

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**Programa de Pós-graduação em Agricultura Tropical**

**CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE  
NÓDULOS DE CAULE E RAIZ E COMPOSIÇÃO QUÍMICO-  
BROMATOLÓGICA DE *Discolobium* spp., LEGUMINOSA  
NATIVA DO PANTANAL MATO-GROSSENSE**

**NICOLAU ELIAS NETO**

**CUIABÁ – MT**

**2008**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**Programa de Pós-graduação em Agricultura Tropical**

**CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE  
NÓDULOS DE CAULE E RAIZ E COMPOSIÇÃO QUÍMICO-  
BROMATOLÓGICA DE *Discolobium* spp., LEGUMINOSA  
NATIVA DO PANTANAL MATO-GROSSENSE**

**NICOLAU ELIAS NETO**

**Eng.º Agrônomo**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. MARIA DE FÁTIMA LOUREIRO**

**Co-orientador: Prof.º Drº. JOADIL GONÇALVES DE ABREU**

**Tese apresentada à Faculdade  
de Agronomia e Medicina  
Veterinária da Universidade  
Federal de Mato Grosso, para  
obtenção do título de Doutor  
em Agricultura Tropical**

**C U I A B Á – MT**

**2008**

## FICHA CATALOGRÁFICA

E42c Elias Neto, Nicolau

Caracterização de bactérias isoladas de nódulos de caule e raiz e composição químico-bromatológica de *Discolobium* spp., leguminosa nativa do Pantanal mato-grossense / Nicolau Elias Neto. – 2008.

94p. : il. ; color. ; 30 cm.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Pós-graduação em Agricultura Tropical, 2008.

“Orientação: Prof<sup>a</sup>. Ph.D. Maria de Fátima Loureiro”.

“Co-orientação: Prof. Dr. Joadil Gonçalves de Abreu”.

CDU – 633.31/.37-2.35

Ficha elaborada por: Rosângela Aparecida Vicente  
Söhn – CRB 1/931

### Índice para Catálogo Sistemático

1. Leguminosas – Plantas forrageiras – Agricultura
2. Leguminosa nativa – Pantanal mato-grossense
3. Leguminosa – Composição químico-bromatológica
4. Leguminosa – Bactérias isoladas
5. Leguminosa – Caule – Nodulação
6. Leguminosa – Raiz – Nodulação
7. Leguminosa – Proteína bruta
8. *Discolobium* spp.

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**Título:** CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE NÓDULOS DE CAULE E RAIZ E COMPOSIÇÃO QUÍMICO-BROMATOLÓGICA EM *Discolobium* spp., LEGUMINOSA NATIVA DO PANTANAL MATO-GROSSENSE

**Autor:** NICOLAU ELIAS NETO


**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. MARIA DE FÁTIMA LOUREIRO

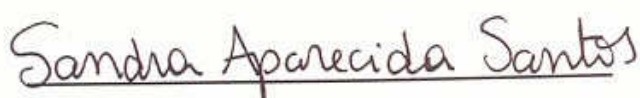
**Co-orientador:** Prof.<sup>o</sup> Dr.<sup>o</sup> JOADIL GONÇALVES DE ABREU

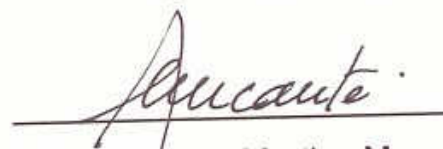
Aprovado em 15 de dezembro de 2008.

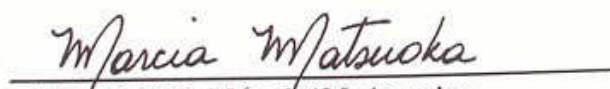
Comissão Examinadora:

  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Maria de Fátima Loureiro  
(FAMEV/UFMT)  
(Orientadora)

  
Prof.<sup>o</sup>. Dr.<sup>o</sup>. Joadil Gonçalves de Abreu  
( FAMEV/UFMT)  
(Co-orientador)

  
Dr.<sup>a</sup>. Sandra Aparecida Santos  
(Embrapa Pantanal)  
(Membro)

  
Dr.<sup>o</sup>. Fábio Martins Mercante  
(Embrapa Agropecuária Oeste)  
(Membro)

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Márcia Matsuoka  
(UFMT) (Membro)

Olha lá o meu pai, com as mãos calejadas, perdendo o seu resto de vida  
no cabo da enxada.  
Eu não queria que fosse assim, pra mim seria tudo diferente, queria ter  
meu pai na cidade, morando alegre junto da gente.  
De que vale ter diploma, ter conforto, ter de tudo, se eu não posso ter  
em casa ele que me pôs no mundo.  
Estudei por tantos anos para tirá-lo dali, meu esforço foi em vão.  
Porque ele não quer vir.  
Quando é de manhãzinha, que o dia vem chegando, ele escuta seu  
despertador, no poleiro cantando.  
Ele chama seu melhor amigo, que sai latindo e correndo na frente.  
E vem pro trabalho pesado, aqui debaixo deste sol ardente.  
Nesse carro eu me vejo, bem vestido e perfumado.  
Sofro tanto vendo ele de suor todo molhado.  
Olha a condução do velho, numa corda amarrada.  
Olha a geladeira dele lá na sombra encostada.  
Quando é de tardezinha vai pra sua casinha  
Comer seu feijão com arroz feito no fogão a lenha.  
E na sua poltrona de angico ele vai sentar comovido  
E na tela maior do mundo ele contempla seu filme preferido.  
Na televisão do velho, não tem filmes de bandidos  
Não tem filmes policiais e nem filmes proibidos.  
No canal do infinito sua tv é ligada  
Só aparecem as estrelas e a lua prateada

Olha lá o meu pai...

Música: Eu e meu Pai  
(Zezé di Camargo e Luciano)

Não pare jamais de trabalhar para o bem!  
Cada vez que paramos, nossa alma começa a ficar na rigidez cadavérica.  
A alma inativa morre de tédio e cansaço.  
Não deixe que seu espírito se enfraqueça na inanição.  
Viva alegre e entusiasta e empregue todas as suas forças na plantação do  
bem, do amor, do carinho no coração daqueles que o cercam na vida.

Carlos Torres Pastorino

À minha esposa Fátima, meus pais Fued e Zuca, minha irmã Ivone e aos  
amigos verdadeiros, pela ajuda, confiança e incentivo em todos os  
momentos.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Mato Grosso e à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, pela oportunidade de realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria de Fátima Loureiro, pela orientação recebida e amizade, estímulo e confiança em mim depositados.

Ao Prof. Dr. Joadil Gonçalves de Abreu, pela ajuda, crítica e sugestões, que auxiliaram de forma grandiosa na realização do trabalho.

À Coordenação do programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical e aos professores pelos ensinamentos e experiências transmitidas no decorrer do curso.

Aos professores e pesquisadores que participaram da banca de avaliação: Dr. Fábio Martins Mercante, Dr<sup>ª</sup>. Márcia Matsuoka Rosa e Dr<sup>ª</sup>. Sandra Aparecida Santos.

Aos amigos e colegas da Pós-graduação em Agricultura Tropical, principalmente Lízia Campos, Tatiane Alves, Frank Eduardo e Cláudio Toledo, pela ajuda e companheirismo em vários momentos.

Ao Engenheiro Agrônomo João Batista Ramos, responsável pelo viveiro, onde realizamos vários trabalhos.

À Prof<sup>ª</sup>. Daniela e às amigas Lisabete, Noraci e Glória, às bolsistas PIBIC Daniele e Maíra e estagiárias Cláudia e Gracyele, pela ajuda nas análises no Laboratório de Microbiologia do Solo.

Às amigas Maria e Denise, secretárias que sempre estiveram prontas para qualquer tipo de ajuda.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa-Pantanal e ao CPP - Centro de Pesquisas do Pantanal.

Aos proprietários e funcionários da Fazenda Campo Largo em Poconé - MT, onde foram feitas coletas, pela acolhida e aceite da nossa constante presença.

Ao Prof. Aluísio Brígido Borba Filho, pelas sugestões e empréstimo de materiais do Laboratório de Fitotecnia.

A todos que, de forma direta ou indireta, nos auxiliaram na realização deste trabalho.



## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>
Capítulo 2	
1. Localização dos sítios de coleta na sub-região Poconé, MT, utilizados para as coletas durante as épocas de cheia, meia-estação e seca no ano de 2007.	45
2. Reação ao pH do meio de crescimento (a) e produção de muco (b) em nódulos caulinares e radiculares em <i>Discolobium</i> spp., coletados na sub-região Poconé, Pantanal, MT (janeiro a agosto de 2007).	50
3. Diversidade encontrada em três sítios do Pantanal de Poconé, MT, de bactérias isoladas de nódulos de caule e raiz e índices de diversidade Shannon (H), de riqueza de Margalef (Mng) e eqüitabilidade de Pielou (J).	53
4. Nodulação de caule e raízes em três sítios de coleta na sub-região Poconé, Pantanal, MT: Rio Claro (RC); Posto Fiscal (PF) e Ponto Barara (PBa) durante a cheia (jan-fev), vazante (abril-maio) e seca (julho-agosto) em plantas de <i>Discolobium</i> spp.	55

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>
Capítulo 3	
1. Composição bromatológica média em folhas e caules de <i>Discolobium</i> spp, em três sítios de coleta na sub-região Poconé, Pantanal de Mato Grosso, coletados nas épocas cheia e início da seca no ano de 2007.	69
2. Composição média de macrominerais nas folhas e caules de <i>Discolobium</i> spp, em três sítios de coleta na sub-região Poconé, Pantanal de Mato Grosso, coletados nas épocas cheia e início da seca no ano de 2007.	74
3. Composição média de microminerais nas folhas e caules de <i>Discolobium</i> spp, em três sítios de coleta na sub-região Poconé, Pantanal de Mato Grosso, coletados nas épocas cheia e início da seca no ano de 2007.	75

## LISTA DE TABELAS

	<b>Página</b>
Capítulo 2	
1. Localização, altura de lâmina d'água, persistência da inundação, concentração de plantas e nodulação em três sítios de coleta na sub-região Poconé, Pantanal, MT, em janeiro de 2007.	47
2. Características químicas e físicas dos solos em sítios de coleta de <i>Discolobium</i> spp. na profundidade de 0-20 cm, sub-região Poconé, Pantanal, MT.	47
3. Diversidade encontrada em três sítios do Pantanal de Poconé, MT, de bactérias isoladas de nódulos de caule e raiz e índices de diversidade Shannon (H), de riqueza de Margalef (Mng) e eqüitabilidade de Pielou (J).	51
Capítulo 3	
1. Localização, altura de lâmina d'água, persistência da inundação, densidade de plantas de <i>Discolobium</i> spp. e nodulação em três sítios de coleta na sub-região Poconé, Pantanal MT, em janeiro de 2007.	67
2. Características químicas e físicas dos sítios de coleta na profundidade de 0-20 cm, localizadas na sub-região Poconé, Pantanal, MT.	67

## CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE NÓDULOS DE CAULE E RAIZ E COMPOSIÇÃO QUÍMICO-BROMATOLÓGICA DE *Discolobium* spp., LEGUMINOSA NATIVA DO PANTANAL MATO-GROSSENSE

**Resumo** - As leguminosas do gênero *Discolobium* fazem parte da dieta alimentar de herbívoros nativos e bovinos no Pantanal mato-grossense, devido à sua alta palatabilidade e qualidade. Estas apresentam nódulos na raiz e, no caule em épocas de alagamento. Este trabalho objetivou avaliar a qualidade bromatológica desta leguminosa e caracterizar as bactérias presentes em nódulos, sua diversidade e o comportamento da nodulação em função dos períodos de cheia e seca. Foram coletadas plantas e nódulos de raiz e caule em três sítios do Pantanal de Poconé, MT. Esses locais diferenciam-se em termos de tempo de alagamento, constituição física do solo e presença de nodulação caulinar e radicular. Foram determinados os teores de proteína bruta (PB), matéria seca (MS), fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN), lignina (Lg), nutrientes digestíveis totais (NDT) e macros e micronutrientes na folha e caule das plantas, na época cheia e início da seca. Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 3 (locais) x 2 partes da planta (caule e folha), com dez repetições. Observou-se a presença de 21 morfoespécies de isolados bacterianos nos nódulos de caule e 16 morfoespécies de isolados bacterianos nos nódulos de raízes. Alto percentual dos isolados, em meio de cultura, acidificaram o meio e poucos o alcalinizaram ou não alteram o pH. Produziram grande quantidade de muco. Ocorreu também, maior diversidade e riqueza de isolados em nódulos caulinares em locais com maior tempo de alagamento. O tipo de nodulação, caulinar ou radicular, é dependente da época do ano e em severo estresse hídrico a planta deixou de nodular. Não houve efeito dos níveis de nodulação no teor de proteína bruta, sendo este teor maior na época seca. Os teores de nutrientes observados nas folhas foram superiores aos observados no caule, nos três

locais e nas duas épocas. Os valores da composição da parede celular (FDA, FDN e Lg) foram maiores no caule do que na folha. O teor de P nas folhas está próximo do nível mínimo de exigências para diversas categorias de bovinos. O teor de K somente é suficiente para as exigências de bovinos durante o início do período seco e nas folhas. Os valores médios de proteína bruta, P, K e Ca nas folhas no início da época seca foram superiores aos encontrados na época cheia. A planta é deficiente em Na, Zn no caule e pode ocorrer toxidez por excesso de Fe nas folhas.

**Palavras-chave:** fixação biológica de nitrogênio, nodulação, forrageira nativa, proteína bruta, *Discolobium* spp.

## **CHARACTERIZATION OF BACTERIA ISOLATED FROM STEM AND ROOT NODULES AND CHEMICAL/NUTRITIONAL COMPOSITION OF *Discolobium* spp., A LEGUME NATIVE TO THE MATO GROSSO WETLANDS**

**Abstract** - Legumes in the genus *Discolobium* are part of the diet of native herbivores and bovines in the Mato Grosso Pantanal (wetlands), due to their high palatability and quality. These plants have root nodules, which can also be seen on the stems during flooding seasons. This study aimed to evaluate the nutritional quality of this legume and characterize the bacteria found in its nodules, their diversity, and nodulation behavior during the flood and drought periods. Both plants and root and stem nodules were collected from three sites at Pantanal of Poconé, MT, Brazil. The sites are different in terms of their flooding times, soil physical makeups, and the presence of stem and root nodulations. Crude protein (CP), dry matter (DM), acid detergent fiber (ADF), neutral detergent fiber (NDF), lignin (Lg), total digestible nutrients (TDN), and macro and micronutrients contents were determined for leaves

and stems, both in the flood and in the beginning of the drought season. A completely randomized design was adopted, organized as a 3 x 2 factorial combination (3 locations and 2 plant parts: stems and leaves), with ten replicates. The presence of 21 morphospecies of bacterial isolates was observed in stem nodules, in addition to 16 morphospecies of bacterial isolates in root nodules. A high percentage of isolates in culture medium acidified the medium and only a few of them made the medium alkaline or left the pH unchanged. Large quantities of mucus were produced. Greater diversity and richness of isolates in stem nodules were observed in sites with longer flooding times. The type of nodulation (stem or root nodules) depends on the season of the year. Under severe water stress the plants stopped producing nodules. No effect of nodulation levels was observed on crude protein content, which was higher during the dry season. Nutrients contents in the leaves were higher than those observed in the stem for the three locations and in both seasons. Cell wall composition values (ADF, NDF, and Lg) were higher in the stem than in the leaves. Leaf P contents were close to the minimum requirement levels for various categories of bovines. K contents met bovine requirements only in the beginning of the dry period and in the leaves. Mean crude protein, P, K, and Ca values in the leaves in the beginning of the dry season were higher than those found during the flood season. The plant is deficient in Na, and deficient in Zn in the stem, while leaf toxicity may occur due to excess Fe.

**Keywords:** biological nitrogen fixation, nodulation, native forage, crude protein, *Discolobium* spp.

## SUMÁRIO

	Página
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	15
1.1. Caracterização do Pantanal mato-grossense.....	15
1.2. Caracterização do gênero <i>Discolobium</i> .....	18
1.2.1. Características Gerais.....	18
1.2.2. A Fixação biológica do nitrogênio.....	19
1.2.3. Nodulação do caule em leguminosas.....	23
1.3. Minerais em plantas forrageiras.....	27
1.4. Qualidade das leguminosas.....	29
1.5. Objetivos.....	31
1.6. Referências Bibliográficas.....	32
<b>2. CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE NÓDULOS DE CAULE RAIZ EM <i>Discolobium</i> spp., LEGUMINOSA NATIVA DO PANTANAL MATO-GROSSENSE</b> .....	41
RESUMO.....	41
ABSTRACT.....	42
2.1. Introdução.....	43
2.2. Objetivo.....	44

2.3. Material e Métodos.....	44
2.3.1. Seleção dos locais de coleta.....	44
2.3.2. Coleta dos nódulos.....	48
2.3.3. Isolamento e caracterização das estirpes de rizóbio.....	48
2.4. Resultados e Discussão.....	49
2.5. Conclusões.....	57
2.6. Referências Bibliográficas.....	57
<b>3. COMPOSIÇÃO QUÍMICO-BROMATOLÓGICA DE <i>Discolobium</i> spp.; EM TRÊS SÍTIOS DE COLETA NA SUB-REGIÃO DE POCONÉ, PANTANAL, MT.....</b>	<b>61</b>
RESUMO.....	61
ABSTRACT.....	62
3.1. Introdução.....	63
3.2. Material e Métodos.....	65
3.3. Resultados e Discussão.....	68
3.4. Conclusões.....	78
3.5. Referências Bibliográficas.....	79
<b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>85</b>
<b>5. APÊNDICES.....</b>	<b>86</b>



## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1. Caracterização do Pantanal mato-grossense**

O Pantanal está localizado na região Centro-Oeste do Brasil. A região está inserida na Bacia do Alto Paraguai, entre as latitudes 15° 30' e 22° 30' Sul e longitudes 54° 45' e 58° 30' Oeste. A Bacia do Alto Paraguai no Brasil é quantificada em 361.666 km<sup>2</sup> e o Pantanal no Brasil em 138.183 km<sup>2</sup>, ocupando 38,21% da área da Bacia. Da área total do Pantanal, 48.865 km<sup>2</sup> (35,36%) estão em Mato Grosso e 89.318 km<sup>2</sup> (64,64%) em Mato Grosso do Sul, tornando o Pantanal a maior planície inundável da Terra (Silva et al., 1998).

O Pantanal é limitado ao norte pelas formações mais meridionais da Floresta Amazônica, a leste, pelos cerrados do Planalto Central-brasileiro, a oeste, pelas Florestas da fronteira Boliviano-paraguaia e ao sul, pelas Florestas Chaquenhãs, já na fronteira com o Paraguai (Silva e Abdon, 1998).

Desde o Município de Cáceres, extremo oeste, até o Rio Apa, extremo sul, percorre-se cerca de 680 km em linha reta, sendo que a maior distância no sentido leste-oeste atinge cerca de 300 km. No Estado de Mato Grosso, os principais municípios com áreas situadas dentro dos limites do Pantanal são: Poconé, Cáceres, Barão de Melgaço, Santo Antônio de Leverger e Nossa Senhora do Livramento. No Estado de Mato Grosso do Sul, incluem-se os municípios de Corumbá, Ladário, Rio Verde de Mato Grosso, Coxim, Miranda e Aquidauana (Allen e Valls, 1987; Silva e Abdon, 1998).

A alternância de períodos de seca e de cheia anual, também chamada de pulso de inundação, é um dos fatores que regem a biodiversidade do Pantanal, pois ora favorece as espécies relacionadas à fase cheia e outra as da fase seca. Por se tratar de uma zona de transição entre sistemas terrestres e aquáticos, o Pantanal pode ser classificado como um grande ecótono, que é uma região de alta produtividade e alta diversidade ecológica (EMBRAPA/CPAP, 1996).

A inundação é um fenômeno ecológico fundamental, porém, limitado no espaço e no tempo. No espaço, porque a partir do Centro para o Leste as inundações são localizadas, de curta duração e de baixa altura, salvo nas linhas de drenagem. Do Centro para o Oeste, a abrangência geográfica das inundações aumenta, assim como também a altura e duração. No tempo, porque das áreas inundadas, algumas, como o vale do Rio Paraguai, ainda estão num ciclo no qual passam inundadas a maior parte do ano, enquanto outras oscilam entre dois e seis meses inundadas, outras ficam inundadas um curto período depois de chuvas fortes e outras não inundam, nem nas piores enchentes (Zeilhofer e Schessl, 1999).

O relevo é praticamente plano, com declividade quase nula, de apenas 0,7 a 5 cm/km no sentido norte-sul e entre 7 a 50 cm/km no sentido leste-oeste. A menor declividade no sentido norte-sul provoca, à princípio, um barramento no escoamento do Rio Paraguai e o conseqüente alagamento da área (EMBRAPA/CPAP, 1996). As diferenças altimétricas são bem acentuadas, enquanto na planície do Pantanal as altitudes estão entre 80 e 150 m, as áreas mais altas dos planaltos e serras circunvizinhas oscilam entre 800 e 1200 m (Silva e Abdon, 1998).

Os solos do Pantanal são, de uma maneira geral, mais argilosos, com depósitos aluviais mais arenosos. Quanto à fertilidade, os solos são relativamente pobres, quando comparados aos solos de outras regiões do país (Amaral Filho, 1986).

