea-ea, kudzu and calopo is explained by dry mass of nodule and vice-versa. Mycorrhizal colonization was lower than 17% in all species and treatments, probably because P fertilization used in our experiment. Collar diameter was higher in kudzu than ea-ea and calopo. Inoculated and soil borne rhizobia were efficient in nitrogen fixation and ammonia translocation to the plant, supplying this nutrient exigency for all three species during experiment period. Soil liming concomitant with base fertilization were essential to the crops growing and developing. The three forage legume species presented high potential of dry mass and crude protein production.

Keywords: Herbaceous legumes; nitrogen biological fixation; nutrient content.

SUMÁRIO

| | | |
|-------|--|-----|
| | Resumo | vi |
| | Abstract | vii |
| 1 | INTRODUÇÃO | 9 |
| 2 | REVISÃO DE LITERATURA | 11 |
| 2.1 | Fixação biológica de nitrogênio | 11 |
| 2.2 | Assimilação de Nitrogênio | 12 |
| 2.3 | Teor de Nutrientes | 15 |
| 2.4 | Fungos Micorrízicos Arbusculares | 17 |
| 2.5 | Leguminosas Tropicais | 18 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS | 22 |
| 3.1 | Condução do experimento | 22 |
| 3.2 | Sementes | 22 |
| 3.2.1 | Obtenção | 22 |
| 3.2.2 | Superação de dormência e o índice de velocidade de germinação (IVG) do desmódio | 23 |
| 3.3 | Solo | 23 |
| 3.4 | Inoculação dos rizóbios | 25 |
| 3.5 | Coleta, parâmetros avaliados e análises estatísticas | 26 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 28 |
| 4.1 | Superação de dormência e índice de velocidade de germinação (IVG) do desmódio | 28 |
| 4.2 | Número e peso seco dos nódulos | 31 |
| 4.3 | Matéria seca da parte aérea (MSPA), diâmetro do colo e porcentagem de colonização micorrizica | 34 |
| 4.4 | Teor de nutrientes da parte aérea e porcentagem de proteína bruta | 39 |
| 5 | CONCLUSÕES | 44 |
| 6 | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 45 |

1 INTRODUÇÃO

O estudo das leguminosas forrageiras no Brasil encontra-se relegado a um plano secundário quando comparado ao das gramíneas, sendo poucos ainda os programas de pesquisa visando o rendimento e adaptação dessas leguminosas à consorciação, principalmente quando cultivadas em solos tropicais de baixa fertilidade (ANDRADE et al., 2004; MOREIRA et al., 2005). Entretanto, nos últimos anos tem se intensificado os estudos sobre leguminosas tropicais visando principalmente a melhoria na qualidade de forragens (p. ex. PERIN et al., 2004; VOLPE et al., 2008) que pode ser obtida através da consorciação entre leguminosas e gramíneas, sendo as primeiras uma fonte econômica de proteína para os rebanhos. Oliveira (1997) relata que a suplementação de animais a pasto é uma forma viável de proporcionar os níveis de nutrientes necessários para o incremento na produção animal. Os estudos de consorciação entre gramíneas (especialmente as africanas que apresentam alto rendimento) e leguminosas ganham atualmente maior importância em virtude da degradação de pastagens que atinge cerca de 150 milhões de hectares no Brasil, apesar das tecnologias disponíveis para evitar tal degradação (EMBRAPA, 2008).

Outra aplicação das leguminosas herbáceas é seu uso como cobertura do solo e para controle da população de plantas espontâneas, prática tradicional entre os agricultores (ALTIERI, 1998). Leguminosas são também preferencialmente utilizadas na chamada adubação verde, prática sustentável e de baixo custo, que permite a melhoria das características químicas, físicas e biológicas do solo (GLIESSMAN, 2000). O uso de leguminosas como forrageiras, na cobertura do solo e na adubação verde são alternativas viáveis aplicadas, muitas vezes empiricamente, por alguns agricultores. *Desmodium heterocarpon* subsp. *ovalifolium* cv. Itabela (desmódio), *Calopogonium mucunoides* Desv. (calopogônio) e *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth. (cudzu tropical) são exemplos de leguminosas utilizadas como adubo verde e na consorciação com gramíneas, inclusive na região sul baiana. Nesta região, algumas pesquisas com o desmódio já foram realizadas.

Pereira et al. (1995), por exemplo, relata que para o estabelecimento em campo de *Desmodium heterocarpon* subsp. *ovalifolium* cv. Itabela é necessária uma adubação de 50 kg de P_2O_5 e 30 Kg de K_2O por hectare.

A prática da inoculação de rizóbios em leguminosas é uma técnica simples, eficiente e que está totalmente inserida no contexto da produção agroecológica para o fornecimento de compostos nitrogenados a essas plantas. Essa prática pode gerar economia financeira para o produtor, devido ao menor gasto com fertilizantes, e auxiliar na conservação e melhoria dos atributos químicos, físicos e biológicos do solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

O presente estudo visou avaliar o crescimento inicial de três leguminosas forrageiras, *Calopogonium mucunoides*, *Desmodium heterocarpon* subsp. *ovalifolium* cv. Itabela e *Pueraria phaseoloides*, inoculadas com rizóbios nativos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fixação biológica de nitrogênio

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é considerada como o segundo processo biológico mais importante (sendo a fotossíntese o primeiro) juntamente com a decomposição da matéria orgânica (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Estes mesmos autores relatam que grande parte do nitrogênio está na atmosfera, na forma gasosa (N_2), ou seja, na forma não disponível para a maioria dos organismos. Uma fração quase ínfima está combinada na forma inorgânica e orgânica nos ecossistemas aquáticos e terrestres. Considerado um dos quatro elementos essenciais mais abundantes nos organismos vivos sua obtenção pode provir de três processos: 1. Industrial, no qual o gasto de energia não renovável (gás natural ou petróleo) é alto; 2. Descargas elétricas na atmosfera, que não é tão eficiente quando comparado com o industrial ou com o biológico; 3. Biológico, que é realizado somente por procariotos e dependente de ATP (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Dentre os diversos microrganismos (bactérias) que realizam a fixação biológica de nitrogênio, o grupo das proteobactérias se destaca pela sua capacidade em estabelecer simbiose com plantas da família Leguminosae (Fabaceae). Plantas dessa família, de maneira geral, apresentam maior teor de N em seus tecidos. Sua utilização como forrageiras é de grande importância para a manutenção do nível adequado de proteína bruta (PB) na dieta animal, seja pelo efeito direto da ingestão da planta ou pelo efeito indireto do acréscimo no conteúdo de nitrogênio (N) no solo da pastagem (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Essa maior eficiência na absorção do N pode se converter em economia de fertilizantes industriais para o produtor.

No Brasil, cerca de 70% dos solos cultivados apresentam alguma limitação séria de fertilidade (PEREIRA et al., 1995). Os solos predominantes na região sul e extremo sul da Bahia são em sua maioria de baixa fertilidade natural, conseqüentemente baixa CTC, e apresentam pequeno teor de matéria orgânica

(PEREIRA et al., 1995), isso em decorrência dos processos pedológicos, os quais ocorrem com maior intensidade em regiões tropicais, sendo agravado pelo manejo inadequado dos solos. As bactérias diazotróficas, em sua maioria do gênero *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Azorhizobium*, colonizam as raízes das plantas formando nódulos, esse é resultado da interação simbiótica entre bactérias fixadoras de N, comumente chamadas de rizóbio, e de algumas plantas que possuem genes que possibilitam essa simbiose. Na região Neotropical essas plantas pertencem em sua grande maioria à Família Leguminosae. Nesse mutualismo a planta fornece fotossintatos à bactéria, que por sua vez disponibiliza amônia ao vegetal. A participação da fixação biológica de nitrogênio (FBN) no ciclo biogeoquímico deste nutriente é importante uma vez que a atividade das bactérias diazotróficas representa cerca de 60% do nitrogênio anualmente fixado na Terra (KIM; REES, 1994). Durante a reação de redução do N_2 , a nitrogenase, enzima ferro-molibdênio dependente, é auxiliada por uma terceira molécula transportadora de elétrons, a ferridoxina (SPRENT, 2001).

2.2 Assimilação de nitrogênio

O nitrogênio (N) é considerado elemento essencial para as plantas, pois está presente na composição das mais importantes biomoléculas, tais como ATP, NADH, NADPH, clorofila, ácidos nucleicos, proteínas e inúmeras enzimas (MIFLIN; LEA, 1976; HARPER, 1994). Para suprir a planta desse elemento, dentre outros fatores, é necessária certa eficiência na utilização do nitrogênio adicionado ao solo, considerando que perdas ocorrem. Normalmente, menos de 50% do nitrogênio aplicado sob a forma de fertilizante é utilizado pelas culturas. As perdas no solo são devido aos inúmeros processos aos quais o nitrogênio está sujeito. O nitrogênio é perdido principalmente pela lixiviação de nitrato, volatilização de amônia e emissão de N_2 , N_2O e outros óxidos de nitrogênio (ANGHINONI, 1986).

O nitrogênio no solo está predominantemente na forma orgânica, as frações inorgânicas são compostas principalmente por nitrato e amônio. O nitrogênio é absorvido nas raízes sob a forma de NO_3^- ou NH_4^+ , sendo então incorporado em aminoácidos na própria raiz ou na parte aérea. A taxa e a quantidade de nitrogênio absorvida e assimilada durante o ciclo da planta dependem da presença de carregadores específicos na membrana plasmática, da atividade das enzimas

envolvidas no seu ciclo, da disponibilidade de energia necessária para os processos de absorção e assimilação e do estágio de desenvolvimento da planta (MILLER; CRAMER, 2004).

Bredemeier e Mundstock (2000) fizeram uma revisão bibliográfica da regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas salientando pontos limitantes do metabolismo deste elemento na planta. Os limitadores têm sido relacionados com: 1) a afinidade dos carregadores pelo nitrato e amônio; 2) o suprimento de carboidratos às raízes; 3) o nível de aminoácidos no floema radicular; 4) a atividade das enzimas redutase do nitrato (RN), sintetase da glutamina (GS) e sintase do glutamato (GOGAT); 5) a fonte de N suprida às plantas (NO_3^- ou NH_4^+); 6) o local de assimilação do N (raiz ou parte aérea).

A passagem de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) através da membrana plasmática das células da epiderme e do córtex da raiz ocorre através de transportadores específicos para essas formas de nitrogênio (LARSSON, INGEMARSSON, 1989). A figura 1 mostra que, após a sua entrada na célula, o nitrato pode ser reduzido a nitrito (NO_2^-) no citosol, através da enzima redutase do nitrato (RN) e, logo a seguir, convertido a amônio (NH_4^+) no plastídio, através da enzima redutase do nitrito (RNi). O amônio é incorporado em aminoácidos pelas enzimas sintetase da glutamina (GS) e sintase do glutamato (GOGAT), formando glutamina (GLN), glutamato (GLU) e outros aminoácidos e seus metabólitos (CRAWFORD, 1995). Alternativamente, o NO_3^- e o NH_4^+ podem ser transportados por carregadores específicos através do tonoplasto e armazenados no vacúolo, para posteriormente serem reduzidos no citosol da mesma célula ou serem translocados inalterados para a parte aérea da planta (Figura 1). Nos colmos e folhas (Figura 1a), o nitrato é reduzido a nitrito pela ação da enzima RN, e o amônio, através da enzima RNi. O amônio é finalmente incorporado em aminoácidos pelas enzimas GS e GOGAT. Estes elementos também são armazenados no vacúolo das células para posterior redução e utilização (KING et al., 1993; CRAWFORD, 1995).

