

Fixação Biológica do Nitrogênio em Centrosema em Solo de Cerrados

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - **EMBRAPA**
Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados - **CPAC**

FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO EM CENTROSEMA EM SOLO DE CERRADOS

Milton Alexandre T. Vargas
Iêda C. Mendes
Allert R. Suhet
José Roberto R. Peres

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - **EMBRAPA**
Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados - **CPAC**

Copyright © EMBRAPA-1993

Exemplares desta publicação podem ser solicitados ao:

CENTRO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DOS CERRADOS - CPAC

BR 020 - km 18 - Rodovia Brasília/Fortaleza CEP 73301-970

Caixa Postal 08223

Telefone: (061) 389-1171 Fax: (061) 389-2953

Tiragem: 200 exemplares

Editor: Comitê de Publicações

Darci Tércio Gomes, Eline Alves de Moraes, Jeanne Christine Claessen de Miranda, Leocádia Maria Rodrigues Mecnas (Secretária-Executiva), Lúcio José Vivaldi, Maria Alice Santos de Oliveira (Presidente), Maria Tereza Machado Teles Walter e Wilson Vieira Soares.

Normalização: Área de Informação do CPAC/Secretaria Executiva do Comitê de Publicações

Revisão gramatical:

Área de Transferência de Tecnologia - ATT

Composição e arte-final:

Secretaria Executiva do Comitê de Publicações

Capa: Jaime Arbués

VARGAS, M.A.T.; MENDES, I.C.; SUHET, A.R.; PERES, J.R.R. Fixação biológica do nitrogênio em centrosema em solo de cerrados. Planaltina : EMBRAPA-CPAC, 1993. 14p. (EMBRAPA-CPAC. Boletim de Pesquisa, 35).

1. Nitrogênio - Fixação biológica. 2. Solo - Cerrado. 3. Centrosema. 4. Solo - Microbiologia. I. Mendes, I.C. colab. II. Suhet, A.R. III. Peres, J.R.R., colab. IV. EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (Planaltina, DF). V. Título. VI. Série.

CDD 63146

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	6
INTRODUÇÃO	6
MATERIAL E MÉTODOS	7
RESULTADOS E DISCUSSÃO	8
CONCLUSÕES	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13

FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO EM CENTROSEMA EM SOLOS DE CERRADOS

Milton A.T. Vargas¹
Iêda C. Mendes²
Allert R. Suhet³
José R.R. Peres³

RESUMO - Objetivou-se neste trabalho a seleção de estirpes de *Bradyrhizobium* sp eficientes em *Centrosema macrocarpum*, uma leguminosa promissora nos Cerrados, mas que não se associa bem com as estirpes disponíveis, utilizadas em *C. pubescens*. No experimento de casa de vegetação, alguns dos híbridos de *C. pubescens* x *C. macrocarpum* associaram-se de forma eficiente com estirpes de *Bradyrhizobium* sp de *C. pubescens*, enquanto que estirpes isoladas de *C. macrocarpum* mostraram-se ineficientes na maioria dos híbridos estudados. No experimento de campo algumas estirpes isoladas de *C. macrocarpum* mostraram boa eficiência no híbrido 2510, destacando-se as estirpes CPAC-J34 e CPAC-J37. Os resultados indicam a possibilidade da seleção de híbridos de centrosema que possuam as boas características forrageiras de *C. macrocarpum* e capacidade simbiótica de *C. pubescens*.

¹ Eng.-Agr., Ph.D., EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC), Caixa Postal 08223, CEP 73.301-970, Planaltina, DF.

² Enga.-Agr., B.Sc., EMBRAPA-CPAC.

³ Eng.-Agr., M.Sc., EMBRAPA-CPAC.

ABSTRACT - This work was aimed to select *Bradyrhizobium* sp strains with high N₂-fixing efficiency with *Centrosema macrocarpum*, a legume with good forage potential in Cerrados but that does not establish efficient associations with the available rhizobial strains used for inoculating *C. pubescens*. In the greenhouse experiment, some hybrids of *C. pubescens* x *C. macrocarpum* established efficient associations with strains of *Bradyrhizobium* sp from *C. pubescens*, whereas strains isolated from *C. macrocarpum* were quite inefficient in most of the centrosema hybrids tested. In the field experiment, some strains isolated from *C. macrocarpum* had good N₂-fixing efficiency with the hybrid 2510, with strains CPAC-J34 and CPAC-J37 being the best ones in the experiment. Those results indicate the possibility for the selection of hybrids of centrosema which have the good forage characteristics of *C. macrocarpum* and good symbiotic characteristics of *C. pubescens*. The data also indicate the possibility for selection of *Bradyrhizobium* sp strains from *C. macrocarpum* with low host specificity.