O fator climático do Pantanal Mato-Grossense está relacionado com o clima na Bacia do Alto Paraguai, sendo o resultado da localização geográfica tropical, do relevo e de esporádicas massas de ar frio do Sul do País.

Segundo a classificação de Köppen, o tipo climático é o AW – clima quente e úmido, com estação chuvosa no verão e estiagem no inverno (Zeilhofer e Schessl, 1999).

Na região de Poconé, a vegetação apresenta-se com formações distintas, desde campo inundado (16,8%), brejo (14,8%), cerradão (12,9%), mata semi-decídua (12,6%), campo seco (9,9%), cerrado (7,9%), cambarazal (6,4%), mata de galeria (4,3%), baceiro ou batume (3,4%), pirizal (2,2%), canjiqueiral (1,3%), carandazal (0,8%), paratudal (0,3%), babaçual (0,06%) e outros (2,1%) (Silva et al., 2000).

Há 1.863 espécies de plantas no Pantanal (pertencentes a 774 gêneros e 136 famílias) e três famílias com maior número de espécies, nas quais estão as mais importantes plantas forrageiras: Leguminosae (240 espécies), Gramineae (212 espécies) e Ciperaceae (92 espécies) (Santos, 2001). Entre as leguminosas com potencial de uso como forrageira, tanto na fase alagada como na fase seca, encontram-se várias espécies, como *Aeschynomene* spp., *Arachis* spp., *Discolobium* spp., *Dolichopsis paraguariensis*, *Galactia* sp., *Rhynchosia mínima*, *Teramnus volubilis* e *Vigna luteola* (Pott, 1988; Santos et al., 2004a).

Dentre as leguminosas do gênero *Discolobium*, citam-se quatro espécies: *D. pulchellum* (Allen e Valls, 1987; Pott, 1988; Loureiro, 1994; Loureiro et al., 1996), *D. psoraleaefolium* (Loureiro, 1994; EMBRAPA/CPAP, 1996) e *D. leptophyllum* (Pott, 1988; James et al., 2001) e *Discolobium* sp. (Elias Neto, 2004). São altamente adaptáveis aos ambientes de baixos níveis de nutrientes e/ou alagamento, além de constituírem-se em uma singularidade entre as plantas forrageiras, pois mantêm simbiose com bactérias conhecidas por rizóbio, que transformam o nitrogênio do ar em compostos nitrogenados que são assimiláveis pela planta (Loureiro et al., 1994; James et al., 2001).

A atividade pecuária e o ambiente do Pantanal estão bastante relacionados, pois as pastagens são quase na totalidade nativas sendo utilizadas na exploração da bovinocultura de corte extensiva há mais de dois séculos (Pott e Comastri Filho, 1995). Existe ainda uma grande dependência

com a sazonalidade, pois a disponibilidade de pastagens varia de acordo com o ciclo de cheia e seca da região (Pozer e Nogueira, 2004). Os criadores pantaneiros utilizam os pastos nativos de duas formas: a primeira e mais usual é o gado permanecer durante o ano todo na área; na segunda, o pastejo ocorre somente durante a fase seca, sendo o gado retirado na iminência da enchente; esta forma é mais utilizada na sub-região de Poconé. Na segunda forma de manejo, alguns criadores possuem duas propriedades, uma na planície e outra na parte alta, podendo fazer manejo integrado para contornar os períodos críticos de oferta de forragem (Pott e Pott, 1994).

O rebanho bovino no Alto Pantanal é estimado em 1.597.607 cabeças e no Município de Poconé em 403.935 cabeças (Anuário Estatístico de Mato Grosso, 2007).

As áreas que sofrem inundação (bordas de lagoas, lagoas temporárias, vazantes, campo limpo e parte de campo cerrado) são as que possuem maior fonte de forragem para os herbívoros. Portanto, o contraste existente entre as unidades do mesorelevo tem sido importante para assegurar a presença de áreas não alagáveis na região, proporcionando alimento para o rebanho. Relativa abundância de forragem é observada na estação das águas (outubro a dezembro) e no final da inundação (abril a junho), sendo que o superpastejo é observado nas partes baixas, de julho a outubro (Comastri Filho, 1984).

## **1.2. CARACTERIZAÇÃO DO GÊNERO *Discolobium***

### **1.2.1. Características gerais**

O gênero *Discolobium* possui oito espécies, todas hidrófitas, pertencente à família *Leguminosae*, subfamília *Papilionoideae*, tribo *Aeschynomeneae* (Allen e Allen, 1981). Apresentam grande distribuição no Pantanal mato-grossense, no Paraguai e Argentina (Rudd, 1981). São arbustos aquáticos emergentes, perenes, com 1 a 4 m de altura, parte basal do caule engrossada, esponjosa, a parte aérea renovada na estação chuvosa. A floração ocorre quase todo o ano, mas com grande concentração

nos meses de janeiro a março (Elias Neto et al., 2008). É conhecida popularmente como cortiça ou pau-fofo, ocorrendo com grande abundância nas planícies de inundação dos rios Paraguai, Negro, Abobral e Nabileque. Destaca-se pela presença de flores amarelas, sendo consumido, devido seu alto teor de proteína bruta, por peixes, animais silvestres e bovinos, onde o nível de alagamento permite o acesso dos animais, (Pott, 1988; EMBRAPA/CPAP, 1996; Loureiro et al; 2007).

Apresenta capacidade de nodular o caule, além da nodulação radicular, onde ocorre a simbiose comum entre as leguminosas. A nodulação caulinar é bem marcante durante a fase em que as plantas estão sob inundação, sendo tal característica encontrada em várias espécies do gênero (Loureiro et al., 1994; James et al., 2001). Propaga-se por sementes e por estaquia de ramos de porções medianas e basais do caule (Elias Neto, 2004).

### **1.2.2. Fixação biológica do nitrogênio**

O nitrogênio é o quarto elemento mais abundante nas plantas, sendo superado apenas pelo carbono, oxigênio e hidrogênio. É constituinte dos aminoácidos, proteínas, bases nitrogenadas, ácidos nucléicos, hormônios e clorofila, entre outras moléculas. A maioria das plantas obtém o nitrogênio do solo sob a forma de íon nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), havendo algumas que o absorvem sob a forma de íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) (Power e Peterson, 1998).

O nitrogênio pode ser um nutriente crítico para as plantas porque sua disponibilidade no solo é limitada e, ainda é utilizado pelos microrganismos que habitam esse solo. Cerca de 78% da constituição gasosa da atmosfera é formada por nitrogênio molecular ou dinitrogênio ( $\text{N}_2$ ). No entanto, os organismos eucariontes são incapazes de absorver o  $\text{N}_2$  e convertê-lo a uma forma assimilável. Assim, o  $\text{N}_2$  move-se para dentro da planta através dos estômatos, saindo logo em seguida, sem que possa ser utilizado (Hungria e Vargas, 2000).

A fixação industrial do  $\text{N}_2$ , chamada de processo de Haber-Bosch, utiliza temperaturas em torno de 400-600°C e pressões em torno de 100-200

atm, sendo dispendiosa do ponto de vista energético. A fixação biológica do  $N_2$  ocorre graças a uma enzima, denominada nitrogenase, presente apenas em alguns organismos procariontes. Do ponto de vista energético, ela também é dispendiosa para o organismo que a realiza. No entanto, devido à presença desse sistema enzimático, a reação pode ocorrer à temperatura ambiente e pressão atmosférica (Kent e Triplett, 2002; Goormachting et al., 2004).

Informações sobre a quantidade de N acumulado por diferentes leguminosas que nodulam o caule em diversos ambientes e solos foram registrados por diversos autores (Rinaudo et al., 1983; Dreyfus et al., 1984; Crozart e Sangchyo-Sawat, 1985; Alazard e Becker, 1987; Rinaudo et al., 1988; Ladha et al., 1989). Eaglesham e Szalay (1983) relataram atividades superiores a  $160 \mu\text{mol C}_2\text{H}_2 \text{ C}_2\text{H}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{planta}^{-1}$  de parte aérea de *Aeschynomene scabra*. Alazard e Duhouz (1987) registraram atividade de cerca de  $187 \mu\text{mol C}_2\text{H}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{planta}^{-1}$  em porções do caule de *Aeschynomene afraspera*. Dreyfus et al. (1985) relataram atividade da nitrogenase de cerca de  $600 \mu\text{mol C}_2\text{H}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{planta}^{-1}$  em *Sesbania rostrata*, com três meses, cultivada no campo, sendo a maior parte da atividade da nitrogenase atribuída aos nódulos do caule e correspondendo aos mais altos níveis já relatados para a simbiose leguminosa-rizóbio.

A partir do início de estabelecimento do nódulo radicular, as bactérias, que se encontram dentro das células radiculares hospedeiras, param de se multiplicar, aumentam de tamanho e sofrem várias alterações bioquímicas para se transformarem em bactérias especializadas na fixação de nitrogênio, os bacteróides. Para diferenciar as duas fases da vida desses microrganismos, convencionou-se que o nome bactéria seria utilizado enquanto não ocorressem as transformações bioquímicas que iniciam o processo de fixação de nitrogênio (Pons et al., 2007).

Essas bactérias fixadoras conhecidas por rizóbios foram classificadas em uma família, dois gêneros e seis espécies (Jordan, 1984) e, hoje, estão definidas quatro famílias (*Bradyrhizobiaceae*, *Hyphomicrobiaceae*, *Phyllobacteriaceae*, *Rhizobiaceae*), seis gêneros (*Allorhizobium*,

*Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium* e *Sinorhizobium*), mais de 30 espécies e vários biovares, todos da ordem *Rhizobiales* (Garrity e Holt, 2001).

Os nódulos radiculares desenvolvidos possuem uma organização própria de tecidos. Eles apresentam um meristema responsável pela formação das células da região de invasão, uma região central e conexões vasculares com o xilema do cilindro central da raiz. Envolvendo e delimitando toda essa estrutura está o parênquima do nódulo (Doran et al., 1998). As células das raízes da planta, bem como os próprios bacteróides, precisam de oxigênio ( $O_2$ ) para a respiração celular. As estratégias desenvolvidas para evitar o excesso de  $O_2$  nos nódulos radiculares, prevenindo contra a conseqüente inibição da nitrogenase, são duas (Ferreira et al., 2000):

- estratégia anatômica: o parênquima do nódulo funciona como uma barreira de difusão do  $O_2$ . Os espaços intercelulares são pequenos e pouco numerosos, podendo ser preenchidos com água. Logo, a entrada de  $O_2$  no interior do nódulo é muito dificultada;
- estratégia bioquímica: as células vegetais da região central do nódulo produzem a leghemoglobina (hemoglobina das leguminosas). Essa molécula é um carregador de  $O_2$ , que garante que os bacteróides recebam o  $O_2$  necessário para sua respiração, evitando que o gás circule livremente no nódulo.

A reação de fixação do nitrogênio caracteriza-se pela redução do  $N_2$  à  $NH_3$ . Portanto, para que a reação ocorra, é necessário que haja um transporte de elétrons, mediado por moléculas aptas a realizá-lo. A enzima nitrogenase é formada por duas unidades protéicas, a Ferro-proteína (Fe-proteína) e a Molibdênio-Ferro-proteína (MoFe-proteína), ambas capazes de transportar elétrons. Durante a reação de redução do  $N_2$ , a nitrogenase é auxiliada por uma terceira molécula transportadora de elétrons, a ferridoxina. O modelo proposto para a evolução da reação pode ser entendido do seguinte modo (Hungria e Vargas, 2000):

- a ferridoxina, na sua forma reduzida, transfere um elétron para a unidade Fe-proteína da nitrogenase;
- a Fe-proteína, então reduzida, doa o elétron recebido para a MoFe-proteína;
- a MoFe-proteína acumula os elétrons; após 8 transferências, essa unidade terá acumulado 8 elétrons e, então, fará a redução do  $N_2$  à  $NH_3$ ;
- para cada elétron transferido da Fe-proteína para a MoFe-proteína são consumidos 2 ATPs. Para reduzir uma molécula de  $N_2$  são necessários 8 elétrons e, portanto, 16 ATPs.

A produção do hidrogênio ( $H_2$ ) durante o processo é inevitável e acaba por consumir parte dos elétrons que poderia ser utilizada na fixação de  $N_2$ . O  $H_2$ , devido a sua natureza gasosa, é perdido para a atmosfera. No entanto, determinados organismos fixadores possuem uma enzima, a hidrogenase, que oxida o  $H_2$  antes que ele seja perdido, formando  $H_2O$  e ATP. O ATP gerado pode ser utilizado para a fixação de nitrogênio. Logo, as bactérias portadoras da hidrogenase são menos prejudicadas e, até mesmo, mais eficientes na fixação do nitrogênio porque possuem uma fonte adicional de ATP (Parsons et al., 1992; Hungria e Vargas, 2000).

A fixação do nitrogênio atmosférico dá origem à amônia ( $NH_3$ ), que em contato com o substrato aquoso do citoplasma dos bacteróides é convertida, rapidamente, em íon amônio ( $NH_4^+$ ). O  $NH_4^+$  inibe a fixação do nitrogênio, não podendo acumular-se no interior dos bacteróides. Assim, logo depois de ser formado, ele é retirado dos bacteróides, atingindo o citoplasma da célula vegetal hospedeira, célula da região central do nódulo radicular. Para as células vegetais, o  $NH_4^+$  também é prejudicial, promovendo a dissociação entre a formação de ATP e o transporte de elétrons na respiração e na fotossíntese. Logo, o  $NH_4^+$  que atinge o citoplasma das células vegetais da região central do nódulo precisa ser assimilado em moléculas que não possuem efeito tóxico (Scholles e Vargas, 2004).



Duas enzimas, a glutamina sintetase (GS) e a glutamato sintase (GOGAT) são responsáveis pela conversão do  $\text{NH}_4^+$  em aminoácidos. Os aminoácidos gerados pela ação dessas enzimas são a glutamina e o glutamato. Sabe-se que leguminosas de origem temperada, normalmente, sintetizam um terceiro tipo aminoácido, a asparagina, que é utilizada para a exportação de nitrogênio para o restante da planta (através das conexões vasculares que unem o nódulo ao xilema do cilindro central da raiz). Da mesma forma, as leguminosas de origem tropical, freqüentemente, produzem ureídeos para a exportação do nitrogênio ao longo do organismo vegetal (Hungria e Vargas, 2000).

### **1.2.3. Nodulação de caule em leguminosas**

O processo de fixação biológica de nitrogênio em raízes de leguminosas já é bem conhecido, entretanto, tem-se dado atenção a um número limitado de leguminosas que fixam nitrogênio em nódulos de caule (Boivin et al., 1997). As espécies que nodulam o caule são hidrófitas tropicais ou subtropicais de pântanos, rios ou margens de lagos (Dreyfus e Dommergues, 1981; Eaglesham e Szalay, 1983; Ladha et al., 1992; Loureiro et al., 1994, Boivin et al., 1997), com várias espécies ocorrendo no Pantanal Mato-Grossense, levando à hipótese de uma adaptação evolutiva às condições de alagamento (Stegink e Vaughn, 1993; James et al., 1992; Pugh et al., 1995; James et al., 2001).

Entre as leguminosas com tais características, *Aeschynomene* e *Sesbania* foram as primeiras a serem relatadas (Dreyfus e Dommergues, 1981; Alazard, 1985; Ladha et al., 1990). Loureiro et al. (1994) observaram um novo gênero com capacidade de produzir nódulos no caule, *Discolobium* (*D. pulchellum* e *D. psoraleaefolium*). James et al. (2001) observaram a presença de nódulos caulinares em mais uma espécie *D. leptophyllum*. As observações indicam, ainda, que a nodulação somente ocorreu após a formação do tecido parenquimatoso, sendo, portanto, diretamente influenciada pelo alagamento. Os nódulos do caule recebem o oxigênio via

aerênquima formado na parte inferior do caule, permitindo a difusão dos gases (Loureiro, 1994).

Apesar de nódulos no caule terem sido noticiados mais cedo, em 1884, o primeiro exemplo do fenômeno foi relatado por Hagerup em 1928, em *Aeschynomene aspera*, observando nódulos de cor verde e presença de grandes quantidades de grãos de amido, e sugerindo a ocorrência de uma grande atividade fotossintética (Eaglesham et al., 1990).

No início dos anos 80, o interesse pela nodulação do caule foi despertado pelo relato da descoberta de Dreyfus e Dommergues (1981), que encontraram abundante nodulação em *Sesbania rostrata*, leguminosa anual que cresce em áreas alagadas no oeste da África, com grande potencial para ser utilizada como fonte de N para o cultivo de arroz. O interesse por espécies que nodulam o caule levou à identificação, ainda, de outra espécie, *Aeschynomene afraspera*, com potencial comparável ao da *Sesbania rostrata* (Ladha et al., 1990).

No caso de leguminosas com dupla nodulação (raiz e caule), talvez ocorra uma competição, em nível energético, entre a nodulação da raiz e a do caule, que é controlada pela nodulação do caule. Isto é sugerido pela seguinte observação: quando *Sesbania rostrata* com nódulos radiculares desenvolve, através de inoculação, nódulos no caule, não ocorre aumento no peso dos nódulos radiculares e na atividade da nitrogenase. Porém, os nódulos radiculares e atividade da nitrogenase são recuperados quando os nódulos do caule são removidos. É possível que o mecanismo responsável pelo controle seja a proximidade dos nódulos do caule do mecanismo fotossintético, o que permite aos nódulos do caule controlar o fornecimento de fotossintatos para os nódulos radiculares e determinar sua longevidade e atividade (Ladha et al., 1992).

Diversos fatores envolvem a nodulação no caule: presença de sítios de nodulação pré-determinados no caule, presença de células fotossintetizantes ao redor dos nódulos, maior tolerância ao N combinado e, em algumas espécies, a natureza fotossintetizante do rizóbio (Ladha et al., 1990; James e Sprent, 1998). Apresentam ainda sistema vascular e cordão

de infecção similar ao de *Aeschynomene fluminensis* (Loureiro et al., 1995). Os nódulos de caule e raiz de *Discolobium pulchellum* apresentam tecido infectado do tipo aesquinomenóide desmodióide (Corby, 1988), isto é, sem células não infectadas. As células infectadas nos nódulos de caule são vacuoladas, com cordões de infecção visíveis (Loureiro, 1994).

*Discolobium pulchellum*, *D. psoraleaefolium* e *D. Leptophyllum* formam verdadeiros nódulos de caule, pois os nódulos estão conectados com o sistema vascular do caule e não com o sistema de raízes adventícias originadas no caule. Os nódulos são esféricos, com ramificações no sistema vascular e apresentam cordão de infecção similar ao de *Aeschynomene fluminensis* (Loureiro et al., 1995).

A característica comum às leguminosas noduladoras de caule é a presença de sítios de nodulação pré-determinados em seus caules, que são, na verdade, primórdios dormentes de raízes adventícias, onde os nódulos caulinares se desenvolvem (Arora, 1954; Duhoux e Dreyfus, 1982; Tsien et al., 1983, Loureiro, 1994). A formação desses sítios é independente da infecção com rizóbio (Dreyfus et al., 1984). Estudos anatômicos demonstraram que os primórdios dormentes exibem uma estrutura típica de raiz, fato confirmado pela habilidade desses primórdios desenvolverem-se em raízes adventícias em condições de alagamento (Duhoux e Dreyfus, 1982; Eaglesham e Szalay, 1983).

Dependendo da planta hospedeira, este primórdio pode estar distribuído ao longo do caule ou restrito somente às partes inferiores deste. Estes podem permanecer ocultos sob o córtex do caule, freqüentemente formando uma cúpula epidérmica, ou atravessando ligeiramente essa estrutura e apresentando um ápice dormente saliente que forma uma cavidade circular na epiderme do caule. Apenas os primórdios salientes ou aqueles que ligeiramente atravessam a epiderme são acessíveis à infecção por rizóbio, de maneira que a bactéria penetra no primórdio de raiz por invasão intercelular (Boivin et al., 1997). Esses primórdios, que assumem uma organização típica no caule, podem estar distribuídos em linha reta,

formando fileiras verticais (*Sesbania*), ou formando fileiras espirais ao redor do caule (*Aeschynomene*) (Dreyfus et al., 1985).

O primórdio é constituído basicamente por um meristema na região distal, em feixe vascular no centro rodeado por células corticais altamente vacuoladas e uma fissura na periferia, causada pelo rompimento da epiderme durante o desenvolvimento do primórdio caulinar. As bactérias penetram nesses espaços intercelulares e multiplicam-se ativamente, formando volumosas bolsas situadas entre as camadas externas do córtex do primórdio radicular. As bolsas possuem uma parede própria e as bactérias nelas contidas são incluídas em um material fibrilar frouxo. Nesta fase de infecção, inicia-se a atividade meristemática nas camadas internas do córtex do primórdio radicular (Ferreira, 1997).

Em nódulos de caule de *Discolobium*, o sistema vascular do caule ramifica-se por todo o nódulo, penetrando no tecido infectado com projeções alongadas do córtex. Tanto nos nódulos de caule como nos de raiz, o tecido infectado é do tipo desmodióide. As células infectadas nos nódulos de caule são vacuoladas, com cordões de infecção visíveis. O córtex interno é rico em amiloplastos e contém componentes da barreira de difusão de oxigênio. O córtex médio, exterior à camada limite, consiste de células frouxas e estas são contínuas com o aerênquima do caule. Ao contrário dos nódulos de caule de algumas espécies de *Aeschynomene* e *Sesbania* (Alazard e Duhoux, 1987; Ladha et al., 1990), não há cloroplastos aparentes no córtex dos nódulos de *Discolobium*. A morte da raiz principal, a emissão de raízes adventícias e a formação de aerênquima decorrem da elevação na concentração interna de etileno na planta, em resposta à condição de hipoxia originada pela inundação do solo (James e Crawford, 1998).