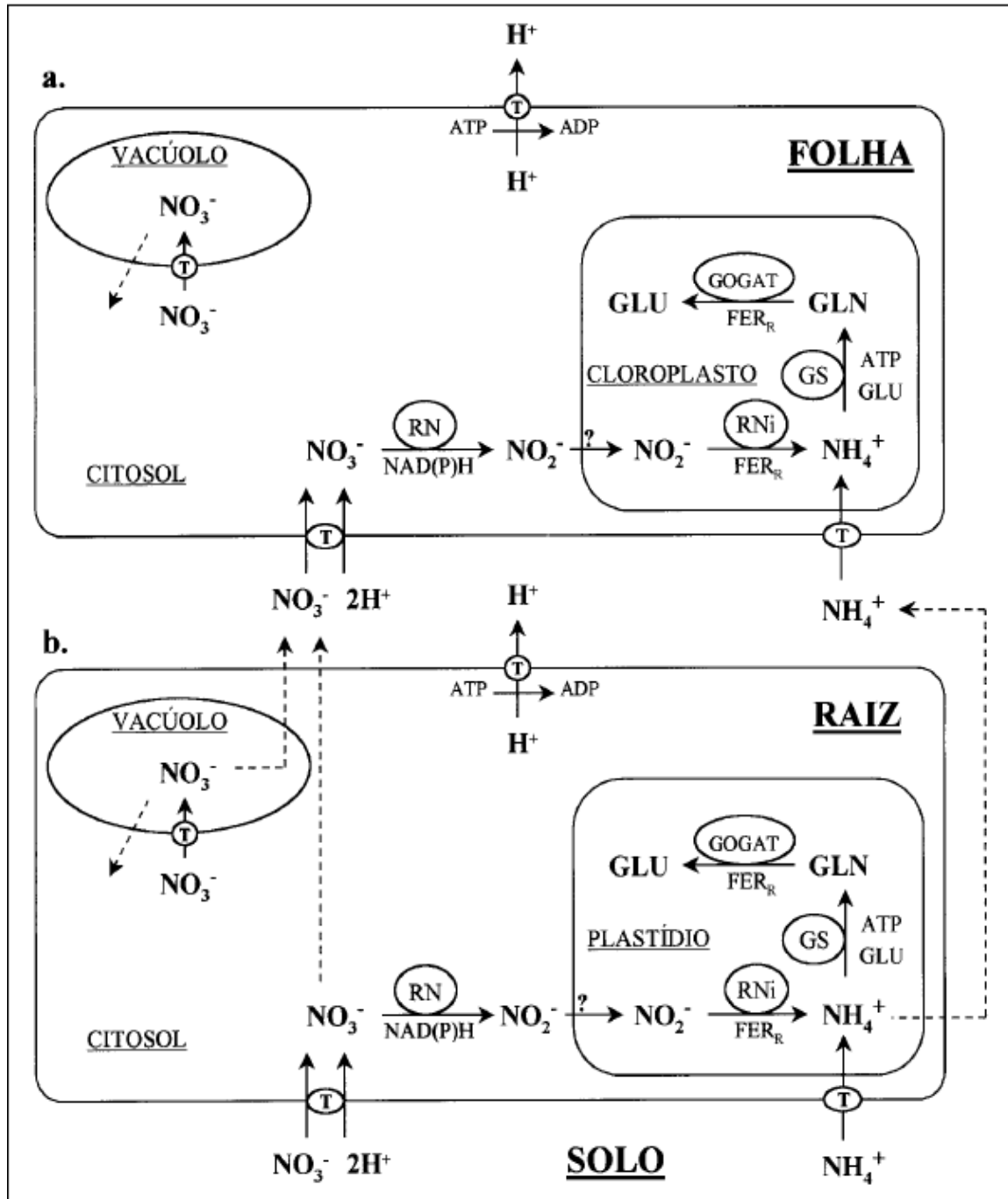


Figura 1 - Representação esquemática da rota de assimilação do nitrogênio nas raízes e folhas de plantas. (NO_3^- : nitrato; NO_2^- : nitrito; NH_4^+ : amônio; GLN : glutamina; GLU : glutamato; RN : redutase do nitrato; RNi : redutase do nitrito; GS : sintetase da glutamina; GOGAT : sintetase do glutamato; T : transportador). Extraído de Bredemeier e Mundstock (2000).

A multi-regulação do metabolismo do N torna complexa a identificação de pontos metabólicos específicos que sejam mais limitantes para o incremento da produtividade. A fonte de N e o local de assimilação podem ser importantes, especialmente em condições de crescimento nas quais a disponibilidade de energia é limitante (BREDEMEIER; MUNDSTOCK, 2000).

2.3 Teor de Nutrientes

As plantas são constituídas de vários elementos, porém dezessete são considerados essenciais, uma vez que mesmo sendo autotróficas, elas precisam destes elementos para seu crescimento e desenvolvimento.

Segundo Novais et al., (2007) um elemento é considerado essencial quando preenche os seguintes requisitos: a) quando sua deficiência impede que a planta complete seu ciclo vital; b) o elemento não pode ser substituído por outro elemento com propriedades similares; c) este elemento deve participar diretamente no metabolismo da planta e promover seu benefício não só com o objetivo de melhorar as características do solo, por meio do crescimento da microflora, mas também de possibilitar outro efeito benéfico a planta. Alguns elementos não são considerados essenciais, mas apenas benéficos para algumas plantas, como é o caso do sódio, do silício, do selênio e do cobalto. Um ponto relevante é saber como as plantas adquirem esses nutrientes essenciais ou benéficos. O carbono, oxigênio e hidrogênio são adquiridos a partir do CO₂ atmosférico e da água presente no solo. Depois de adquiridos, eles são incorporados às plantas pelo processo de fotossíntese. Como consequência da fotossíntese, esses três nutrientes fazem parte de praticamente todas as moléculas orgânicas dos vegetais e são responsáveis por cerca de 94-97% do peso seco de uma planta. Os demais nutrientes (6-3 % restantes) fazem parte dos minerais presentes no solo.

Uma consequência da essencialidade por igual dos nutrientes é a chamada "Lei do mínimo" de Liebig, essa lei estabelece que a produtividade de uma cultura é limitada pelo elemento que está presente em menor quantidade, sabendo que se aumentarmos a concentração dos demais nutrientes, não haverá um aumento da produtividade, logo é preciso uma preocupação no fornecimento de todos os nutrientes nas concentrações indicadas para cada cultura (NOVAIS et al., 2007). Também deve-se levar em consideração que há um máximo para a utilização de um nutriente, ou seja, doses elevadas podem gerar toxidez e inibir o crescimento e desenvolvimento da planta. Uma explicação para os macronutrientes serem requeridos em quantidades elevadas é o fato deles constituírem parte de moléculas essenciais para o vegetal, ou seja, possuem uma função estrutural, além da escassez nos solos. Já os micronutrientes estão mais relacionados à ativação de

certas enzimas, desempenhando esse uma função regulatória (ESPTTEIN; BLOOM, 2005).

O nitrogênio e o fósforo possuem forte ligação estrutural fazendo parte dos nucleotídeos, os quais formam os ácidos nucléicos (DNA e RNA). Além disso, o nitrogênio está presente nos aminoácidos que formam as proteínas e na própria molécula de clorofila. Dois dos aminoácidos considerados essenciais (metionina e cisteína) são formados por enxofre. O potássio apesar de ser um macronutriente não é um componente estrutural. Contudo ele está presente em altas concentrações no suco celular regulando o potencial osmótico e o balanço iônico. Esse nutriente também está envolvido no controle do movimento estomático. O cálcio possui uma função estrutural (está presente nos pectatos de cálcio que compõem a lamela média) e um grande papel na regulação do metabolismo da planta. Ele normalmente atua como mensageiro secundário ativando uma proteína chamada calmodulina, a qual, por sua vez, ativa uma série de enzimas. O magnésio está presente na molécula da clorofila, juntamente com o nitrogênio. O magnésio também faz parte de muitas metaloenzimas, ou seja, as enzimas que possuem um metal em sua estrutura.

Os micronutrientes possuem uma função mais regulatória que estrutural. Desse modo, o ferro faz parte de enzimas relacionadas com os processos de oxidação e redução e das enzimas responsáveis pela síntese da clorofila. O molibdênio, apesar da pequena quantidade desse nutriente absorvida pela planta, é considerado essencial por fazer parte de duas enzimas, a redutase do nitrato e a nitrogenase. A redutase do nitrato promove a redução do nitrogênio absorvido na forma nítrica, para posteriormente ser incorporado em compostos orgânicos e a nitrogenase catalisa a reação de fixação do nitrogênio atmosférico por microrganismos do solo. O zinco também faz parte de várias enzimas e inclusive daquelas relacionadas com a síntese do aminoácido triptofano. O boro é importante para os processos de divisão e alongamento celular. Acredita-se que ele influencie estes processos alterando o nível de um hormônio vegetal, a auxina, através da ativação de enzimas que oxidam esse hormônio. Por fim, os outros micronutrientes como o manganês, o cobre, o cloro e o níquel também estão envolvidos na regulação da atividade de várias enzimas (TAIZ; ZEIGER, 2004).

O transporte desses nutrientes via raízes, representados na Figura 2, pode ser realizado por três processos: 1) fluxo de massa, o qual é uma consequência da

existência de um potencial de água no solo maior do que aquele junto a raiz. Essa diferença de potencial que causa um movimento de massa da água em direção à raiz, arrastando nela os íons que se encontram em solução, é causada pela transpiração da planta, assim o fluxo de massa segue o fluxo transpiracional da planta. 2) difusão é o segundo mecanismo de transporte de nutrientes pela raiz, este ocorre quando a absorção é superior a chegada do elemento à superfície da raiz, criando-se assim, um gradiente de concentração que proporciona o movimento desse nutriente do local mais concentrado para o de menor concentração próximo à raiz. 3) o outro transporte é o da interceptação radicular, o qual se faz pelo crescimento da raiz que ao longo de sua trajetória entra em contato com os nutrientes que podem ser absorvidos. De modo geral, considera-se pequena a contribuição da interceptação de raízes comparada aos mecanismos de fluxo de massa e difusão (NOVAIS et al., 2007).

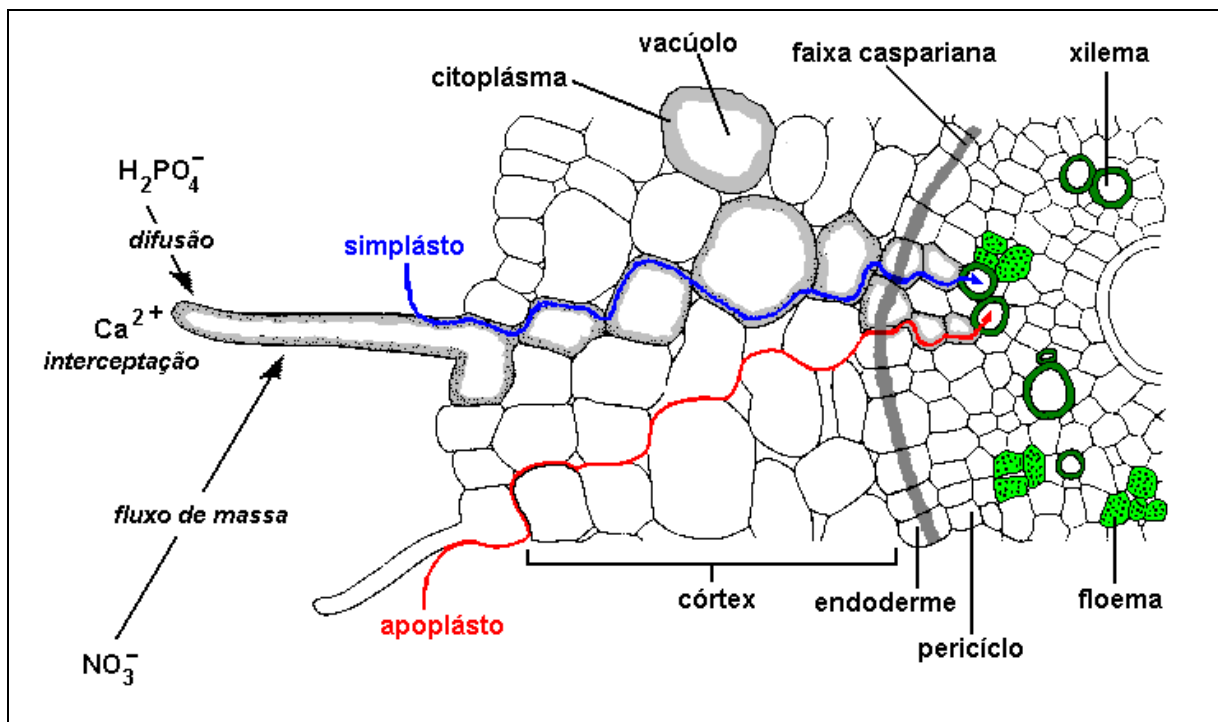


Figura 2 - Transporte de nutrientes via simplásto e apoplásto. O nutriente chega até raiz (pêlo radicular) por difusão, interceptação radicular ou fluxo de massa.

2.4 Fungos micorrízicos arbusculares

A baixa disponibilidade de fósforo (P), nitrogênio (N) e a alta saturação de alumínio (Al) são os fatores químicos que limitam com mais intensidade a produção

forrageira nos solos tropicais, dificultando, assim, uma exploração racional e econômica. A importância das associações micorrízicas no crescimento, desenvolvimento e nutrição das plantas tem sido enfatizada em várias revisões (MARONEK et al., 1981; LOPES et al., 1983; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). O fungo micorrízico forma uma rede de hifas na rizosfera que aumenta a superfície de absorção das raízes e permite explorar, absorvendo e translocando, nutrientes de microagregados do solo inacessíveis à planta devido ao diâmetro de sua raiz e pêlo radicular. Dentre os nutrientes mais estudados nessa simbiose está o P, que no solo pode sofrer ataque de fosfatases fúngicas e ser solubilizado e translocado para a planta (SMITH; READ, 1997). O fósforo apresenta pouca mobilidade no solo e chega até as raízes pelo processo de difusão. Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) facilitam este processo transportando o nutriente pelas suas hifas asseptadas, permitindo o crescimento e desenvolvimento das plantas em solos relativamente pobres e, ou deficientes. Os FMAs apresentam efeito sinérgico com a nodulação, uma vez que a fixação biológica de nitrogênio depende de grande aporte de energia (ATP) e portanto grande demanda de P, principal nutriente absorvido pelas hifas (CRUSH, 1974). Vários trabalhos têm demonstrado a resposta positiva da inoculação de rizóbios juntamente com FMAs no crescimento de leguminosas (para revisão ver Moreira e Siqueira, 2006), grau de nodulação, fixação de nitrogênio (SIVAPRASAD et al., 1983; BONETI, 1984; COSTA et al., 1990).