INTRODUÇÃO

Algumas espécies de centrosema vêm se destacando dentre as leguminosas forrageiras mais promissoras para a região dos Cerrados. Esta leguminosa apresenta uma série de características desejáveis, tais como, persistência sob pastejo, relativa tolerância a deficiências hídricas, acidez do solo e toxidez de alumínio e manganês (Andrew & Hegarty, 1969; Souto & Dobereiner, 1969; Souto & Lucas, 1973) e teor mais elevado de proteínas em relação a outras leguminosas tropicais (Mattos & Werner, 1975).

A centrosema associa-se a algumas estirpes de *Bradyrhizobium* sp para poder utilizar o N atmosférico em sua nutrição. A formação dos nódulos radiculares, com essa associação, é afetada por uma série de fatores, destacando-se a especificidade entre genótipos de centrosema e microsimbiontes.

Date (1977), classificou a centrosema como pertencente ao grupo PI, definido como o de leguminosas que nodulam com um grande número de estirpes, mas que apresentam uma simbiose efetiva apenas com um número limitado delas. Bowen (1959) e Bowen & Kennedy (1961) observaram ser relativamente limitada a eficiência da inoculação cruzada entre espécies de

centrosema, ou seja, estirpes isoladas de uma espécie não apresentavam compatibilidade simbiótica com outras espécies.

Os solos de Cerrados apresentam uma alta população de *Bradyrhizobium* sp., capaz de associar-se de forma eficiente com um grande número de leguminosas forrageiras tropicais, exceto para algumas leguminosas como a centrosema e a leucena (Vargas et al. 1984). Em um trabalho conduzido em um solo de Cerrado, Vargas & Suhet (1980) observaram resposta à inoculação de *C. pubescens*, enquanto que outras cinco leguminosas forrageiras testadas formaram associações eficientes com rizóbios nativos do solo, e não apresentaram resposta à inoculação.

A *C. macrocarpum* vem se destacando como espécie promissora para os Cerrados, mas, apesar de nativa na região, apresenta-se quase sempre com baixa nodulação e não responde satisfatoriamente à inoculação com as estirpes disponíveis e eficientes em outras espécies de centrosema. Desta forma, partiu-se para o trabalho de isolamento e seleção de estirpes de *Bradyrhizobium* sp., a partir de nódulos de *C. macrocarpum*, assumindo-se que estirpes capazes de nodular essa espécie apresentariam baixa especificidade hospedeira, ou seja, seriam capazes de nodular também outras espécies de centrosema. Outra linha de trabalho consistiu do teste da eficiência fixadora de híbridos de *C. macrocarpum* x *C. pubescens*, promissores do ponto de vista forrageiro. Nessa última linha de pesquisa, partiu-se da hipótese de que tais híbridos poderiam apresentar, ao mesmo tempo, as características de eficiência simbiótica da *C. pubescens*, e o bom desempenho forrageiro nos Cerrados da *C. macrocarpum*.

MATERIAL E MÉTODOS

Experimento I

O experimento foi conduzido em vasos Leonard, com areia e vermiculita na proporção 2:1 e solução nutritiva esterilizada (Vincent, 1970). Foram testadas duas das estirpes atualmente recomendadas para centrosema (SEMIA 688 e SEMIA 690), e três estirpes isoladas de *C. macrocarpum* nos Cerrados (CPAC-J1, CPAC-J3 e CPAC-J10), inoculadas em *C. pubescens*, *C. macrocarpum* e seis híbridos dessas duas espécies: 83, 88, 100, 146, 151 152. No

início da floração, foram avaliados o peso e número de nódulos e o peso das plantas secas à 65°C.

Experimento II

O experimento foi conduzido num Latossolo Vermelho-Amarelo de textura média de Cerrados. A análise química indicou os seguintes valores: pH = 5,6; 0,35 meq Al^{+3} /100 g; 0,13 meq de $Ca^{+2} + Mg^{+2}$; 0,4 ppm de P e 34 ppm de K.