James et al. (2001) concluíram que os nódulos de *Discolobium*, provavelmente, recebem o oxigênio via profuso tecido lenticular das partes inferiores do caule submerso, que são conectados com as lenticelas dos nódulos. O córtex interno dos nódulos é rico em amiloplastos e contém componentes de uma barreira de difusão de oxigênio composta de camadas de células sem espaços intercelulares no córtex interno, próximas e

aparentemente concêntricas à zona infectada. Além disso, outro grande componente da barreira de difusão de oxigênio em nódulos de caule de *Discolobium* são as glicoproteínas, que foram observadas preenchendo os espaços intercelulares do córtex interno e médio (Loureiro, 1994; James e Sprent, 1998).

Os estudos envolvendo a nodulação em leguminosas em condições de inundação elucidaram vários aspectos da associação simbiótica. Outros pontos a serem esclarecidos dizem respeito à composição químico-bromatológica dessas plantas em situações de ambiente alagado e seco.

### **1.3. Minerais em plantas forrageiras**

Segundo Underwood e Suttle (1999), 22 elementos minerais são considerados essenciais para a vida dos animais, sendo sete classificados como macronutrientes - cálcio (Ca), fósforo (P), potássio (K), sódio (Na), cloro (Cl), magnésio (Mg) e enxofre (S), e quinze elementos traços ou micronutrientes - ferro (Fe), iodo (I), zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn), cobalto (Co), molibidênio (Mo), selênio (Se), cromo (Cr), vanádio (V), flúor (F), sílica (Si), níquel (Ni), arsênio (As) e estanho (Sn).

Em levantamento feito por Tokarnia et al. (2000), ficou demonstrado que os primeiros estudos sobre deficiências minerais em bovinos no Brasil se referem à deficiência de P, I, Co e Cu. Além destes, foram diagnosticadas as deficiências de Na (Souza et al., 1982), Se e Zn (Moraes et al., 2001). A deficiência de Mn é raramente encontrada, mas elevados teores podem causar de toxidez (Brum et al., 1987; Pott et al., 1989). Para Fe os níveis encontrados também foram elevados (Fichtner et al., 1987, Brum et al. 1987, Pott et al., 1989).

As concentrações de minerais nas plantas forrageiras são variáveis, pois dependem da espécie, época do ano, da quantidade do elemento no solo, do tipo de solo e suas condições (pH, umidade, etc.) que afetam a sua disponibilidade para absorção da planta. As exigências minerais das forrageiras não são as mesmas dos animais e, por realizarem diferentes

funções biológicas, estão presentes em quantidades e proporções diferentes.

Em um trabalho de análises de 2615 forrageiras na América Latina (McDowell et al., 1983) mostrou as seguintes concentrações de minerais em níveis deficientes ou marginais: zinco (Zn) - 75%; fósforo (P) - 73%; sódio (Na) - 60%; magnésio (Mg) - 47%; cobalto (Co) - 43%; cobre (Cu) - 35%. À medida que a planta amadurece, o seu conteúdo mineral declina devido ao processo natural de diluição e à translocação de nutrientes para o sistema radicular. Na maioria das vezes, o P, N, K, Mg, Na, Cl, Cu, Fe, Se, Zn e Mo decrescem na planta com seu envelhecimento e a concentração de cálcio é pouco afetada pelo avanço em idade da planta (Nicodemo, 2001). Para alguns minerais, as exigências das plantas ultrapassam a dos bovinos, como é o caso do K. Para o P, Ca, Mg, Na e a maioria dos microelementos, os valores necessários para os bovinos ultrapassam a composição nas plantas (Salete, 1982, citado por Nicodemo e Laura, 2001).

Os bovinos em pastejo em regiões tropicais, normalmente, não recebem suplementação mineral em quantidades adequadas para atender suas necessidades de manutenção e produção, dependendo exclusivamente da pastagem para fornecer estes elementos minerais (Barbosa et al., 2003). No Pantanal, as pastagens raramente são capazes de fornecer todos os minerais nas concentrações requeridas pelos bovinos, sendo a suplementação mineral uma prática necessária para assegurar o consumo correto de elementos essenciais (Santos et al., 2004b). Estudos realizados no Pantanal demonstraram deficiência de P, Ca, Na, Mn, Zn, I e Cu e toxidez de Fe e Mn no período chuvoso, nas sub-regiões Nhecolândia, Paiaguás e Miranda (Moraes et al., 2001; Santos et al., 2004b).

Em levantamento do valor nutritivo de plantas forrageiras nativas consumidas por bovinos, encontraram-se altos teores de proteína bruta (PB), Ca, Mg, K, Fe, Mn, Zn. Animais ingerindo dieta composta por várias plantas forrageiras apresentaram menores riscos de deficiência de minerais, ao contrário do que ocorre em bovinos pastejando em áreas formadas por uma só espécie de gramínea.

Em contraste com o P, a ocorrência de deficiência de Ca em bovinos de corte é relativamente rara. Entretanto, já foi detectada no Pantanal de Mato Grosso e em Roraima, sendo identificada por intermédio de análises de forrageiras e de ossos de bovinos dessas regiões (Souza et al., 1982). Alba (1973) considerou pouco provável, em nível prático, deficiência de Mg, pois as quantidades requeridas na dieta estão em torno de 0,05% deste elemento na matéria seca e dificilmente se encontra alimento concentrado ou forrageira com índice inferior a 0,1% de Mg.

O K é requerido em uma variedade de funções do corpo, incluindo balanço osmótico, equilíbrio ácido-base e vários sistemas enzimáticos, e no balanço hídrico corporal (Conrad et al., 1985). As forrageiras normalmente contêm K suficiente para atender às necessidades nutricionais dos bovinos (Souza, 1978, citado por Souza et al., 1982).

De modo geral, as pastagens brasileiras apresentam baixos níveis de Na, sendo capazes de atender entre 5 e 30% das exigências mínimas de pastejo (Conrad et al., 1978, citados por Souza et al., 1982).

#### **1.4. Qualidade das leguminosas**

As leguminosas são forrageiras que desempenham papel relevante na produção animal em virtude, principalmente, da sua composição em proteína bruta. Entre outras características positivas das leguminosas forrageiras podemos enumerar: grande produção de matéria seca, alta retenção de folhas no período seco, grande resistência ao pastejo e ao pisoteio, boa capacidade de consorciação, resistência a pragas e doenças, boa aceitação pelos bovinos, alto teor protéico (12-18%), nodulação com estirpes nativas de *Rhizobium* e resistência ao estresse (Jerba e Fernandes, 2005). A alfafa (*Medicago sativa*) reúne algumas das mais desejadas características de plantas forrageiras, como excelente palatabilidade, alta digestibilidade e elevado valor nutritivo, sendo rica em proteínas, fósforo, cálcio, potássio e vitaminas A, B, C, E e K (Michaud et al., 1988).

As principais leguminosas forrageiras apresentam teores médios de proteína bruta como se seguem: 17,2% para o kudzu tropical (*Pueraria*

*phaseoloides*) (Pedreira e Consentino, 1992); 11,9% para macrotiloma (*Macrotyloma axillare*) (Parbery, 1967); 12,9 a 20,4% para soja perene (*Neonotonia wightii*) (Bogdan, 1966; Holder, 1967); 20,4 a 25,8% para amendoim forrageiro (*Arachis pintoii*) (Valentin et al., 2001); 13 a 20,2% para guandu (*Cajanus cajan*) (Seiffert, 1988); e 21 a 23% para leucena (*Leucaena leucocephala*) (Jones, 1979). Os teores de FDA (fibra em detergente ácido) e FDN (fibra em detergente neutro) em leguminosas como macrotiloma são respectivamente: (39,38 e 50,42%); kudzu tropical (39,48 e 62,47%); e soja perene (40,59 e 60,29%) (Pádua et al., 2006). O teor de FDN acima de 55-60% na base seca correlaciona-se negativamente com o consumo da forragem (Van Soest, 1994). A FDA varia com a idade da planta e com o seu estresse em função da precipitação e umidade do solo. Esses fatores podem afetar a ingestão de MS pelos herbívoros, principalmente, em ruminantes. A redução do teor de PB e o aumento das frações FDA e FDN caracterizam a perda no valor nutritivo da forragem com a maturidade.

Uma das principais limitações do uso das leguminosas nos sistemas de produção é a sua baixa persistência, não possibilitando na maioria das vezes o aproveitamento das suas características positivas como a melhoria da produção animal. Este benefício é direto da participação da leguminosa melhorando e diversificando a dieta do animal e também do aumentando a disponibilidade de forragem pelo aporte de nitrogênio ao sistema, através da sua reciclagem e transferência para o sistema.

As leguminosas proporcionam melhor desempenho animal em pastagens consorciadas por apresentarem em geral melhor valor alimentício em relação às gramíneas. Maiores níveis de proteína bruta (PB) e de digestibilidade são os atributos mais marcantes. Em ensaio sob corte realizado no Estado da Bahia, durante dois anos em épocas de alta e baixa pluviosidade em 18 leguminosas e 10 gramíneas, obteve-se teores médios de PB de 18,8% e 11,5%, com amplitudes de 13,6 a 24,6% e 7,8 a 14,5%, respectivamente para leguminosas e gramíneas (Pereira et al., 1995).

A produtividade da pastagem consorciada tem elevado os resultados de produtividade na produção de leite, sendo os benefícios das leguminosas



significativos. A inclusão de *Arachis pintoi* em pastagens de gramíneas promoveu acréscimos de 17 a 20% na produção de leite e ganhos de peso em bovinos de corte da ordem de 352 kg/há (Almeida et al., 2001).

Foi verificado o efeito sinérgico da presença de leguminosa nas pastagens, promovendo melhoria nos níveis de proteína bruta da gramínea acompanhante, mesmo quando comparada à adubação nitrogenada. Pereira et al. (1995), verificou que a matéria seca em oferta de *Brachiaria decumbens* consorciada com *Pueraria phaseoloides* tinha teor de PB de 9,5%, superior a pastagens adubadas com até 90 kg/há de nitrogênio aplicado em cobertura na pastagem.

A digestibilidade das leguminosas tropicais em pastagens, via de regra, é maior que nas gramíneas. O desmódio (*Desmodium ovalifolium*) pelo seu elevado teor de taninos apresenta digestibilidade igual ou inferior à algumas gramíneas, mas o amendoim forrageiro (*Arachis pinto*), leucena (*Leucaena leucocephala*), soja perene (*Neonotonia wightii*) apresentam digestibilidade superior a todas as gramíneas tropicais (Pereira, 2001).

### **1.5. Objetivos**

Caracterizar as bactérias provenientes de isolados de nódulos radiculares e caulinares presentes na planta;

Avaliar a diversidade e o comportamento da nodulação em função das épocas de seca e cheia na região;

Determinar a produção de proteína bruta e a composição químico-bromatológica de plantas de *Discolobium* spp., provenientes de três locais do Pantanal de Poconé, MT em vista de diferenças marcantes na nodulação, tipo de solo e níveis de inundação.

## 1.6. Referências Bibliográficas

ALAZARD, D.; BECKER, M. *Aeschynomene* as green manure for rice. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.101, p.141-143, 1987.

ALAZARD, D.; DUHOUX, E. Diversity of stem nodulation sites in *Aeschynomene* spp. **Journal of Plant Physiology**, Rockville, v.132, p.123-125, 1987.

ALAZARD, D. Stem and root nodulation in *Aeschynomene* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.50, p.732-734, 1985.

ALBA, J. **Alimentación del ganado en America Latina**. México: 2.ed. Tallres Gráficos del Editorial Fournier S.A., 1973. 475p.

ALLEN, O. N.; ALLEN, E. K. **The leguminosae: a source book of characteristics, uses and nodulation**. Madison: University of Wisconsin, 1981. p. 604-607.

ALLEN, A. C.; VALLS, J. F. M. **Recursos forrageiros do Pantanal Mato-Grossense**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEM, Documentos 8,1987, 339p.

ALMEIDA, R. G.; EUCLIDES, V. P. B.; NASCIMENTO JR. D. et al. Pastagens consorciadas de braquiárias com estilosantes, no Cerrado. 2. Consumo, composição botânica e valor nutritivo da dieta. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001. p.64-65.

AMARAL FILHO, Z.P. do. Solos do Pantanal Mato-grossense. In: SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SÓCIO-ECONÔMICOS DO PANTANAL, 1., 1984. Corumbá, MS. **Anais...** Brasília, Embrapa-DDT, 1986, p.91-104. (EMBRAPA-CPAP. Documentos 5).

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DE MATO GROSSO 2007. Disponível em: <<http://www.anuario.seplan.mt.gov.br/2007>. Acesso em: 20/09/2008.

ARORA, N. Morphological development of the root and stem nodules of *Aeschynomene indica* L. **Phytomorphology**, New Delhi, v.4, p.211-216, 1954.

BARBOSA, M. A. A. F.; OLIVEIRA, R. L.; CECATO, U.; MATOS, R. C.; SANTIAGO, M. S. B.; RODRIGUES, A.; COSTA, R. G.; CARVALHO, J. A.; MENEZES, L. F. O. Frações de proteínas e de carboidratos de *Panicum*

*maximum* Jacq. cv. Mombaça sob diferentes intervalos de corte e níveis de adubação nitrogenada. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40, 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: SBZ, 2003.

BOGDAN, A.V. *Glycine javanica* under experimental cultivation in Kenya. **Tropical Agriculture**, Trinidad Tobago. n.43, p.99-105, 1966.

BOIVIN, C.; N'DOYE, I.; MOLOUBA, F.; de LAJUDIE, P.; DUPUY, N.; DREYFUS, B. Stem nodulation in legumes: diversity, mechanism, and unusual characteristics. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v.16, p.1-30, 1997.

BRUM, P.A.R.; SOUZA, J.A.C.; ALMEIDA, I.L. Deficiências minerais de bovinos na sub-região do Paiaguás, no Pantanal Mato-Grossense. 1- Cálcio, fósforo e magnésio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Viçosa, v.22, p.1039-1048, 1987.

COMASTRI FILHO, J. A. **Pastagens nativas e cultivadas no Pantanal Mato-grossense**. Corumbá: EMBRAPA-UEPAE, Circular Técnica 13, 1984. 48 p.

CONRAD, J.H., McDOWELL, L.R., ELLIS, G.L. et al. **Minerais para ruminantes em pastejo em regiões tropicais**. Traduzido por EUCLIDES, V.P.B. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1985. 91p.

CORBY, H. D. L. Types of rhizobial and their distribution among the Leguminosae. **Kirkia**, Harare, v. 13, p. 53-123, 1988.

CROZART, I.; SANGCHYO-SAWAT, C. Evaluation of different green manures on rice yield in Sonkla laka Basin, Sonklanadarin. **Journal of Science and Technology**, San Diego, v.7, p. 301-397, 1985.

DORAN, J.W.; ELLIOTT, E.T.; PAUSTIAN, K. Soil microbial activity, nitrogen cycling, and long-term changes in organic carbon pools as related to fallow tillage management. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v.49, n. 1/2, p. 3-18, 1998.

DREYFUS, B.L.; ALAZARD, D.; DOMMARGUES, Y.R. Stem-nodulating rhizobia. In: KLUG, M. G.; REDDY, C. E. (Ed). **Current Perspectives of Microbial Ecology**, Washington: American Society of Microbiology, 1984. p.161-169.

DREYFUS, B.L.; DOMMARGUES, Y.R. Nitrogen-fixing nodules induced by *Rhizobium* on the stem of the tropical legume *Sesbania rostrata*. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v.10, p.313-317, 1981.

DREYFUS, B.L.; RINAUDO, G.; DOMMARGUES, Y. R. Observation on the use of *Sesbania rostrata* as green manure in paddy field. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v.1, p.711-721, 1985.

DUHOUX, E.; DREYFUS, B.L.; Nature des sites d'infection par le *Rhizobium* de latige de la légumineuse *Sesbania rostrata* Brem. **Comptes Rendus des Sciences de L'Academie des Sciences**. Série III: Sciences de la vie, Paris, v.294, p.407-411, 1982.

EAGLESHAM, A.R.J.; ELLIS, J.M.; EVANS, W.R.; FLEISHCMAN, D.E.; HUNGRIA, M.; HARDY, R.W.F. The first photosyntetic N<sub>2</sub> fixing *Rhizobium* characteristics. In: GRESSHOFF, P. M.; ROTH, L. E.; STACEY, G.; NEWTON, W.E. (Eds.). **Nitrogen fixation: Achievements and objectives**. New York: Chapman, 1990. p. 805-811.

EAGLESHAM, A.R.J.; SZALAY, A.A. Aerial stem nodules on *Aeschynomene* spp. **Plant Science Letters**, Amsterdam, v.29, p.265-272, 1983.

ELIAS NETO, N. **Estudo da reprodução vegetativa, aspectos fenológicos e marcadores moleculares para a leguminosa *Discolobium Benth*, nativa do Pantanal Mato-grossense**. 2004, 93f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical). Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, UFMT, Cuiabá, 2004.

ELIAS NETO, N.; LOUREIRO, M.F.; COELHO, M.F.B.; ABREU, J.G. ASPECTOS fenológicos de *Discolobium pulchellum* Benth, Leguminosae Papilionoideae no Pantanal de Poconé, MT. **Revista Agricultura Tropical**, Cuiabá, v.9, n.1, p.24-35, 2008. Disponível em <<http://www.ufmt.br/agtrop>>. Acesso em 22/10/2008.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Centro Nacional de Pesquisa Agropecuária do Pantanal-CPAP**. Pantanal. Corumbá, CPAP/SEBRAE, 1996. CD-ROM.

FERREIRA, M.A. **Estudo do desenvolvimento vegetal através da utilização de técnicas de biologia molecular associadas à microscopia**. 1997, 134f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1997.

FERREIRA, M.C.; ANDRADE, D.D.; CHUEIRE, L.M.D.; TAKEMURA, S.M.; HUNGRIA, M. Tillage method and crop rotation effects on the population sizes and diversity of bradyrhizobia nodulating soybean. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.32, n. 5, p.627-637, 2000.

FICHTNER S.S., PAULA A.N.; VIANA H.A. Determinação das carências minerais em bovinos no Estado de Goiás. Zinco, cobalto, ferro e manganês In: Reunião Anual da SBZ, 24, 1987, Brasília, **Anais...** Brasília: 1987. p. 145.

GARRITY, G.M.; HOLT, J.G. The road map to the manual. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. (Eds.). **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 2001. p.119-154.

GOORMACHTIG, S.; CAPOEN, W.; JAMES, E.K.; HOLSTERS, M. Switch from intracellular to intercellular invasion during water stress-tolerant legume **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Cambridge, n.101 p.6303-6308, 2004;

HOLDER, J.M. Milk production from tropical pastures. **Tropical Grasslands**, Santa Lucia- Australia, n.1, p.135-141, 1967.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. Environmental factors affecting N fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.65, n.2/3, p.151-164, 2000.

JAMES, E. K.; SPRENT, J. I.; SUTHERLAND, J. M.; McINROY, S. G.; MINCHIN, F. R. The structure of nitrogen fixing root nodules on the aquatic mimosoid legume *Neptunia plena*. **Annals of Botany**, London, v.69, p.173-180, 1992.

JAMES, E. K.; CRAWFORD, R. Effect of oxygen availability on nitrogen fixation by two *Lotus* species under flooded conditions. **Journal of Experimental Botany**, Londres, n.49, p.599-609, 1998.

JAMES, E.K.; LOUREIRO, M.F.; POTT, A.; POTT, V.J.; MARTINS, C.M.; FRANCO, A.A.; SPRENT, J.I. . Flooding-tolerant legume symbioses from the Brazilian Pantanal, **New Phytologist**, Oxford, v.150, p.723-728, 2001.

JAMES, E.K.; SPRENT, J.I. Development of N<sub>2</sub> fixing nodules on the wetland legume *Lotus uliginosus* exposed to conditions of flooding. **New Phytologist**, Oxford, n.142, p.219-231, 1998.

JERBA, V. F; FERNANDES, C.D. Caracterização dos tipos de tricomas do sistema caulinar do estilosantes mineirão. **Ciências Exatas e da Terra**, Ponta Grossa, v.10, n. 3 p. 7-12, dez. 2004.

JONES, R.J. The value of *Leucaena leucocephala* as feed for ruminants in the tropics. **World Annual Review**, Vancouver, n.31, p.13-23, 1979.

JORDAN, D. C. Rhizobiaceae Conn 1938. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G., (Eds). **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore/London, Williams & Wilkins, 1984, p.235-244.

KENT, A D.; TRIPLETT, E.W. Microbial communities and their interactions in soil and rhizosphere ecosystems. **Annual Review Microbiology**, London, n.56, p.211–236, 2002.

LADHA, J. K.; MIYAN, S.; GARCIA, M. *Sesbania rostrata* green manure for lowland rice: Growth, N fixation *Azorhizobium* spp. Inoculation and effects on succeeding crop yields and nitrogen balance. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 7, p. 191-197, 1989.