2.5 Leguminosas tropicais

Dentre as leguminosas forrageiras tropicais com boa produção de matéria seca e com características de bom desenvolvimento na região sul e extremo sul da Bahia, o *Desmodium heterocarpon* (L.) DC subsp. *Ovalifolium* (Prain) H. Ohashi CIAT 350 cultivar itabela apresenta bom potencial. É uma leguminosa cujo centro de origem é a Ásia, distribuindo-se pela China continental, Índia, Sri Lanka, Tailândia, Malásia, Ilhas do Pacífico e Austrália (PEREIRA et al., 1995). A cultivar Itabela corresponde à introdução *Desmodium heterocarpon* (L.) DC subsp. *Ovalifolium* (Prain) H. Ohashi CIAT 350, registro CENARGEN BRA-001996, recebendo este nome em homenagem ao principal centro de avaliação na região cacauzeira. A planta é um subarbusto perene que atinge até um metro de altura. O caule se apresenta praticamente livre de pêlos, exceto nas suas extremidades. Os nós inferiores do

caule, quando em contato com o solo, enraízam-se facilmente. As folhas são trifoliolares, com folíolos ovais e as flores são púrpuras ou rosa-escuro, tornando-se azuladas após a completa abertura. As vagens são pequenas, com artículos quadrados de 2,5 a 3 mm de comprimento, com uma semente cada (USDA, 2008). A cv. Itabela apresenta boa adaptação às condições ambientais predominantes na região sul da Bahia, em solos de baixa fertilidade é capaz de atingir 80% da produção máxima sob 86% de saturação de Al e 2,6 mg.Kg⁻¹ de fósforo. Resultados parciais encontrados na região evidenciam que a fertilização fosfatada e potássica nos níveis de 50 Kg de P₂O₅ e 30 Kg de K₂O/ha é satisfatória para o seu estabelecimento, fixando 80 a 90 Kg de nitrogênio/ha/ano (PEREIRA et al., 1995). Apesar de seu desenvolvimento ser inicialmente lento, uma vez estabelecida apresenta vigor e alta produtividade tornando-se muito competitiva, (PEREIRA et al., 1995). Estudo realizado em Itabela, de 1985 a 1990, com consorciação *B. humidicola* X *D. ovalifolium* cv. Itabela, constatou ganhos de 515, 503 e 417 g/an/dia para as cargas de 2, 3 e 4 animais/ha respectivamente, sendo que estudos recentes já demonstram uma melhor consorciação com o *Brachiaria dictioneura* (PEREIRA et al., 1995). Segundo Pereira (1995) a cultivar possui 14% de proteína bruta na matéria seca e 45 % de digestibilidade. Avaliações de pastagem degradada de capim gordura com introdução de gramíneas consorciadas com leguminosas realizadas por Moreira et al. (2005) demonstraram teores mais elevados de proteína bruta e menores teores de fibra em detergente neutro(FDN), quando comparadas com forrageiras tropicas adubadas com nitrogênio e sem consorciamento.

Calopogonium mucunoides Desv. é uma leguminosa forrageira nativa do trópico brasileiro, tendo como características a capacidade de vegetar satisfatoriamente em condições de acidez elevada e baixa fertilidade natural, além de apresentar alta tolerância ao Al (CARVALHO, 1985). É reconhecida ainda por apresentar potencial de uso na adubação verde. Segundo Pizzaro et al. (1996) pode produzir mais de 5 t/ha por ano de matéria seca (MS), aproximadamente 25 toneladas massa verde/ha/ano, possui de 16 a 18% de proteína bruta na matéria seca, tem alta resistência ao sombreamento consorciando-se bem com *Brachiaria decumbens*, boa palatabilidade no período seco, mantendo percentuais aceitáveis de folhas verdes até meados do período seco e, também, apresenta alta produção de sementes. É utilizada na adubação verde, como forrageira e fenação, sendo indicada como um potencial em fixar nitrogênio.

Pueraria phaseoloides (Roxb.) Benth. é conhecida como cudzu tropical. Originária do Sudeste da Ásia, Malásia e Indonésia. Adapta-se a solos argilosos, mas não excessivamente argilosos, porém pode se desenvolver em solos franco-arenosos. Apresenta tolerância a solos ácidos, a sombreamento e a condições de muita umidade por períodos longos. Resistente à seca, desde que não seja prolongada ou severa; é bastante palatável. Suporta o pastejo, porém não deve ser submetida a altas taxas de lotação. Recomendada também para controle da erosão, corte, fenação e adubação verde. O principal atributo desta espécie está relacionado com sua capacidade de consorciar-se com gramíneas de porte alto como o capim elefante. É uma planta perene, herbácea, com talos rasteiros, estolonífera, flores violetas, folhas trifoliadas com folíolos inteiros e com três lóbulos distintos, verdes na superfície superior e prateadas e pilosas na inferior.

Essa planta possui hábito trepador com vegetação densa e vigorosa a qual é cultivada em países tropicais como adubação verde e forrageira; tem boa produção de matéria seca (Tabela 1); sistema radicular é bastante aprofundado, o que a beneficia nas secas de curta duração. O cudzu tropical é melhor do que o cudzu comum, cujo rendimento é inferior, tarda a se estabelecer e produz uma forragem de pior qualidade.

Tabela 1 – Produção de matéria seca de acessos de diferentes leguminosas utilizadas para cobertura de solo (dois meses depois da semeadura)

| Acessos | Produção de matéria seca (t / ha) |
|--|--|
| <i>P. phaseoloides</i> CIAT 8042 | 2,08 |
| <i>P. phaseoloides</i> CIAT 9900 | 2,08 |
| <i>C. brasiliensis</i> CIAT 17009 | 1,97 |
| <i>P. phaseoloides</i> CIAT 7182 | 1,69 |
| <i>C. ensiformis</i> CIAT 715 | 1,54 |
| <i>D. ovalifolium</i> CIAT 13651 (cv. Maquenque) | 1,50 |
| <i>D. ovalifolium</i> CIAT 13105 | 1,41 |
| <i>M. pruriens</i> CIAT 9349 | 0,59 |
| <i>A. pintoi</i> CIAT18744 | 0,59 |
| <i>A. pintoi</i> CIAT 17434 | 0,29 |

Fonte: Convênio MADR-CIAT, 2001.

O estudo do efeito dos rizóbios nas leguminosas forrageiras desmódio, clopogônio e cudzu tropical, tem relevância devido à utilização dessas na região sul e extremo-sul da Bahia, onde são cultivadas em solos que têm, em sua maioria, acidez elevada e baixa fertilidade natural.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Condução do experimento

O experimento foi montado em casa de vegetação num delineamento inteiramente ao acaso desbalanceado num esquema fatorial 3x3, sendo três espécies *Desmodium heterocarpon* subsp. *ovalifolium* cv. Itabela (desmódio), *Calopogonium mucunoides* Desv. (calopogônio) e *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth. (cudzu tropical) e três tratamentos. Cada tratamento foi constituído de 10 repetições com exceção do cudzu tropical, a qual cada tratamento foi composto de 6 repetições.

As plantas foram conduzidas em vasos sem furos com capacidade para aproximadamente 4,5 dm³ sendo preenchidos por 4 dm³ de solo. Foram plantadas 10 sementes por vaso e após 10 dias da sementeira foi realizado desbaste deixando duas plantas por vaso, seguido por último desbaste aos 20 dias, resultando em uma planta por vaso. Esses desbastes consideraram a altura da planta e número de folhas verdadeiras.

A irrigação foi realizada manualmente duas vezes ao dia ao longo de todo experimento, utilizando-se água deionizada.

3.2 Sementes

3.2.1 Obtenção

As sementes de *Desmodium heterocarpon* (L.) DC subsp. *Ovalifolium* (Prain) H. Ohashi - Cultivar Itabela (desmódio) foram obtidas junto à Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), as sementes de *Calopogonium mucunoides* Desv. (calopogônio) e as de *Pueraria phaseoloides* (Roxb) Benth (cudzu tropical) foram adquiridas da empresa Pirai Sementes (Piracicaba, SP).

3.2.2 Superação de dormência e o índice de velocidade de germinação (IVG) do desmódio

As sementes de calopogônio não necessitam de escarificação para sua germinação e as sementes de cudzu tropical têm seu processo de escarificação já descrito (BRASIL, 1992), entretanto o mesmo não ocorre com as de desmódio, que foram alvo de estudo prévio para estabelecimento de um protocolo de superação da dormência.

Uma solução a 1% de tetrazólio tamponado a pH 7,0 foi utilizada para avaliar a viabilidade de 200 sementes aleatoriamente escolhidas no lote.

Após o teste de tetrazólio, procedeu-se o experimento para superação. As sementes de desmódio foram previamente inspecionadas e selecionadas visualmente, pois o lote apresentava sementes fisiologicamente maduras, imaturas e senescentes. As sementes foram postas para germinar em caixas plásticas de 10x10cm do tipo “ger-box” devidamente desinfetadas com hipoclorito de sódio à 1%, sobre papel mata-borrão autoclavado. O umedecimento do papel foi realizado segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). A câmara de germinação foi previamente desinfetada com hipoclorito de sódio à 1%.

O delineamento foi inteiramente casualizado, sendo os tratamentos: sem escarificação, imersão em água quente a 84 °C por 15 min, imersão em ácido sulfúrico concentrado por 3 e 5 minutos, todos com quatro repetições e 50 sementes por unidade experimental. As sementes, após imergidas em ácido sulfúrico, foram lavadas em água corrente por 30 min. O percentual de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG) foram analisados entre o terceiro e o décimo dia após a sementeira. O IVG foi calculado segundo Maguire, (1962):

$$IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n.$$

3.3 Solo

O solo foi coletado na Fazenda Jassy, localizada no município de Arataca (15°015'222" S, 39°22'832" O e 99 m acima do nível do mar), sendo um solo considerado representativo para a região sul da Bahia, caracterizado como Latossolo Vermelho - Amarelo. Uma amostra composta desse solo foi analisada química e fisicamente (EMBRAPA, 1997), como mostra as Tabelas 2 e 3

respectivamente, no Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (Cruz das Almas, BA).

Tabela 2 - Características químicas iniciais (antes do experimento) do Latossolo Vermelho-Amarelo solo coletado na Fazenda Jassy, localizada no município de Arataca-Ba

| Amostra | pH | M.O. | P | K | Ca | Mg | Na | Al | H + Al | SB | CTC | S | V |
|--------------|------------------|--------------------|---------------------|------|-----|-----|------|-----|------------------------|------|------|------|----|
| | H ₂ O | g kg ⁻¹ | mg dm ⁻³ | | | | | | cmolc dm ⁻³ | | | | % |
| Solo inicial | 5,3 | 23,87 | 0,8 | 0,18 | 2,4 | 1,4 | 0,07 | 0,2 | 5,83 | 3,98 | 9,88 | 4,05 | 41 |

MO = matéria orgânica; H + Al = acidez potencial; SB = soma de bases; CTC = capacidade de troca catiônica; S = SMA das bases; V = saturação de bases; P = Mehlich 1.

TABELA 3 - Características físicas do solo inicial (antes do experimento), retirado da Fazenda Jassy, localizada no município de Arataca-Ba

| Amostra | Areia muito grossa | Areia grossa | Areia média | Areia fina | Areia muito fina | Areia total | silte | argila | Classificação textural |
|--------------|-------------------------|--------------|-------------|------------|------------------|-------------|-------|--------|------------------------|
| | g/kg dispersão com NaOH | | | | | | | | |
| Solo inicial | 9 | 50 | 70 | 116 | 44 | 289 | 127 | 584 | Argila |

Foi realizada curva de incubação de calcário para o solo coletado usando 6 doses de calcário dolomítico com PRNT de 89,5 %, sendo as doses: 0; 1; 2; 3; 4 e 8 t/ha. Os resultados foram analisados por regressão para ajustar o pH em torno de 6,0 e a saturação por bases por volta de 60% (Figura 3). Depois de definida a dose do corretivo, esta foi aplicada a cada vaso, que foi regado (240 ml de H₂O dm⁻³, considerando-se 30% de capacidade de campo) e deixado em repouso por 15 dias para ação do corretivo. Os solos contidos nos vasos foram então fertilizados individualmente, com base na análise de solo (Tabelas 2 e 3) e considerando-se a exigência da cultura. A adubação de base correspondente foi: 400 mg.dm⁻³ de fósforo; 80 mg.dm⁻³ de potássio; 1,55 mg.dm⁻³ de ferro; 0,75 mg.dm⁻³ de boro; 1,33 mg.dm⁻³ de cobre; 0,15 mg.dm⁻³ de molibdênio; 4,0 mg.dm⁻³ de zinco e 4,0 mg.dm⁻³ de manganês. Para os vasos do tratamento com adubação nitrogenada foram adicionados ao solo 100 mg.dm⁻³ de nitrogênio. Como fonte de N e P foram utilizados os fertilizantes sulfato de amônio e superfosfato triplo respectivamente. As fontes de potássio e micronutrientes foram sais de reagentes para análise (P.A. – A.C.S.). Os fertilizantes em grânulos foram incorporados ao solo, o qual foi deixado em repouso por 15 dias. O Fe - EDTA foi diluído separadamente dos outros micronutrientes para evitar sua precipitação e aplicado ao solo.

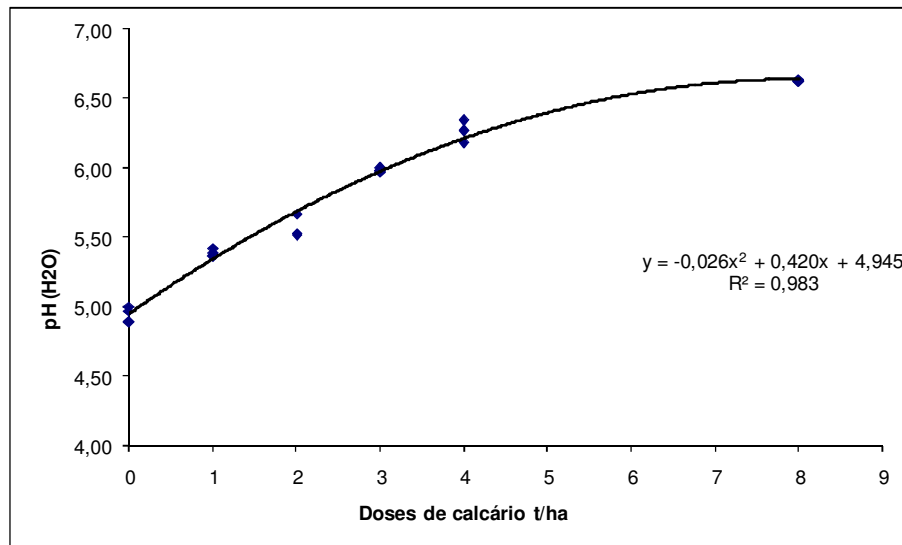


Figura 3 – Curva de incubação de calcário (PRNT=89,5) para o LATOSSOLO VERMELHO-AMARELO com a equação de regressão.