Foi aplicado 1,5 t/ha de calcário dolomítico (PRNT = 100%), 300 kg/ha da fórmula 0-20-20 e 30 kg/ha de FTE BR-12. Foram testadas as estirpes SEMIA 690, CIAT 2380 e cinco estirpes isoladas nos Cerrados: CPAC-J21, CPAC-J34, CPAC-J36, CPAC-J37 e CPAC-J39, inoculadas em *Centrosema* sp. 2510 (híbrido de *C. pubescens* x *C. macrocarpum*). Também foi incluído um tratamento com 50 kg N/ha (uréia) aplicados em duas doses de 25 kg/ha aos 61 e 90 dias após a semeadura. As parcelas tinham as dimensões de 5 x 4 m, sendo semeadas três sementes por cova espaçadas de 0,50 x 0,50 m. Após a emergência, foi efetuado o desbaste, deixando-se uma planta por cova. As avaliações foram efetuadas aos 98 dias (nodulação, atividade da nitrogenase e peso da parte aérea cortada a 10 cm do solo), e aos 344 dias (peso da parte aérea cortada a 10 cm do solo).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão apresentados os dados do experimento I, no qual as leguminosas testadas foram: *C. pubescens*, *C. macrocarpum* e alguns híbridos resultantes do cruzamento dessas duas espécies. As estirpes apresentaram grande especificidade hospedeira com as centrosemas estudadas, ou seja, houve estirpes que apresentaram uma boa nodulação e produção de matéria seca apenas em algumas espécies ou híbridos. Duas das estirpes recomendadas para *Centrosema* spp. (SEMIA 688 e SEMIA 690) foram as mais eficientes para a *C. pubescens* e para os híbridos 83, 100, 146, 151 e 152, mas de muito baixa eficiência para a *C. macrocarpum* e para o híbrido 88. Estes dados indicam que é possível selecionar os híbridos de *C. macrocarpum* que possuem características simbióticas semelhantes às da *C. pubescens*, o que viria simplificar o trabalho de seleção e recomendação de estirpes para *Centrosema* spp. Em trabalhos semelhantes, Sylvester-Bradley et al. (1990), demonstraram

que híbridos de *C. pubescens* e *C. macrocarpum* nodularam melhor do que a *C. macrocarpum* com os rizóbios nativos de um solo da Colômbia. Verificou-se que a seleção de três estirpes, a partir de isolados de nódulos de *C. macrocarpum*, para a inoculação nos híbridos derivados dessa espécie, mostrou-se insatisfatória. Apenas a estirpe CPAC-J10 mostrou-se eficiente em *C. macrocarpum* e no híbrido 88.

TABELA 1 - Resposta à inoculação de híbridos de *Centrosema pubescens* x *C. macrocarpum*. Dados por planta em média de quatro repetições.

Tratamento (hospedeiro e estirpe)	Nodulação		Matéria seca (g)
	Número	Peso (mg)	
<i>C. pubescens</i>			
SEMIA 688 + 690	131	587	4.7
CPAC-J1	49	44	0.5
CPAC-J3	40	117	1.3
CPAC-J10	36	59	0.8
<i>C. macrocarpum</i>			
SEMIA 688 + 690	39	243	1.8
CPAC-J1	40	243	2.8
CPAC-J3	41	258	2.9
CPAC-J10	74	376	3.9
Híbrido 083			
SEMIA 688 + 690	128	601	4.7
CPAC-J1	26	37	0.8
CPAC-J3	50	26	0.4
CPAC-J10	41	49	0.7
Híbrido 088			
SEMIA 688 + 690	89	380	3.2
CPAC-J1	103	823	9.9
CPAC-J3	124	680	6.6
CPAC-J10	114	927	10.1

TABELA 1 - Continuação.