LADHA, J.K.; GARCIA, M.; PAREK, R.P.; RARIVOSON, G. Relative contributions to nitrogenase (acetylene reducing) activity of stem and root nodules in *Sesbania rostrata*. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.38, p.577-583, 1992.

LADHA, J.K.; PAREEK, R.P.; SO, R.; BECKER, M. **Stem nodule symbiosis and its unusual properties**. In: GRESSHOFF, P.M.; ROTH, L. E.; STACEY, C.; NEWTON, W. L. (Eds.). **N<sub>2</sub> fixation: Achievements and objectives**. New York; Chapman, 1990. p.633-640.

LOUREIRO, M.F.; FARIA, S.M.; BALDANI, J.; FRANCO, A.A. Nitrogen-fixing stem nodules of the legume *Discolobium pulchellum* Benth. **New Phytologist**, Oxford, v.128, p.283-295, 1994.

LOUREIRO, M. F. **Caracterização das estirpes de rizóbio e morfologia dos nódulos de raiz e caule de *Aeschynomene* spp. e *Discolobium* spp. nativas do Pantanal Mato-grossense**. 1994. 205f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1994.

LOUREIRO, M. F.; FARIA, S.M.; JAMES, E.K.; POTT, A.; FRANCO, A.A. Stem and root nodules on the tropical wetland legume *Aeschynomene fluminensis*. **New Phytologist**, Oxford, v.130, p.283-295, 1995.

LOUREIRO, M. F.; JAMES, E.K.; POTT, A. Ocorrência de nodulação em leguminosas do Pantanal Mato-grossense. In: SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SÓCIO-ECONÔMICOS DO PANTANAL - MANEJO E CONSERVAÇÃO, 2, 1996, Corumbá, **Resumos...** Corumbá: EMBRAPA/CPAP, 1996. p.131.

LOUREIRO, M. F.; SOUZA, F.E.F.; ELIAS NETO, N.; CAMPOS, L.L. Efeito da inoculação com rizóbio e de substratos na produção de proteína bruta em *Discolobium* spp. In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, 24, 2007, Brasília. **Anais...** Brasília, 2007. CD-Room.

McDOWELL, L.R., CONRAD, J.H., ELLIS, G.L.; LOOSLI, J.K. **Minerals for Grazing Ruminants in Tropical Regions**. University of Florida, Gainesville. 1983. 86 p.

MICHAUD, R., LECHMAN, W.F., RUMBAUGH, M.D. World distribution and historical development. In: HANSON, A.A., BARNES, D.K., HILL, R.R. (Eds.). **Alfalfa and alfalfa improvement**. Madison, Wisconsin, USA : American Society of Agronomy, 1988. p.25-91.

MORAES, S.S.; NICODEMO, M.L.F.; VAZ, E.C.; PIRES, P.P.; CATANANTE, M.C.; THIAGO, L.R.L.; VIEIRA, J.M.; FONSECA, E.M. **Avaliação da deficiência subclínica de zinco em vacas de cria e a relação com a higidez de seus bezerros.** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, Comunicado Técnico 65, 2001. 7 p.

NICODEMO, M.L.F. **Suplementação mineral de bovinos na estação seca.** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, Comunicado Técnico 66, 2001. 3p.

NICODEMO, M.L.F.; LAURA, V.A. **Elementos minerais em forrageiras: formas químicas, distribuição e biodisponibilidade.** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, Documentos, 115, 2001. 39 p.

PADUA, F. T.; ALMEIDA, J.C.C.; SILVA, T. D.; ROCHA, N. S.; NEPOMUCENO, D. D. Produção de matéria seca e composição químico-bromatológica do feno de três leguminosas forrageiras em dois sistemas de cultivo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1253-1257, 2006.

PARBERY, D.P. **Pasture and fodder crop plant introduction at Kymberley Research Station, W.A. Perennial legumes.** Australia: CSIRO, Division Land Research, 1967. 64p.

PARSONS, R.; RAVEN, J.A.; SPRENT, J.I. A simple open flow system used to measure acetylene reduction activity of *Sesbania rostrata* stem and root nodules. **Journal of Experimental Botany**, London, v.43, p.595-604, 1992.

PEDREIRA, J.V.S.; COSENTINO, J.R. **Avaliação de leguminosas forrageiras sob condições de várzea parcialmente drenada.** Boletim da Indústria Animal, Nova Odessa, SP, v.1, n.49, 1992.

PEREIRA, L. C.; et. al., Pastagens consorciadas de braquiarias com estilosantes no cerrado. 1. Disponibilidade de forragens, composição botânica e valor nutritivo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, 1995. **Anais...** Piracicaba: SBZ, 1995, p. 62-63.

PEREIRA, J. M. Produção e persistência de leguminosas em pastagens tropicais. In: SIMPÓSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS, 2, 2001. **Anais...** Lavras: UFLA, 2001. p. 111-142.

PONS, T.L. et al. Symbiotic nitrogen fixation in a tropical rainforest:  $^{15}\text{N}$  natural abundance measurements supported by experimental isotopic enrichment. **New Phytologist**, Oxford, n.173, p.154–167, 2007.

POTT, A. **Pastagens do Pantanal**. Corumbá: EMBRAPA-CPAP, Documentos 71, 1988. 58p.

POTT, A.; COMASTRI FILHO, J.A. Pastagens no ecossistema Pantanal: Pesquisas para o desenvolvimento sustentável. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1995, Brasília, DF, **Anais...** Brasília: SBZ, 1995.

POTT, A.; POTT, V.J. **Plantas do Pantanal**. Brasília: EMBRAPA/CPAP/SPI, 1994. 320p.

POTT, E.B.; CATTO, J.B.; BRUM, P.A.R. Períodos críticos de alimentação de bovinos em pastagens nativas no Pantanal Mato-Grossense. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.24, p.1427-1332, 1989.

POZER, C.G.; NOGUEIRA, F. Pastagens nativas inundáveis da região norte do Pantanal de Mato Grosso: variações de biomassa e produtividade primária. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v.64, n.4, p. 859-866, 2004.

POWER, J.F.; PETERSON, G.A. Nitrogen transformations, utilization, and conservation as affected by fallow tillage method. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v.49, n.1/2, p.37-47, 1998.

PUGH, R.; WITTH, J.F.; MYTTON, L.R.; MINCHIN, F.R. The effect of waterlogging on nitrogen fixation and nodule morphology in soil-grown white clover (*Trifolium repens* L.). **Journal of Experimental Botany**, London, v.46, p.285-290, 1995.

RINAUDO, G.; ALAZARD, D.; MOUDIONGUI, M. Stem-nodulating legumes as green manure for rice in west Africa. In: **Sustainable Agriculture: Green manure rice farming**. Manila: International Rice Research Institute, 1988, p. 98-109.

RINAUDO, G.; DREYFUS, B.L.; DOMMERGUES, Y.R. *Sesbania rostrata* green manure and the nitrogen content of rice crop and soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.15, p.111-113, 1983.

RUDD, V.E. *Aeschynomene*. In POLHIL, R. M.; RAVEN, P.M. (Eds) **Advances in Legume Systematics**. Kew, Royal Botanic Gardens, v.1, p.347-354, 1981.

SANTOS, S.A. **Caracterização dos recursos forrageiros nativos da sub-região da Nhecolândia, Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brasil**, 2001. 185 f. Tese (Doutorado em Nutrição e Produção Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista –UNESP, Botucatu-SP, 2001.



SANTOS, S.A.; POTT, A.; RODRIGUES, C.A.G. Pastagem nativa. In: CARDOSO, E. L. (Ed.). **Gado de Corte no Pantanal: o produtor pergunta a Embrapa responde**. (Coleção 500 perguntas, 500 respostas). Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004a. p.83-117.

SANTOS, S.A.; POTT, A.; RODRIGUES, C.A.G. Suplementação mineral. In: CARDOSO, E. L. (Ed.). **Gado de Corte no Pantanal: o produtor pergunta a Embrapa responde**. (Coleção 500 perguntas, 500 respostas), Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004b. p.129-137.

SCHOLLES, D.; VARGAS, L.K. Viabilidade da inoculação de soja com estirpes de *Bradyrhizobium* em solo inundado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Piracicaba, v.28, p.973-979, 2004.

SEIFFERT, N. F. Manejo de leguminosas forrageiras arbustivas de clima tropical. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 9, 1988, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1988. p.285-314.

SILVA, J.S.V.; ABDON, M.M. Delimitação do Pantanal Brasileiro e suas sub-regiões. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, p. 1703-1711, 1998.

SILVA, J.S.V.; ABDON, M.M.; BOOCK, A.; SILVA, M.P. Fitofisionomias dominantes em parte das sub-regiões do Nabileque e Miranda, Sul do Pantanal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, p.1713-1719, 1998.

SILVA, M. P.; MAURO, R.; MOURÃO, G.; COUTINHO, M. Distribuição e quantificação de classes de vegetação do Pantanal através de levantamento aéreo. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.23, n.2, 2000.

SOUSA, J.C.; CONRAD, J.H.; MOTT, G.O. Interrelações entre minerais no solo, plantas forrageiras e tecido animal no norte de Mato Grosso. 4, Zinco, magnésio, sódio e potássio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.17, n1, p.11-20, 1982.

STEGINK, S. J.; VAUGHN, K. C. Correlation between nodule ultra structure and ability to produce stem nodules in *Aeschynomene* spp. **Phytochemistry**, Oxford, v. 32, n.6, p.1527-1530, 1993.

TOKARNIA, C.H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Hellianthus, 2000. 320p.

TSIEN, H.C.; DREYFUS, B.L.; SCHIMIDT, E.L. Initial stages in the morphogenesis of nitrogen-fixing stem nodules os *Sesbania rostrata*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.156, p.888-897, 1983.

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. **The mineral nutrition of livestock**. 3.ed. Cambridge: CABI, 1999. 614p.

VALENTIN, J.F.; CARNEIRO, J.C.; VAZ, F.A. SALES, M.F.L. Velocidade de estabelecimento de acessos de amendoim forrageiro nas condições ambientais do Acre. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, Piracicaba, **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001. p.292-294.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476 p.

ZEILHOFER, P.; SCHESSL, M. Relationship between vegetation and environmental conditions in the northern Pantanal of Mato Grosso, Brazil. **Journal of Biogeography**, Oxford, n.27, p.159–168, 1999.

## 2. CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE NÓDULOS DE CAULE E RAIZ EM *Discolobium* spp., LEGUMINOSA NATIVA DO PANTANAL MATO-GROSSENSE

**RESUMO** - *Discolobium* spp. é leguminosa nativa com alto teor de proteína bruta e faz parte da alimentação de herbívoros nativos, bovinos e peixes no Pantanal. Apresenta nodulação caulinar e radicular em associação com bactérias que fixam o nitrogênio de forma simbiótica. Com o objetivo de caracterizar as bactérias em nódulos de caule e raiz e sua atividade em função dos períodos de cheia, meia estação e seca, foram isolados nódulos presentes em *Discolobium* spp., no Pantanal de Poconé, MT. As coletas foram realizadas em três locais do Pantanal de Poconé, MT, que apresentavam diferenças na persistência de alagamento, constituição física do solo e níveis de nodulação caulinar. Índices de diversidade de Shannon, de riqueza de Margalef e de equitabilidade de Pielou, foram calculados para as morfoespécies encontradas. Observou-se a presença de 21 e 16 morfoespécies de isolados bacterianos de nódulos de caule e de raízes, respectivamente. Os isolados obtidos de nódulos caulinares e radiculares acidificaram o meio de crescimento (80%) e produziram muco (90%). A nodulação caulinar acompanhou o nível de inundação, desaparecendo na época seca. A nodulação radicular decresceu de forma acentuada na época cheia. Ocorreu maior diversidade e riqueza de isolados em nódulos caulinares em locais de maior tempo de alagamento. O tipo de nodulação,

caulinar ou radicular, é dependente da época do ano. Em severo estresse hídrico a planta deixou de nodular.

**Palavras chaves:** nodulação caulinar, forrageira, índice de diversidade

### **CHARACTERIZATION OF BACTERIA ISOLATED FROM STEM AND ROOT NODULES IN *Discolobium* spp., A LEGUME NATIVE TO THE MATO GROSSO WETLANDS**

**ABSTRACT** - *Discolobium* spp. is a native legume with high crude protein content, and constitutes part of the diet of native herbivores, bovines, and fish in the Pantanal region. It shows stem and root nodules in association with symbiotic nitrogen-fixing bacteria. In order to characterize the bacteria from stem and root nodules and their activity as a function of the flood, mid-season, and drought periods, we isolated nodules present in *Discolobium* spp. plants from Pantanal of Poconé, MT. Collections were made at three locations in Pantanal of Poconé, MT, with differences in flooding persistence, soil physical makeup, and levels of stem nodulation. Shannon's diversity indices, Margalef's richness indices, and Pielou's equitability indices were calculated for the morphospecies found. The presence of 21 and 16 morphospecies of bacterial isolates was observed in stem nodules and root nodules, respectively. Isolates obtained from stem and root nodules acidified the growth medium (80%) and produced mucus (90%). Stem nodulation followed the inundation levels and disappeared during the dry season. Root nodulation markedly decreased during the flood season. Greater diversity and richness of isolates in stem nodules were observed in sites with longer flooding times. The type of nodulation (in stems or in roots) observed depends on the season of the year. Under severe water stress the plants did not produce nodules.

**Keywords:** stem nodulation, native forage, diversity indices.

## 2.1. Introdução

A caracterização de microrganismos é de extrema importância para estudos taxonômicos e para conhecer melhor suas características fisiológicas, ecológicas. Outro aspecto importante é que a caracterização de isolados nativos do solo é condição essencial para o desenvolvimento de estudos de competitividade de rizóbios, que indicarão a possibilidade de sucesso de inoculação das leguminosas (Zilli et al., 1998).

A avaliação das características culturais e morfológicas é o primeiro passo para a identificação de novos grupos taxonômicos. Essas características culturais relevantes podem ser que avaliadas são o tempo de formação de colônias isoladas, produção de muco e alteração do pH do meio de cultura, como indicador de diferenças fisiológicas de crescimento. Estas características foram utilizadas com sucesso no estudo da ecologia de rizóbios (Pereira, 2000; Melloni, 2001). Essas informações são importantes e são os princípios básicos para auxiliar nas modernas técnicas de análise do DNA (Jordan, 1984; Zilli et al., 1998; Moreira e Pereira, 2001).

Quanto maior a diversidade, maior a estabilidade do ecossistema e mais eficiente o uso dos recursos disponíveis, sendo menor o gasto de energia para sustentar a biomassa presente. A diversidade microbiana estaria, portanto, relacionada a um efeito “tampão” do solo contra estresses ambientais naturais ou causados pelo homem (Tótola e Chaer, 2002).

O monitoramento da diversidade biológica é utilizado como critério para detectar alterações ambientais impactantes. As avaliações de diversidade microbiana fornecem indicativos sobre a variedade, em termos de número de espécies presentes em um determinado solo e os microrganismos representam a maior riqueza em diversidade química e molecular na natureza, constituindo a base de processos ecológicos, além de manterem relações vitais entre si e com os organismos superiores. Além disso, influenciam os ciclos biogeoquímicos e a cadeia trófica, (Hunter-Cevera, 1998). Nesse aspecto é importante considerar as associações simbióticas entre bactérias e leguminosas.

Entre as leguminosas nativas algumas como as do gênero *Arachis* spp, *Discolobium* spp., *Desmodium barbatum*, *Aeschynomeneae* spp., *Dolichopsis paraguariensis*, *Galactia* sp, *Rhyncosia minima*, *Teramnus volubilis*, *Vigna luteola* e *Mimosa* spp apresentam-se com alta aceitabilidade pelos bovinos e herbívoros nativos do Pantanal (Allen e Valls, 1987).

A leguminosa *Discolobium* spp. Apresenta teores médios de proteína bruta (PB) de 21% (Loureiro et al., 2007) a 28% (Pott, 1998); Essas plantas apresentam uma adaptação evolutiva de nodulação caulinar, fixando o nitrogênio sob condições de alagamento, através da simbiose com bactérias conhecidas por rizóbios, que são capazes de transformar o nitrogênio do ar em compostos nitrogenados assimiláveis pela planta. As espécies que possuem nódulos caulinares apresentam um elevado potencial de fixação de N<sub>2</sub> (Martins, 1999).

Entre as leguminosas, muitas formam simbiose com bactérias dos gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium* e *Mesorhizobium* (Júnior e Hungria 2000). Loureiro et al. (1994) relataram duas espécies com capacidade de formar nódulos no caule em associação com essas bactérias, *Discolobium pulchellum* e *D. psoraleaefolium*. James et al. (2001) encontraram em *D. leptophyllum*, nódulos de raiz e caule em áreas alagadas do Pantanal mato-grossense.

## **2.2. Objetivo**

- Caracterizar a diversidade de bactérias presentes nos nódulos de raiz e caule de *Discolobium* spp., em três sítios de coleta na sub-região de Poconé, MT;
- Quantificar a nodulação caulinar e radicular durante as épocas de cheia, meia estação e seca.

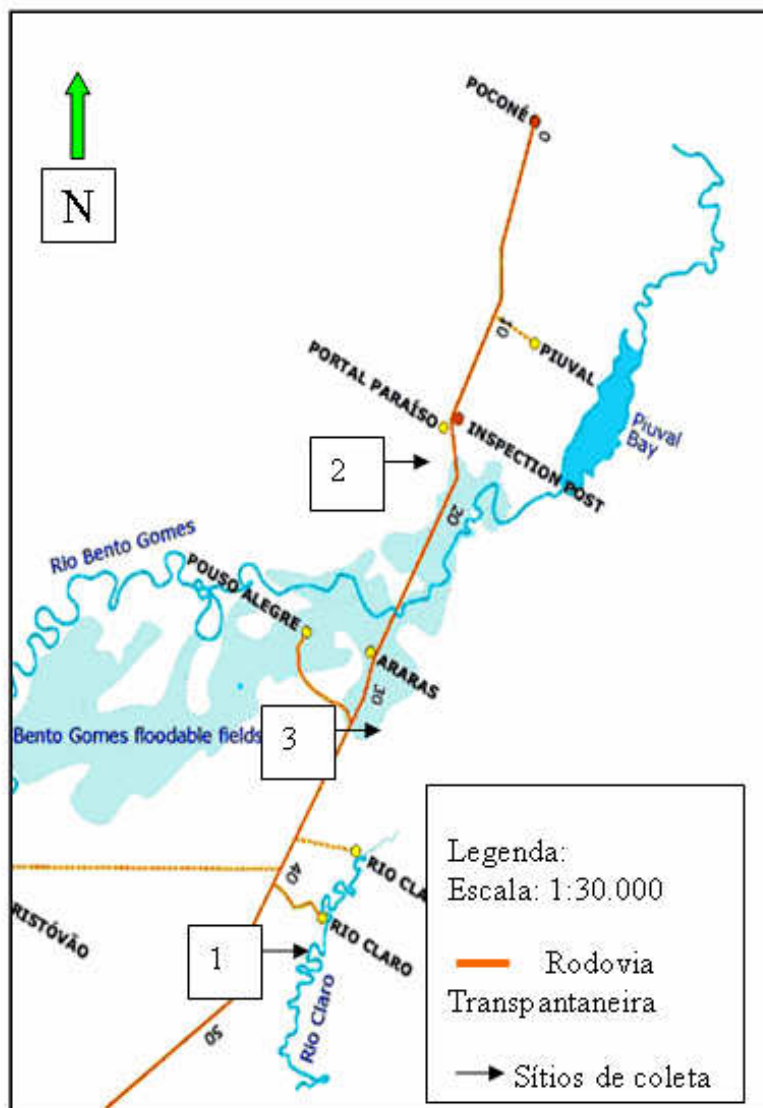
## **2.3. Material e Métodos**

### **2.3.1. Seleção dos locais de coleta**

O experimento foi realizado na sub-região do Pantanal de Poconé, MT. O clima da região conforme classificação de Köppen, citado por Ometto

(1981), é do tipo Aw, tropical quente e úmido, com precipitação média de 1.250 mm ao ano e temperatura média anual de 25,8°C.

As atividades de campo iniciaram-se em janeiro de 2007, com a seleção de locais com base no grau de ocorrência de plantas, níveis de inundação, incidência de nodulação e classes texturais de solo (Figura 1). Esses locais selecionados foram:



Fonte: [www.transantaneira.com](http://www.transantaneira.com) (Adaptado).

**Figura 1.** Localização dos sítios de coleta (1) Rio Claro; (2) Posto Fiscal e (3) Ponto Barara na sub-região Poconé, MT, utilizados para as coletas durante as épocas de cheia, meia-estação e seca no ano de 2007.