Após a correção e fertilização do solo uma amostra composta deste foi analisada (Tabela 4) para fins de fertilidade (MALAVOLTA, 1989) no Laboratório de Ciências do Solo da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ-USP).

Tabela 4 – Características químicas do solo após a correção e adubação

| Amostra Identificação | pH CaCl ₂ | MO g dm ⁻³ | P mg dm ⁻³ | S | K | Ca | Mg | Al | H+Al cmolc dm ⁻³ | SB | T | V % | m | B | Cu mg dm ⁻³ | Fe | Mn | Zn |
|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-----|------|-----|-----|----|--------------------------------|------|-------|--------|---|------|---------------------------|-----|-----|-----|
| Solo adubado com N | 5 | 37 | 260 | 127 | 0,6 | 5,5 | 2,2 | 0 | 3,8 | 8,3 | 12,1 | 69 | 0 | 0,27 | 1,7 | 93 | 5,6 | 3,7 |
| Solo adubado sem N | 5,4 | 40 | 238 | 49 | 0,86 | 5,5 | 2,6 | 0 | 3,1 | 8,96 | 12,06 | 74 | 0 | 0,65 | 2,9 | 113 | 8,3 | 7 |

Metodologia para análises: pH - CaCl₂ 0,01 mol.l⁻¹; MO – calorimetria; P, K, Ca e Mg – resina trocadora de íons; S - Turbidimetria (BaCl₂ em pó); Fe, Mn, Cu e Zn – DTPA (absorção atômica); B - BaCl₂.2H₂O - Método: microondas; H+ Al - pH SMP; Al trocável - Titulometria (1 mol.l⁻¹).

3.4 Inoculação dos rizóbios

Os rizóbios foram isolados de nódulos de *Desmodium heterocarpon* subsp. *Ovalifolium* cv. Itabela coletados na Fazenda Luz do Vale (localizada no município de Itabuna, BA) e de nódulos de *Calopogonium mucunoides* coletados na Fazenda Bom Princípio (localizada no município de Uruçuca, BA). Esses isolados foram provisoriamente registrados no Banco de Rizóbios da UESC sob os números Calop 01 e Desm 03. Os isolados de rizóbios utilizados na inoculação foram repicados separadamente em meio de cultura 79 líquido (FRED; WAKSMAN, 1928) e

crescidos até a obtenção de suspensões bacterianas túrbidas. A seguir foi preparada uma mistura resultante de igual volume de cada suspensão bacteriana, misturadas, homogeneizada e utilizada como inoculante. Foram adicionados cerca de 5 mL desta mistura em cada vaso dos tratamentos inoculados para cada espécie de leguminosa. Nos vasos dos tratamentos testemunha e com nitrogênio mineral também foram adicionados 5 mL desta mistura, porém, previamente autoclavada a 1,5 atmosfera durante 30 min. A inoculação ocorreu concomitantemente ao plantio das sementes.

3.5 Coleta, parâmetros avaliados e análises estatísticas

Decorridos 60 dias da semeadura, as plantas foram coletadas e avaliadas em sua biomassa (matéria seca da parte aérea), teor de nutrientes da parte aérea, grau de colonização micorrízica, número e peso seco de nódulos e diâmetro do colo.

A parte aérea das plantas foi seca em estufa de ventilação forçada a 65°C por 72 h, colocada por 1 h em dessecador, pesada em balança analítica digital BEL modelo Mark 210a para obtenção da massa da matéria seca e posteriormente trituradas em moinho Marconi modelo MA-340 no Laboratório de Química e Fertilidade do Solo da UESC. Amostras processadas da parte aérea das plantas foram embaladas em sacos de papel e encaminhadas para o Laboratório de Ciências do Solo da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ) para a análise do teor de nutrientes segundo metodologia de Malavolta, 1989.

Para se determinar a porcentagem de colonização micorrízica nas plantas, as raízes foram clarificadas com KOH a 10% em banho-maria a 90 °C corando-as com azul de tripano (PHILLIPS; HAYMAN, 1970). A avaliação utilizou estereomicroscópio com aumento de 40X, empregando o método de interseção em placa quadriculada (GIOVANNETTI; MOSSE, 1980).

Os nódulos das raízes das duas leguminosas forrageiras foram destacados da raiz com o auxílio de uma pinça, contados e secos em estufa com ventilação forçada a 65°C por três dias. Depois de secos foram colocados por 1 hora no dessecador, logo após pesados em balança analítica digital BEL modelo Mark 210a para obtenção do peso seco dos nódulos no Laboratório de Química e Fertilidade do Solo da UESC.

O diâmetro do colo foi medido com paquímetro digital Starrett 727-6/150 no momento da coleta das plantas.

As análises estatísticas foram realizadas no STATISTICA versão 6 e no Microsoft Office Excel versão 2007. Foram feitas análises de variância, seguida do teste de Tukey e no experimento de superação de dormência utilizou-se Duncan (5%). Os dados de percentagem de colonização radicular foram submetidos à transformação arco seno $(x/100)^{1/2}$, onde x representa a percentagem obtida na quantificação.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Superação de dormência e índice de velocidade de germinação (IVG) do desmódio

O teste de tetrazólio demonstrou que o lote das sementes de *Desmodium heterocarpon* subsp. *Ovalifolium* cv Itabela apresentava 75% de viabilidade dos embriões, o que significa um percentual de 15% de sementes viáveis que não embeberam e não tiveram sua dormência superada pelo uso de ác. sulfúrico concentrado por 3 min.

As avaliações demonstraram que a imersão em ácido sulfúrico concentrado por três minutos foi o melhor método para superação da dormência de *D. heterocarpon* subsp. *ovalifolium* cv Itabela, apresentando 60% de sementes germinadas (Figura 4). Apesar da seleção visual previamente realizada no lote de sementes do experimento, a porcentagem de germinação foi baixa. Isso poderia ser explicado devido a origem das sementes que foram colhidas de cultivares pouco melhorados e não selecionados, e estaria refletido no maior grau de dispersão dos valores em torno da média obtido no experimento de germinação desse cultivar (Figura 4).

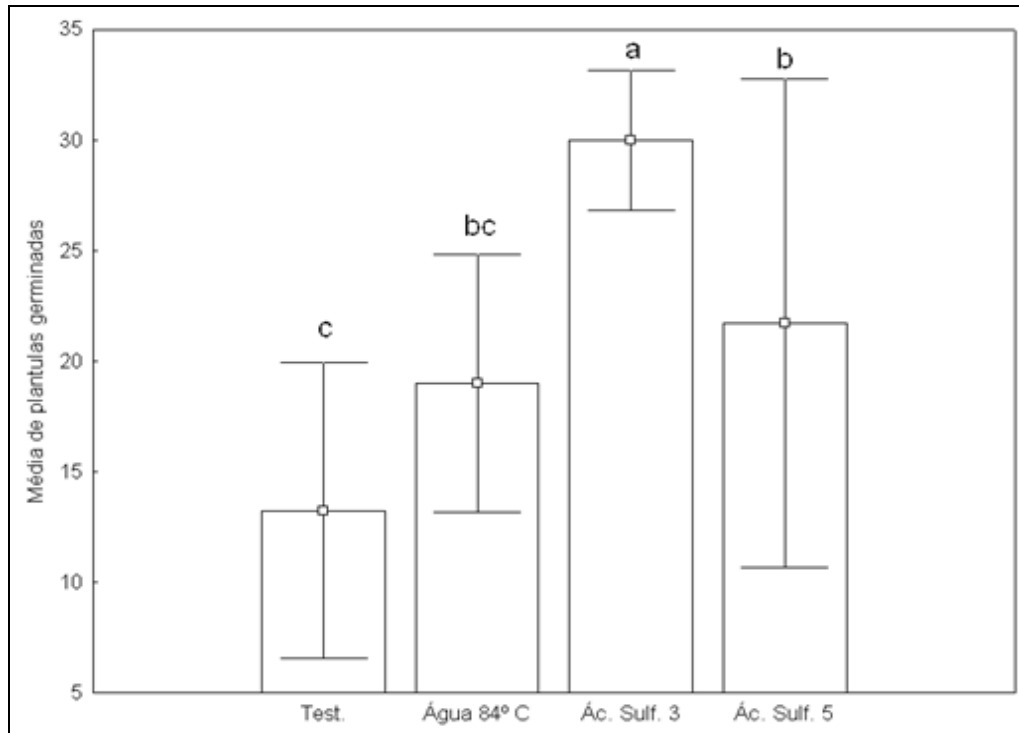


Figura 4. Média de plântulas de *Desmodium heterocarpon* var. *ovalifolium* cv. Itabela germinadas para cada tratamento. As médias seguidas das mesmas letras, acima das barras, não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5 %.

As médias de plântulas germinadas para os tratamentos com água quente a 84°C e ác. sulfúrico concentrado por 5 min não diferiram estatisticamente pelo teste Duncan a 5% (Figura 4), e ambas tiveram uma taxa de germinação menor que o tratamento com ác. sulfúrico por 3 min (Figura 4). O menor número de sementes duras foi observado no tratamento com ácido sulfúrico por 3 minutos (Figura 5). Um estudo realizado por Martins et al. (1997) constatou a importância da água quente no amolecimento dos tecidos acelerando as reações fisiológicas do tegumento, favorecendo a absorção de água, trocas gasosas e a germinação. No experimento com sementes de *D. heterocarpon* var. *ovalifolium* cv Itabela, entretanto, a imersão em água quente não foi satisfatória apresentando uma taxa de sementes duras de 40% (Figura 5) contrastando com os tratamentos utilizando ácido sulfúrico que tiveram taxas mais baixas.

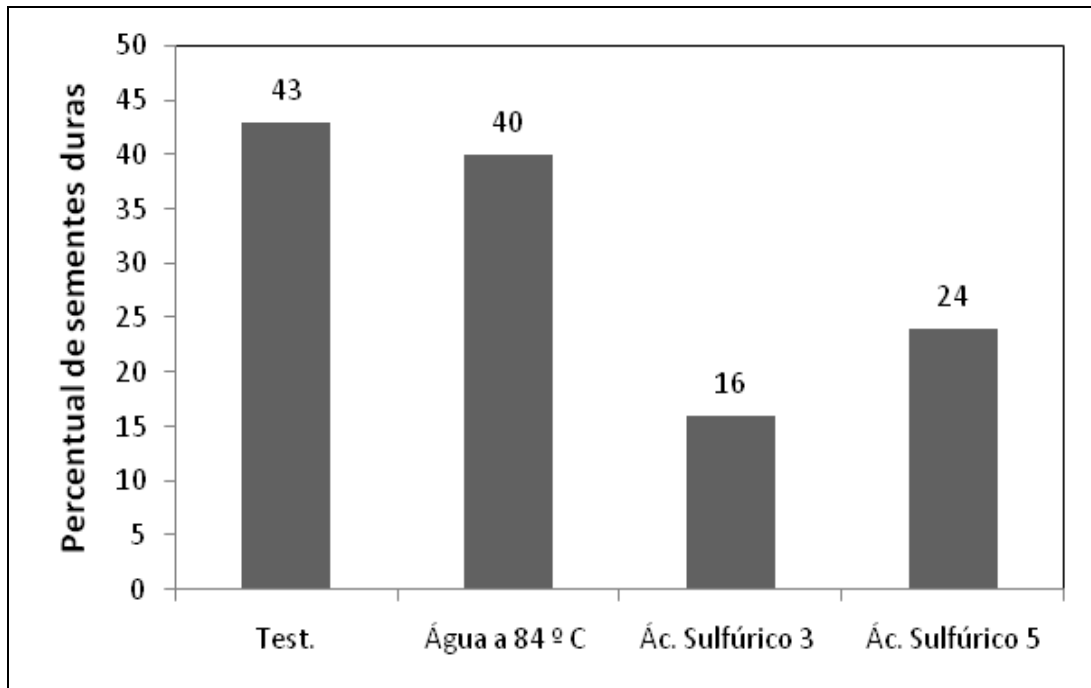


Figura 5 – Percentual de sementes duras da espécie *Desmodium heterocarpon* var. *ovalifolium* cv. Itabela ao final do teste.

Em um experimento com *Desmodium incanum* foram encontradas 58% de sementes duras no tratamento sem escarificação, 53 % no tratamento com água a 70 °C por 5min e 4% com ácido sulfúrico por 5min, estes resultados demonstram que o gênero *Desmodium* possui uma resistência a absorção de água e isto tem sido atribuído à camada de células paliçádicas presentes na superfície da semente (FRANKE; BASEGGIO, 1998).

O tratamento com ác. sulfúrico 3 minutos foi também o que apresentou melhor índice de velocidade de germinação (IVG), com 7 plantas por dia (Figura 6).