Tratamento (hospedeiro e estirpe)	Nodulação		Matéria seca (g)
	Número	Peso (mg)	
Híbrido 100			
SEMIA 688 + 690	175	841	6.1
CPAC-J1	39	279	2.8
CPAC-J3	65	401	4.1
CPAC-J10	80	300	3.1
Híbrido 146			
SEMIA 688 + 690	144	810	3.8
CPAC-J1	47	13	0.9
CPAC-J3	25	75	0.5
CPAC-J10	40	30	0.5
Híbrido 151			
SEMIA 688 + 690	154	620	5.1
CPAC-J1	70	90	1.1
CPAC-J3	22	59	0.9
CPAC-J10	41	282	2.9
Híbrido 152			
SEMIA 688 + 690	87	458	3.9
CPAC-J1	18	80	1.1
CPAC-J3	46	146	1.9
CPAC-J10	47	124	1.5

Foi dada continuidade ao trabalho de isolamento e seleção de estirpes a partir de nódulos de *C. macrocarpum*, objetivando a obtenção de materiais com baixa especificidade hospedeira. Cinco dessas estirpes selecionadas foram testadas em um experimento de campo em *Centrosema* sp. 2510 (um híbrido de *C. macrocarpum* x *C. pubescens*). A baixa nodulação da testemunha (Tabela 2), demonstra a necessidade de inoculação da centrosema em solos de Cerrados, em concordância com os resultados encontrados por Vargas & Suhet (1980) e Vargas et al. (1984). A melhor estirpe em termos de nodulação e atividade da

nitrogenase foi a CPAC-J36, mas essa maior atividade não chegou a refletir de forma acentuada na produção de matéria seca e no nitrogênio total das plantas (Fig. 1). A mineralização do N orgânico do solo poderia ser uma explicação para este nivelamento, observado também no tratamento testemunha, que apresentou uma baixa nodulação. Ainda assim, no primeiro corte, efetuado aos 98 dias, as produções de matéria seca e nitrogênio total dos tratamentos inoculados com as estirpes CPAC-J37 e CPAC-J34 foram significativamente superiores ($P < 0,05$) às do tratamento testemunha e semelhantes à do tratamento adubado com 50 kg N/ha. A estirpe CPAC-J21 apresentou as menores produções de matéria seca e nitrogênio total na parte aérea, o que demonstra o seu baixo potencial em fixar N_2 . No segundo corte, efetuado aos 344 dias, não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis estudadas.

TABELA 2 - Efeito da inoculação e da adubação nitrogenada em *Centrosema* sp., híbrido 2510. Dados por planta em média de quatro repetições. Avaliação efetuada aos 88 dias.

Tratamento	Nodulação		Nitrogenase (moles/planta)
	Peso (mg)	Número	
Testemunha	3,2 de	2,4 bc	1,84 c
SEMIA 690	6,3 cd	2,8 b	2,08 c
CIAT 2380	22,2 bc	3,6 b	4,78 bc
CPAC J21	14,3 bc	3,8 b	5,38 bc
CPAC J36	38,7 a	11,5 a	16,56 a
CPAC J37	22,3 b	4,7 b	8,93 b
CPAC J34	12,5 bc	3,6 b	5,09 bc
CPAC J39	1,9 d	0,6 d	0,92 c
50 kg N/ha	0,1 e	0,3 d	0,07 c
CV (%)	45	39	80

Para análise estatística (teste de Duncan) os dados de nodulação foram transformados em $\sqrt{x+0,1}$. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Duncan.