Sítio 1 - Margens do Rio Claro (RC) (16° 40' 675" S e 56° 40' 503" W): caracterizado por elevada incidência de nodulação caulinar e radicular, inundação prolongada durante o ano, solo franco-argiloso. Este local de estudo pertence à micro-bacia do Rio Claro efluente do Rio Pixaim. É formado predominantemente por gramíneas nativas do gênero *Paspalum* spp. (macega) e leguminosas dos gêneros *Discolobium pulchellum*, *D. psoraleaefolium*, raras espécies de *Discolobium leptophyllum*, grande quantidade de *Sesbania* spp., *Cassia* spp *Mimosa* spp., *Aeschynomeneae* spp., e *Vigna* spp. Apresenta relevo plano com declive moderado com vários corichos para as áreas de captação da micro-bacia hidrográfica;

Sítio 2 - Posto Fiscal (PF) (16° 40' 683" S e 56° 46' 283" W): caracterizado por baixa presença de nodulação caulinar, inundação moderada durante o ano e solo arenoso. Está localizado próximo à vazante do Rio Bento Gomes. A vegetação do local constitui-se de algumas gramíneas exóticas do gênero *Brachiaria* sp., e *Eleusine* sp (pé-de-galinha), *Cynodon* sp e *Cyperus* spp. As principais leguminosas presentes são: *Discolobium pulchellum*, *D. psoraleaefolium*, *Aeschynomeneae* spp., *Zorzia* spp. e *Mimosa* spp.

Sítio 3 - Ponto Barara (PBa) (16° 31' 376"S e 56° 42' 793" W): caracterizado por mediana presença de nodulação caulinar e radicular, inundação prolongada e solo argiloso. Esse local tem forte influência do barramento provocado pela construção da rodovia Transpantaneira, desta forma, ocorre uma inundação pronunciada na área a montante. A vegetação do local é constituída basicamente por *Discolobium pulchellum* e *D. psoraleaefolium*, *Sesbania* spp., *Desmodium barbatum* e *Vigna luteola*.

Nesse período, foram feitas coletas de solo, medições do nível de alagamento, contagem pesagem do número de nódulos e de plantas. Tais resultados permitiram classificar as áreas, em relação à nodulação, em baixa, média e de alta concentração de nódulos. Obteve-se ainda a densidade média de plantas de *Discolobium* spp., em cada sítio de estudo (Tabela 1).



**Tabela 1.** Localização, altura de lâmina d'água, persistência da inundação, densidade de plantas de *Discolobium* spp. e nodulação em três sítios de coleta na sub-região Poconé, Pantanal, MT, em janeiro de 2007.

Sítios de coleta*	Altura da Lâmina D'água (cm)	Período de inundação	Densid. média de plantas (m <sup>2</sup> )	Concentração total de nódulos
RC	60	jan- jun	12,2	alta
PF	35	jan-abr	3,5	baixa
PBa	48	jan-mai	28,9	média

\*(RC) Margens do Rio Claro; (PF) Posto Fiscal; (PBa) Ponto Barara

As amostras de solos foram enviadas para laboratório particular credenciado, sendo feitas análises para a determinação do pH em água; P, K Ca, Mg, Al, H, Matéria Orgânica (M.O.), areia, silte e argila, conforme Embrapa, 1997. Os resultados analíticos das amostras de solo encontram-se na Tabela 2.

**Tabela 2.** Características químicas e físicas dos solos em sítios de coleta de *Discolobium* spp. na profundidade de 0-20 cm, sub-região Poconé, Pantanal, MT.

Sítios de coleta*	pH água	P mg/dm <sup>3</sup>	K	Ca+Mg Ca Mg Al H					M.O. %	Classe textural
				cmol <sub>d</sub> /dm <sup>3</sup>						
RC	5,7	8,7	88	4,2	3,5	0,7	0,0	4,8	3,90	areno-argiloso
PF	5,1	16,0	35	1,8	1,2	0,6	0,6	2,5	1,61	arenoso
PBa	5,3	8,9	28	1,1	0,8	0,3	0,4	2,0	1,14	argiloso

\* (RC) Margens do Rio Claro; (PF) Posto Fiscal; (PBa) Ponto Barara

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos: três locais e duas partes da planta (caule e raízes). Em cada local foram selecionados dez pontos ao acaso e coletadas três plantas em cada ponto, verificava-se a existência da nodulação e em seguida era feita a coleta dos nódulos.

### **2.3.2. Coleta dos nódulos**

As coletas dos nódulos e plantas ocorreram quinzenalmente nos períodos de janeiro-fevereiro (plena cheia); abril-maio (meia estação ou vazante) e julho-agosto (plena seca) de 2007. No período da cheia, os nódulos caulinares foram retirados antes da coleta da planta, pois os mesmos se desprendem facilmente do caule. Na época seca e de meia estação, onde ocorre apenas a nodulação radicular, as plantas foram retiradas com auxílio de pá de corte para verificação e coleta de nódulos radiculares. Os nódulos coletados foram mantidos em recipientes plásticos com algodão e sílica gel, até chegada ao Laboratório de Microbiologia do Solo da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (UFMT).

### **2.3.3. Isolamento e caracterização das estirpes de rizóbio**

Os nódulos foram lavados com etanol 90%, por um minuto, para reduzir a tensão superficial, seguido por desinfestação superficial com hipoclorito de sódio (5%; 4 minutos) e 10 lavagens com água estéril. Em seguida, os nódulos foram pressionados com uma pinça sobre o meio YMA (Fred e Waksman, 1928), com ágar e azul de bromotimol contido em placa de Petri. Após o isolamento, as placas foram incubadas a 28°C até o crescimento das colônias, quando então foram repicadas para novas placas, contendo o mesmo meio, e novamente incubadas a 28°C até novo crescimento das bactérias. A caracterização foi realizada segundo Vincent (1970), avaliando-se o tempo de crescimento de cada um dos isolados, sendo separadas bactérias de crescimento lento (4 dias ou mais) e rápido (até três dias); o pH do meio após o crescimento das bactérias, observado pela coloração do meio de cultura contendo azul de bromotimol (alcalino, ácido e neutro); e a cor/transparência das colônias. Quanto ao muco produzido pelas células, foi avaliada a intensidade de produção. As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Solo da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (UFMT).

Para avaliação da diversidade bacteriana, utilizaram-se os índices de Shannon-Weaver ( $H'$ ) (1949) eq (1); de riqueza de Margalef (DMg) (1958) eq (2) e de equitabilidade de Pielou (J) (1975) eq (3). Estes índices combinam o número de espécies (S) com o número total de indivíduos (N) e são calculados pelas seguintes equações:

$$H' = - \sum^S (p_i \cdot \ln' p_i) \quad (1)$$

Onde S é o número de espécies;  $n_i$  é número de indivíduos;  $p_i$  é a proporção da espécie i estimado como  $n_i/N$  e N é o número total de indivíduos.

$$DMg = (S-1)/\ln N \quad (2)$$

$$J = H'/H'_{\max} \quad (3)$$

Sendo:  $H'_{\max} = \ln(n)$ ; n = número de espécies amostradas;  $H'$  = índice de Shannon-Weaver.

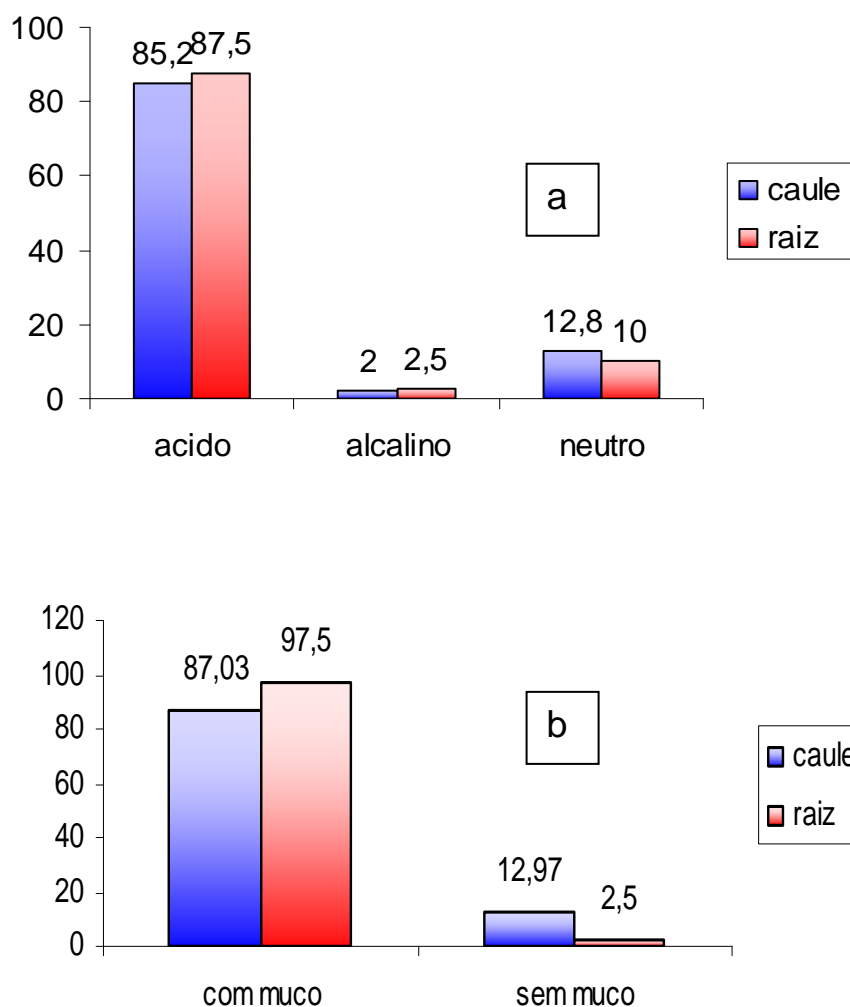
#### 2.4. Resultados e Discussão

Nos isolados provenientes de nódulos caulinares e radiculares 87,03 e 97,5%, respectivamente produziram grande quantidade de muco; 12,9 e 2,5% dos nódulos caulinares e radiculares não produziram muco. A grande maioria dos isolados, tanto de caule, como os de raiz, acidificaram o meio de cultura em 82,5 e 87,5% respectivamente. Aqueles que não alteraram o meio de cultura foram 12,8 e 10,0% de isolados obtidos de caule e raiz respectivamente. Entre aqueles isolados que alcalinizaram o meio, o percentual obtido foi de 2,0 e de 2,5% para caule e raiz, respectivamente (Figura 2).

Observou-se em relação à caracterização dos isolados bacterianos 21 tipos morfológicos diferentes em nódulos caulinares e 16 tipos morfológicos em nódulos radiculares (Tabela 3). Os isolados que acidificaram e não alteraram o meio de cultura foram de crescimento rápido e os que alcalinizaram o meio foram de crescimento lento.

Martins et al. (2001), em trabalho sobre eficiência da nodulação em *Discolobium pulchellum*, observaram que cerca de 90% dos isolados de raiz tiveram crescimento lento e alcalinizaram o meio. Já os isolados provenientes de nódulos caulinares, 80% tiveram crescimento rápido (até 3

dias) e tanto acidificaram quanto alcalinizaram o meio; observaram também que os isolados de rizóbio com crescimento lento, que alcalinizam o meio YMA formaram simbiose eficiente e os isolados de rizóbio de crescimento rápido, com reação ácida em meio YMA, foram inefficientes. Segundo Stowers e Elkan (1984), a produção de ácido ou base em meio YMA pode ser empregada como uma característica geral de taxonomia de rizóbio.



**Figura 2.** Reação ao pH do meio de crescimento (a) e produção de muco (b) em nódulos caulinares e radiculares em *Discolobium* spp., coletados na sub-região de Poconé, Pantanal, MT (janeiro a agosto de 2007).

**Tabela 3.** Caracterização das colônias de bactérias presentes em nódulos de caule (C) e raiz (R) de *Discolobium* spp., em sítios de coleta na sub-região de Poconé, Pantanal, MT. (janeiro a agosto de 2007).

Grupo Mor f.	pH	Produção muco	Cor	Nº Morfoespécies	Índice de ocorrência (%) <sup>1</sup>	Morfoespécies comuns <sup>2</sup>
1C	Ácido	+	Amarela	11	29,7	1
2C	Ácido	-	Amarela	2	5,4	2
3C	Ácido	+	Branca	2	5,4	3
4C	Neutro	+	Trasnparente	1	2,7	
5C	Ácido	+	Cen Amarel	2	5,4	
6C	Neutro	+	BCA*	1	2,7	
7C	Básico	-	Trasnparente	1	2,7	
8C	Ácido	+	Amar. leitosa	1	2,7	
9C	Ácido	+	BCA*	4	10,8	
10C	Ácido	-	ACT *	1	2,7	
11C	Ácido	+	Transparente	1	2,7	
12C	Ácido	+	Circ amarela	1	2,7	4
13C	Neutro	-	Amarela	1	2,7	
14C	Ácido	-	Cen Amarela	1	2,7	
15C	Neutro	+	Amarela	2	5,4	
16C	Ácido	+	CAE*	2	5,4	
17C	Neutro	-	BBI*	1	2,7	
18C	Ácido	+	ACA*	1	2,7	5
19C	Ácido	+	TCA*	2	5,4	
20C	Ácido	+	Bca trasp	1	2,7	
21C	Ácido	-	Bca circular	1	2,7	
1R	Ácido	+	PCA*	7	18,9	
2R	Ácido	+	Circ amarela	4	10,8	4
3R	Ácido	+	Amarela	5	13,5	1
4R	Ácido	+	ACA*	3	8,1	5
5R	Neutro	+	Branca	2	5,4	
6R	Ácido	+	Oval bca	1	2,7	
7R	Ácido	+	ACBCL*	8	21,6	
8R	Ácido	+	Bca circular	1	2,7	
9R	Neutro	+	Ponteada	1	2,7	
10R	Ácido	+	Branca	1	2,7	3
11R	Ácido	+	Amar claro	1	2,7	
12R	Ácido	+	RCA*	2	5,4	
13R	Básico	+	Bca circular	1	2,7	
14R	Ácido	-	Amarela	1	2,7	2
15R	Neutro	+	ALI*	1	2,7	
16R	Ácido	+	Bca pont	1	2,7	

\*ACA (amarelo, centro amarelo); ACBCL (amarelo, centro borda clara); ACT(amarelo, centro- transparente); ALI (amarelo, leitosa irregular); BBI (branca, borda irregular); BCA (Branca, centro amarelo); CAE (centro amarelo-escuro); PCA (ponteadada, centro amarelo); TCA (transparente, centro amarelo).

<sup>1</sup> Índice calculado pela razão entre nº de morfoespécies encontrada x 100/total de isolados.

<sup>2</sup>Números iguais representam morfoespécies iguais entre isolados de caule e raiz.

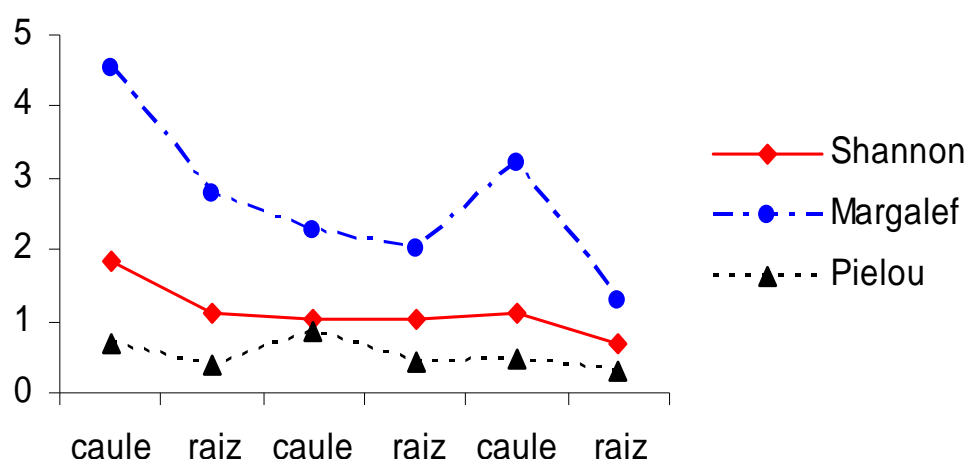
Martins et al. (1995) demonstraram em caupi (*Vigna unguiculata*) que no metabolismo de excreção dos rizóbios de crescimento rápido, estes necessitaram menos nitrogênio (tanto na forma amoniacal como nítrica), fósforo e potássio do que os de crescimento lento. As baixas taxas de crescimento dos rizóbios de crescimento lento são decorrentes da menor eficiência destes organismos na utilização da maioria dos substratos (Martins et al., 2001).

A ocorrência de rizóbio de crescimento lento ou rápido parece estar relacionada com a variação do pH dos solos (Stamford et al., 1996). Sabe-se que as estirpes de crescimento rápido, são mais adaptadas aos solos e brasileiros, visto que elas se estabelecem rapidamente e podem tolerar melhor estresses ambientais, tais como temperaturas elevadas e acidez (Silva et al., 2002). Moreira et al. (1993) observaram grande número de isolados de crescimento rápido e acidificadores do meio de cultura, em solos da Floresta Amazônica. Nesse estudo realizado no Pantanal de Poconé observou-se que as bactérias isoladas dos nódulos caulinares e radiculares apresentaram crescimento rápido em meio YMA.

A habilidade dos isolados em produzir muco também foi observada, sendo que a grande maioria dos isolados (90%) produziram grande quantidade de muco. Eaglesham et al. (1987) em caupi (*Vigna unguiculata*) encontraram estirpes produtoras de muco superiores às estirpes não produtoras de muco. Martins (1996) em caupi (*Vigna unguiculata*) e Campelo (1976) em leguminosas florestais observaram que as estirpes de crescimento rápido tiveram produção abundante de muco, enquanto que as de crescimento lento produziram pouco ou nenhum muco. O muco age como uma barreira protetora contra fatores bióticos e abióticos, possibilitando a sobrevivência e a persistência dos microrganismos no solo.

A grande quantidade de isolados produtores de muco e de crescimento rápido encontrados nesse trabalho devem estar ligado às condições estressantes observadas no Pantanal mato-grossense, devido aos ciclos de inundação e seca.

Em relação aos índices de diversidade e riqueza de espécies observaram-se maiores valores no sítio Rio Claro – (RC), vindo em seqüência o sítio Ponto Barara – (PBa); e o local com menor diversidade encontrado foi o sítio de estudo Posto Fiscal – (PF) (Figura 3 e Apêndice 9).



**Figura 3.** Diversidade encontrada em três sítios do Pantanal de Poconé, MT, de bactérias isoladas de nódulos de caule e raiz e índices de diversidade Shannon (H), de riqueza de Margalef (Mng) e equitabilidade de Pielou (J).

A diversidade e riqueza de isolados de raiz foi maior em RC. O Mesmo foi observado no sítio PF caracterizado por baixa nodulação caulinar e tempo e nível de inundação inferiores aos demais, apresentou índice de diversidade e riqueza dos isolados superior ao sítio PBa.

O sítio RC que apresentou os maiores índices de diversidade, tanto em isolados de caule quanto de raiz. A elevada nodulação caulinar durante o período de cheia e as características do solo (franco argiloso), bem como, o maior tempo de inundação durante o ano podem ter influenciado nesses resultados.

No sítio PBa o solo é argiloso e pouco friável na seca, o que pode ter influenciado diretamente nos baixos índices de diversidade e riqueza de isolados de raiz.

Os valores determinados pelo Índice de equitabilidade de Pielou, demonstram que os isolados de raiz estão baixos nos três locais de estudo. Na interpretação do Índice de Pielou (J) (1975), o valor mínimo é 0,0 e o máximo 1,0, representando equitabilidade baixa e alta, respectivamente, e quando multiplicado por 100 apresenta em porcentagem a diversidade atual em relação à máxima possível.

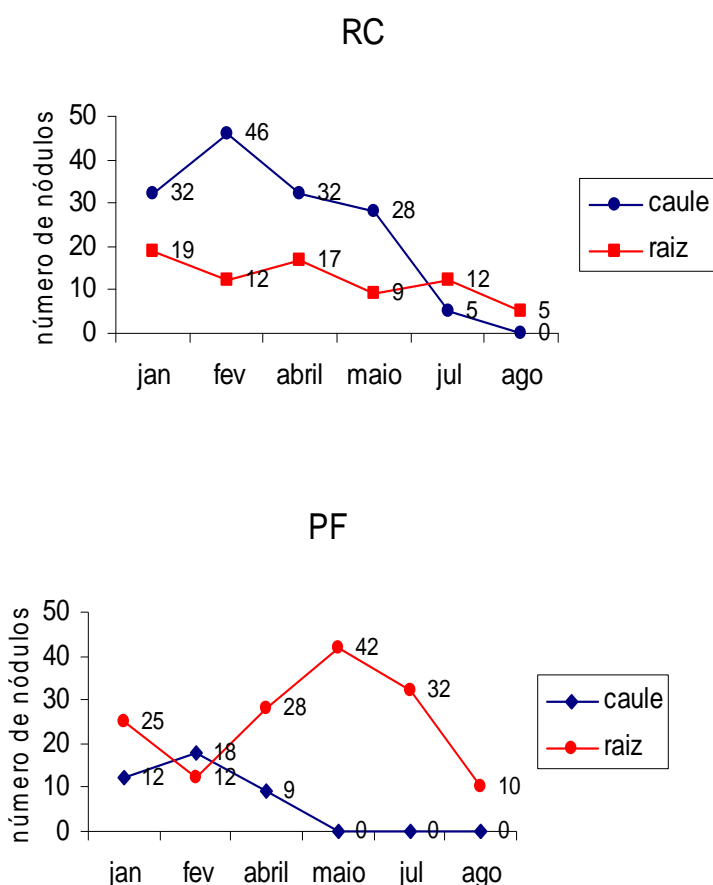
O Índice de diversidade de Shannon (H') é um índice relativo, portanto necessita ser comparado ao de outras áreas. Em avaliação de diversidade de rizóbios no Cerrado do Piauí foram encontrados valores do Índice de Shannon variando de 0,35 a 3,61 (Zilli et al., 2000). Em solos da Amazônia os valores do Índice de Shannon encontrados foram de 2,64 a 3,11 (Moreira et al., 1993). Em áreas de recuperação de bauxita após 12 anos os valores foram de 1,39 a 3,35 em rizóbios nodulando *Acacia mangium*, *Eucalyptus* sp. e espécies nativas (Melloni et al., 2006). Em Pernambuco, os índices variaram de 2,18 a 3,76, em rizóbios nodulando várias leguminosas tropicais (Santos et al., 2007).