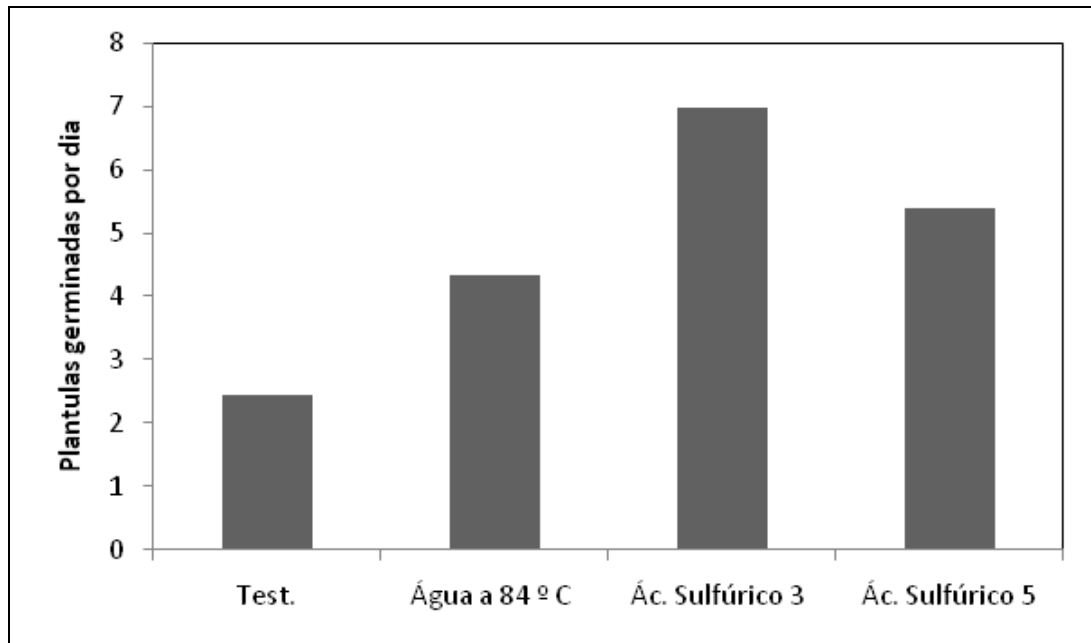


Figura 6 – Índice de velocidade (por dia) de germinação das sementes de *Desmodium heterocarpon* var. *ovalifolium* cv. Itabela nos diferentes tipos de escarificação utilizados.

4.2 Número e peso dos nódulos

Apesar de não ter ocorrido correlação entre o número de nódulos e a produção da matéria seca da parte aérea (MSPA), diversos trabalhos têm relacionado número de nódulos com fixação de nitrogênio atmosférico e biomassa da planta (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Na espécie *Calopogonium mucunoides*, os tratamentos não influenciaram significativamente ($p \leq 0,05$) no número de nódulos por planta, sendo que a testemunha obteve maior média. O tratamento com menor desvio padrão foi o inoculado seguido da testemunha e nitrogenado. Mesmo não sendo inoculado com os rizóbios selecionados, o tratamento testemunha das espécies estudadas apresentaram nódulos demonstrando a presença de rizóbios nativos no solo. Não foi avaliada a redução do acetileno, porém não houve deficiência de nitrogênio na planta, conforme análise do tecido vegetal mostrada na Tabela 8. Isso evidencia a eficiência dos rizóbios nativos e inoculados na fixação do N_2 .

O cudzu tropical também não apresentou diferença entre os tratamentos, porém a espécie apresentou menor número de nódulos no tratamento com nitrogênio mineral, em média 53,33 nódulos por planta. Sabe-se que elevadas doses de nitrogênio inibem a nodulação, pois a mesma ocorre em resposta às demandas nutricionais da planta (WATERER; VESSEY, 1993). Na presença de N-mineral tais demandas são reduzidas, não havendo o estímulo à nodulação (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

O desmódio apresentou diferença estatística no número de nódulos entre os seus tratamentos, sendo que o tratamento com nitrogênio mineral obteve, em média, duas vezes menos nódulos que a testemunha e o desmódio inoculado, os quais entre si não diferiram estatisticamente. Quando comparado com as outras espécies o desmódio obteve, em média, número de nódulos duas vezes maior que o calopogônio e quase três vezes mais que o cudzu (Tabela 5).

Patriarca et al. (2002) relatam que a adubação com fonte de NH_4^+ pode ativar sinais negativos junto as raízes inibindo a divisão celular cortical inicial para formação do nódulo em leguminosas. Além disso, o NH_4^+ inibe a deformação do pelo radicular, a qual é necessária para entrada do rizóbio na raiz e inativa o meristema apical dos nódulos já formados (Patriarca et al., 2002). Estes mesmos autores constataam que o NH_4^+ produzido dentro do nódulo pode ter um efeito positivo sobre a própria nodulação, porém quando esse íon é absorvido diretamente do solo pela leguminosa tem um efeito sistêmico negativo inibindo a formação dos nódulos. Isso parece ter ocorrido nos tratamentos com adubação nitrogenada (sulfato de amônio) do desmódio e cudzu tropical os quais apresentaram menores números de nódulos do que os tratamentos inoculados e as testemunhas. Esta redução conseqüentemente também se refletiu no peso seco desses nódulos.

Tabela 5: Número de nódulos (nº nod.) e peso seco dos nódulos (psnod) em leguminosas cultivadas em solo com diferentes fontes de nitrogênio (química e fixação biológica) aos 60 dias após emergência

| Espécies/tratamentos | nº nod. | psnod (g) |
|-----------------------------|----------------|------------------|
| Calopogônio | | |
| testemunha | 101 b | 0,05 b |
| inoculado | 84 b | 0,07 b |
| nitrogenado | 94 b | 0,05 b |
| Desmódio | | |
| testemunha | 278 a | 0,12 a |
| inoculado | 308 a | 0,11 ab |
| nitrogenado | 135 b | 0,04 b |
| Cudzu tropical | | |
| testemunha | 114 b | 0,29a |
| inoculado | 85b | 0,32 a |
| nitrogenado | 53 b | 0,10 b |

Médias seguidas da mesma letra, dentro da coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Analisando a correlação entre o número e o peso seco dos nódulos, o *Desmodium heterocarpon* subsp. *Ovalifolium* cv Itabela obteve um coeficiente de correlação linear positiva (r^2 0,79), assim como a *Pueraria phaseoloides* e o *Calopogonium mucunoides* que apresentaram correlação linear positiva com r^2 de 0,58 e 0,56 respectivamente.

Shockley et al. (2004) trabalhando com *Desmodium paniculatum*, obtiveram médias de nodulação bastante inferiores aos apresentados pelo *Desmodium heterocarpon* subsp. *Ovalifolium* (Prain). Além de doses elevadas de nitrogênio e teor de matéria orgânica, o grau de nodulação também pode variar com a espécie em questão (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

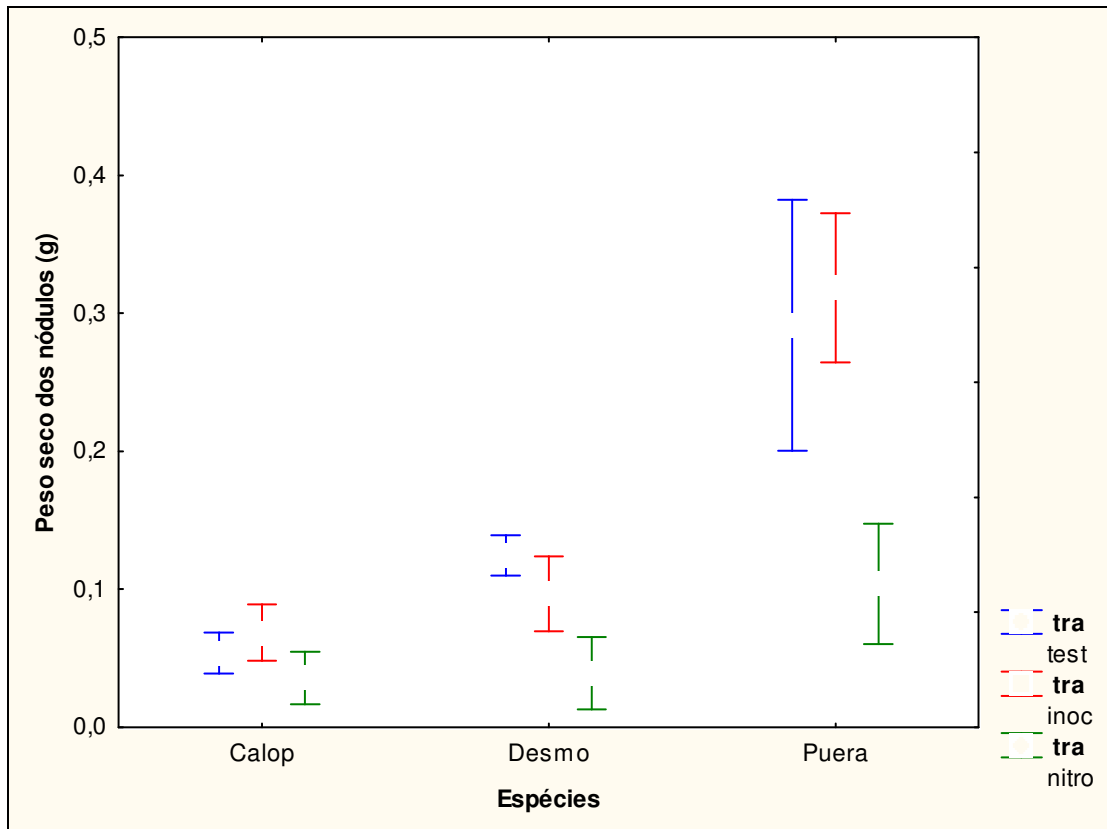


Figura 7. Média e desvio padrão do peso seco dos nódulos nos iguais tratamentos (test = testemunha, inoc = inoculada com rizóbios, nitro = adubada com nitrogênio) nas diferentes espécies de leguminosas (Calop = calopogônio, Desmo = desmódio, Puera = cudzu tropical).

O peso seco dos nódulos (Figura 7) é uma variável que também serve como parâmetro, assim como o número de nódulos, para avaliação da eficiência do rizóbio na nutrição nitrogenada da planta. O calopogônio foi a única espécie em que não houve diferença entre os tratamentos, diferindo do desmódio e do cudzu tropical, onde o peso seco dos nódulos foi menor nos tratamentos com nitrogênio (Figura 7).

4.3 Matéria seca da parte aérea (MSPA), diâmetro do colo e porcentagem de colonização micorrízica

Nos dois meses de cultivo, o desmódio e o calopogônio não apresentaram diferenças estatísticas entre seus respectivos tratamentos com relação à produção de biomassa da parte aérea (Tabela 6). No cudzu tropical, cuja produção de matéria seca da parte aérea foi maior que nas outras duas espécies, houve diferenças

estatísticas entre os tratamentos, sendo que as plantas adubadas com nitrogênio apresentaram menor biomassa na parte aérea do que as plantas inoculadas com rizóbio e do que as plantas testemunhas.

Tabela 6 - Média da produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) e teor de nitrogênio (N) nas diferentes espécies e tratamentos

| Espécies/tratamento | MSPA (g) | N (g.kg⁻¹) |
|----------------------------|-----------------|------------------------------|
| Calopogônio | | |
| Testemunha | 3,33 a | 32,55 a |
| Inoculado | 3,14 a | 33,98 a |
| Nitrogenado | 3,24 a | 29,58 a |
| Desmódio | | |
| Testemunha | 6,79 a | 25,08 a |
| Inoculado | 6,03 a | 22,44 ab |
| Nitrogenado | 6,81 a | 18,84 b |
| Cudzu tropical | | |
| Testemunha | 8,47 b | 35,23 a |
| Inoculado | 8,41 b | 33,53 a |
| Nitrogenado | 3,32 a | 30,10 a |

Médias seguidas das mesmas letras, dentro da coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) de probabilidade com desigualdade entre o número de repetições.

A produção de MSPA do desmódio foi aproximadamente cinco vezes maior do que àquela observada por Shockley et al., (2004) em *Desmodium paniculatum*. Plazas et al., (2001) publicaram acessos de *Desmodium ovalifolium* (incluindo o acesso utilizado nesse trabalho), *Arachis pintoii* e *Pueraria phaseoloides*, descrevendo o percentual de cobertura de solo por estas plantas em cultivo de seringueira de palmeiras, em diferentes épocas. O desmódio apresentou bom percentual de cobertura de solo, principalmente na época seca (Tabela 7).

Tabela 7 – Cobertura do solo(%) com diferentes leguminosas e formas de cultivo (com sombra e sem sombra) em plantações de seringueira e palmeira, dois anos depois da sementeira na Colombia

| Acesso (nº CIAT) | Savanas | | | | Montanhas | |
|--------------------------------|--------------------------------|----------|-------------|----------|----------------|-------------|
| | Plantação velha de seringueira | | | | Palmeira jovem | |
| | Época seca | | Época úmida | | Época seca | Época úmida |
| | C/sombra | S/sombra | S/sombra | C/sombra | | |
| <i>A .pintoi</i> 17434 | 20 | 15 | 50 | 47 | - | 35 |
| <i>A .pintoi</i> 18744 | 65 | 37 | 83 | 70 | - | 63 |
| <i>A. pintoi</i> 18748 | 32 | 23 | 75 | 68 | - | 47 |
| <i>D.ovalifolium</i> 350 | 90 | 93 | 30 | 83 | - | 68 |
| <i>D. ovalifolium</i> 13105 | 93 | 88 | 17 | 75 | - | 68 |
| <i>D. ovalifolium</i> 13651 | 87 | 90 | 43 | 95 | - | 87 |
| <i>P. phaseoloides</i> 9900 | 25 | 55 | 30 | 57 | - | 37 |

Fonte: Plazas et al., 2001 modificado.

