



UDESC

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
CURSO DE MESTRADO EM MANEJO DO SOLO**

ANTONIO LUIZ TRAMONTIN

**EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE
NITROGÊNIO EM LOTUS SERRANO E ADESMIA**

**LAGES – SC
2013**



UDESC

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
CURSO DE MESTRADO EM MANEJO DO SOLO**

ANTONIO LUIZ TRAMONTIN

**EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE
NITROGÊNIO EM LOTUS SERRANO E ADESMIA**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Orientador: Prof. Dr. Julio Cesar Pires Santos

**LAGES – SC
2013**

ANTONIO LUIZ TRAMONTIN

**EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE
NITROGÊNIO EM LOTUS SERRANO E ADESMIA**

**Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em
Manejo do Solo da Universidade do Estado de Santa Catarina,
como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em
Ciência do Solo.**

Banca Examinadora:

Orientador:

**Dr. Júlio Cesar Pires Santos
UDESC**

Co-orientador:

**Dr. Romano Roberto Valischeski
IFC - Rio do Sul**

Membro:

**Dr. Murilo Dalla Costa
EPAGRI – Biotecnologia**

Membro:

**Dr. Luis Carlos Iuñes de Oliveira Filho
UDESC**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida.

Ao orientador Prof. Dr. Julio Cesar Pires Santos pela orientação e companheirismo, bem como pelos ensinamentos repassados.

Ao coorientador Dr. Romano Roberto Valicheski, pela co-orientação e conhecimentos repassados.

A EPAGRI por ceder os espaços físicos para a realização do experimento em especial ao Dr. Murilo Dalla Costa, pela prestatividade na realização dos experimentos

A Universidade do Estado de Santa Catarina, pela oportunidade da realização do curso de Mestrado.

Ao IFC (Instituto Federal Catarinense Campus Rio do Sul), pela liberação para realização do curso de mestrado.

Aos colegas de laboratório, que me auxiliaram na instalação dos experimentos em casa de vegetação, no experimento realizado a campo bem como nas análises laboratoriais.

Aos meus pais Aldori e Lourdes (*in memorian*), por acreditar em minha capacidade e pelo apoio recebido.

Aos meus irmãos, por sempre me incentivarem a seguir com perseverança nos estudos.

A minha esposa Alexsânia pelo companheirismo e paciência durante a realização do curso.

A professora Elena pelo auxílio e pelas sugestões na realização do mestrado.

RESUMO

TRAMONTIN, Antonio Luiz. **Eficiência Agronômica da Fixação Biológica de Nitrogênio em Lótus Serrano e Adesmia**. 2013. 42 p. Dissertação (Mestrado em Manejo do Solo - Área: Biologia do solo) - Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Lages, 2013.

O arroz está entre os cereais mais consumidos do mundo. O Brasil é o nono maior produtor mundial e colheu 11,26 milhões de toneladas na safra 2009/2010. Em Santa Catarina o arroz irrigado é cultivado no sistema pré- germinado e, atualmente, a cultura vem sendo prejudicada pela infestação do nematóide nas áreas de plantio e pelo baixo preço pago aos produtores. Este fator tem feito com que muitos produtores abandonem suas áreas, tornando-as improdutivas, uma vez que a cultura do arroz irrigado é muito específica em relação ao manejo. Uma alternativa viável é a utilização dessas áreas para pastagem, porém, há pouco estudo sobre plantas forrageiras que se adaptem bem a solos alagados. Com esse enfoque, esse trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência agronômica da fixação biológica de nitrogênio em lótu serrano e adesmia, inoculadas com diferentes estirpes de rizóbios, bem como selecionar as extirpes mais promissoras para estas plantas forrageiras em condições de solos úmidos. Para isso conduziu-se dois experimentos em casa de vegetação e um a campo. Os experimentos em condição de casa de vegetação foram conduzidos na estação experimental da EPAGRI de Lages - SC. Em ambos os experimentos, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. Cada unidade experimental (vaso com 5L de volume) foi preenchida com uma mistura de solo + vermiculita, na proporção de 4:1, sem esterilização. O solo utilizado foi coletado na camada de 0-20 cm de profundidade em uma arrozeira localizada no município de Mirim Doce. Para o lótu serrano, testou-se as estirpes 13702, 8Ce1 e 4284 e para a Adesmia, as estirpes 1811, 3111 e 6434, todas provenientes da coleção da EPAGRI- Lages. Para ambas as espécies, como controle, utilizaram-se plantas cultivadas sem a inoculação de rizóbio. A

inoculação das sementes foi feita no momento da semeadura, realizada em 01/09/2012. Após 130 dias procedeu-se a colheita das plantas, as quais foram cortadas rente ao solo avaliando-se a massa seca da parte aérea, das raízes e número e massa seca dos nódulos. As raízes e os nódulos foram armazenados em embalagens de papel e levadas para estufa a 65°C. Foi avaliado o número e massa seca de nódulos, massa seca de raiz e massa seca da parte aérea e N total acumulado. O experimento a campo foi realizado no município de Mirim Doce, Alto Vale do Itajaí, com a cultivar lótu serrano inoculadas com as mesmas estirpes utilizadas para o ensaio em casa de vegetação. Foram avaliadas a massa seca da parte aérea, teor de nitrogênio e nitrogênio total acumulado nas plantas. Os resultados em casa de vegetação mostraram que as plantas de lótu e adésmia têm capacidade de produção de nódulos e fixação biológica de nitrogênio e as estirpes nativas mostraram potencial competitivo com as estirpes utilizadas como inoculante indicando elevado acúmulo de massa seca de parte aérea. O experimento a campo com lótu serrano apresentou excelente adaptação da planta a solos úmidos indicando elevado potencial forrageiro da planta. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e testes de comparação de médias.

Palavras chave: eficiência agronômica, bactérias diazotróficas, solos de arrozeira;

ABSTRACT

Tramontin, Luiz Antonio. Agronomic Efficiency of Biological Nitrogen Fixation in Lotus Serrano and Adesmia. In 2013. 42 p. Dissertation (MSc in Land Management - Area: Soil Biology) - University of the State of Santa Catarina. Graduate Program in Agricultural Sciences, Lages, 2013.

Rice is among the world's most consumed cereal. Brazil is the ninth largest producer and reaped 11.26 million tonnes in 2009/ 2010. In Santa Catarina irrigated rice is grown in the pre - twinned and currently the crop has been damaged by the nematode infestation in planted areas and the low price paid to producers. This factor has caused many farmers to abandon their fields, making them unproductive, since the irrigated rice is very specific in relation to management. A viable alternative is to use these areas for grazing, however, there is little study on forage plants that adapt well to waterlogged soils. With this approach, this study aimed to evaluate the agronomic efficiency of nitrogen fixation in *Lotus serrano* and *Adesmia*, inoculated with different strains of rhizobia, as well as selecting the most promising extirpes for these forage plants in moist soil conditions. For this we conducted two experiments in the greenhouse and the field. The trials under greenhouse conditions were conducted at the experimental station EPAGRI Lages - SC. In both experiments, we used a completely randomized design with five replications. Each experimental unit (pot with 5L volume) was filled with a mixture of soil + vermiculite in 4:1 ratio without sterilization. The soil was collected at 0-20 cm depth in a rice cooker located in the city of Mirim Doce. For the lotus serrano, we tested strains 13702, 8Ce1 and 4284 and for Adesmia, strains 1811, 3111 and 6434, all from the collection of EPAGRI - Lages. For both species, as a control, we used plants grown without Rhizobium inoculation. The seed inoculation was made at the time of sowing, held on 01/09/2012. After 130 days proceeded to harvest the plants, which were cut close to the ground assessing the dry mass of shoots, roots and number and dry weight of nodules. Roots and nodules were stored in

paper and taken to an incubator at 65 ° C. We assessed the number and dry weight of nodules, dry weight of root and shoot dry mass and total N accumulated. The field experiment was conducted in the city of Mirim Doce, Alto Vale do Itajaí, to cultivate lotus serrano inoculated with the same strains used for the test in the greenhouse. We evaluated the dry mass of shoots, total nitrogen and total nitrogen accumulated in plants. The results in the greenhouse showed that the lotus plants and adesmia have production capacity of nodules and nitrogen fixation and native strains showed competitive potential strains used as inoculants indicating higher dry matter accumulation in the shoots. The field experiment with lotus serrano showed excellent adaptation of the plant to wet soils indicating high potential forage plant. The results were submitted to analysis of variance and mean comparison tests.