Foram comparados os Índices de riqueza obtidos a outros estudos com diversidade de rizóbios. Em Pernambuco, com as leguminosas *Arachis*, *Stylosanthes* e *Aeschynomene*, os valores encontrados variaram de 0,48 a 5,88 (Santos et al., 2007). No cerrado do Piauí, esses índices em rizóbios foram 0,29 a 4,0 (Zilli et al., 2000).

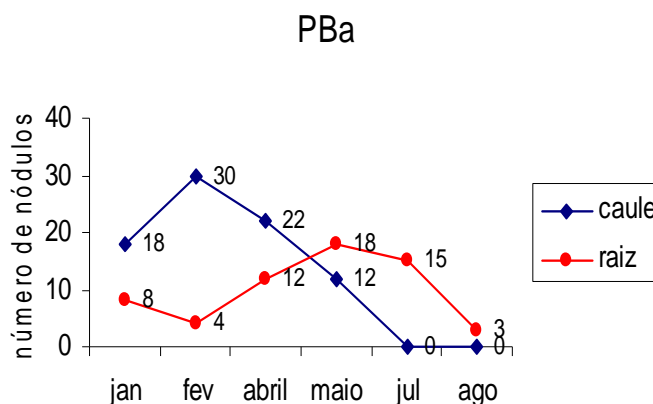
Observou-se dinâmica da nodulação caulinar e radicular em função das épocas de alagamento e seca. Nesse levantamento, a nodulação de caule e raiz apresentou-se de modo diferenciado nas áreas selecionadas. No sítio 1 (Rio Claro), por ser local de maior alagamento e próximo de vários afluentes do Rio Claro a inundação é persistente durante o ano, ocorreu alta nodulação caulinar, desempenho diferente do verificado nos sítios PF e PBa, onde a inundação é menos intensa e os locais secam antes (abril e maio). Ao contrário de outras leguminosas nodulantes, os nódulos de caule de *Discolobium* spp., têm uma necessidade obrigatória de estarem submersos e senescem rapidamente quando expostos ao ar (Loureiro, 1994)



A nodulação radicular decresceu com a inunda o, os nódulos radiculares eram poucos nessa época e apresentavam-se deteriorados. Ocorreu dessa forma dois picos de nodula o, caulinar, na plena cheia, e radicular, na meia esta o. No período de plena seca, os dois tipos de nodula o decresceram. A queda do número de nódulos caulinares   facilmente entendida, pois a nodula o caulinar em *Discolobium* spp., s    efetiva na presença de inunda o persistente. Parsons et al. (1992), em *S. rostrata*, demonstraram que a baixa umidade tem efeito adverso no crescimento dos nódulos caulinares (Figura 4).



**Figura 4.** Nodula o de caule e raízes em três sítios de coleta na sub-região Poconé, Pantanal, MT: Rio Claro (RC); Posto Fiscal (PF) e Ponto Barara (PBa) durante a cheia (jan-fev), vazante (abril-maio) e seca (julho-agosto) em plantas de *Discolobium* spp.



**Figura 4.** Nodulação de caule e raízes em três sítios de coleta na sub-região Poconé, Pantanal, MT: Rio Claro (RC); Posto Fiscal (PF) e Ponto Barara (PBa) durante a cheia (jan-fev), vazante (abril-maio) e seca (julho-agosto) em plantas de *Discolobium* spp.

O decréscimo acentuado na nodulação radicular na cheia pode ser advindo da hipoxia do nódulo e na época seca, pelo severo déficit hídrico ao qual estão submetidas as plantas. Tal estresse tem como resposta da planta uma abscisão total das folhas e acúmulo de reservas nas raízes, ocorrendo rebrota após as primeiras chuvas da nova estação (Elias Neto et al., 2008).

Há uma época do ano, geralmente fim das águas e início do período seco, onde parece haver uma migração da nodulação caulinar para radicular. Essa inferência deve-se a diversidade de isolados comuns, que ocorreram nos nódulos de raiz e caule (Tabela 3), e pela ausência de nodulação em períodos de seca extrema. A grande maioria dos isolados observados em caule e raiz são comuns e apareceram com frequência nesse estudo. Durante a fase de seca extrema (julho a agosto), os nódulos de *Discolobium* spp., praticamente desapareceram.

## 2.5. Conclusões

O gênero *Discolobium* spp., apresentou isolados obtidos de nódulos caulinares e radiculares que acidificaram o meio de crescimento (80%) e produziram grande quantidade de muco (90%);

Ocorreu maior diversidade e riqueza de isolados em nódulos caulinares em locais de maior tempo de alagamento;

O tipo de nodulação, caulinar ou radicular, é dependente da época do ano;

Em severo estresse hídrico a planta deixou de nodular.

## 2.6. Referências Bibliográficas

ALLEN, A.C.; VALLS, J.F.M. **Recursos forrageiros do Pantanal Mato-grossense**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEM, Documentos, 8, 1987, 339p.

CAMPELO, A.B. **Caracterização e especificidade de *Rhizobium* spp de leguminosas florestais**. 1976. 122f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1976.

EAGLESHAM, A.R.J; STOWERS, M.D.; AMINA, M.L.; GOLDMAN, B.J.; SINCLAIR, M.J.; AYANABA, A. Physiological and Biochemical Aspects of Diversity of *Bradyrhizobium* sp. (Vigna) from three West African Soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.19, p.575-581, 1987.

ELIAS NETO, N.; LOUREIRO, M.F.; COELHO, M.F.B.; ABREU, J.G. Aspectos Fenológicos de *Discolobium pulchellum* Benth, Leguminosae Papilionoideae no Pantanal de Poconé, MT. **Revista Agricultura Tropical**, Cuiabá, v.9, n.1, p.24-35, 2008.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa em Solos. **Manual de Métodos de Análises de Solos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Embrapa-CNPQ, 1997. 212 p.

FRED, E.B.; WAKSMAN, S.A. Yast Extract – **Mannitol agar for laboratory manual of general microbiology**. New York: McGraw Hill, 1928. 145p.

HUNTER-CEVERA, J.C. The value of microbial diversity. **Current Opinion in Microbiology**, Amsterdam, v.1, n.3, p.278-285, 1998.

JAMES, E.K.; LOUREIRO, M.F.; POTT, A.; POTT, V.J.; MARTINS, C.M.; FRANCO, A.A.; SPRENT, J.I. Flooding-tolerant legume symbioses from the Brazilian Pantanal. **New Phytologist**, Oxford, v.150, p.723-728, 2001.

JORDAN, D.C. *Rhizobiaceae* Conn 1938. In: KRIEG, N. R. & HOLT, J. G., (Eds). **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore/London: Williams & Wilkins, 1984. p.235-244,

JUNIOR, B.; HUNGRIA, M. Efeito de doses de inoculantes turfosos na fixação biológica do nitrogênio pela cultura da soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Piracicaba, n.24, p.527-535. 2000.

LOUREIRO, M. F. **Caracterização das estirpes de rizóbio e morfologia dos nódulos de raiz e caule de *Aeschynomene* spp. e *Discolobium* spp. nativas do Pantanal Mato-Grossense**. 1994. 205f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1994.

LOUREIRO, M.F.; JAMES, E.K.; SPRENT, J.I. Nitrogen-fixing stem nodules of the legume, *Discolobium pulchellum* Benth. **New Phytologist**, Oxford, v.128, p.283-295, 1994.

LOUREIRO, M.F.; SOUZA, F.E.F.; ELIAS NETO, N.; CAMPOS, L.L. Efeito da inoculação com rizóbio e de substratos na produção de proteína bruta em *Discolobium* spp. Congresso Brasileiro de Microbiologia, 24, **Anais...Brasília-DF**. 2007. Cd-Room.

MARGALEF, R. Information theory in ecology. **Genetics Systems**, n.3, p.36-71, 1958.

MARTINS, C.M. **Caracterização de isolados de nódulos de caule e raiz de *Discolobium* spp., e descrição da morfologia dos nódulos de caule de *Discolobium leptophyllum***. 1999. 115f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.

MARTINS, C.M.; LOUREIRO, M.F.; SOUTO, S.M.; FRANCO, A.A. Eficiência da fixação biológica de nitrogênio de isolados de nódulos de raiz e caule de *Discolobium* spp. **Revista Agricultura Tropical**, Cuiabá, n.5, p.67-79, 2001.

MARTINS, L.M.V. RUMJANEK, N.G.; NEVES, M.C.P. Diversity of cowpea nodulating rhizobia isolated from semi-arid north-east region of Brazil. **Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 67 (supl 3) p. 467-471, 1995.

MARTINS, L.M.V. **Características ecológicas e fisiológicas de rizóbio que nodula caupi (*Vigna unguiculata* (L) Walp) isolado a partir de solos da região Nordeste do Brasil**. 1996. 213f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica 1996.

MELLONI, R.; MOREIRA, F.M.S.; NÓBREGA, R. S.A. ; SIQUEIRA, J.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.

MOREIRA, F.M.S.; GILLIS, M.; POTT, B.; KERSKERS, K.; FRANCO, A.A. Characterization of rhizobia isolated from different divergence groups of tropical leguminosae by comparative polyacrylamide gel electrophoresis of their total proteins. **Systematic and Applied Microbiology**, v.17, p.135-146, 1993.

MOREIRA, F.M.S.; PEREIRA, E.G. Microsymbionts: Rhizobia. In: SWIFT, M.; BIGNELL, D. (Eds.). **Standard methods for assessment of soil biodiversity and land use practice**. Bogor, Indonesia, 2001. 34p.

OMETTO, J.C. **Bioclimatologia vegetal**. São Paulo: Agronômica Ceres Ltda., 1981. 440p.

PARSONS, R.; RAVEN, J.A.; SPRENT, J.I. A simple open flow system used to measure acetylene reduction activity of *Sesbania rostrata* stem and root nodules. **Journal of Experimental Botany**, London, v.43, p.595-604, 1992.

PEREIRA, E.G. **Diversidade de rizóbios isolados de diferentes sistemas de uso da terra na Amazônia**. 2000. 93f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

PIELOU, E.C. **Ecological Diversity**. New York: Wiley Interscience, 1975.

POTT, A. **Pastagens do Pantanal**. Corumbá: EMBRAPA-CPAP, Documentos 7, 1988. 58p.

SANTOS, C.E.R.S.; STAMFORD, N.P.; NEVES, M.C.P.; RUNJANEK, N.G.; BORGES, W.L.; BEZERRA, R.V.; FREITAS, A.D.S. Diversidade de rizóbios capazes de nodular leguminosas tropicais. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.2, n.4, p.249-256, out.-dez., 2007.

SHANNON, C.E.; WEAVER, W. **The mathematical theory of communication**. Urbana. University Illinois Press, 1949. 117p.

SILVA, A.F.; FREITAS, A.D.S.; STAMFORD, N.P. Efeito da inoculação da soja (cv. Tropical) com rizóbios de crescimento rápido e lento em solo ácido submetido à calagem. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.24, n.5, p.1327-1333, 2002.

STAMFORD, N.P.; SANTOS, C.E.R.S.; MEDEIROS, R.; FIGUEIREDO, M. V. B. Efeito de diferentes relações potássio magnésio no jacatupé com inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Viçosa, v.20, n.54, 1996.

STOWERS, M.D.; ELKAN, G.H. Growth and nutritional characteristics of cowpea rhizobia. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.80, p.191-200, 1984.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: VENEGAS, V. H. A. et al. (Eds.). **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 2, 2002, p.195-276.

TRANSPANTANEIRA. Site sobre turismo no Pantanal Mato-grossense. Imagem disponível em: <http://www.transpantaneira.com>. Acesso em: 03/04/2007.

VINCENT, J. M. A. **Manual for the practical study of the root nodule bacteria**. (IPB H.ANDBOOK no.15). Oxford and Edinburgh: Blackwell Scientific, London, 1970. 164p.

ZILLI, J.E.; ALMEIDA, D.L.; RUMJANEK, N.G.; NEVES, M.C.P. **Levantamento da Biodiversidade de Rizóbio em Diferentes Áreas de um Sistema Integrado de Produção Agroecológica**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, Documentos 69, 1998. 15p.

ZILLI, J.E. **Caracterização e Seleção de Estirpes de rizóbios para inoculação do caupi (*Vigna unguiculata*) em áreas de Cerrado**. 2000. 89f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Rio de Janeiro, UFRRJ, 2000.

### 3. COMPOSIÇÃO QUÍMICO-BROMATOLÓGICA DE *Discolobium* spp, LEGUMINOSA NATIVA DO PANTANAL MATO-GROSSENSE

**RESUMO** - As leguminosas do gênero *Discolobium* spp., fazem parte da dieta alimentar de herbívoros nativos, bovinos e peixes do Pantanal, além disso, nodulam a raiz e, o caule na época cheia. O objetivo do estudo foi determinar a variação sazonal na composição químico-bromatológica de *Discolobium* spp., em três sítios do Pantanal de Poconé, MT, que apresentavam diferenças, principalmente, em nível de nodulação caulinar. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2 (três locais e duas partes da planta: caule e folha), com dez repetições. Foram determinados os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), nutrientes digestíveis totais (NDT), lignina (LIG) e os principais macro e micronutrientes minerais na época da plena cheia (jan-mar) e início da estação seca (mai-jun). Os teores de FDA, FDN e LIG foram maiores no caule do que na folha. Os teores de P nas folhas estão próximos do nível mínimo de exigência para bovinos em engorda. Os valores médios de proteína bruta, P, K e Ca nas folhas no início da seca foram superiores aos encontrados na cheia. A planta é deficiente em Na, em Zn no caule e pode ocorrer toxidez de Fe nas folhas. As diferenças nos teores de PB entre os locais não estão relacionados com a alta ou baixa incidência de nodulação. O teor de PB nos caules e folhas é influenciado pela época do ano.

**Palavras-chave:** fixação biológica de nitrogênio, forrageira nativa, proteína bruta.

## CHEMICAL AND NUTRITIONAL COMPOSITION OF *Discolobium* spp, A LEGUME NATIVE TO THE MATO GROSSO WETLANDS

**ABSTRACT** - Legumes in the genus *Discolobium* spp. constitute part of the diet of native herbivores, bovines, and fish in the Pantanal region. In addition, they produce root and stem nodules during the flood season. The objective of this study was to determine the seasonal variation in the chemical/nutritional composition of *Discolobium* spp. at three sites from Pantanal of Poconé, MT, Brazil, which differed mainly in stem nodulation levels. A completely randomized design was adopted, organized as a 3 × 2 factorial combination (three locations and two plant parts: stems and leaves), with ten replicates. Dry matter (DM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), total digestible nutrients (TDN), lignin (LIG), and the most important mineral macro- and micronutrients contents were determined during the full flood season (Jan-Mar) and the beginning of the dry season (May-Jun). ADF, NDF, and LIG contents were higher in the stem than in the leaves. Leaf P contents were near the minimum requirement levels for feeder bovines. Mean crude protein, P, K, and Ca values in the leaves in the beginning of the dry season were higher than those found during the flood season. The plant is deficient in Na, and in Zn in the stem, while Fe toxicity may occur in the leaves. Differences in CP contents between locations are not related to high or low incidences of nodulation. CP contents in stems and leaves are influenced by season of the year.

**Keywords:** biological nitrogen fixation, native forage, crude protein.



### 3.1. Introdução

O Pantanal caracteriza-se por ser uma grande planície sedimentar, onde predominam campos inundáveis e ocorrência de forrageiras nativas utilizadas na exploração da bovinocultura de corte extensiva, que se constitui na principal atividade econômica da região. A alimentação do rebanho é baseada quase exclusivamente na utilização dessas pastagens (Allem e Valls, 1987; Pott, 1988; Pott e Pott, 1994).

As pastagens nativas ou naturais são áreas de vegetação compostas por espécies forrageiras naturais da região, e que são utilizadas para pastejo (Santos et al., 2004). Das 1.863 espécies de plantas do Pantanal (pertencentes a 774 gêneros e 136 famílias), as três famílias com maior número de espécies, e nas quais estão as mais importantes forrageiras, são: Leguminosae (240 espécies), Gramineae (212 espécies) e Ciperaceae (92 espécies) (Pott e Pott, 1996; Santos et al., 2004). Para a sustentabilidade desse ecossistema, torna-se necessário conhecer melhor as leguminosas, como componentes da pastagem e sua influência na melhoria do valor nutritivo da dieta animal.

O alto valor nutritivo da forragem é determinado pelo alto teor de proteína bruta e minerais, pelo baixo conteúdo de fibras e pela alta digestibilidade (Euclides, 1995). Em um ecossistema de pastagens, o papel das leguminosas ganha destaque pelos seus múltiplos efeitos benéficos, notadamente pela capacidade de fixação de nitrogênio atmosférico, pela qualidade protéica e pela contribuição à sustentabilidade dos sistemas de produção. A adição potencial de nitrogênio (N), via fixação biológica na leguminosa em tais pastagens, contribui para o balanceamento do ciclo do N no ecossistema. A capacidade anual de fixação de N<sub>2</sub> em pastagens de gramíneas associadas com leguminosas varia de 13 a 682 kg N/ha (Ledgard e Steele, 2002).

As plantas de *Discolobium* spp apresentam uma adaptação evolutiva de nodulação caulinar, fixando o nitrogênio sob condições de alagamento, através da simbiose com bactérias conhecidas como rizóbios, que são

capazes de, através da enzima nitrogenase, transformar o nitrogênio do ar em compostos nitrogenados assimiláveis pela planta (Loureiro et al., 1994).

Em solos inundados, a fixação biológica do nitrogênio em leguminosas é, geralmente, prejudicada pelo suprimento insuficiente de oxigênio ( $O_2$ ) para os nódulos (James e Crawford, 1998). Assim, as leguminosas nativas de áreas sujeitas à inundação apresentam mecanismos adaptativos, como a nodulação caulinar (Martins et al., 2001), que permitem a manutenção de uma concentração de  $O_2$  adequada ao processo de fixação biológica de  $N_2$ .

As espécies que possuem nódulos caulinares apresentam um elevado potencial de fixação de  $N_2$ . Este alto desempenho pode ser atribuído à presença de tecido fotossintético próximo aos nódulos, o que torna possível a fosforilação cíclica assim como a síntese de carboidratos, possibilitando o fornecimento de energia para a fixação de  $N_2$  (Boivin et al., 1997). Dentre as leguminosas, muitas formam simbiose com bactérias dos gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium* e *Mesorhizobium* (Júnior e Hungria 2000). Loureiro et al. (1994) relataram duas espécies de leguminosas com capacidade de formar nódulos no caule em associação com essas bactérias, *Discolobium pulchellum* e *D. psoraleaeifolium*. James et al. (2001) também encontraram em *D. leptophyllum*, nódulos de raiz e caule em áreas alagadas do Pantanal mato-grossense. Juntamente com a formação do nódulo, algumas espécies desenvolvem um grande número de células parenquimatosas, com tecido esponjoso, que facilitam a captação de oxigênio suficiente para as várias funções metabólicas em ecossistemas alagados (Ladha et al., 1992).

Na avaliação da composição química das forrageiras, comumente se consideram os teores de proteína bruta, FDN (fibra em detergente neutro) e FDA (fibra em detergente ácido) e dos minerais (cálcio e fósforo) apesar da infinidade de outros compostos orgânicos e minerais presentes na matéria seca vegetal (Gomide e Queiroz, 1994). Existem cerca de 17 elementos inorgânicos requeridos pelos bovinos, dentre eles, os macroelementos que incluem cálcio, fósforo, magnésio, potássio, sódio, cloro e enxofre, e os

microelementos cromo, cobalto, cobre, iodo, ferro, manganês, molibdênio, níquel, selênio e zinco. Outros elementos como o arsênio, boro, chumbo, silício e vanádio, parecem ser essenciais para outras espécies animais, mas não há evidência, até o presente, de que eles sejam importantes para bovinos (NRC, 2000).

A importância do teor de PB decorre da sua essencialidade direta para o organismo animal, assim como dos macro e microminerais. A quantificação dos teores de fibras é importante, pois possui relação inversa com a ingestão voluntária de forragem e com o conteúdo em energia líquida do alimento (Chambela Neto et al., 2008).

Objetivou-se com o presente trabalho avaliar a composição químico-bromatológica e valor forrageiro do caule e folhas de *Discolobium* spp., colhidos em diferentes sítios do Pantanal de Poconé, MT, em duas épocas do ano, cheia e início da seca.

### **3.2. Material e Métodos**

O experimento realizou-se na sub-região de Poconé, Pantanal, MT. O clima da região conforme classificação de Köppen, citado por Ometto (1981), é do tipo Aw, ou seja, tropical quente e úmido, com precipitação média de 1.250 mm ao ano e temperatura média anual de 25,8°C.