O cudzu tropical apresentou maior biomassa da parte aérea nos tratamentos testemunha e com inoculação, quando comparados com o desmódio e o calopogônio (Figura 8).

A baixa quantidade de MSPA nas plantas de cudzu tropical adubadas com nitrogênio pode ser explicada pelo fato de algumas espécies de leguminosas segundo Melloni et al. (2006) não tolerarem doses de nitrogênio em torno da que foi aplicada (100 mg.dm⁻³de N) juntamente com o alto teor de matéria orgânica (61 g.dm⁻³) encontrado no Latossolo do presente estudo.

As plantas inoculadas e testemunhas do cudzu tropical apresentaram maior produção de biomassa aérea quando comparadas com as do desmódio e do calopogônio. Num estudo de decomposição e liberação de nutrientes acumulados em leguminosas herbáceas sem adubação com nitrogênio mineral, Espindola et al., (2006) relataram que o cudzu tropical apresentou maior produção de matéria seca, superando as espécies *Arachis pintoi* Krap. & Gregg. (amendoim forrageiro) e *Macroptilium atropurpureum* (OC.) Urb. (siratro).

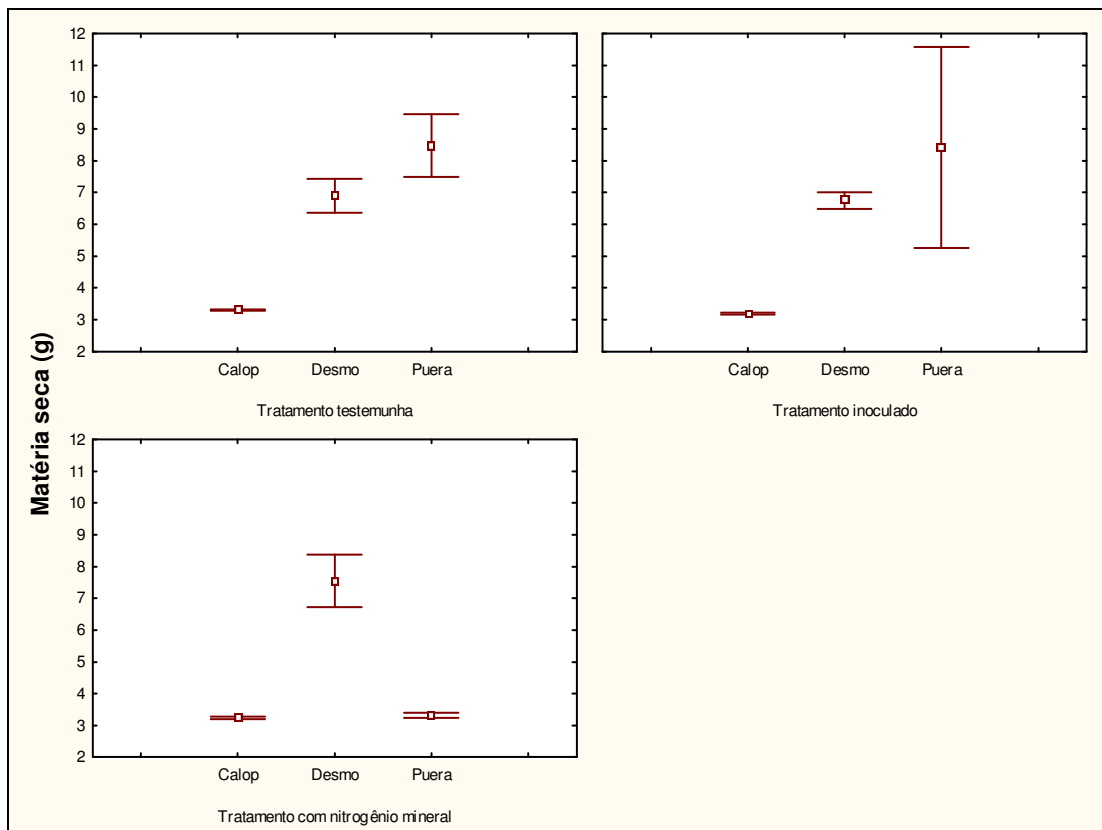


Figura 8. Média e desvio padrão da MSPA das leguminosas forrageiras (Calop = calopogônio, Desmo = desmódio, Puera = cudzu tropical) nos diferentes tratamentos.

Para a variável diâmetro do colo, os tratamentos dentro de cada espécie não diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (Figura 9), exceto para o cudzu tropical que obteve médias diferentes entre os tratamentos com adubação nitrogenada (3,6 mm) e testemunha (4,8 mm). Esta variável é um parâmetro utilizado para acompanhamento do desenvolvimento da planta, porém no presente trabalho foi realizada apenas uma análise pontual ao final dos 60 dias do experimento. O colo da espécie cudzu tropical no tratamento com fertilizante nitrogenado apresentou menor diâmetro médio do que no tratamento inoculado e na testemunha. Somando esse resultado aos baixos valores observados para MSPA, número de nódulos e peso seco dos nódulos, forma-se um conjunto de evidências que denotam a incompatibilidade do cudzu tropical com a dose de nitrogênio aplicada.

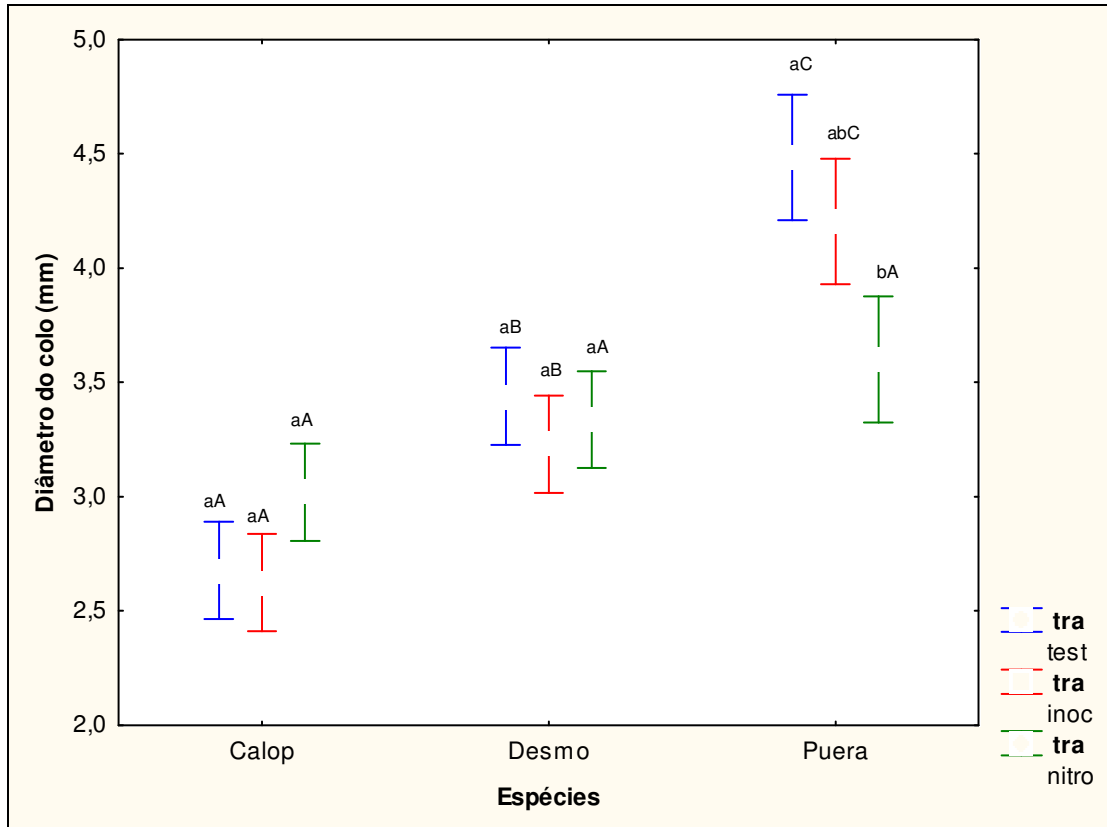


Figura 9. Média e desvio padrão do diâmetro do colo das plantas (Calop = calopogônio, Desmo = desmódio, Puera = cudzu tropical) nos diferentes tratamentos (test = testemunha, inoc = inoculada com rizóbios, nitro = adubada com nitrogênio). Acima das barras, letras minúsculas iguais, dentro da mesma espécie, e letras maiúsculas iguais, dentro dos tratamentos, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A porcentagem de colonização micorrízica não ultrapassou a média de 17 % em nenhuma das espécies estudadas (Figura 10). Tal resultado é muito provavelmente explicado pela alta dose de P utilizada no experimento. Diversos estudos comprovam que doses elevadas de fósforo inibem a colonização dos fungos micorrízicos arbusculares, pois uma vez que a planta encontra-se bem nutrida deste elemento não há sinalização para iniciar tal colonização (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Os valores médios para a taxa de colonização micorrízica também não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos e entre as espécies.

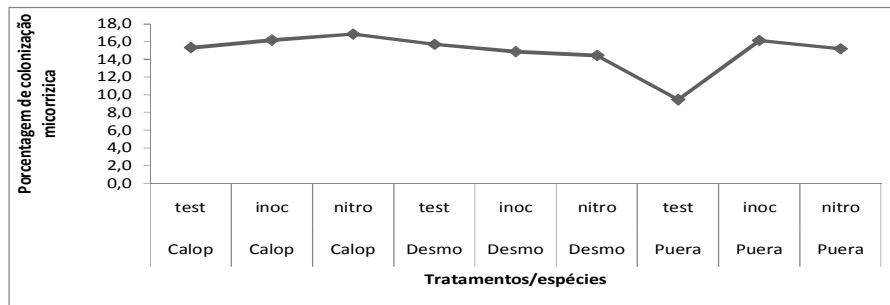


Figura 10 – Taxa de colonização micorrízica nas raízes das plantas dos diferentes tratamentos (test = testemunha, inoc = inoculada com rizóbio, nitro = adubada com nitrogênio) nas diferentes espécies (Calop = calopogônio, Desmo = demódio, Puera = cudzu tropical).

4.4 Teor de nutrientes da parte aérea e porcentagem de proteína bruta

Não houve toxidez nem deficiência de nenhum dos nutrientes analisados (segundo NOVAIS et al., 2007), com exceção do boro (média de 60,55 mg.kg⁻¹). A ausência de sintomas de deficiência juntamente com análise do tecido foliar do desmódio, calopogônio e cudzu tropical indicaram que tanto os rizóbios nativos, uma vez que o solo não foi esterilizado, quanto os inoculados suprimam a necessidade de N às plantas. As três espécies cujos tratamentos foram adubados com nitrogênio apresentaram menor teor deste elemento na parte aérea quando comparadas com a testemunha e o tratamento inoculado com rizóbios (Tabela 8).

Nos testes de média para o teor de nitrogênio e manganês do desmódio e para o teor de manganês do cudzu tropical houve diferenças estatísticas significativas (Tabela 8).

Estudos realizados por Perin et al. (2004) relatam que o cudzu tropical apresentou melhor produção de matéria seca e maiores acúmulos de N e K numa densidade de 10 plantas m⁻² e um espaçamento de 25 cm entre fileiras, sendo avaliado 5 meses após o plantio obtendo uma média de 25,97 g.kg⁻¹ de N e 9,16 g.kg⁻¹ de K. No presente experimento os valores de N e K para o cudzu tropical foram superiores (Tabela 8) aos encontrados por Perin et al. (2004), salientando que a avaliação foi realizada aos 2 meses de cultivo em vasos e que doses diferentes de fertilizantes e nutrientes minerais foram utilizadas. Esses resultados reforçam a afirmação de que essa leguminosa devidamente adubada pode apresentar doses adequadas de nutrientes em sua biomassa sendo potencial fonte nutricional para a alimentação de ruminantes.

No estudo realizado por Perin et al., (2004) o cudzu tropical se mostrou superior a *Galactia striata* quanto ao acúmulo de nitrogênio da parte aérea, fator importante do ponto de vista de valor nutricional da pastagem, pois quanto maior o conteúdo de N maior a porcentagem de proteína bruta. Espindola (2001) verificou que 86 % do N presente no tecido vegetal do cudzu tropical foi derivado do processo de fixação biológica de N₂ (FBN). Essa leguminosa também confere maior agregação ao solo (Perin et al., 2002a) e atenua as oscilações térmicas e hídricas do solo.