Key-words: agronomic efficiency, diazotrophs, soils rice cooker.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura1:** plantas de lótus cultivadas sobre pratos com lamina de água.....25
- Figura 2:** Vista do experimento à campo com lótus serrano.....27

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Atributos físicos e químicos do solo do município de Mirim Doce - SC.....24
- Tabela 2:** Valores médios para número de nódulo (NND), massa seca de nódulo (MSN), massa seca de parte aérea (MSPA), teor de nitrogênio na massa aérea (CN%) e nitrogênio total acumulado na parte aérea (NT) em lótu serrano inoculadas com diferentes estirpes de bactérias.....30
- Tabela3:** valores médios de número de nódulo (NND), massa seca de nódulo (MSN), teor de nitrogênio na massa aérea (CN), massa seca de parte aérea (MSPA), e nitrogênio total acumulado (NT) em adesmia latifólia inoculadas com diferentes estirpes de bactérias.....32
- Tabela 4:** Massa seca de parte aérea (MSPA), teor de nitrogênio na massa aérea (CN%), e nitrogênio total acumulado na massa aérea (NT).....35

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
1.1 Fixação biológica de nitrogênio	14
1.2 <i>Lotus uliginosus</i> cultivar lótus serrano	15
1.3 <i>Adesmia latifolia</i>	17
1.4 Manejo de áreas de arroz irrigado com leguminosas.....	19
2 Hipóteses:	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 EXPERIMENTOS EM CASA DE VEGETAÇÃO.....	23
3.1.1 Tratamentos e delineamento experimental.....	23
3.1.2 Coleta do solo e montagem dos vasos	23
3.1.3 Produção do inóculo	24
3.1.4 Semeadura.....	24
3.1.5 Inoculação.....	24
3.1.6 Tratamentos fitossanitários e irrigação dos vasos.....	25
3.1.7 Colheita e avaliações	25
3.2 EXPERIMENTOS DE CAMPO.....	26
3.2.1 Tratamentos e delineamento experimental.....	26
3.2.2 Preparo da área e semeadura	26
3.3.3 Tratamentos fitossanitários e irrigação do experimento.....	26
3.3.4 Amostragens e avaliações	27
3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1 Experimentos em casa- de- vegetação	29
4.1.2 <i>Adesmia latifolia</i>	31
4.2 Experimentos de campo com lótus serrano.....	33
5 CONCLUSÕES.....	36
6 REFERÊNCIAS.....	37

INTRODUÇÃO

O arroz está entre os cereais mais consumidos do mundo. O Brasil é o nono maior produtor mundial e colheu 11,26 milhões de toneladas na safra 2009/2010. A produção está distribuída nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Mato Grosso.

O cultivo de arroz irrigado, praticado na região Sul do Brasil contribui, em média, com 54% da produção nacional, sendo o Rio Grande do Sul o maior produtor brasileiro. Em Santa Catarina, o plantio por meio do sistema pré-germinado responde pelo segundo lugar na produção do grão irrigado, com 800 mil toneladas anuais.

As projeções de produção e consumo de arroz, avaliadas pela Assessoria de Gestão Estratégica do Mapa, mostram que o Brasil vai colher 14,12 milhões de toneladas de arroz na safra 2019/2020. Equivale ao aumento anual da produção de 1,15% nos próximos dez anos. O consumo deverá crescer a uma taxa média anual de 0,86%, alcançando 14,37 milhões de toneladas em 2019/2020. Assim, a importação projetada para o final do período é de 652,85 mil toneladas. A taxa anual projetada para o consumo de arroz nos próximos anos, de 0,86%, está pouco abaixo da expectativa de crescimento da população brasileira. MAPA (2013).

A região do Alto Vale do Itajaí apresenta as produtividades mais elevadas, com destaque para o município de Agronômica. Na safra 2008-2009 a produtividade alcançada na região foi de 7.520 kg/ ha (Vieira, 2010). Atualmente alguns produtores estão colhendo mais de 15.000 kg/ha.

A despeito da elevada produtividade obtida na região, algumas lavouras de arroz tem enfrentado problemas com a infestação de nematóides de galha (*meloidogyne* spp). Não existe produto químico 100% eficiente no controle do nematóide, a melhor maneira de fazê-lo é com a prática de pousio das glebas contaminadas. Essa prática tem apresentado problemas de utilização, uma vez que as áreas são muito úmidas, limitando sua utilização por outras atividades de exploração agrícola, ficando como alternativa a criação de gado. Assim, é importante oferecer aos produtores espécies forrageiras como alternativas eficientes para alimentação dos animais, viabilizando a produção de leite e/ou carne, associado a prática do pousio.

As espécies leguminosas quando em simbiose com rizóbios, têm a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico no solo e apresentam elevado teor de proteína, sendo assim uma ótima fonte para alimentação

animal. Forrageiras do gênero *Lotus* estão sendo testadas principalmente no Rio Grande do Sul e tem mostrados resultados animadores (DALL'AGNOL et al., 2002). Uma das plantas que vem sendo muito estudada é o *Lotus uliginosus*, espécie que se adapta bem a solos úmidos e tem potencial de fixação de nitrogênio, apresentando-se como componente de pastagem para alimentação de bovinos, podendo também ser utilizada nas áreas de arroz em pousio.

Outra espécie facilmente encontrada na região serrana no estado do Rio Grande do Sul, Argentina e Uruguai e que tem apresentado bom desenvolvimento em solos com elevado teor de umidade e potencial de produção de forragem para as regiões de clima temperado é *Adesmia latifolia* (MIOTTO e LEITÃO FILHO, 1993), também podendo ser uma alternativa para ser usada como cobertura de solo. A planta forma simbiose com rizóbios proporcionando uma opção de consórcio com gramíneas no melhoramento de pastagens.

O nitrogênio é um dos elementos mais abundantes entre os gases da atmosfera e é um macronutriente muito importante para o desenvolvimento das plantas. As leguminosas ou fabáceas realizam a fixação biológica de nitrogênio no solo através de processos simbióticos com bactérias diazotróficas. A fixação biológica do N_2 (FBN) ocorre através da associação entre plantas hospedeiras e organismos fixadores de N_2 , que o transformam em formas assimiláveis para as plantas, através do complexo enzimático dinitrogenase Morgante, (2006).

A interação simbiótica entre planta e microrganismo é a combinação perfeita para um incremento na produtividade das lavouras e economia para os agricultores na aquisição de fertilizantes nitrogenados.

Uma característica importante a ser observada na seleção de estirpes para formulação de inoculantes é que estes geralmente são isolados em ambientes com baixa umidade, dessa forma quando utilizados em áreas úmidas a eficiência do inoculante é baixa. Alguns trabalhos visando o isolamento, identificação e seleção de estirpes de rizóbio para *Lótus* e *Adesmia* já foram desenvolvidos na região, no entanto, estas estirpes foram testadas apenas em casa de vegetação.

Esse trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência agrônoma de rizóbios nodulíferos na fixação biológica de nitrogênio em *Lótus* serrano e *Adesmia latifolia*, inoculadas com diferentes isolados de rizóbios em condições de solos úmidos.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Fixação biológica de nitrogênio

O nitrogênio é o elemento mais abundante entre os gases da atmosfera e muito importante para o desenvolvimento das plantas em geral. As leguminosas têm uma grande capacidade de fixação de nitrogênio no solo através de processos simbióticos, porém na fase inicial, alguns dias após a emergência, as plantas não apresentam capacidade de metabolização do nitrogênio por simbiose, então na maioria das vezes faz-se necessário a aplicação de doses de N.

A fixação biológica do N_2 (FBN) ocorre através da associação entre plantas hospedeiras e organismos fixadores de N_2 , denominados de diazotróficos, que o transformam em formas assimiláveis (NH_3) ou aminoácidos para as plantas, através do complexo enzimático dinitrogenase Morgante, (2006). Esse processo é conhecido desde o início do século na simbiose com leguminosas, que são infectadas por bactérias do gênero *Rhizobium* ou *Azorhizobium*, em simbiose com plantas. É facilmente observado pela presença de nódulos nas raízes e muitas vezes presentes também no colmo, tem coloração interna avermelhada caracterizada pela presença de leghemoglobina, que supre as bactérias com baixa concentração de O_2 para geração de ATP, necessário ao processo de fixação de N_2 .

Os animais, os vegetais e a maioria dos microrganismos dependem de uma pequena parcela de N_2 nas formas combinadas NH_3 (amônia), pois o N_2 atmosférico não está disponível nutricionalmente a todos os eucariotos (incluindo as plantas) e à maioria dos procariotos. Apenas uma pequena parcela dos procariotos consegue reduzir o N_2 atmosférico para a forma inorgânica combinada NH_3 (amônia), assimilável pelas plantas (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Essa interação simbiótica entre plantas e microrganismos se apresenta como uma alternativa perfeita para obter melhor rendimento nas colheitas e uma grande economia para os agricultores, na aquisição de fertilizantes nitrogenados.