As atividades de campo iniciaram-se em janeiro de 2007, com a seleção de locais com base no grau de ocorrência de plantas, níveis de inundação, incidência de nodulação e classes texturais de solo. Esses locais selecionados foram:

Sítio 1 - Margens do Rio Claro (RC) (16° 40' 675" S e 56° 40' 503" W): caracterizado por elevada incidência de nodulação caulinar e radicular, inundação prolongada durante o ano, solo franco-argiloso. Este local de estudo pertence à micro-bacia do Rio Claro efluente do Rio Pixaim. É formado predominantemente por gramíneas nativas do gênero *Paspalum* spp. (macega) e leguminosas dos gêneros *Discolobium pulchellum*, *D. psoraleaefolium*, raras espécies de *Discolobium leptophyllum*, grande quantidade de *Sesbania* spp., *Cassia* spp., *Mimosa* spp., *Aeschynomeneae*

spp., e *Vigna* spp. Apresenta relevo plano com declive moderado com vários corichos para as áreas de captação da micro-bacia hidrográfica;

Sítio 2 - Posto Fiscal (PF) (16° 40' 683" S e 56° 46' 283" W): caracterizado por baixa presença de nodulação caulinar, inundação moderada durante o ano e solo arenoso. Está localizado próximo à vazante do Rio Bento Gomes. A vegetação do local constitui-se de algumas gramíneas exóticas do gênero *Brachiaria* sp., e *Eleusine* sp (pé-de-galinha), *Cynodon* sp e *Cyperus* spp. As principais leguminosas presentes são: *Discolobium pulchellum*, *D. psoraleaefolium*, *Aeschynomeneae* spp., *Zorzia* spp. e *Mimosa* spp.

Sítio 3 - Ponto Barara (PBa) (16° 31' 376"S e 56° 42' 793" W): caracterizado por mediana presença de nodulação caulinar, inundação prolongada e solo argiloso. Esse local tem forte influência do barramento provocado pela construção da rodovia Transpantaneira, desta forma, ocorre uma inundação pronunciada na área a montante. A vegetação do local é constituída basicamente por *Discolobium pulchellum* e *D. psoraleaefolium*, *Sesbania sesban*, *Desmodium barbatum* e *Vigna luteola*.

Nesse período, foram feitas coletas de solo, medições do nível de alagamento, contagem do número de nódulos e de plantas. Tais resultados permitiram classificar as áreas em relação à concentração de nódulos em baixa, média e alta e a densidade média de plantas de *Discolobium* spp. (Tabela 1).

As plantas foram cortadas a 5,0 cm acima do solo, as amostras foram colhidas e separadas em folhas e caule, medidas e pesadas para posterior análise.

As amostras de solos foram enviadas para laboratório particular credenciado, sendo feitas análises para a determinação do pH em água; P, K, Ca, Mg, Al, H, Matéria Orgânica (M.O.), areia, silte e argila, conforme Embrapa, 1997. Os resultados analíticos das amostras de solo encontram-se na Tabela 2.

**Tabela 1.** Localização, altura de lâmina d'água, persistência da inundação, densidade de plantas de *Discolobium* spp., e nodulação em três sítios de coleta na sub-região Poconé, Pantanal MT, em janeiro de 2007.

Sítios de coleta*	Altura da Lâmina D'água (cm)	Período de inundação	Densid. média de plantas (m <sup>2</sup> )	Concentração total de nódulos
RC	60	jan- jun	12,2	alta
PF	35	jan-abr	3,5	baixa
PBa	48	jan-mai	28,9	média

\* (RC) Margens do Rio Claro; (PF) Posto Fiscal; (PBa) Ponto Barara

**Tabela 2.** Características químicas e físicas dos sítios de coleta na profundidade de 0-20 cm, localizadas na sub-região Poconé, Pantanal, MT.

Sítios de coleta*	pH água	P mg/dm <sup>3</sup>	K	Ca+Mg Ca Mg Al H					M.O. %	Classe textural
				cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>						
RC	5,7	8,7	88	4,2	3,5	0,7	0,0	4,8	3,90	areno-argiloso
PF	5,1	16,0	35	1,8	1,2	0,6	0,6	2,5	1,61	arenoso
PBa	5,3	8,9	28	1,1	0,8	0,3	0,4	2,0	1,14	argiloso

\* (RC) Rio Claro; (PF) Posto Fiscal; (PBa) Ponto Barara

As características avaliadas no caule e folhas das plantas foram: proteína bruta (PB), matéria seca (MS) lignina (LIG), fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN), nutrientes digestíveis totais (NDT) e minerais (Ca, P, K, Mg, Na, Fe, Mn, Zn e Cu). A pré-secagem das amostras foi realizada em estufa de circulação forçada de ar com temperatura de 55 a 60°C, por 72 horas. O material pré-seco foi pesado e moído, utilizando-se moinho estacionário com peneira de 1 mm. Foi determinado o teor de MS em estufa, a 105°C, por 12 horas, e os teores de nitrogênio foram determinados pelo método micro Kjeldahl (AOAC, 1995). Os valores de N encontrados foram multiplicados por 6,25 para obtenção do teor de PB. Os minerais Ca, Mg, Na, Fe, Mn, Zn e Cu foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica e P, por espectrofotometria

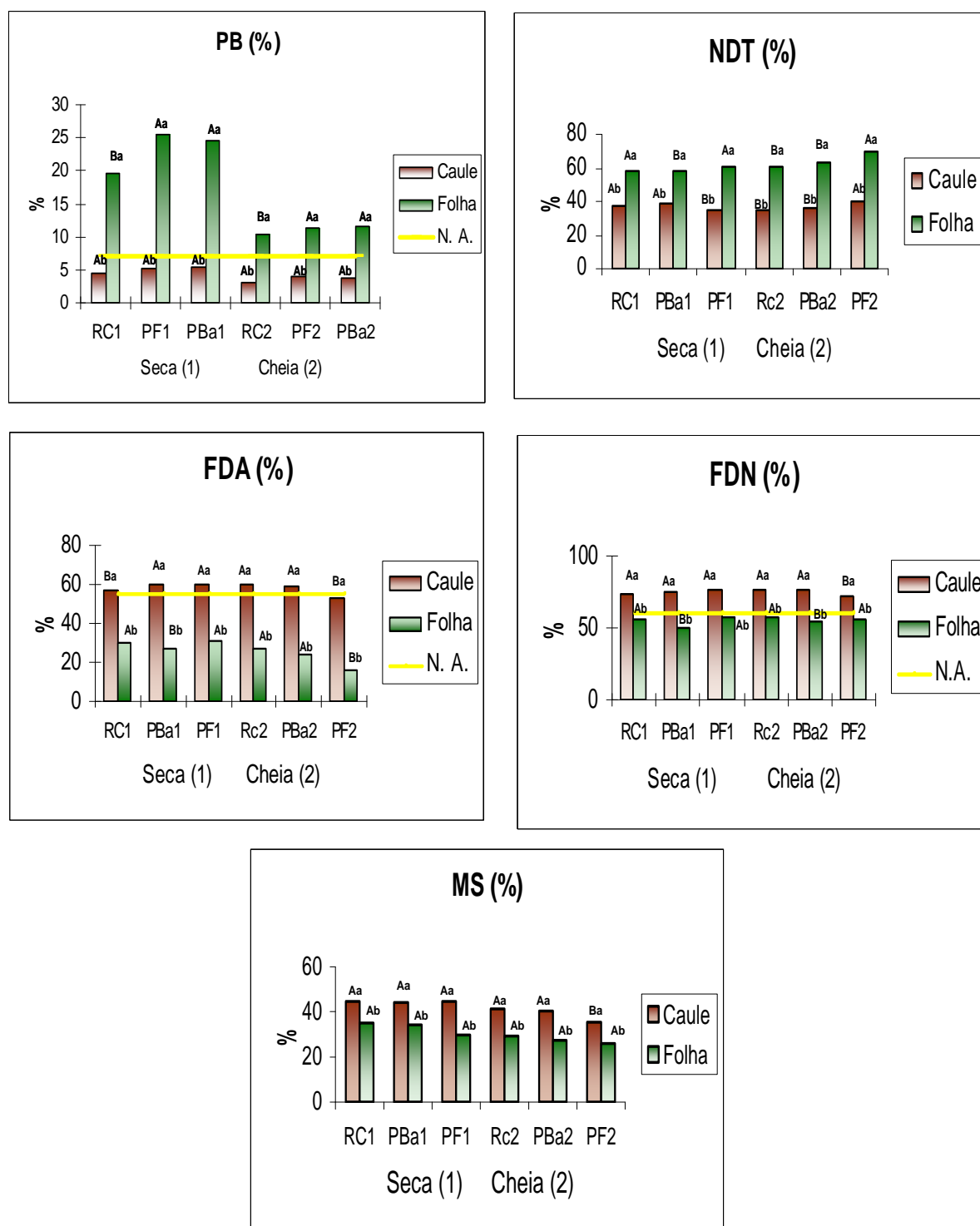
colorimétrica. (Silva e Queiroz, 2002). As determinações da FDN e FDA foram realizadas pelo método Van Soest (1965), que é baseado na separação das diversas frações constituintes das forrageiras, por meio de reagentes específicos, denominados detergentes (Silva e Queiroz, 2002). O teor de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi estimado pela eq. (1) proposta por Teixeira (1997), citado por David (2001):

$$\text{NDT (\%MS)} = 88,9 - [(FDA) \cdot 0,779] \quad (1)$$

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e dez repetições. Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial 3x2, sendo três locais de coleta; duas partes da planta (caule e folhas). Em cada local, foram selecionados dez pontos ao acaso e coletadas três plantas. As coletas foram realizadas de forma independentes nas duas épocas do ano, seca (julho a setembro) e cheia (janeiro a março) com periodicidade quinzenal. Os dados foram analisados, utilizando o software estatístico SAEG 5.0 (Ribeiro Júnior, 2001).

### **3.3. Resultados e Discussão**

Os teores de PB na folha e no caule diferiram significativamente nos três locais estudados. Os teores de PB nas folhas e caule foram mais elevados no período de seca, apresentando teores de PB variando de 10,42 a 11,64% na folha e de 3,15 a 3,91% no caule, na época cheia, e de 19,62 a 25,42% na folha e de 4,49 a 5,34% no caule, na época seca (Figura 1). Nos sítios de média e baixa nodulação (Ponto Barara e Posto Fiscal), os teores de PB na folha foram superiores ao sítio de coleta RC, local de alta nodulação. No caule, porém, não ocorreu diferenças significativas entre os locais de estudo. No local de alta nodulação, o nível e o tempo de inundação foram superiores aos demais sítios de coleta, o que provavelmente foi determinante para a menor concentração de PB na planta, tanto na época seca como na época cheia.



Letras maiúsculas iguais entre sítios de coleta e minúsculas iguais entre porções da planta, dentro de cada época, não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knot a 5%.

N.A. Necessidade média animal para vacas em gestação e novilhos.

**Figura 1.** Composição bromatológica média em folhas e caules de *Discolobium* spp, em três sítios de coleta na sub-região Poconé, Pantanal de Mato Grosso, coletados nas épocas cheia e início da seca no ano de 2007.

Os menores teores de PB, encontrados na época cheia, podem ser explicados pela alta demanda fotossintética da planta por assimilados (Oldroyd et al., 2001). O fato da inundação ter maior duração após o período das chuvas, no sítio de alta nodulação, pode ter influenciado a produção de proteína nas folhas, ou mesmo, pelo fato da eficiência da nodulação não ser medida por uma relação direta do número de nódulos encontrados e sim pela massa seca dos nódulos (Döbereiner, 1966; Campos et al., 2001). Da mesma forma, algumas leguminosas nativas supridas exclusivamente pelo N-simbiótico não conseguem expressar todo o seu potencial produtivo, uma vez que o processo de fixação de  $N_2$  pode promover alterações na morfofisiologia das plantas, resultando em decréscimo no crescimento, como ocorre com *Adesmia araujoi* e *Lotus corniculatus*. Os nódulos também representam um dreno adicional de fotossintatos e nutrientes, competindo com os outros órgãos da planta pelos assimilados (Cassman et al., 1980).

Outro fator que pode explicar os baixos teores de PB em locais com alta lâmina de água e inundação persistente é a hipoxia do nódulo. A hipoxia do nódulo foi estudada em plantas noduladas de soja. Como o nódulo é muito mais sensível à disponibilidade de oxigênio do que as raízes, devido à presença no nódulo de uma barreira variável à difusão de oxigênio, que deixa o teor interno de oxigênio praticamente no limite para o funcionamento eficiente da fixação de  $N_2$ , a simples transferência da planta para um sistema hidropônico, mesmo com aeração, prejudica a fixação de  $N_2$ , levando a uma deficiência de N (Scholles e Vargas, 2004).

Conforme Atkins (1984), em situações de baixa eficiência, os nódulos podem carrear até 25% de fotoassimilados para o seu funcionamento. Vance et al. (1982) afirmaram que a reduzida fixação biológica de nitrogênio em algumas leguminosas, como cornichão (*Lotus corniculatus*), pode ser reflexo das maiores necessidades de fotoassimilados para a manutenção e funcionamento dos seus nódulos, conduzindo a um maior custo energético.

Ao se comparar os teores da composição físico-química dos solos desses locais, a matéria orgânica e o cálcio no sítio 1 (RC) e fósforo no sítio 2 (PBa), parecem ser os valores que sobressaem aos demais. Sabe-se que



os elementos N, P e S são freqüentemente imobilizados na biomassa microbiana (Waring e Schlesinger, 1985), e poderiam estar também interferindo na menor disponibilidade do nitrogênio mineral pelas plantas desse local. As plantas dependentes da fixação biológica de N<sub>2</sub> requerem mais fosfato que as plantas que usam exclusivamente N mineral. No sítio de coleta 1 (RC) os baixos níveis de P podem estar afetando a simbiose, ao diminuir o suplemento de fotossintatos ao nódulo, na síntese de proteínas (Malavolta e Lima Filho, 1997), reduzir a taxa de crescimento bacteriano e a população total dos rizóbios (Siqueira e Franco 1988).

Ao se comparar teores de PB obtidos nas folhas de *Discolobium* spp., com os teores totais de N das principais leguminosas forrageiras cultivadas no Brasil, encontraram-se valores superiores ou próximos aos das principais leguminosas forrageiras: 17,2% para o kudzu tropical (*Pueraria phaseoloides*) (Pedreira e Consentino, 1992); 11,9% para macrotiloma (*Macrotyloma axillare*) (Parbery, 1967); 12,9 a 20,4% para soja perene (*Neonotonia wightii*) (Bogdan, 1966; Holder, 1967); 20,4 a 25,8% para amendoim forrageiro (*Arachis pintoii*) (Valentin et al., 2001); 13 a 20,2% para guandu (*Cajanus cajan*) (Seiffert, 1988); e 21 a 23% para leucena (*Leucaena leucocephala*) (Jones, 1979).

Em levantamento feito por Santos et al. (2002), em áreas não alagadas do Pantanal, observaram que as plantas forrageiras selecionadas por bovinos apresentaram, no máximo, 7% de PB. Em áreas de baixadas, ou seja, mais alagadas, o teor médio de PB foi de 12%, entretanto, nos anos de cheia, a qualidade da dieta dos bovinos teve declínio, em virtude dessas áreas serem cobertas pela água. Os teores de PB inferiores a 7% são limitantes à produção animal, causando menor consumo voluntário, redução na digestibilidade e balanço de nitrogênio negativo (Machado et al., 1998). Com relação a essa limitação, o *Discolobium* spp., pelo seu elevado teor de PB, revela-se como alternativa alimentar importante no Pantanal, principalmente no início do período da cheia, onde ocorre intensa brotação e, no início da seca, quando as plantas ainda estão tenras e é época de fácil acesso dos animais nas áreas mais baixas.

Por ser muito procurada pelos bovinos e outros animais silvestres, infere-se que as plantas de *Discolobium* spp., provavelmente apresentem baixos níveis de fatores antinutricionais na forragem, tais como taninos condensados, alcalóides, cumarina e compostos cianogênicos. Algumas leguminosas apresentam fatores antinutricionais como ocorre com a leucena (mimosina) e em *Cratylia argentea*, em que os animais só consomem as folhas da planta quando secas (Aroeira e Xavier, 1991).

O consumo de MS é o principal fator que afeta a produtividade animal, e forragens de alta qualidade são necessárias para aumentar o consumo (Belyea et al., 1999). A lignina é o principal componente a limitar a digestibilidade e o consumo dos animais e se correlaciona com todos os componentes químicos. As correlações são positivas com os teores de FDN e FDA e negativa com os teores de PB (Paciullo et al, 2001).

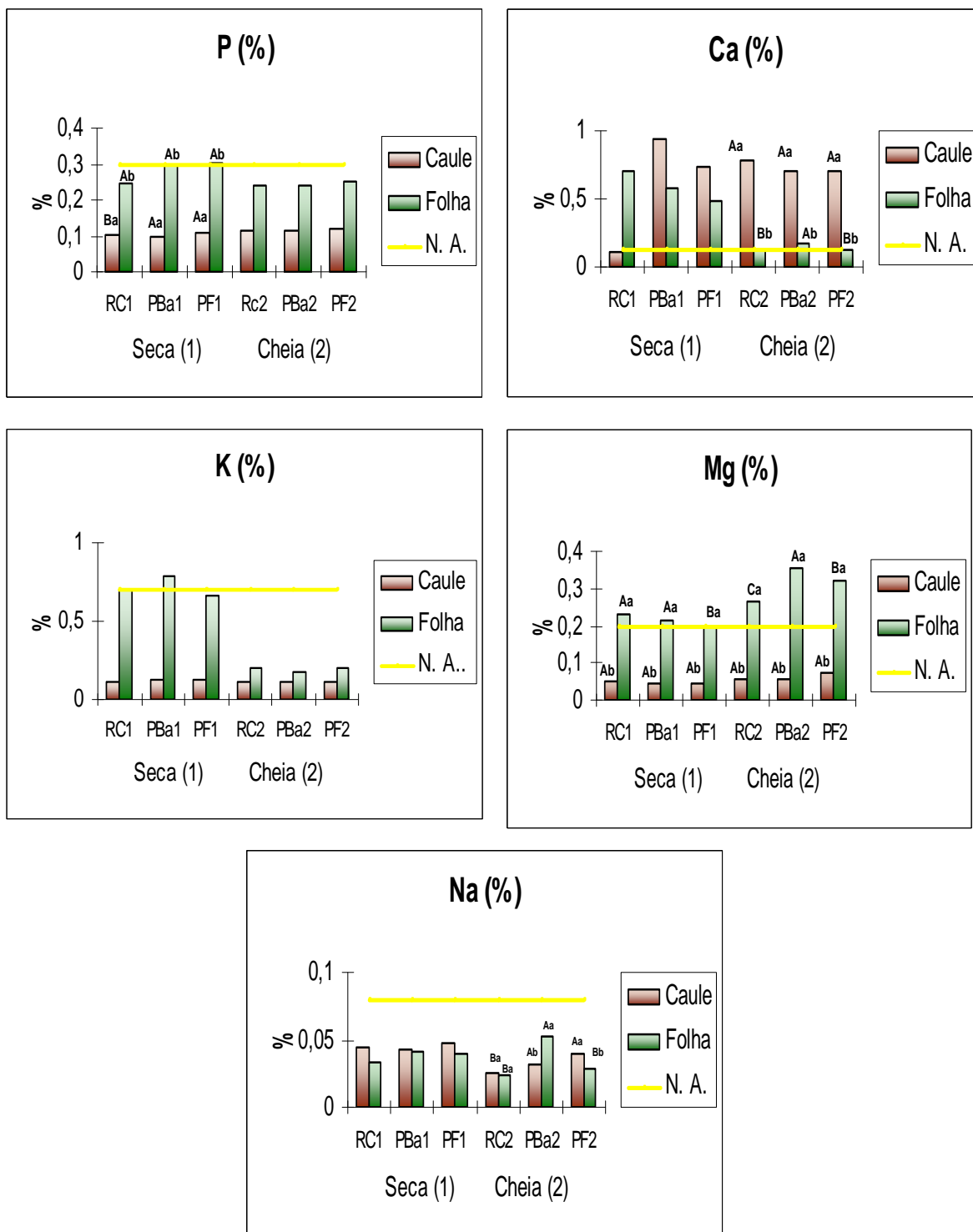
Os valores de FDA e FDN foram maiores no caule do que nas folhas e foram mais elevados na época seca (Figura 1). De acordo com Brâncio et al. (2002), o teor FDN está relacionado com o consumo animal. Os valores de FDN e FDA encontrados no caule são considerados altos e limitantes ao consumo animal, mas os valores encontrados nas folhas estão dentro do recomendado por Van Soest (1994). Nas observações realizadas durante as coletas sobre o consumo dessas plantas pelos animais, foi verificada a preferência pelas folhas e porções novas do caule (Elias Neto, dados não publicados).

Para Van Soest (1994) é importante avaliar o teor de FDN, pois valores acima de 55-60% na base seca correlacionam-se negativamente com o consumo da forragem. Mertens (1992) também considerou o teor de FDN como um dos principais fatores de controle do consumo de MS pelos ruminantes. A FDA varia com a idade da planta e com o seu estresse em função da precipitação e umidade do solo. Esses fatores podem afetar a ingestão de MS pelos herbívoros, principalmente, em ruminantes. A redução do teor de PB e o aumento das frações FDA e FDN caracterizam a perda no valor nutritivo da forragem com a maturidade.