Tabela 8 - Teor de macro e micronutrientes da parte aérea de calopogônio, desmódio e cudzu tropical das plantas testemunha e submetidas à inoculação com rizóbios e à adubação com nitrogênio

| Espécies/Tra- tamentos | N | P | K | Ca | Mg | S | B | Cu | Fe | Mn | Zn |
|---------------------------|---------|-------|--------|--------|-------|-------|--------|---------|----------|---------|--------|
| | | | | | | | | | | | |
| Calopogônio | | | | | | | | | | | |
| Testemunha | 32,55a | 2,86a | 25,68a | 8,86a | 1,59a | 1,74a | 60,80a | 7,38a | 603,22a | 33,69a | 29,03a |
| Inoculado | 33,97a | 2,92a | 27,05a | 9,31a | 1,67a | 1,60a | 61,78a | 6,51a | 615,50a | 29,04a | 32,49a |
| Nitrogenado | 29,58a | 2,99a | 23,74a | 10,46a | 2,30a | 1,84a | 67,91a | 5,21a | 1063,50a | 58,92b | 31,62a |
| Desmódio | | | | | | | | | | | |
| Testemunha | 25,08a | 2,53a | 18,64a | 10,20a | 2,10a | 1,71a | 54,50a | 7,94a | 219,46a | 38,65a | 28,67a |
| Inoculado | 22,44ab | 2,60a | 19,20a | 9,94a | 1,96a | 1,69a | 57,00a | 7,56a | 199,21a | 31,81a | 28,67a |
| Nitrogenado | 18,84b | 2,27a | 19,10a | 10,43a | 2,64a | 1,79a | 58,22a | 6,01a | 299,21a | 64,08b | 27,22a |
| Cudzu | | | | | | | | | | | |
| Testemunha | 35,23a | 2,88a | 20,10a | 8,61a | 2,70a | 1,63a | 62,65a | 10,31ab | 458,33a | 53,61a | 39,68a |
| Inoculado | 33,53a | 2,79a | 26,18a | 7,68a | 2,28a | 1,62a | 61,94a | 10,97b | 651,67a | 68,83a | 33,42a |
| Nitrogenado | 30,10a | 2,78a | 22,82a | 8,51a | 2,63a | 1,45a | 62,17a | 7,47a | 730,00a | 146,23b | 35,92a |

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), com desigualdade entre o número de repetições. Metodologia para análises: P: colorimetria (método metavanadato de amônio); S: colorimetria (turbidimetria do sulfato de bário); K, Ca e Mg: espectrofotometria de absorção atômica; Cu, Fe, Mn e Zn: espectrofotometria de absorção atômica; Digestão Sulfúrica para N-total; B: colorimetria (método Azometina H).

A calagem realizada no início do experimento pode ter auxiliado na absorção de N pelas plantas de desmódio, calopogônio e cudzu tropical e na melhoria da fixação simbiótica do N₂ em decorrência da formação de maior número de nódulos. Isso foi sugerido por Caires e Rosolem (2000) que relataram a influência da calagem no aumento da absorção de nitrogênio pelo amendoim forrageiro.

Tabela 9 – Características químicas do solo após a correção (AC), adubação (AA) e retirada das plantas (AR)

| Amostra identificação | pH CaCl ₂ | MO g dm ⁻³ | P mg dm ⁻³ | S | K | Ca | Mg | Al | H+Al | SB | T | V m % | B | Cu | Fe | Mn | Zn | |
|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-----|------|-----|-----|-----|------|------|-------|----------|---|------|-----|-----|-----|-----|
| AC e AA | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Solo adubado com N | 5 | 37 | 260 | 127 | 0,6 | 5,5 | 2,2 | 0 | 3,8 | 8,3 | 12,1 | 69 | 0 | 0,27 | 1,7 | 93 | 5,6 | 3,7 |
| Solo adubado sem N | 5,4 | 40 | 238 | 49 | 0,86 | 5,5 | 2,6 | 0 | 3,1 | 8,96 | 12,06 | 74 | 0 | 0,65 | 2,9 | 113 | 8,3 | 7 |
| AR | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Calopogônio | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Testemunha | 5,1 | 34 | 130 | 61 | 0,52 | 5,6 | 2,3 | 0 | 3,1 | 8,42 | 11,52 | 73 | 0 | 0,12 | 2,2 | 96 | 4,7 | 4,7 |
| Nitrogenado | 4,8 | 37 | 131 | 139 | 0,52 | 5,5 | 2,2 | 0,1 | 4,2 | 8,22 | 12,42 | 66 | 1 | 0,29 | 2,1 | 93 | 4 | 5,4 |
| Inoculado | 5,1 | 38 | 126 | 62 | 0,52 | 5,3 | 1,9 | 0 | 3,1 | 7,75 | 10,85 | 71 | 0 | 0,29 | 2,2 | 95 | 4,5 | 4,9 |
| Desmódio | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Testemunha | 5,1 | 63 | 168 | 55 | 0,61 | 4,8 | 2,8 | 0 | 2,8 | 8,21 | 12,01 | 68 | 0 | 0,86 | 1,8 | 58 | 5,9 | 4,8 |
| Nitrogenado | 4,9 | 60 | 132 | 116 | 0,58 | 4,0 | 2,4 | 1 | 6,2 | 6,98 | 12,18 | 57 | 1 | 0,68 | 1,7 | 56 | 4,5 | 4,3 |
| Inoculado | 5,1 | 58 | 143 | 39 | 0,56 | 4,1 | 2,5 | 0 | 3,2 | 7,16 | 11,36 | 63 | 0 | 0,64 | 1,7 | 59 | 4,9 | 4,2 |
| Cudzu | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Testemunha | 5,0 | 63 | 144 | 52 | 0,45 | 5,0 | 3,0 | 0 | 3,2 | 8,45 | 12,65 | 67 | 0 | 0,78 | 1,6 | 65 | 4,4 | 4,3 |
| Nitrogenado | 4,9 | 61 | 165 | 121 | 0,60 | 4,1 | 2,4 | 1 | 5,2 | 7,10 | 11,30 | 63 | 1 | 0,82 | 1,6 | 72 | 6,6 | 4,7 |
| Inoculado | 5,4 | 57 | 165 | 37 | 0,43 | 4,1 | 2,5 | 0 | 2,1 | 7,03 | 10,13 | 69 | 0 | 0,70 | 1,8 | 70 | 5,5 | 4,1 |

Para proteína bruta (P.B.), com base na matéria seca, foi verificado efeito significativo ($p \leq 0,05$) somente entre os tratamentos testemunha e com nitrogênio mineral da espécie *Desmodium heterocarpon* (Tabela 10).

Nos sistemas de produção de bovinos, as contribuições das leguminosas podem se dar no âmbito da produção e do consumo de forragem, bem como a utilização ou conversão dessa forragem em proteína animal, ou seja, abrangendo todo o sistema solo-planta-animal. A porcentagem de proteína bruta foi maior nas espécies calopogônio e cudzu tropical, sendo menor no desmódio. No entanto, o tratamento com inoculação e a testemunha do desmódio apresentaram porcentagens de P.B. semelhantes aos encontrados por Pereira et al. (1995) para o desmódio em campo.

Paciullo et al. (2003) realizaram um trabalho de avaliação de características produtivas e qualitativas de pastagem de braquiária em monocultivo e consorciada com estilosantes e constataram que a leguminosa contribui no aumento da quantidade e na melhoria da qualidade da forragem disponível na pastagem, principalmente nos períodos secos. No mesmo estudo os autores relatam que o teor de proteína bruta da leguminosa variou entre 16,3% e 12% no período chuvoso e seco respectivamente. Na época da seca, o teor de proteína bruta (P.B.) das gramíneas situa-se bem abaixo do valor crítico para o crescimento dos

microrganismos do rúmen (6-8% de P.B. na matéria seca). O consórcio de leguminosas com gramíneas reduz esse déficit de proteína na forragem, e conseqüentemente o déficit energético do animal, uma vez que as leguminosas têm uma menor amplitude no teor de nutrientes, principalmente o nitrogênio, ao longo do ano. O consórcio gramínea - leguminosa pode, dentre outras vantagens, prolongar a vida útil da pastagem, postergando o declínio na nutrição e produtividade animal.

Tabela 10 - Média da porcentagem de proteína bruta (PB), com base na matéria seca (MS) e teor de nitrogênio (N) para cada espécie nos diferentes tratamentos

| Tratamentos/espécies | PB (%) | N (g.kg ⁻¹) |
|----------------------|----------|-------------------------|
| Calopogônio | | |
| Test | 20,34 a | 32,55 a |
| Inoc | 21,23 a | 33,98 a |
| Nitro | 18,48 a | 29,58 a |
| Desmódio | | |
| Test | 15,68 b | 25,08 b |
| Inoc | 14,02 ab | 22,44 ab |
| Nitro | 11,77 a | 18,84 a |
| Cudzu Tropical | | |
| Test | 22,02 a | 35,23 a |
| Inoc | 20,95 a | 33,53 a |
| Nitro | 18,81 a | 30,10 a |

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), com desigualdade entre o número de repetições.

A análise de variância mostrou que houve diferenças estatísticas com relação a porcentagem de proteína bruta (P.B.) entre os mesmos tratamentos nas diferentes espécies de leguminosas estudadas (Figura 11), porém o presente estudo demonstrou valores consideráveis para o teor de P.B. na parte aérea do desmódio, calopogônio e cudzu tropical, indicando o potencial dessas leguminosas, quando bem nutridas, para melhoria das pastagens.

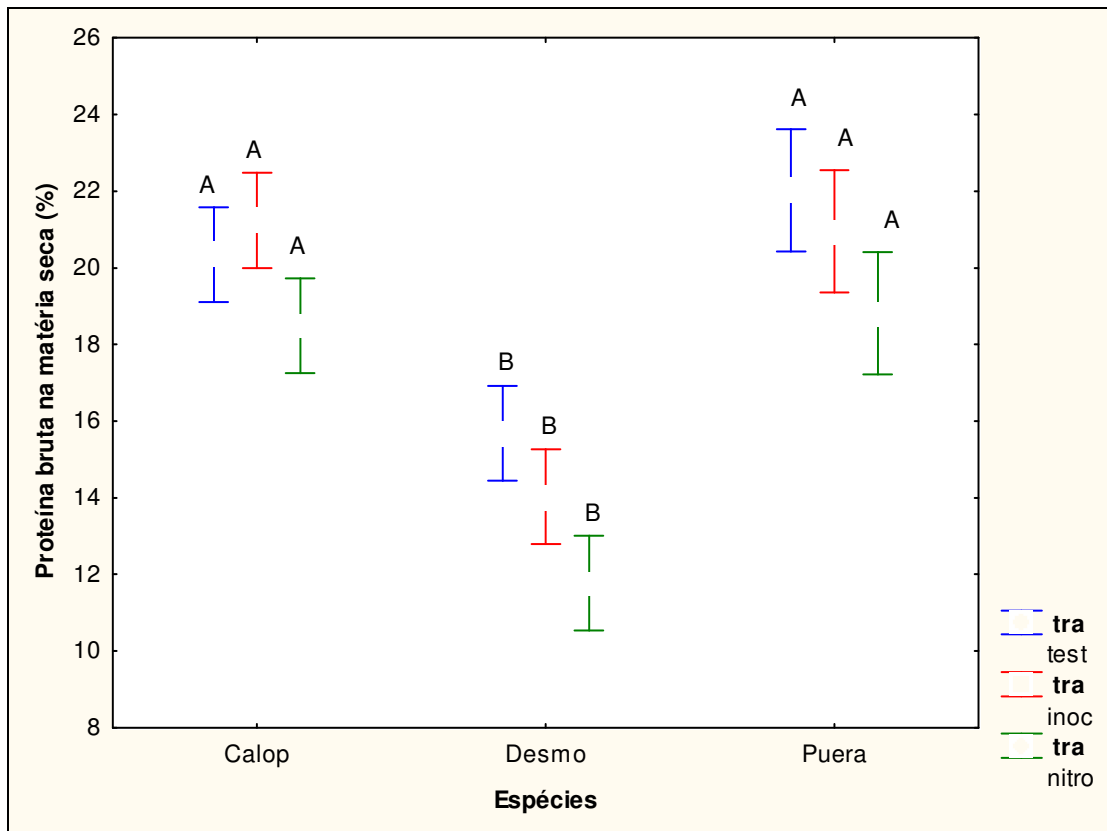


Figura 11. Média de proteína bruta por planta nos diferentes tratamentos (test = testemunha, inoc = inoculada com rizóbios, nitro = adubada com nitrogênio) nas diferentes espécies de leguminosas (Calop = calopogônio, Desmo = desmódio, Puera = cudzu tropical). Letras iguais acima da barra, dentro de cada tratamento, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5 % com desigualdade entre o número de repetições.

5 CONCLUSÕES

A partir desse estudo com leguminosas herbáceas forrageiras tropicais foram obtidas algumas informações sobre o comportamento nutricional e o crescimento das espécies, *Desmodium heterocarpon* subsp. *ovalifolium* cv. Itabela (desmódio), *Calopogonium mucunoides* Desv. (calopogônio) e *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth. (cudzu tropical), no período de 8 semanas, utilizando um solo representativo da região sul baiana. Algumas conclusões sobre os resultados do presente estudo são:

- Os rizóbios inoculados e os nativos do solo foram eficientes na fixação do N atmosférico e suprimento de amônia para as leguminosas hospedeiras, as quais produziram percentual de matéria seca semelhante ou superior ao tratamento com nitrogênio mineral durante o período de crescimento avaliado.
- Os tratamentos adubados com nitrogênio mineral apresentaram tendência a redução no teor de N, assim como no percentual de proteína bruta, da parte aérea, principalmente no desmódio.
- Dentre as espécies estudadas o cudzu tropical foi a que apresentou menor produção de matéria seca da parte aérea no tratamento com nitrogênio mineral, indicando uma incompatibilidade na relação produção de biomassa desta espécie com a dose aplicada de N.
- A correção do solo juntamente com a adubação de base foram primordiais para o crescimento e desenvolvimento das leguminosas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. The effect of VA mycorrhizae on plant growth. In: POWELL, C.L.; BAGYARAJ, D.J. (Eds) **VA Mycorrhizae**. London: CRC Press, 1984. p.113 -130.

ANGHINONI, I. Adubação nitrogenada nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. In: SANTANA, M.B.M. **Adubação nitrogenada no Brasil**. Ilhéus: CEPLAC/SBSC, p.1-18, 1986.