Existe um grande número de leguminosas com importância ecológica e como fonte de produção de alimentos, é o caso da soja, por exemplo, que foi introduzida no Brasil na década de 60 e desde então vem sendo realizadas pesquisas de seleção e adaptação de variedades que vem sendo cultivadas sem necessidade de aplicação de fertilizantes nitrogenados. Com isso a produção de soja no Brasil obtém do ar todo

nitrogênio necessário para a produção de grão. Essa tecnologia tornou o Brasil o segundo maior produtor de soja do mundo, resultando hoje em um dos maiores produtos de exportação do país. (DÖBEREINER, 1981).

Além da soja, outras leguminosas como o feijão e leguminosas forrageiras e de reflorestamento, (FRANCO et al, 1995) tem as mesmas características, mesmo que muitas vezes essas plantas não tem a capacidade de obter nitrogênio suficiente na simbiose para suprir a necessidade de produção.

Já se sabe que, além das bactérias fixadoras de nitrogênio nas raízes das leguminosas, as bactérias fixadoras de N₂ endofíticas também atuam no interior de algumas plantas, como cana-de-açúcar, cereais e gramíneas forrageiras. Apesar de o produtor rural utilizar a adubação mineral para o fornecimento de nitrogênio às culturas agrícolas, esse adubo costuma ser caro e seu uso inadequado pode produzir impactos ambientais negativos.

1.2 *Lotus uliginosus* cultivar lótus serrano

A espécie leguminosa *Lotus uliginosus* (Spreng.). Vogel. é uma planta perene hiberna, rizomatosa, originária do Mediterrâneo. Apresenta tolerância a solos ácidos e com deficiência de fósforo, bem como excelente capacidade de estabelecimento em solos úmidos. Na Nova Zelândia foi desenvolvida a cultivar tetraplóide Maku, introduzida no sul do Brasil pela EMPASC. No Rio Grande do Sul foram realizados trabalhos com a cultivar tetraplóide e uma população diplóide, porém, deficiências como lento estabelecimento, baixa produção de sementes e de difícil colheita, têm restringido seu uso até o momento (Paim & Riboldi, 1991). As plantas da espécie de *L. uliginosus* apresentam adaptação a solos úmidos, pois quando em deficiência de oxigênio, ativam mecanismos de tolerância à inundação como formação de aerênquimas e lenticelas, que permitem as trocas gasosas a partir das raízes e caules submersos (JAMES & CRAWFORD, 1998; JAMES E SPRENT, 1999). O *Lotus uliginosus* pode formar nódulos eficientes na fixação de nitrogênio, tanto em raízes submersas quanto em raízes adventícias oriundas de hipocótilos ou caules submersos. A nodulação e a atividade da nitrogenase, (estimada pela redução de acetileno) em condições de inundação são iguais ou até maiores que em condição de umidade adequada (JAMES & CRAWFORD, 1998).

Estudando a variabilidade na simbiose de *Lótus* com rizóbios, BARAIBAR et al. (1999) obtiveram um total de 50 isolados específicos para *Lotus corniculatus* em solos uruguaios. No Brasil ainda há poucos estudos voltados para o isolamento e seleção de estirpes para plantas do gênero *Lotus*, existindo atualmente poucas estirpes recomendadas e eficientes para as plantas desse gênero. No entanto, trabalhos recentes isolaram rizóbios eficientes para *Lotus corniculatus* e *Lotus uliginosus* (FRIZZO, 2007) e para *Lotus glaber* e *Lotus subbiflorus* (FONTOURA, 2007).

Muitas espécies de leguminosas apresentam grande capacidade de produção de nódulos em suas raízes, mas muitas vezes estes nódulos não são eficientes na fixação de nitrogênio. Brose (1992 a) isolou 13 estirpes a partir de *Lotus pedunculatus* de solo ácido, com diferentes capacidades de fixação de N, sendo que duas delas, apesar de produzirem grandes nódulos, se mostraram ineficientes como fixadoras. (BARAIBAR et al. 1991), trabalhando com dez tipos de solos uruguaios concluíram que todos eles continham *Rhizobium loti* que nodularam efetivamente plantas de *Lotus corniculatus*. Em *L. pedunculatus* e *L. subbiflorus* os nódulos formados foram pequenos, ineficientes e exteriormente vermelhos. Labandera (2005) assinala que as estirpes de *Rhizobium* utilizadas no Uruguai nas diferentes espécies de *Lotus* variam desde altamente eficientes até comportamentos parasitários. *L. uliginosus* e *L. sub biflorus*, pertencentes ao mesmo grupo simbiótico (*Bradyrhizobium*), apresentam alta resposta à inoculação específica devido à inexistência de rizóbios nativos eficientes. Em áreas cultivadas com o *L. corniculatus* observou-se dificuldade para a implantação posterior de *L. Sub biflorus* e *L. uliginosus*. Os rizóbios eficientes em um grupo de especificidade comportam-se como parasitas em outro.

Em Santa Catarina, (BROSE 1992) realizou um estudo em casa de vegetação com *L. pedunculatus* e constatou dois grupos distintos de estirpes quanto à eficiência simbiótica com base na nodulação, produção de matéria seca e nitrogênio acumulado na parte aérea. Duas estirpes apresentaram boa nodulação, porém não foram eficientes. Neste caso, como estas estirpes já eram selecionadas, elas provavelmente não serão mais utilizadas como estirpe referência.

O lótu apresenta inúmeras vantagens por não provocar timpanismo, não apresentar problemas com doenças e ataque de pragas, por aumentar a absorção de aminoácidos no rúmen e apresentar produção superior ao trevo branco (*trifolium repens*), tem boa adaptação

a solos alagados e com pH baixo e apresenta boa eficiência na absorção de fósforo (Harris et al., 1993).

1.3 *Adesmia latifolia*

Adesmia é um gênero de leguminosas hibernal, exclusivamente sul-americano, com cerca de 230 espécies. No Brasil, há 17 espécies, das quais, 13 ocorrem no Rio Grande do Sul. O interesse da pesquisa pela colheita e pela conservação de germoplasma de *Adesmia* é crescente, pelo fato de várias espécies desse gênero ser potencialmente boas forrageiras para as regiões de clima temperado (MIOTTO e LEITÃO FILHO, 1993). Esses autores também relatam que *A. latifolia* tem ampla distribuição no Rio Grande do Sul, no sul de Santa Catarina, Argentina (Províncias de Corrientes e Entre Rios) e Uruguai. Porém, quanto aos aspectos da simbiose, existem poucas informações sobre esse gênero. (DATE e HALLIDAY 1980) caracterizaram *Adesmia* entre os gêneros promíscuos, mas frequentemente ineficientes quanto à sua resposta a *Rhizobium*. (SCHEFFER-BASSO et al. 1995) observaram em *A. araujo* excelente nodulação em plantas colhidas em campo, mas verificaram experimentalmente baixa eficiência na fixação de nitrogênio.

A *Adesmia latifolia* é a espécie que apresenta folhas maiores, sendo facilmente reconhecida por esta característica, além de seu hábito rasteiro, estolonífero. É hiberno - primaveril, isto é, começa a vegetar no outono, permanecendo verde durante os meses de inverno e iniciando sua floração em outubro, a qual pode se estender até abril. Pode formar grandes manchas, pelo acentuado desenvolvimento de seus estolões e pelo volume de sua folhagem, ocupando áreas mais ou menos extensas. *A. tristes* é a espécie que tem, junto com *Adesmia ciliata*, a maior área de ocorrência no Brasil. Ambas têm um padrão de distribuição extremamente semelhante, ocorrendo desde o sudoeste e centro do Rio Grande do Sul, sendo bem representadas no Estado de Santa Catarina e atingindo o sudeste do Paraná. Essa espécie tem o hábito subarborescente, alcançando até 1,50 m de altura, com caules decumbentes a eretos, muito ramificados. Durante o verão fica com a parte aérea reduzida aos caules e ramos, perdendo quase que completamente suas folhas que começam a reaparecer no outono, em grande quantidade. O começo do período vegetativo é no outono, atravessando os meses de inverno com a parte aérea verde e apresentando o florescimento e a frutificação nos meses de dezembro e janeiro (MIOTTO E LEITÃO FILHO, 1993).

Em casa-de-vegetação, SCHEFFER-BASSO et al. (2001a), avaliaram ao final de 65 dias, o comprimento e volume de raízes, o número e o peso de nódulos, o acúmulo de matéria seca e a fixação biológica de nitrogênio em plantas de *A. latifolia* e *L. corniculatus*. A *Adesmia* se destacou pelo maior número de nódulos (126/vaso) e peso total de nódulos (82,22 mg MS/vaso) em relação ao cornichão, com 82 nódulos/vaso e 20,25 mg MS/vaso, conforme este autor. A fixação biológica de nitrogênio foi mais efetiva em *A. latifolia*, cujas plantas inoculadas produziram, em média, 37% de matéria seca em relação às plantas supridas com nitrogênio mineral, sendo que no cornichão, esse percentual foi de apenas 15%. A quantidade de nitrogênio fixado simbioticamente foi de 43,12 mg N/vaso em *Adesmia* e de 9,92 mg N/vaso em cornichão. Concluíram que, mediante a resposta positiva à aplicação de nitrogênio mineral, as leguminosas avaliadas merecem trabalhos de seleção de estirpes de rizóbio mais efetivas.