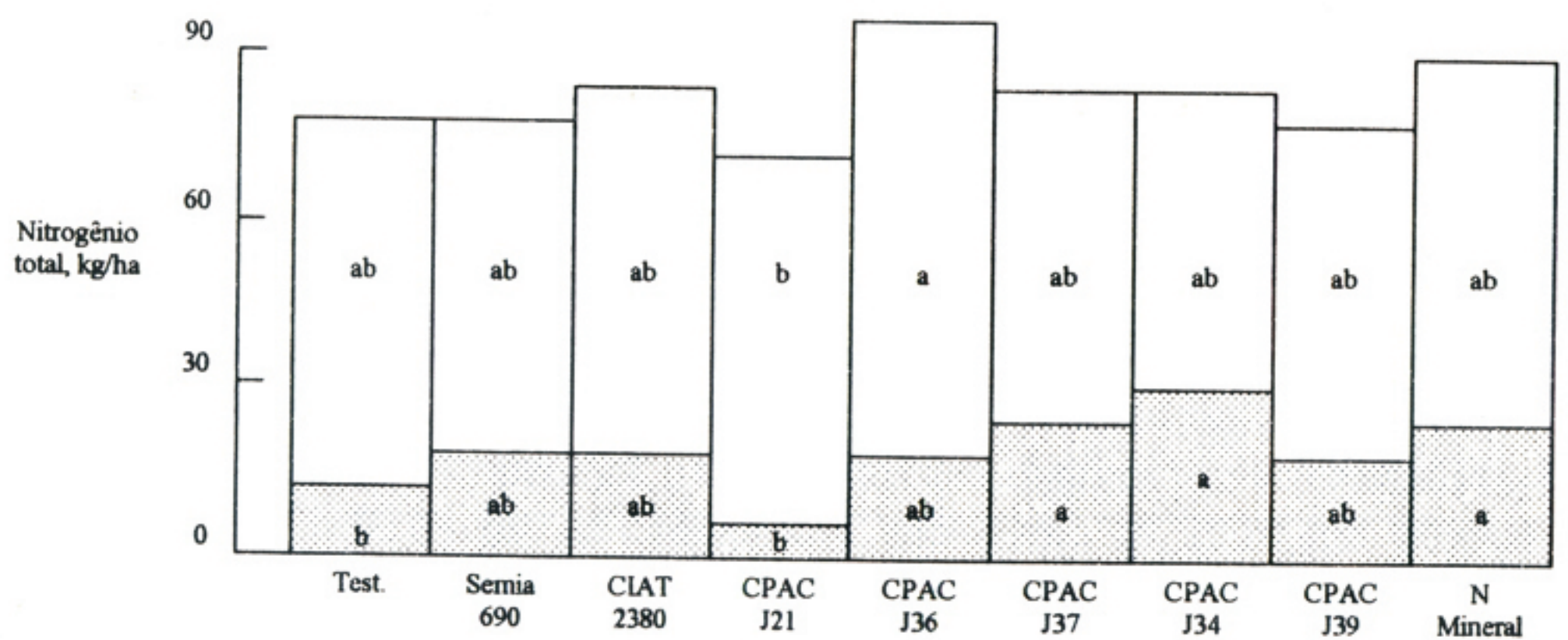
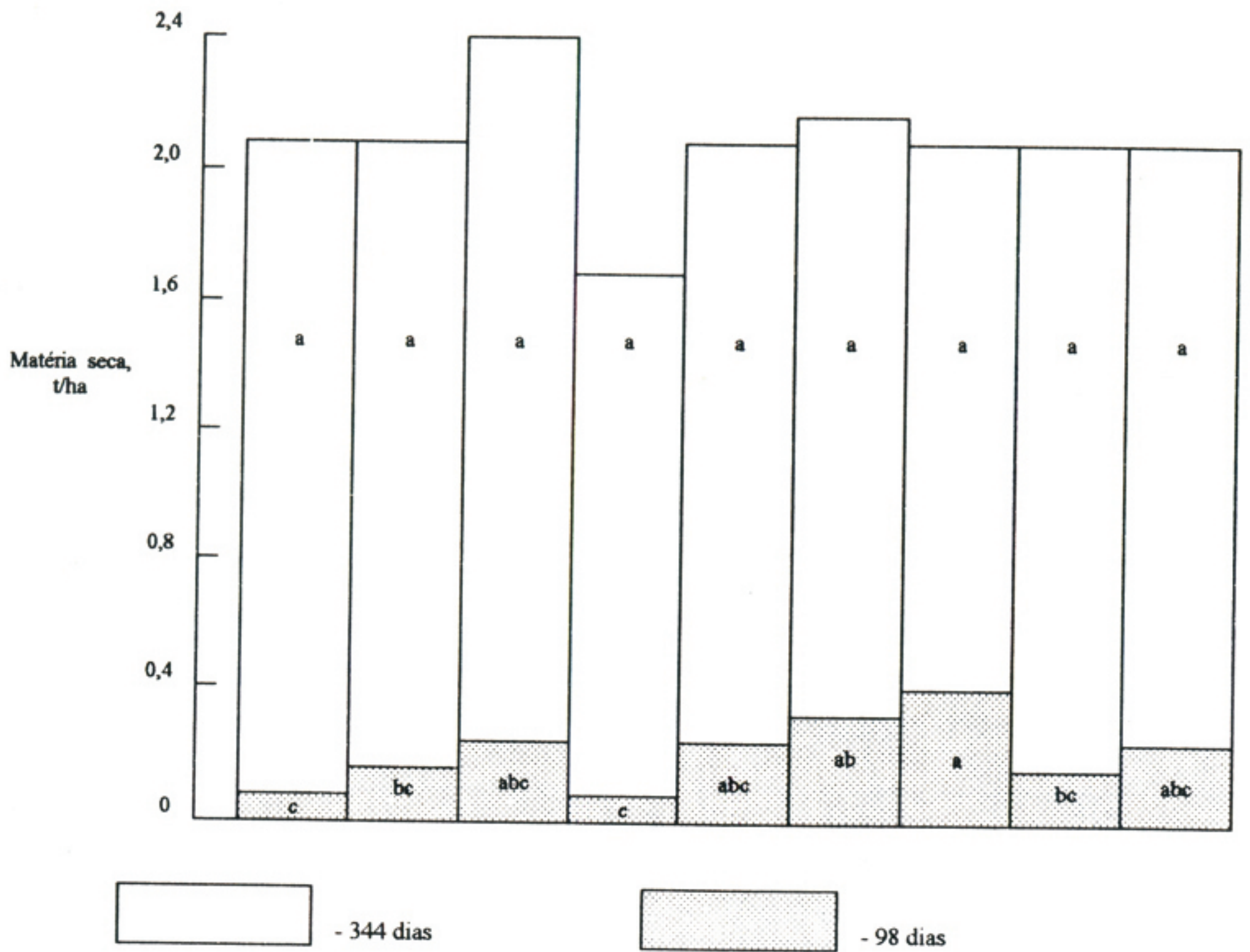