ANDRADE, M.V.M. et al. Fenologia da maniçoba (*Manihot pseudoglaziovii*) em função do sistema de manejo do solo e densidade de plantio. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2004. Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: SBZ, v. 41, p.369, 2004.

ALTIERI, M. **Agroecologia: a dinâmica produtiva da agricultura sustentável**. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, 110p. 1998.

ÁZCON, G. A.; BAREA, J.M. Micorrizas. **Investigacion y Ciência**. v. 47, p. 8 -16, 1980.

BAREA, J.M.; AZCÓN, R.; AZCÓN AGUILAR, C. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in nitrogen fixing systems. In: NORRIS, J. R.; READ, D. J.; VARMA, A. K. (Eds.). **Methods in microbiology: Techniques for the study of Mycorrhizae**. London: Academic Press, v.24, p. 391- 416. 1992.

BARRIGA, J.P. **Auto-ecologia de *Stylosanthes humilis* HBS: avaliação da viabilidade morfológica e estudos da biologia da semente**. 1979. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 1979.

BONETTI, R. Efeito de micorrizas vesicular-arbusculares na nodulação, crescimento e absorção de fósforo e nitrogênio em siratro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.8, p.189-92. 1984.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 365p. 1992.

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p 365-372, 2000.

CAIRES, E.F.; ROSOLEM, C.A. Efeitos da calagem, cobalto e molibdênio sobre a concentração de clorofila nas folhas de amendoim. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.23, p.79-84, 1999.

CAIRES, E. F.; ROSOLEM, C. A. Nodulation and nitrogen uptake by peanut as affected by lime, cobalt, and molybdenum. **Scientia agricola**.Piracicaba, v. 57, n. 2, 2000.

Convenio MADR-CIAT. 2001. Proyecto Gramineas y leguminosas tropicales, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. (manuscrito). **Informe anual de atividades**. 2000.

COOPER, K. M. Physiology of VA mycorrhizal associations. In: POWELL, C. L.; BAGYARAJ, D. J. - **VA micorriza**. Boca Raton. CRC Press,p. 155-80. 1984.

CARVALHO, M. M de. Melhoramento da produtividade das pastagens através da adubação. **Informe Agropecuário**, v.11, p.23-32. 1985.

COSTA, N. de L.; PAULINO, V.T.; RODRIGUES, A.N.A. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal and phosphate fertilization on growth, nodulation and nitrogen and phosphorus uptake of pigeonpea. **Nitrogen Fixing Tree Research Reports**, v.8, p. 123-125. 1990.

CRAWFORD, N.M. Nitrate: nutrient and signal for plant growth. **The Plant Cell**, Rockville, v.7, p.859-868, 1995.

CRUSH, J.R.. Plant growth responses to vesicular arbuscular mycorrhizal. VII. Growth and nodulation of some herbage legumes. **New Pythology**, v.73, p.743-749, 1974.

EADY, R. R.; POSTGATE, J. R. Nitrogenase. **Nature**, v.249, p.805-810, jun. 1974.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 2. ed. rev. atual. Rio de Janeiro, 212 p. 1997.

EMBRAPA. Assessoria de Comunicação Social. **Boletim eletrônico**, nº 009/2008.

ESPINDOLA, J. A. A. **Avaliação de leguminosas herbáceas perenes usadas como cobertura viva de solo e seus efeitos sobre a produção da bananeira (*Musa spp.*)**. Seropédica, Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 144p. 2001.

ESPINDOLA, J. A. A. et al. Bananeiras consorciadas com leguminosas herbáceas perenes utilizadas como coberturas vivas. **Pesquisa agropecuária brasileira**. Brasília, v.41, n.3, p.415-420, mar. 2006.

ESPTAIN, E; BLOOM, A.J. **Mineral nutrition of plants**: principles and perspectives. Sunderland, Sinauer Associates, 2.ed, p. 308. 2005.

FRANKE, L. B; BASEGGIO J. Superação da dormência de sementes de *Desmodium incanum* dc. e *Lathyrus nervosus* lam. **Revista Brasileira de Sementes**. v. 20, n. 2, p.182-186, 1998.

FRED, E.B.; WAKSMAN, S.A. Yeast Extract – Manitol Agar Laboratory Manual of General Microbiology. **New York**: McGraw Hill, 145 p, 1928.

GLIESSMAN, S. R. **Agroecologia**: processos ecológicos em agricultura sustentável. Porto Alegre: Editora da Universidade – UFRGS, 2000.

GIOVANNETTI, M; MOSSE B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*. 84: 489-500, 1980.

HARLEY, J.L.; SMITH, S.E. Micorrhizal symbiosis. Londres: **Academic Press**, v .1. p-157, 1983.

HARPER, J.E. Nitrogen metabolism. In: BOOTE, K.J. et al. **Physiology and determination of crop yield**. Madison: ASA/CSSA/SSSA, Chapt.11A. p.285-302, 1994.

KIM, J.; REES, D. C. Nitrogenase and biological nitrogen fixation. **Biochemistry** v. 33. 389-397, 1994.

KING, B.J. et al. Feedback regulation of nitrate influx in barley roots by nitrate, nitrite, and ammonium. **Plant Physiology**, Lancaster, v.102, p.1279-1286, 1993.

JORGE, S. D.; QUEIROZ A.CÉSAR. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológico**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2002. 235p.

LARSSON, C.M.; INGEMARSSON, B. Molecular aspects of nitrate uptake in higher plants. In: WRAY, J.L., KINGHORN, J.R. **Molecular and genetics aspects of nitrate assimilation**. Oxford : Oxford Science, Chapt.1. p.3-14. 1989.

LOPES, E. S.; SIQUEIRA, J.O.; ZAMBOLIN, L. Caracterização das micorrizas vesicular-arbusculares (MVA) e seus efeitos no crescimento das plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.7, p.1-19, 1983.

MAGUIRE, J.D.. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MALAVOLTA, E. et al. Calcium problems in Latin America. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.10, p. 29-40. 1979.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; DE OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: princípios e aplicações**. POTAFOS. 201p, 1989.

MALDONADO, H. et al. Produção de pastagens associadas sob três taxas de lotação. **Pasturas Tropicais**. v.17, p. 23-26. 1995.

MARONEK, D.M.; HENDRIX, J.W.; KIEMAN, J. Mycorrhizal fungi and their importance in horticultural crop production. **Hortic. Rev.** v.3, p.172-213. 1981.

MARTINS, D. et al. **Superação da dormência de sementes de carrapicho-beiço-de-boi**. Planta Daninha, v. 15. p. 104-113 1997.

MATTOS, H.B. **Características agrônômicas de algumas leguminosas forrageiras de clima tropical**. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Mimeografado, Piracicaba, p.18. 1972.

MELLONI, R. et al. O. Eficiência e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas que nodulam caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)

em solos de mineração de bauxita em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n. 30, p. 235-246, 2006.

MIFLIN, B.J., LEA, P.J. The pathway of nitrogen assimilation in plants. **Phytochemistry**, New York, v.15, p.873-885, 1976.

MILLER, A.J.; CRAMER, M.D. Root nitrogen acquisition and assimilation. **Plant and soil**, v. 274, p.1-36, 2004.

MONTEIRO, E.M. da. S. **Resposta de leguminosas arbóreas à inoculação com rizóbio e fungos micorrízicos em solo ácido**. Itaguaí: UFRRJ, p.221, (Tese de Doutorado). 1990.

MONTEIRO, F.A. Nutrição mineral da Centrosema, Centrosema pubescens Benth. **Zootecnia**, Nova Odessa, SP, v.15,p.37-56, 1977.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2.ed. atual. e ampl. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MOREIRA, L. de M. et al . Renovação de pastagem degradada de capim-gordura com a introdução de forrageiras tropicais adubadas com nitrogênio ou em consórcios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 2, 2005.

MOSSE, B. Role of mycorrhizal in legume nutrition. In: EXPLOITING THE LEGUME-Rhizobium SYMBIOSIS IN TROPICAL AGRICULTURE, VICENT, J. M.; WHITNEY, A. S.; BOSE, J. (eds.).1999. **Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the development of two leguminous trees**. Ciência Florestal, Santa Maria, v.9, n.1, p. 63 – 70, 1976.

MUHR, L. et al. Soil mineral N dynamics and maize grain yields following *Centrosema macrocarpum* and *Stylosanthes guianensis*: effects of different rotations and varying levels of N fertiliser. **Field Crops Research**, v.78, p. 197-209. 2002.

NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F. de et al. **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1017 p. 2007.

OLIVEIRA, S. R. Alguns aspectos sobre as exigências nutricionais de animais a pasto. **Viçosa-MG**. 1997. Disponível em <http://www.forragicultura.com.br/arquivos/EXIGENCIASNUTRICIONAISANIMAISPASTO.PDF>. Acesso em: 06 mar. 2006.

OVERLAND, L. The role of allelopathic substances in the smother crop. **American Journal of Botany**, Columbus. v. 53, p. 423-432. 1966.

PACIULLO, D.S.C. et al. Características produtivas e qualitativas de pastagem de braquiária em monocultivo e consorciada com estilosantes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 3, 2003.

PATRIARCA, E. J.; TATE, R.; IACCARINO, M. Key Role of Bacterial NH_4^+ Metabolism in Rhizobium-Plant Symbiosis. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, vol. 66, n. 2, p. 203-222, June 2002.

PEREIRA, J. M. et al. Crescimento e produtividade estacional de germoplasma forrageiro. In: Ceplac/Cepec (ed.) Ilhéus: Ceplac, p. 307-309. **Informe de Pesquisa** – 1995.

PEREIRA, J.M.; Leguminosas forrageiras em sistemas de produção de ruminantes? Onde estamos? Para onde vamos? In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, p. 109 -147. 2002.

PERIN, A. **Desempenho de leguminosas herbáceas perenes com potencial de utilização para cobertura viva e seus efeitos sobre alguns atributos físicos do solo**. Seropédica, dissertação (Mestrado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 105p. 2001.

PERIN, A. et al. Efeito da cobertura viva com leguminosas herbáceas perenes na agregação de um Argissolo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, p.713-720, 2002a.

PERIN, A. et al. Contribuição da cobertura viva de solo com leguminosas herbáceas perenes. In: 2º ciclo de bananeiras cultivar nanicão. Seropédica, EMBRAPA - Agrobiologia, (**Comunicado Técnico, 53**). p.6, 2002b.

PERIN, A. et al. Cobertura do solo e estoque de nutrientes de duas leguminosas perenes, considerando espaçamentos e densidades de plantio. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 28, p. 207-213, 2004.

PIZZARRO, E. A.; RAMOS, A. K.; CARVALHO, M. A. Potencial forrageiro y producción de semillas de accesiones de *Calopogonium mucunoides* preseleccionadas en el Cerrado brasileño. **Pasturas Tropicales**. v.18, p. 9-13. 1996.

PLAZAS, C. et al. Evaluation of legumes as covers for plantations in the Llanos of Colombia. **CIAT annual report project IP-5**. Centro internacional de agricultura tropical (CIAT), Cali, Colombia. p. 163-165, 2001.

ROSOLEM, C.A.; CAIRES, E.F. Yield and nitrogen uptake of peanuts as affected by lime, cobalt and molybdenum. **Journal of Plant Nutrition**, v.21, p.827-835, 1998.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant physiology**. Belmont, Wadsworth Publ. Co, 682 p. 1991.

SHOCKLEY, F.W.; MCGRAW, R.L.; GARRETT, H.E. Growth and nutrient concentration of two native forage legumes inoculated with *Rhizobium* and Mycorrhiza in Missouri, USA. **Agroforestry Systems**, v. 60, p. 137–142, 2004.

SIVAPRASAD, P.; HEDGE, S.V.; RAI, PV. Effect of Rhizobium and mycorrhiza inoculation on growth of Leucaena. **Leucaena Research Report**. Taipei. v.4, p. 42, 1983.

SMITH, S.E.; READ, D.J. Mycorrhizal Symbiosis. 2 ed. **Academic Press**, London. 1997.

SOUZA, S.O.; SANTANA, J. **Comportamento de gramíneas forrageiras tropicais isoladas e em associação com leguminosas na região norte-fluminense**.

Disponível em: http://www.editora.ufla.br/revista/suple_2002/art24.htm Acesso em: 09 mar. 2006.

SPRENT, J. I. Nodulation in legumes. **Royal Botanical Garden**, Kew. 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 719 p. 2004.

TRINDADE, A.V.; DIAS, A.C de P.; JUCKSCH, I. Efeito de resíduos urbanos e de fungos micorrízicos arbusculares no crescimento de capim-gordura *Melinis minutiflora* e cedro *Cedrela fissilis* em rejeito de mineração. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 21, p.575-582, 1977.

USDA, ARS, National Genetic Resources Program. **Germplasm Resources Information Network** – (GRIN). Disponível em <<http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?13638>>. Acesso em 08 set. de 2008.

VOLPE, E. et al. Renovação de pastagem degradada com calagem, adubação e leguminosa consorciada em Neossolo Quartzarênico. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 1, p. 131-138, 2008.

ZAR, JERROLD H. **Biostatistical analysis**. New Jersey, Prentice-Hall, 4th ed. 1999.

WATERER, J.G.; VESSEY, J.K. Effect of low static nitrate concentrations on mineral nitrogen uptake, nodulation, and nitrogen fixation in field pea. **Journal of Plant Nutrition**, v.16, p.1775-1789, 1993.

WERNER, J. C.; MATTOS, H. B. Estudos de nutrição de centrosema (*Centrosema pubescens Benth.*). **Boletim da Indústria Animal**, Nova Odessa, v.29, p. 375-391, 1972.