Ao avaliarem o desempenho de *A. latifolia* consorciada com festuca (*Festuca arundinacea* Schreb.), (SCHEFFER-BASSO et al. 2002a), concluíram que a espécie apresenta limitações no estabelecimento em solos bem drenados, devendo ser avaliada a possibilidade de o cultivo ser restrito as áreas baixas, sem limitação de umidade ou sobre pastagens já estabelecidas.

A estabilidade da *A. latifolia* na formação de uma pastagem depende exclusivamente da continuidade da produção de estolões, por outro lado as espécies de *A. tristis* e *Lotus corniculatus*, necessitam manter a planta principal viva para manter a continuidade da espécie. (SCHEFFER-BASSO et al., 2002).

No trabalho de (BELLAVAR et al. 1998), em casa-de-vegetação, comparando o desenvolvimento inicial de *A. latifolia* e *A. tristis*, constatou-se que a última apresentou peso seco de parte aérea maior que a *A. latifolia* nas primeiras semanas de desenvolvimento. Isso foi relacionado ao fato de *A. tristis* apresentar um maior número de folhas. No entanto, com o aumento do crescimento, *A. latifolia* foi superior, devido ao maior tamanho das folhas. No estudo de (SCHEFFER-BASSO et al. 2001a), também em casa-de-vegetação, a disponibilidade de forragem foi de 276 g MS/m² para *A. latifolia* e de 201 g MS/m² para *A. tristis*. Num dos poucos trabalhos sobre o efeito de manejo de cortes em *A. tristis*, Rosa (1998) verificou que, à medida que se aumentava a altura de corte de 10 para 15 cm, a produção de massa seca era aumentada, assim como quando era aumentado o intervalo entre

os cortes, de três para sete semanas. A persistência aumentou com o aumento da altura de corte, independente do intervalo entre os cortes.

Com *A. latifolia*, (DUTRA et al. 1998), avaliando três épocas (abril, maio e junho) e quatro densidades de semeadura (1, 2, 4, 6 kg/ha) em campo nativo, observaram que a semeadura realizada em junho proporcionou maior produção de matéria seca (3.655 kg/ha), seguindo-se as épocas de maio (1.770 kg/ha) e abril (1.416 kg/ha). A ocorrência de estiagens prolongadas, coincidentes com as duas primeiras épocas (abril e maio) prejudicou drasticamente a resposta de crescimento. A produção de matéria seca respondeu linearmente aos acréscimos nas densidades de semeadura até 6 kg/ha. Os autores concluíram que a introdução dessa espécie, como melhoradora de campo nativo, mostrou ser uma prática viável para a região de Pelotas. Pelos resultados de Aguinaga et al. (2002), essa espécie pode se estabelecer bem em sobressemeadura, uma vez que os melhores resultados em germinação foram a profundidades entre 0 e 1 cm.

Os estudos sobre o potencial forrageiro do gênero *Adesmia* ainda estão em fase preliminar, com poucos dados sobre desempenho no campo e, especialmente, comparações com espécies tradicionalmente utilizadas no melhoramento de pastagens naturais, como *Lótus* e *Trifolium*. (SCHEFFER-BASSO et al. 2001a), atestaram o elevado valor nutritivo de *A. latifolia*, com teores de proteína bruta (PB) de até 21,6% e digestibilidade in vitro da matéria orgânica (DIVMO) de 72,3%. A espécie se caracteriza por uma baixa proporção de tecidos lignificados no limbo foliar, determinando valores de digestibilidade in situ de 97,9% para o limbo foliar, 69,35% para o pecíolo e 73% para o caule, bem como um baixo teor de taninos condensados (CARNEIRO & RODELLA, 2002).

1.4 Manejo de áreas de arroz irrigado com leguminosas

O arroz irrigado em Santa Catarina é cultivado em aproximadamente 149.000 hectares, abrangendo as regiões e condições geográficas e edafoclimáticas do Alto, Médio e Baixo Vale do Itajaí, Litoral Norte e região Sul. A rizicultura no estado é conduzida no sistema pré-germinado. Santa Catarina é o segundo maior estado produtor de arroz e detém a segunda maior produtividade do Brasil, obtida na safra 2012/2013 6,8 t ha⁻¹(CONAB, 2013). Na região do Alto Vale do Itajaí o município de Agronômica tem se destacado, obtendo as maiores produtividades. Na safra 2011-2012 a produtividade média

alcançada na microrregião de Rio do Sul foi de 8.343 kg ha⁻¹ (VIEIRA, 2010). Conforme (EPAGRI 2012), no Alto Vale do Itajaí encontram-se as áreas de lavouras comerciais exemplares, nas quais produtores alcançam rendimentos entre 10 a 15 t ha⁻¹ em um único cultivo.

Na entressafra as áreas de arrozais não apresentam rendimento econômico para a grande maioria dos rizicultores. Sendo assim, a semeadura de plantas forrageiras, além de servir como cobertura do solo, permite viabilizar a integração lavoura-pecuária. Forrageiras do gênero *Lotus* estão sendo testadas em várias regiões, principalmente no Rio Grande do Sul, e vêm mostrando resultados animadores (DALL'AGNOL et al. 2002). Essas leguminosas têm capacidade de fixar nitrogênio no solo em simbiose com bactérias diazotróficas nodulíferas comumente denominadas de rizóbios e apresentam elevado teor de proteína. Dessa forma, as plantas proporcionam uma excelente combinação para proteção do solo e fonte de alimentação animal. Outro fator importante é a possibilidade da realização da rotação de culturas nas áreas de arroz, como alternativa de controle da crescente infestação com nematóides. Sabe-se que o nematóide não é totalmente controlado com a utilização de produtos químicos, sendo que o melhor resultado está na utilização de variedades resistentes e na rotação de culturas.

No período de entressafras as áreas cultivadas com arroz irrigado na região do Vale do Itajaí, os agricultores têm dificuldade de utilizá-las para o cultivo com outra cultura que apresente rendimento econômico significativo. Uma vez que a cultura exige um manejo do solo diferenciado, o qual permanece maior parte do tempo com elevada umidade ou mesmo saturado, dificulta ou impossibilita a implantação de outras culturas de interesse econômico e que exigem solos com melhor drenagem. Devido essa dificuldade, alguns produtores, no período pós-colheita, utilizam a resteva da cultura para pastejo. Os restos da cultura na pós-colheita apresentam baixa concentração de nutrientes não atendendo as exigências nutricionais para a produção de leite como para a produção de carne. O melhoramento das áreas de resteva com plantas do gênero *Lotus* ou *Adesmia* pode proporcionar um incremento protéico na alimentação animal tendo como resposta aumento na produção de leite e ganho de peso na produção de carne. Essas leguminosas tem potencial de implantação em áreas de arroz irrigado, já que as mesmas se adaptam muito bem a solos úmidos.

Um experimento com *Lotus uliginosus* em rotação com arroz irrigado no Rio Grande do Sul foi realizado por (BEIJAMIN 2009), que

observou na variedade IRGA 424 um incremento na produtividade. A grande dificuldade, no entanto é, encontrar preferencialmente uma leguminosa de ciclo curto e com alta eficiência na fixação biológica de nitrogênio, Já existem estudos alternativos muito promissores com cianobactérias e algumas estirpes de *Azobacter* e *Azospirillum*.

2 HIPÓTESES:

2.1 Existem bactérias nativas capazes de nodular e fixar N em associação com o Lótus e adésmia em solos úmidos.

2.2 A espécie lótu serrano bom potencial forrageiro em solos úmidos de arrozais na região do Alto Vale do Itajaí, SC.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram desenvolvidos dois experimentos em condição de casa de vegetação, conduzidos na Estação Experimental da EPAGRI de Lages - SC. Nestes experimentos, um cultivado com a espécie lótus serrano inoculado com as estirpes de rizóbio 13702, 8Ce1 e 4284, e outro, com *Adesmia latifolia*, inoculada com as estirpes 1811, 3111 e 6434. Simultaneamente, repetiu-se um experimento em condição de campo com a cultivar lótus serrano implantado em uma área de resteva de arroz irrigado no município de Mirim Doce – SC.