FIG. 1 - Efeito da inoculação e da adubação nitrogenada em *Centrosema* sp., híbrido 2510. Dados médios de quatro repetições.

CONCLUSÕES

- A seleção de híbridos de *C. macrocarpum* x *C. pubescens* permite a obtenção de plantas que possuam as boas características forrageiras da *C. macrocarpum* e simbióticas de *C. pubescens*.

- É possível selecionar estirpes de *Bradyrhizobium* sp. de baixa especificidade hospedeira, a partir de nódulos de *C. macrocarpum* formados com a população de bradirrizóbios nativa nos Cerrados.

- As estirpes CPAC-J34 e CPAC-J37 isoladas em *C. macrocarpum* destacaram-se em termos de eficiência fixadora de N₂ em relação às demais estirpes testadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREW, C.S.; HEGARTY, M.P. Comparative responses to manganese excess of eight tropical and four temperate legume species. **Aust. J. Agric. Res.**, v. 20, n. 4, p. 687-696, 1969.
- BOWEN, C.D. Specificity and nitrogen fixation in the *Rhizobium* symbiosis of *Centrosema pubescens*. **Queensl. J. Agric. Sci.**, v. 16, n. 4, p. 253-265, 1959.
- BOWEN, C.D.; KENNEDY, M.M. Heritable variation in nodulation of *Centrosema pubescens*. **Queensl. J. Agric. Sci.**, v. 18, p. 161-170, 1961.
- DATE, R.A. **Inoculation of tropical pasture legumes**. Hawaii: Univ. Coop. Ext., 1977. p. 299-311. (University Coop. Ext., Publ. Misc. 195).
- MATTOS, H.; WERNER, J.C. Competição entre cinco leguminosas de clima tropical. **Boletim da Indústria Animal**, v. 32, n. 2., p. 293-305, 1975.
- SYLVESTER-BRADLEY, R.; SOUTO, S.M.; DATE, R.A. Rhizosphere biology and nitrogen fixation of *Centrosema*. In: KRAFT, R.S.; CLEMENTS, R.J. *Centrosema: biology, agronomy and utilization*. Cali: CIAT, 1990. p. 151-174.
- SOUTO, S.M.; DOBEREINER, J. Toxidez de manganês em leguminosas forrageiras tropicais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, p. 129-138, 1969.
- SOUTO, S.M.; LUCAS, E.D. Avaliação preliminar no período seco de leguminosas forrageiras tropicais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, sér. Zoot., v. 8, p. 55-59, 1973.

- VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. Eficiência de inoculantes comerciais e estirpes nativas de *Rhizobium* para seis leguminosas forrageiras em um solo de Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 3, p. 357-362, 1980.
- VARGAS, M.A.T.; PERES, J.R.R.; SUHET, A.R. Fixação do N₂ por leguminosas forrageiras e de adubo verde em solos de Cerrado. In: FUNDAÇÃO CARGIL. **Adubação verde no Brasil**. Campinas: 1984, p. 50-63.
- VINCENT, J.M. A manual for the practical study of root-nodule bacteria. Oxford: Balckwell Scientific, 1970. 164p.