3.1 EXPERIMENTOS EM CASA DE VEGETAÇÃO

3.1.1 Tratamentos e delineamento experimental

Os experimentos em casa de vegetação com as duas espécies foram estabelecidos e conduzidos rigorosamente da mesma forma. No experimento com lótus serrano foram testadas as estirpes 13702, 8Ce1 e 4284 e no experimento com *Adesmia latifolia* foram utilizadas as estirpes 1811, 3111 e 6434, todas originárias da coleção do setor de rizobiologia do laboratório de Biotecnologia da EPAGRI estação experimental de Lages. Como controle, para ambos os experimentos, estabeleceu-se tratamento sem inoculação e sem adubação nitrogenada. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições e, cada unidade experimental era formada por um vaso contendo 5 litros de solo, no qual foi cultivada apenas uma planta.

3.1.2 Coleta do solo e montagem dos vasos

O solo utilizado para o enchimento dos vasos foi coletado na camada superficial (0-20 cm) em uma área de arroz irrigado localizado no município de Mirim Doce – SC. Uma amostra representativa da área foi encaminhada para laboratório para realização de análises químicas e físicas. Os resultados estão descritos na tabela 1. Após a coleta, o solo foi destorroado manualmente. Em seguida, para elaboração do substrato utilizado nos vasos, adicionou-se ao solo 20% de vermiculita expandida (V: V), sendo a mistura do material realizada com o auxílio de uma betoneira.

Tabela 1. Atributos físicos e químicos do solo do município de Mirim Doce – SC.

Argila %	MO	pH H ₂ O (1:1)	Ca	Mg	Al	H+A l	CTC efetiva	P Meh.	K
			Cmolc/dm ³				Mg/dm ³		
43	3,1	4,8	4,32	3,76	2,68	15,4	10,92	3,6	61

3.1.3 Produção do inóculo

O inóculo foi produzido em meio YM, incubado por 72 horas a 28°C, sob agitação constante a 60 RPM.

3.1.4 Semeadura

A semeadura foi realizada no dia 01-09-2012 em ambos os experimentos. Para o experimento com lótus serrano utilizou-se dez sementes por vaso, sendo estas enterradas a aproximadamente 0,2 cm de profundidade.

Para o experimento com *Adesmia latifolia*, foi necessário realizar a quebra de dormência das sementes, realizada através da imersão em polietileno-glicol (100g L⁻¹). Em seguida, a solução contendo as sementes foi aquecida a 68 ° C e mantidas a uma temperatura de 20 ° C por mais 48 horas, com um foto período de 16 horas luz dia⁻¹ e 8 horas em escuridão total. Em seguida as sementes foram lavadas em água e realizou-se a semeadura distribuindo quatro sementes no centro de cada vaso, a 0,5 cm de profundidade.

Quarenta dias após a semeadura realizou-se o raleio das plântulas de lótus e adésmia, deixando apenas a mais vigorosa.

3.1.5 Inoculação

Para ambas as espécies a inoculação foi realizada no dia da semeadura aplicando-se sobre as sementes uma alíquota de 2 mL do meio de cultura de cada estirpe. Para evitar a desidratação das células, após a aplicação do inoculante, este foi cuidadosamente homogeneizado com o solo, favorecendo assim o seu contato com as sementes. Em seguida, procurou-se deixar o volume de solo inoculado aproximadamente a 0,5cm de profundidade, cobrindo esta porção com solo não inoculado. Para melhorar a fixação das bactérias com as sementes, não foi realizada irrigação durante dois dias após a inoculação.

3.1.6 Tratamentos fitossanitários e irrigação dos vasos

Os vasos foram mantidos sobre pratos com água para garantir a umidade no solo (figura 1), simulando as condições de umidade encontradas nas áreas de arrozzeiras.

Figura 1: plantas de lótus cultivadas sobre pratos com lamina de água



Fonte: Antonio Luiz Tramontin 2012

Não foi necessária a realização de tratamento fitossanitário por não surgir ataque de pragas e doenças nas plantas durante o experimento.

3.1.7 Colheita e avaliações

Em cada unidade experimental avaliou-se o número e massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea, concentração de nitrogênio e nitrogênio total acumulado na parte aérea.

A parte aérea das plantas foi cortada rente ao solo, armazenada em sacos de papel e secas em estufa com circulação de ar forçado à temperatura de 68° C por três dias. Já as raízes foram lavadas em água corrente, tendo-se o cuidado para evitar perda de material. Em seguida, os nódulos existentes foram destacados e acondicionados em sacos plásticos, sendo estes armazenados em ambiente refrigerado até o momento da contagem. Todo o material foi acondicionado em saco de papel e submetidos a secagem em estufa, seguindo-se os mesmos parâmetros adotados para a parte aérea. Posteriormente, se obteve a

massa seca para nódulos, raízes e parte aérea das plantas em balança de precisão com acurácia 0,001g.

Após, a parte aérea das plantas foi triturada em moinho de facas tipo Willey e acondicionada em sacos plásticos até o momento de realizar a digestão sulfúrica para determinação do teor de nitrogênio, seguindo a metodologia descrita em (TDESCO et al.,1995).

3.2 EXPERIMENTOS DE CAMPO

3.2.1 Tratamentos e delineamento experimental

O experimento foi implantado em uma arrozeira localizada no município de Mirim Doce, pertencente à região do Alto Vale do Itajaí. Testou-se *Lotus uliginosus* cv.lótus serrano, inoculada com as estirpes 13702, 8Ce1 e 4284. Como controle, foram mantidas parcelas semeadas sem a inoculação e também parcelas sem a semeadura (somente com vegetação espontânea). Cada unidade experimental possuía 4 m de comprimento por 2m de largura. Adotou-se delineamento experimental em blocos ao acaso com quatro repetições.

3.2.2 Preparo da área e semeadura

O preparo da área experimental foi realizado no mês de julho de 2012, constituindo-se de duas passadas de equipamento do tipo enxada rotativa tratorizada a uma profundidade de aproximadamente 15 cm. A semeadura foi realizada a lanço em 11-07-2012, utilizando-se em cada parcela 5g de sementes inoculadas e peletizadas com as respectivas estirpes testadas em casa de vegetação. Nas parcelas controle sem inoculação utilizou-se 5g de semente não inoculada. O inoculante foi produzido com o cultivo das estirpes de rizóbios em meio YM. A inoculação e peletização foram feitas com diluição de polvilho doce aquecido a 60° C em água até ficar viscoso. Após o resfriamento foi adicionado à turfa e, após homogeneização foi acrescido as sementes e o inoculante líquido. Na sequência foi adicionado carbonato de cálcio ate as sementes ficarem peletizadas.

3.3.3 Tratamentos fitossanitários e irrigação do experimento

Durante o desenvolvimento das plantas de lótus serrano no campo não foi necessária aplicação de produto para controle de pragas e doenças, pois não houve problemas nos casos mencionados.

A irrigação foi realizada com o auxílio de um caminhão pipa uma única vez no início do desenvolvimento da cultura devido a ocorrência de um período de estiagem. Foi utilizado um volume de 5.000 l de água em uma área de 350m².

Durante o período do experimento foi necessária a realização do controle de plantas invasoras nas entrelinhas, (figura 2) feito com o auxílio de uma roçadeira costal. Durante todo o período de condução do experimento foram realizadas seis roçadas.

Figura 2: Vista do experimento à campo com lótuus serrano



Fonte: Antonio Luiz tramontin 2012

3.3.4 Amostragens e avaliações

Nas condições de experimento de campo o desenvolvimento das plantas de lótuus serrano foi avaliado pela produção de massa seca total da parte aérea (lótuus + espécies espontâneas) e o nitrogênio total acumulado.

A colheita foi realizada, 210 dias após a semeadura em janeiro 2013. O corte foi realizado rente ao solo, manualmente, sendo coletada uma amostra de 0,25m² por parcela. Em cada unidade experimental foi avaliado a massa seca da parte aérea, a concentração de nitrogênio e nitrogênio total acumulado.

O material vegetal foi acondicionado em sacos de papel e secado em estufa de ar forçado a 68° C durante três dias. A massa seca da parte aérea foi pesada em balança de precisão com acurácia 0,001g.

Em seguida, a parte aérea das plantas foi triturada em moinho de facas tipo Willey e acondicionada em sacos plásticos até o momento de realizar a digestão sulfúrica para determinação do teor de nitrogênio no tecido, seguindo a metodologia descrita por TEDESCO et al.(1995).

3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos nos três experimentos foram submetidos à análise de variância e, quando verificada significância, efetuou-se comparação dos valores das médias dos tratamentos através do teste Tukey a 5%.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimentos em casa- de- vegetação

4.1.1 *Lótus* Serrano

O sistema radicular das plantas produziu grande número de nódulos inclusive no tratamento controle. Todos os isolados produziram mais de 400 nódulos por planta, porém, nenhuma das estirpes testada mostrou-se mais eficiente que as estirpes nativas, uma vez que não foram encontradas diferenças significativas para as variáveis teor de nitrogênio e nitrogênio acumulado na parte aérea das plantas entre o tratamento controle e as estirpes inoculadas (Tabela 2). Estes resultados corroboram os dados de outros trabalhos realizados a campo, que indicam que plantas do gênero *Lótus* apresentam grande capacidade de produção de nódulos, mas nem sempre essa produção está associada à maior eficiência na fixação de nitrogênio (BROSE, 1992b; BARAIBAR et al.1991).

Os isolados utilizados no presente trabalho foram coletados de nódulos de plantas em regiões com altitude próximas a 1000m e testados em solo coletado na região do Alto Vale do Itajaí com altitude próxima a 350m, com solos e regime de temperaturas bastante diferenciado. Esse fator pode ter incidido na baixa adaptação das estirpes analisadas, tornando-as menos competitivas que as estirpes nativas de bactérias. É possível que inoculações consecutivas melhorem o desempenho das estirpes avaliadas. Futuramente é interessante realizar outros estudos buscando identificar as estirpes que estão presentes nos nódulos das plantas inoculadas com intuito de verificar se são as mesmas estirpes utilizadas na inoculação.

Tabela 2: Valores médios para número de nódulo (NND), massa seca de nódulo (MSN), massa seca de parte aérea (MSPA), teor de nitrogênio na massa aérea (CN%) e nitrogênio total acumulado na parte aérea (NT) em lótu serrano inoculadas com diferentes estirpes de bactérias.

Tratamento	N NOD	MSN (g/planta)	CN (%)	MSPA (g/planta)	NT(mg/planta)
Controle	444,6	1,759ns	2,318ns	24,635a	0,551ns
4284	468,8	1,815	2,918	17,163ab	0,499
8Ce1	611,4	1,657	2,530	15,114b	0,373
13702	589,4	1,765	2,642	22,342ab	0,588
CV %	43,79	7,23	15,23	26,06	23,79

Medias seguida por letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (5%). Médias de cinco repetições.

Não houve diferença significativa para produção de massa seca de parte aérea entre as plantas inoculadas com as estirpes testadas. Para esta variável o controle foi estatisticamente superior à estirpe 8Ce1. Como o solo utilizado não foi esterilizado, os resultados indicam pouca diferença entre as estirpes nativas e as selecionadas quanto à eficiência de fixação de nitrogênio. Como não se realizou caracterização genética das estirpes presentes nos nódulos dos diferentes tratamentos, não pode descartar-se a possibilidade de que apenas estirpes nativas tenham sido competitivas na nodulação. Estudos já realizados observaram resultados semelhantes onde as estirpes nativas mostram resultados semelhantes às estirpes usadas na inoculação das sementes (BROSE, 1992a; BROSE, 1992b; GIONGO, 2003; LAGUERRE et al., 2003; MAÂTALLAH et al., 2002; FONTOURA, 2007).

Nos casos onde a eficiência do inoculante é muito baixa, pode ser necessária a retirada do mesmo da coleção de estirpes recomendadas para esta cultura. Vários autores já relataram a perda de eficiência de estirpes devido a mutações espontâneas (DATE 1982); (BARRIENTOS et. al, 2002), originadas de vários fatores como armazenamento das culturas.

A eficiência do inoculante começa no momento em que é realizada a seleção das estirpes. Assim se as bactérias forem isoladas de ambientes com baixos índices de umidade, é provável que elas não apresentem boa eficiência sendo testadas em ambientes úmidos. É importante que sejam testadas outras estirpes em mesmas condições de umidade do solo para selecionar as que apresentarem eficiência no

acúmulo de nitrogênio nas plantas. Em áreas que nunca foi utilizado inoculante e áreas experimentais, é importante realizar um segundo estudo para identificar a eficiência das estirpes, pois muitas vezes o resultado pode ser satisfatório na competição entre as estirpes pelo aumento da população proveniente da inoculação das sementes. É importante também manter as características de solo e clima para áreas experimentais conforme o local onde foram coletados os isolados, aumentando a probabilidade de resultado significativo. Quando o ambiente natural de adaptação das bactérias passa por uma alteração contrastante dificilmente a resposta será positiva em relação à simbiose com as plantas, da mesma forma quando nesse caso as bactérias são utilizadas como inoculante em uma condição edafoclimática muito diferente daquela que a espécie esta adaptada.

4.1.2 *Adesmia latifolia*

Conforme os dados apresentados na Tabela 3, as estirpes selecionadas para adesmia latifolia foram mais eficientes na formação de nódulos que as estirpes nativas, com destaque para a estirpe 1811. O número de nódulos no tratamento controle foi baixo quando comparado aos tratamentos que foram utilizadas estirpes selecionadas de rizobios. Esse resultado mostra a importância da inoculação das sementes, principalmente para plantas que apresentam elevado grau de especificidade na simbiose. A massa seca de nódulos foi crescente conforme o maior número de nódulos produzidos nas raízes das plantas indicando a eficiência na nodulação.

O tratamento controle não produziu tanto nódulo quanto os demais tratamentos (tabela 3), foram encontrados apenas 29 nódulos, porém a massa seca dos nódulos representa pouco mais que 50% da massa dos demais tratamentos. Foi observado que os nódulos eram muito maiores para o tratamento controle, assim a massa seca de nódulo tem se destacado para essa variável.

Para a variável nitrogênio total acumulado na parte aérea, a estirpe 1811 apresentou valor superior ao controle e a estirpe 6434. Os demais tratamentos foram iguais estatisticamente. Observa-se que o tratamento controle embora não tenha diferido dos tratamentos 3111 e 6434, apresentou o menor valor para acúmulo de nitrogênio.

Tabela 3: valores médios de número de nódulo (NND), massa seca de nódulo (MSN), teor de nitrogênio na massa aérea (CN), massa seca de parte aérea (MSPA), e nitrogênio total acumulado (NT) em adesmia latifólia inoculadas com diferentes estirpes de bactérias.

Tratamento	Nº NOD	MSN (g/planta)	CN (%)	MSPA (g/planta)	NT (mg/planta)
Controle	29,8b	0,906b	2,203	12,193	0,245b
6434	431ab	1,637ab	2,213	12,423	0,268b
3111	514,8ab	1,685ab	2,493	14,489	0,358ab
1811	776,2a	1,864a	2,639	19,295	0,499a
CV %	72,42	29,67	18,17	38,29	35,79

Medias seguida por letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 5% Medias de cinco repetições.

Os nódulos formados nas plantas de adesmia se localizavam preferencialmente nas raízes principais, as que estavam em contato com o solo no centro do vaso. Já as raízes dos estolões não formaram nódulos possivelmente devido ao formato dos vasos utilizados, e ao fato destes ficarem pendurados sem contato com o solo. É razoável supor que caso os estolões estiverem em contato com o solo, poderia haver formação de nódulos, assim a produção de massa seca e nitrogênio acumulado na planta seriam muito maiores. A nodulação em estolões pode ser formada se o mesmo ocorrer próximo as raízes principais onde se localizam as estirpes utilizadas na inoculação ou ate mesmo naquelas raízes mais longe da planta principal, mas que encontrem bactérias nativas capazes de nodular.

Para que o número de nódulos formados nas raízes seja elevado é importante que a planta tenha um sistema robusto para produzir a maior quantidade possível de raízes. O enraizamento dos estolões de adesmia é extremamente superficial e com raízes finas, ficando sua produtividade altamente dependente da umidade do solo. ROSENGURT (1946) já constatou um fraco desenvolvimento da espécie quando cultivada em encostas altas, bem como sua sensibilidade a longos períodos de estiagem. Tal vulnerabilidade também ocorre em trevo branco, em que a falta de um sistema radicular vigoroso vem sendo o principal motivo de baixa sobrevivência em zonas subtropicais, onde normalmente ocorrem verões secos (MANNETJE, 1996).

Por ser estolonífera e teoricamente produzir elevada quantidade de forragem a adesmia latifólia apresenta uma grande vantagem em relação

a outras espécies herbáceas do gênero, (SCHEFFER-BASSO et al., 2005). Outro grande benefício da espécie é a produção de forragem durante a estação fria que permite dessa forma suprir a necessidade de alimentação dos animais durante um período de escassez. Além do mais, a forrageira ainda apresenta nutrientes mínimos para ruminantes com desempenho similar a espécies exóticas como *Lotus corniculatus* (SCHEFFER-BASSO et al., 2001).

4.2 Experimentos de campo com lótu serrano

O início de floração do lótu teve início aos 150 dias após o plantio, a cultivar se adaptou muito bem a região apresentando crescimento e produção de massa seca viável para utilização em melhoramento de pastagens na região.

Durante a realização de um experimento realizado a campo por (SCHEFFER-BASSO et al. 2005) não foi possível a visualizar o surgimento de floração na cultivar de *Lotus uliginosus*, no entanto o primeiro corte foi realizado quatro meses após a semeadura.

O *Lotus uliginosus* apresenta dificuldade de produção de sementes pelo baixo número e até mesmo ausência de flores, isso tem dificultado muito seu cultivo no sul do Brasil, (SCHEFFER-BASSO et al. 2005). Monteiro (1981), na região da Depressão Central do Rio Grande do Sul, observou florescimento tardio, ocorrido somente aos 233 dias.

A dificuldade na floração hoje não é mais um problema encontrado devido ao melhoramento realizado na espécie de *Lotus uliginosus*. Atualmente a espécie que foi desenvolvida com o melhoramento e que vem mostrando resultados satisfatórios é a espécie de lótu serrano.

Conforme os dados apresentados na Tabela 4, o tratamento com vegetação espontânea apresentou uma baixa produtividade (74,3g/0,25m²) quando comparado com os tratamentos com lótu. Não foi realizada determinação da composição florística das parcelas avaliadas, porém, nos tratamentos com semeadura do lótu serrano, esse representou praticamente a totalidade da produção de massa seca, com pouca contribuição de gramíneas espontâneas. Já no tratamento sem lótu a massa aérea esteve constituída por diversas gramíneas estivais e uma baixa contribuição de ciperáceas e espécies de folha larga. Todos os tratamentos com semeadura de lótu apresentaram uma produtividade superior à registrada por (FLARESSO & ALMEIDA. 1992), também na região do Alto Vale do Itajaí (2.828 kg MS/ha). Este resultado demonstra que em solos de arrozeira o lótu

serrano apresenta-se como potencial alternativa e boa adaptação. Já em experimentos com *Lotus uliginosus* a implantação é muito lenta conforme mostra resultados da literatura, (MONTEIRO & PAIM, 1982; PAIM & RIBOLDI, 1991), demonstrando sua excelente adaptação a solos ácidos e mal drenados (SCHEFFER-BASSO et al., 2001; 2002). Para a variável concentração de nitrogênio total (%N) o tratamento sem semeadura diferiu estatisticamente apresentando resultado inferior aos demais tratamentos. As três estirpes selecionadas e o controle sem inoculação apresentaram a mesma capacidade de acumulação de nitrogênio na parte aérea, o que corrobora com os resultados obtidos em casa de vegetação. No entanto, na situação de campo houve diferenças entre as estirpes testadas na sua eficiência de fixação de nitrogênio, mantendo-se a superioridade das estirpes nativas (controle).

Tabela 4: Massa seca de parte aérea (MSPA), teor de nitrogênio na massa aérea (CN%), e nitrogênio total acumulado na massa aérea (NT).

Lótus uliginosus	MSPA (g/amostra)	CN (%)	NT(mg/parcela ⁻¹)
13702	118,8 ^{NS}	1,83 c	2,19 a
4284	132,5	2,01 bc	2,71 a
8Ce1	101,3	2,42 ab	2,47 a
Controle	101,3	2,56 a	2,58 a
Vegetação espontânea	74,3	0,49 d	0,37 b
CV %	27,14	13,05	35,60

Medias seguida por letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de tukey a 5%. Medias de cinco repetições.

O teor de nitrogênio da vegetação espontânea representa 3% de proteína bruta na matéria seca disponível, valor que limita a atividade ruminal e inviabiliza sua utilização como pastagem. Os tratamentos com semeadura de lótus serrano apresentaram teores de proteína bruta compatíveis com elevada produtividade animal, com destaque para o tratamento controle (16%). Para calcular o valor de proteína bruta basta multiplicar a variável NT% pela constante 6,25. $(2,56 \times 6,25) = 16\%$ de proteína bruta.

Em experimentos a campo muitas vezes a inoculação não apresenta incremento na produção de massa seca nas pastagens, (KOLLING et al. 1983), realizaram um ensaio com cornichão (*L. corniculatos*) cultivar

são Gabriel e não obtiveram resposta à inoculação com estirpes selecionadas bem como a fertilização nitrogenada, esses resultados foram atribuídos a presença de estirpes nativas e reservas de nitrogênio presentes no solo, que suprimiram a necessidade de cultura.

A dificuldade da implantação da espécie de *Lotus uliginosus* se dá pelo lento estabelecimento da espécie, pela baixa produção de sementes e pela dificuldade enfrentada no momento da colheita, esses fatores tem restringido o uso desta espécie até o momento (NILTON; RIBOLDI, 1991). Os mesmos autores no mesmo estudo comprovaram o lento estabelecimento de *Lotus uliginosus* pela baixa produção de massa seca até o quarto corte quando o plantio realizado por semeadura direta. (MONTEIRO E PAIM 1982) também observaram os mesmos resultados alguns anos antes em um estudo semelhante.

Atualmente com a realização de mais pesquisas com *Lotus uliginosus*, se obteve excelentes resultados em produtividade de massa seca/ha, superando algumas espécies que até o momento vêm sendo mais utilizadas como, por exemplo, o *Lotus corniculatos*. O *Lotus uliginosus* se adapta muito bem a solos ácidos e áreas mal drenadas. Em estudos realizados por (SCHEFFER-BASSO et al. 2001; 2002;), mostra que a espécie tem melhor adaptação para utilização em área de pastagem se comparado a espécie de *Lotus corniculatos* devido ao sistema de crescimento da planta que apresenta maior área de coroa, 124% maior que a cultivar São Gabriel comprovando maior potencial para a produção de hastes basilares, (MAROSO; SCHEFFER-BASSO, 2007). Quanto maior a área da coroa maior é a resistência ao pisoteio dos animais garantindo também forragem suficiente para pastoreio por um período maior se comparado com plantas arbustivas que apresentem menor capacidade de produzir perfilhos ou ramificações secundárias.

Muitos estudos ainda precisam ser realizados a campo para mostrar resultados satisfatórios em produção de forragem de qualidade para garantir a suplementação necessária para os animais, tanto para a produção de leite como para a produção de carne.

Outro fator muito importante é selecionar estirpes de rizóbios que sejam eficientes na fixação biológica de nitrogênio visando baixar os custos com aplicação de insumos e ainda contribuindo para uma agricultura de forma mais sustentável.

5 CONCLUSÕES

Nas condições de realização dos experimentos, podemos concluir que:

- A nodulação abundante, mesmo sem inoculação de rizóbios no lócus serrano, demonstrou a existência de bactérias com capacidade de fixar nitrogênio associadas a ele;

- A ausência de inoculação na adesmia latifolia deu origem a reduzida nodulação, mas com valores significativos de nitrogênio total e produção de matéria seca de parte aérea, indicando a existência de bactérias eficientes no solo testado;

- O lócus serrano apresenta-se como alternativa viável para a produção de forragem em áreas úmidas do Alto Vale do Itajaí.

6 REFERÊNCIAS

AGUINAGA A. A. et al. Resposta de Sementes de *Adesmia Latifolia* a Diferentes Profundidades de Semeadura. In: **Reunião do grupo Técnico em Forrageiras do Cone Sul - Zona Campus**, 19, 2002, Mercedes, Corrientes, Argentina. Anais Mercedes: INTA, p. 130. 2002.

BARAIBAR A. et al. Symbiotic effectiveness and ecological characterization of indigenous *Rhizobium loti* populations In Uruguay. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.6, p.1011-1017, 1999.

BELLAVER, J.F.; FÃO, V.de M.; VOSS, M. Análise de crescimento em estágio inicial de desenvolvimento de espécies do gênero *Adesmia* DC. In: **REUNIÃO DO GRUPO TÉCNICO EM FORRAJEIRAS DO CONE SUL ZONA CAMPOS**, 17, 1998, Lages. *Anais...* Lages: Epagri-UDESC, 1998. p.100.

BROSE E. Seleção de rizóbio para *Lotus pedunculatus* em solo ácido **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.27, n.3, p. 409-415, 1992.

DALL' AGNOL, M. et al. **Estado Atual e Futuro da Produção e Utilização de Leguminosa Forrageira na Zona Campos RG**. 2002.

CARNEIRO, C.M.; RODELLA, R.A. Anatomia quantitativa e valor nutritivo de *Adesmia latifolia* (Spreng.) Vog. Leguminosae). In: ALTUVE, S.M.; PIZZIO, R.M. (Eds.). **REUNION DEL GRUPO TECNICO EN FORRAJERAS DEL CONO SUR ZONA CAMPOS**, 19. Mercedes, Corrientes, Argentina. *Memorias...* Mercedes, Corrientes, Argentina, 2002. p.132.

DATE, R.A., HALLIDAY, J. Relationships between *Rhizobium* and tropical forage legumes. In: SUMMERFIELD, R.J., BUNTING, A.H. (Eds.). *Advances in legume science*. Kew: University of Reading. P.597-601, 1980.

DATE, R.A. **Collection, isolation, characterization and conservation of *Rhizobium***. p. 95-109. In J.M. Vincent (ed.) *Nitrogen Fixation in Legumes*. Academic Press, Canberra, Australia, 1982.

DÖBEREINER, J. **A importância da fixação biológica do nitrogênio para a agricultura sustentável.** Cnpab/Embrapa Seropédica rj. 1981.

DUTRA, G.M.; MAIA, M.de S.; OLIVEIRA, J.C.P. Efeito de época e densidade de semeadura na produção de matéria seca de *Adesmia latifolia* no ano de estabelecimento. In: **REUNIÃO DO GRUPO TÉCNICO EM FORRAGEIRAS DO CONE SUL ZONA CAMPOS**, 17, 1998, Lages. *Anais...* Lages: Epagri-UDESC, 1998. p.123-124.

Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) Acesso em outubro 2013. Disponivel em: http://www.epagri.sc.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=84

FILHO. B.D.O. **Rizóbios Eficientes em Lotus como Promotores de Crescimento em Arroz Irrigado.** Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2009.

FLARESSO, J.A.; ALMEIDA, E.X. Introdução e avaliação de forrageiras temperadas no alto vale do Itajaí, Santa Catarina. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.21, n.2., p.309-319, 1992.

FONTOURA, R.A. **Seleção de Rizóbios Nativos, de Solos do Rio Grande do Sul, para Lotus Glaber e Lótus Subbiflorus.** 2007. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2007.

FRANCO, A. A.; CAMPELLO, E. F. C.; DIAS, L. E.; FARIA, S. M. Use of nodulated and micorrhizal legume trees of revegetation of residues from bauxite mining. In: **INTERNATIONAL SIMPOSIUM ON SUSTAINABLE AGRICULTURE FOR THE TROPICS - THE ROLE OF BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION**, 1995, Angra dos Reis. Abstracts.Rio de Janeiro: Embrapa-CNPAB; UFRRJ; The Brazilian Academy of Sciences, 1995. p. 80-81.

FRIZZO, M. L. S. **Seleção e Caracterização de Rizóbios Nativos, de Solos do Rio Grande do Sul, para *Lotus Corniculatus* L. e *Lotus Uliginosus* Schkuhr.** 2007. 68 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo, Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2007.

HARRIS, C.A.; BLUMENTHAL, M.J.; SCOOT, J.M. Survey of use and management of *Lotus pedunculatus* cv. Grasslands Maku in eastern Australia. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.33, n.1, p.41-47, 1993.

JAMES, E.K.; CRAWFORD, R.M.M. Effect of Oxygen Availability on Nitrogen Fixation by Two *Lotus* Species Under Flooded Conditions. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, V.49, P. 549-609, 1998.

JAMES, E.K.; SPRENT, J.I. Development of N²-fixing nodules on the wetland legume *Lotus uliginosus* exposed to conditions of flooding. **New Phytologist, Lancaster**, v.142, p.219-231, 1999.

KOLLING, J. SCHOLLES, D. SELBACH, P.A. Seleção de estirpes de *Rhizobium* para trevo subterrâneo, alfafa e cornichão. **Agr. Sulriogr.** 19(2): 103-111. 1983.

LABANDERA, C. **Metodologias aplicadas a la evaluación de Rhizobios para inoculantes para leguminosas forrajeras em Uruguay.** Trabajos técnicos. Departamento de Microbiología de Suelos. Montevideo – Uruguay, 2004.

MANNETJE, L. Persistence de leguminosas forrajeras en pastures. In: **Reunião Latino Americana e Rhizobiologia**, 18., Santa Cruz de la Sierra, 1996. **Memorias.** Santa Cruz de La Sierra, 1996. p.31-41.

MAPA, **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.** Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/saude/2013/02/brasil-realiza-troca-de-arroz-para-ajuda-humanitaria-internacional>>. 2013. Acesso em outubro 2013.

MAROSO, R. P.; SCHEFFER-BASSO, S. M. Desenvolvimento morfológico de *Lotus* spp. de diferentes hábitos de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 6, p. 1961-1968, 2007.

MIOTTO, S.T.S.; LEITÃO FILHO, H.F. Leguminosae-Faboideae - Gênero *Adesmia* DC. **Boletim do Instituto de Biociências**, n.52, p.1-157, 1993.

MONTEIRO, I.D. **Teste de progênie de policruzamento de *Lótus uliginosus* Schkuhr**. 1981. Dissertação (Mestrado em Agronomia /Fitotecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1981. 118 p.

MONTEIRO, L.D.; PAIM, N.R. Teste de progênies de policruzamento de *elho uliginosus* I. Em mistura com azevem anual; II. Em linhas individuais e com a cultivar maku. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 10, p. 1483-1489. 1982.

MOREIRA, F.M.S. & SIQUEIRA, J.O.; **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2ª edição atualizada e ampliada. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729p.

MORGANTE, P.G. **Fixação biológica e assimilação de nitrogênio**. Disponível em: <<http://www.ciagri.usp.br/~lazaropp/FisioVegGrad/NetNitro.htm>>. 2006. Acesso em outubro 2013.

MUNIZ A. W. et al. **Seleção de estirpes de rizobio para *Adesmia Latifolia* (Spreng) Vogel**. Biotemas; 25(25):177-180. DOI:10.5007/2175-7925.2012v25n1p177. 01/2012.

NILTON.R. PAIM E J.RIBOLDI. **Pesq. Agropec. Bras., Brasília**, 26(10): 1699-1704, out. 1991.

PAIM, N.R.; RIBOLDI, J. Comparação entre espécies e cultivares do gênero *Lotus* **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, 26(10): 1699-1704, out. 1991.

ROSA, J.L. Manejo de *Adesmia tristis* em vasos em casa de vegetação. In: **REUNIÃO DO GRUPO TÉCNICO EM FORRAGEIRAS DO**

CONE SUL ZONA CAMPOS, 17, 1998, Lages. *Anais...Lages*: Epagri-UDESC, 1998. p.135.

ROSEGURT, B. Gramineas y leguminosas de Juan Jackson – Comportamiento en el campo y en cultivo. In: ROSENGURT, B. (Ed.) **Estudios sobre praderas naturales del Uruguay** – 5ª Contribución. Montevideo: Imprenta Rosgal, 1946. p.215-346. Citado do artigo scheffer-basso 2002

SCHEFFER-BASSO, S.M., CARNEIRO, C.M., VOSS, M. **Radical nodulation and biological nitrogen fixation in *Adesmiaaraujoi*Burk.**In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM - SUSTAINABLE AGRICULTURE FOR THE TROPICS: THE ROLE OF BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION, 1995, Angra dos Reis. *Proceedings...*Rio de Janeiro: CNPAB/UFRRJ/BAS. p.178-179. 1995.

SCHEFFER-BASSO, S.M.; JACQUES, A.V.A.; DALL'AGNOL, M. et al. Dinâmica da formação de gemas, folhas e hastes de espécies de *Adesmia* DC. e *Lotus* L. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1961-1968, 2000.

SCHEFFER-BASSO, S.M.; JACQUES, A.V.A.; DALL'AGNOL, M. et al. Disponibilidade e valor nutritivo de forragem de leguminosas nativas (*Adesmia* DC.) e exóticas (*Lotus* L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.975-982, 2001.

SCHEFFER-BASSO, S.M.; VOSS, M.; JACQUES, A.V.A. Nodulação e fixação biológica de nitrogênio de *Adesmia latifolia* e *Lotus corniculatus* em vasos de Leonard. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.687-693, 2001b.

SCHEFFER-BASSO, S.M.; VENDRÚSCOLO, M.C.; BARÉA, K. ET al. Comportamento de leguminosas (*Adesmia*, *Lotus*, *Trifolium*) em mistura com festuca (*Festuca arundinaceae*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.2197-2203, 2002a.

SCHEFFER-BASSO, S.M.; JACQUES, A.V.M.; DALL'AGNOL, M. Alocação da biomassa e correlações morfofisiológicas em leguminosas forrageiras com hábitos de crescimento contrastantes. **Scientia Agrícola**, v.59, p.629-634, 2002b.

SCHEFFER-BASSO, S.M.; VENDRÚSCOLO, M.C; CECCHETTI D. Desempenho de Leguminosas Nativas (*Adesmia*) e Exóticas (*Lotus*, *Trifolium*) em Função do Estádio Fenológico no Primeiro Corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.1871-1880, 2005

TEDESCO, M.J. et al. **Análise de solo, planta e outros materiais**. 2º ed., Porto Alegre: Departamento de Solos da UFRGS. 1995. 174 p.

VIEIRA.L.M. **Arroz em Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina 2009/2010**. Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina/ Centro de Sócio Economia e Planejamento Agrícola - EPAGRI/CEPA, Florianópolis, SC p. 46-59. 2010.