Os valores de lignina encontrados foram maiores no caule do que nas folhas e maiores na época seca. Os menores valores encontrados na época cheia explicam-se pelo crescimento da planta ser mais vigoroso nessa época do ano (Elias Neto et al., 2008), com a conseqüente formação de tecidos poucos lignificados. Alves de Brito et al. (1999) relacionaram o efeito da maturidade em caules com o aumento na lignificação e a conseqüente redução da qualidade das forragens. Os tecidos lignificados são mais resistentes à degradação, sendo a lignina considerada uma barreira química para os microrganismos do rúmen. As leguminosas tropicais como estilosantes (*Stylosanthes guianensis*), siratro (*Macroptilium atropurpureum*) e soja perene (*Neonotonia wightii*) apresentaram altos teores de lignina na folha e caule 20,3 e 17,6%; 16 e 20,3% e 18,2 e 19,5%, respectivamente (Fukushima e Savioli, 2001).

De modo geral, observa-se que a presença de maiores quantidades de tecidos vasculares lignificados ou esclerenquimáticos proporcionam menores taxas de digestibilidade (Wilson, 1993; Ventrella et al., 1997) ou redução na área degradada por microrganismos ruminais (Wilson, 1997; Alves de Brito et al., 1999). Wilkins (1969) observou que alguns tecidos permanecem intactos, mesmo após prolongado tempo de digestão “in vitro”, indicando que as características anatômicas da planta limitam a degradação dos tecidos vegetais.

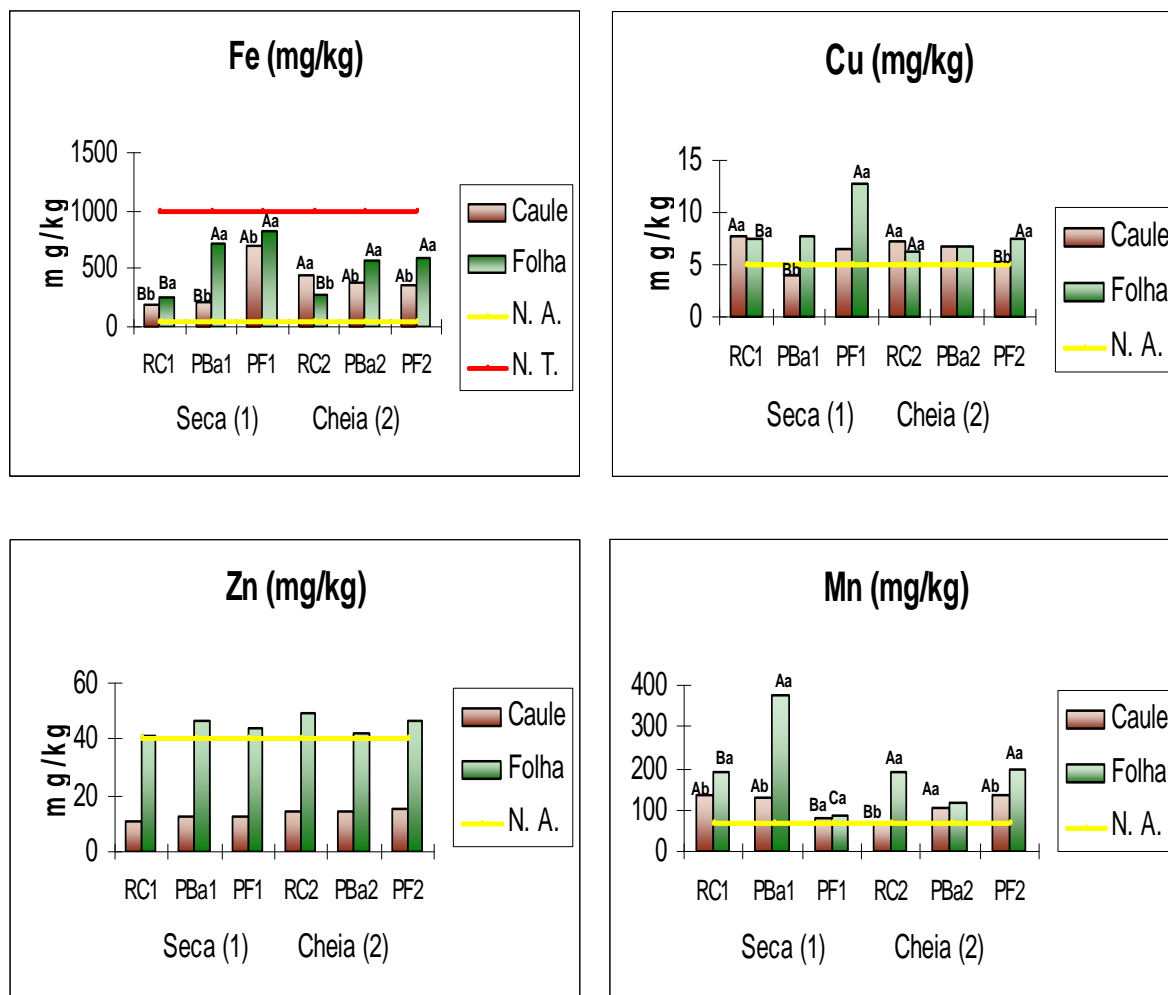
Os teores obtidos no caule de NDT são considerados baixos (35,9 a 40,59%), já na folha (61,03 a 69,54%), estão próximos aos encontrados em algumas leguminosas tropicais: guandu (*Cajanus cajan*) 42,7 a 54,7% nas folhas (Pinedo et al., 2008) e em feno de *Arachis pintoi* (64,6%) (Ladeira et al., 2002).



Letras maiúsculas iguais entre sítios de coleta e minúsculas iguais entre porções da planta, dentro de cada época, não diferem estatisticamente ao teste de Scott-Knot a 5%. N.A. Necessidade média animal para vacas em gestação e novilhos.

**Figura 2.** Composição média de macrominerais nas folhas e caules de *Discolobium* spp., em três sítios de coleta na sub-região Poconé, Pantanal

de Mato Grosso, coletados nas épocas cheia e início da seca no ano de 2007.



Letras maiúsculas iguais entre sítios de coleta e minúsculas iguais entre porções da planta, dentro de cada época, não diferem estatisticamente ao teste de Scott-Knot a 5%.

N.A. Necessidade média animal para vacas em gestação e novilhos.

N.T. Nível de toxidez

**Figura 3.** Composição média de microminerais nas folhas e caules de *Discolobium* spp, em três sítios de coleta na sub-região Poconé, Pantanal de Matos Grosso, coletados nas épocas cheia e início da seca no ano de 2007.

Em relação aos minerais, observou-se efeito de interação entre locais e porções da planta na época seca para os seguintes elementos: P e Mg (Figura 2), Fe, Mn e Cu (Figura 3). Observou-se que os teores de P e Cu nas folhas, no sítio de alta inundação, foram inferiores ao sítio de baixa

inundação. Na época cheia ocorreu interação entre locais e porções da planta para Na, Ca, Mg (Figura 2) e Fe, Mn, e Cu (Figura 3).

Nos macrominerais presentes na matéria seca de folhas e de caule de *Discolobium* spp., observaram-se teores variando de 0,24 a 0,30% de P na folha e de 0,10 a 0,11% no caule. Os teores médios de P encontrados estão dentro dos limites descritos por Haag (1984), para as diferentes forrageiras estudadas no Brasil, e enquadram-se dentro dos limites propostos por Van Soest (1994) para atender às exigências de bovinos de corte e de leite. Conforme o NRC (2000), a exigência de P para bovinos em crescimento e engorda varia de 0,12 a 0,30% na MS da dieta.

Os teores médios de Ca nas folhas de *Discolobium* spp., foram de 0,89% e no caule 0,59% (Figura 2). Estudos realizados por Jardim et al. (1962) não constataram deficiência de Ca nas plantas forrageiras, procedentes de diversas regiões do Brasil Central, apresentando 0,20% ou mais desse elemento na matéria seca. Entretanto, já foram detectadas deficiências de Ca no Pantanal de Mato Grosso, sendo identificadas por intermédio de análises de forragem e de ossos de bovinos dessa região (Sousa et al., 1982). Conforme o NRC (1996), a exigência de Ca para bovinos de 300 kg de peso vivo com ganho de 500 g/dia é de 0,12% de Ca, o que leva a concluir que tal exigência é atendida pelo *Discolobium* spp., nos locais estudados.

Os teores médios de Mg variaram de 0,21 a 0,31% nas folhas e de 0,04 a 0,06% nos caules (Figura 2). Considerando as recomendações do NRC (1996) para bovinos em crescimento e engorda (0,10%) e vacas de corte em gestação (0,12%) e em lactação (0,20% na MS), os teores encontrados em *Discolobium* spp., atendem às exigências em Mg.

Os teores médios de K foram de 0,72% nas folhas e de 0,12% nos caules na época seca. Na época cheia os valores foram mais baixos, tanto no caule, quanto nas folhas, os valores médios ficaram próximos de 0,1%. As plantas forrageiras normalmente contêm teores de K suficiente para atender às necessidades nutricionais dos bovinos (Souza et al., 1982).

Os teores médios de Na encontrados foram 0,045% na matéria seca da folha e 0,038% na matéria seca do caule. Tokarnia et al. (1988) encontraram deficiência de Na nas Regiões Norte e Centro-Oeste do Brasil. Segundo NRC (1996), a exigência de Na para bovinos de corte é de 0,06 a 0,08%. Os teores encontrados nesse estudo confirmam que o Na é um nutriente deficiente nas folhas e caule de *Discolobium* spp.

Os teores médios de Mn variaram de 79,7 a 134,3 mg/kg e de 87,0 a 377 mg/kg em caules e folhas, respectivamente, na época seca e na cheias esses valores foram inferiores. Segundo Tokarnia et al. (1988) estas deficiências de Mn devidas às altas concentrações de Fe nas forragens, pois o Fe inibe a absorção do Mn. Com condições adequadas de Fe, consideram-se deficientes até 19,0 mg/kg de Mn; nível adequado de 20-120 mg/kg, e nível alto acima de 120 mg/kg (Guimarães et al., 1980).

Os teores de Fe variaram de 192,4 a 693,8 mg/kg em caules e de 251,5 a 830,3 mg/kg nas folhas. A deficiência de Fe não é esperada em bovinos em pastejo, pois as forragens fornecem teores superiores às exigências dos animais (Marques et al., 1981; Tokarnia et al., 1988). Quando se comparam os dados obtidos neste trabalho com a exigência de Fe recomendada pelo NRC (1996), que é de 50 mg/kg para novilhos de corte em acabamento, novilhas em gestação e vacas em lactação, observam-se que os níveis encontrados no caule e na folha estão acima das exigências dos bovinos. Com relação ao nível de toxidez, segundo o NRC (1996) de 1000 mg/kg, os teores mais elevados encontrados de 693 mg/kg no caule e 830 mg/kg na folha; estão abaixo desse valor.

Os teores médios de Cu variaram de 6,2 mg/kg no caule e 8,1 mg/kg na folha em ambos os períodos. Segundo Guimarães et al. (1980), para bovinos, o teor de Cu de até 4,0 mg/kg deve ser considerado deficiente; de 5,0 a 15,0 mg/kg, adequado; acima de 16,0 mg/kg, alto. Comparando-se os teores de Cu obtidos com os sugeridos por Guimarães et al. (1980), pode-se afirmar que os teores de Cu em *Discolobium* spp. podem ser considerados adequados. Segundo o NRC (1996), a exigência de Cu para os bovinos é de 10,0 mg/kg.

Os teores médios de Zn foram de 45,1 mg/kg em folhas e de 13,3 mg/kg nos caules. Conforme Guimarães et al. (1980), o teor de até 15,0 mg/kg de Zn é considerado deficiente. Em relação ao NRC (1996), a recomendação é de 20,0 mg/kg para bovinos em crescimento e 40,0 mg/kg para vacas. Os teores de 1000 mg/kg são tidos como concentração máxima tolerável. Nesse trabalho observou-se que as folhas de *Discolobium* spp., apresentam valores acima das exigências dos animais e a porção do caule é deficiente (Figura 3).

### 3.4. Conclusões

As diferenças nos teores de PB entre os locais não estão relacionados com a alta ou baixa incidência de nodulação.

O teor de PB nos caules e folhas é influenciado pela época do ano.

Em folhas de *Discolobium* spp., ocorrem teores de Ca, Mg, Mn, Zn e Cu e nos caules teores de Ca, Mn e Cu suficientes para suprir as exigências de diversas categorias de bovinos durante a estação seca e cheia.

O teor de K nas folhas é suficiente somente nas folhas durante o período seco.

Os teores de P nas folhas estão próximos do nível mínimo de exigência para bovinos em regime de engorda.

Os valores médios de proteína bruta, P, K e Ca nas folhas na época seca foram superiores aos encontrados na época cheia.

A planta é deficiente em Na, Zn no caule e pode ocorrer toxidez por excesso de Fe nas folhas.



### 3.5. Referências Bibliográficas

ALLEN, A.C.; VALLS, J.F.M. **Recursos forrageiros do Pantanal Mato-Grossense**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEM, Documentos 8, 1987, 339p.

ALVES DE BRITO, C.J.F.; RODELLA, R.A.; DESCHAMPS, F.C. et al. Anatomia quantitativa e degradação in vitro de tecidos em cultivares de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.28, n.2, p.223-229, 1999.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis**. 16 ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 1995. 1025 p.

AROEIRA, L.J.M.; XAVIER, D.F. Digestibilidade e degradabilidade da *Cratylia floribunda* no rúmen. **Pasturas Tropicais**, Cali, v.13, n.3, p.15-19, 1991.

ATKINS, C.A. Efficiencies and inefficiencies in the legume/Rhizobium symbiosis - a review. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.82, p.273-284, 1984.

BELYEA, R.; RESTREPO, R.; MARTZ, F. et al. Effect of year and cutting on equations for estimating net energy of alfalfa forage. **Journal of Dairy Science**, Stanford, v.82, n.9, p.1943-1949, 1999.

BOGDAN, A.V. *Glycine javanica* under experimental cultivation in Kenya. **Tropical Agriculture**, Trinidad Tobago. n.43, p.99-105, 1966.

BOIVIN, C.; N'DOYE, I.; MOLOUBA, F.; de LAJUDIE, P.; DUPUY, N.; DREYFUS, B. Stem nodulation in legumes: diversity, mechanism, and unusual characteristics. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v.16, p.1-30, 1997.

BRÂNCIO, P.A.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; EUCLIDES, V.P.B.; REGAZZI, A.J.; ALMEIDA, R.G.; FONSECA, D.M Avaliação de três cultivares de *Panicum maximum* Jacq. sob pastejo. Composição química e digestibilidade da forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n.4, p.1605-1613, 2002.

CAMPOS, B.C.; HUNGRIA, M.; TEDESCO, V. Eficiência da fixação biológica de N<sub>2</sub> por estirpes de *Bradyrhizobium* na soja em plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.25, p.583-592, 2001.

CASSMAN, K.G.; WHITNEY, A.S.; STOCKINGER, K.R. Root growth and dry matter distribution of soybean as affected by phosphorus stress, nodulation, and nitrogen source. **Crop Science**, Madison, v.20, n.2, p.239-244, 1980.

CHAMBELA NETO, A.; FERNANDES, A. M.; F. DERESZ, F.; VIEIRA, R. A. M.; FONTES, C. A. A.; DEMINICIS, B. B.; BONAPARTE, T.P. Composição químico-bromatológica e digestibilidade de três gramíneas tropicais em Minas Gerais. **Archivos em Zootecnia**, Córdoba v. 57, n.219, p.357-360. 2008.

DAVID, F.M. **Composição bromatológica e degradabilidade, através da técnica de produção de gás, de quatro gramíneas tropicais submetidas a corte em diferentes idades**. 2001. 110f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2001.

DÖBEREINER, J. Evaluation of nitrogen fixation in legumes by the regression of total plant nitrogen with nodule weight. **Nature**, Harare, n.210, p.850-852, 1966.

ELIAS NETO, N.; LOUREIRO, M.F.; COELHO, M.F.B.; ABREU, J.G. ASPECTOS Fenológicos de *Discolobium pulchellum* Benth, Leguminosae Papilionoideae no Pantanal de Poconé, MT. **Revista Agricultura Tropical**, Cuiabá, v.9, n.1, p.24-35, 2008. Disponível em : <<http://www.ufmt.br/agtrop>>. Acesso em 22/10/2008.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa em Solos. **Manual de Métodos de Análises de Solos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Embrapa-CNPQ, 212 p. 1997.

EUCLIDES, V.P.B. Valor alimentício de espécies forrageiras do gênero *Panicum*. In: SIMPOSIO SOBRE PASTAGEM, 12, Piracicaba, 1995, **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 1995. p.245-273.

FUKUSHIMA, R. S.; SAVIOLI, N.M.F. Correlação entre Digestibilidade *In Vitro* da Parede Celular e Três Métodos Analíticos para a Avaliação Quantitativa da Lignina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, n. 30 v. 2, p.302-309, 2001.

GOMIDE, J.A.; QUEIROZ, D.S. Valor alimentício das “*Brachiarias*”. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 11, Piracicaba, 1994. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 1994. p. 223-2248.

GUIMARÃES, P.T.G., FERREIRA, J.G., CARVALHO, J.G. et al. Adubação de Pastagens. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, n.6, v.70, p.34-52, 1980.

HAAG, H.P. **Nutrição mineral de forrageiras do Brasil**. Campinas: Fundação Cargill, 1984. 152p.

HOLDER, J.M. Milk production from tropical pastures. **Tropical Grasslands**, Santa Lucia- Australia, n.1, p.135-141, 1967.

JAMES, E.; CRAWFORD, R. Effect of oxygen availability on nitrogen fixation by two *Lotus* species under flooded conditions. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.49, p.599-609, 1998.

JAMES, E.K.; LOUREIRO, M.F.; POTT, A.; POTT, V.J.; MARTINS, C.M.; FRANCO, A.A.; SPRENT, J.I. Flooding-tolerant legume symbioses from the Brazilian Pantanal, **New Phytologist**, Oxford, v.150, p.723-728, 2001.

JARDIM, W.R.; PEIXOTO, A.M.; MORAES, C.L. **Composição mineral de pastagens na região de Barretos no Brasil Central**. Boletim Técnico Científico da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, v.11, n.11. 1962.

JONES, R.J. The value of *Leucaena leucocephala* as feed for ruminants in the tropics. **World Annual Review**, Vancouver, n.31, p.13-23, 1979.

JUNIOR, B.; HUNGRIA, M. Efeito de doses de inoculantes turfosos na fixação biológica do nitrogênio pela cultura da soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, n.24, p.527-535, 2000.

LADEIRA, M.M.; RODRIGUEZ, N.M.; BORGES, I.; GONÇALVES, L.C.; SALIBA, E.L.S.; BRITO, S.C.; SÁ, L.A.P. Avaliação do Feno de *Arachis pintoi* Utilizando o Ensaio de Digestibilidade *in Vivo*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n.6, p.2350-2356, 2002.

LADHA, J.K.; PAREEK, R.P.; BECKER, M. Stem-nodulating legume-*Rhizobium* symbiosis and its agronomic use in lowland rice. **Advances in Soil Science**, New York, v.20, p.148-192, 1992.

LEDGARD, S.F.; STEELE, K.W. Biological nitrogen fixation in mixed legume/grass pastures. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.141, p.137-153, 2002.

LOUREIRO, M.F.; JAMES, E.K.; SPRENT, J.I. et al. Nitrogen-fixing stem nodules of the legume, *Discolobium pulchellum* Benth. **New Phytologist**, Oxford, v.128, p.283-295, 1994.

MACHADO, A.O.; CECATO, U.; MIRA, R.T.; PEREIRA, L.A.F.; DAMASCENO, J. C. Avaliação da composição química e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de cultivares e acessos de *Panicum maximum* Jacq. sob duas alturas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.27, n. 5, p.1057-1063, 1998.

MALAVOLTA, E.; LIMA FILHO, O. F. Nutrição e adubação do feijoeiro. In: FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. (Eds.). **Tecnologia da produção do feijoeiro irrigado**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1997. p. 100-120.

MARQUES, D.C.; MARQUES, JR., A.P.; FERREIRA, P.M. et al. **Criação de bovinos**. 4.ed. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 1981. 479p.

MARTINS, C.M.; LOUREIRO, M.F.; SOUTO, S.M.; FRANCO, A.A. Eficiência da fixação biológica de nitrogênio de isolados de nódulos de raiz e caule de *Discolobium* spp. **Revista Agricultura Tropical**, Cuiabá, n. 5, p.67-79, 2001.

MERTENS, D.R. Analysis of fiber in feeds and its uses in feed evaluation and ration formulation. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES, REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 29, 1992, Lavras, **Anais...** Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1992. p.1-32,

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washigton: National Academy of Science. 1996. 234p

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washigton: National Academy of Science. 2000. 242p

OLDROYD, G.E.D.; ENGSTROM, E.M.; LONG, S.R. Ethylene inhibits the nod factor signal transduction pathway of *Medicago truncatula*. **Plant Cell**, Stanford, v.13, p.1835-1849, 2001.

OMETTO, J.C. **Bioclimatologia vegetal**. São Paulo: Agronômica Ceres Ltda., 1981. 440p.

PACIULLO, D. S. C.; GOMIDE, J. A.; QUEIROZ, D. S.; SILVA, E. A. M. Correlações entre Componentes Anatômicos, Químicos e Digestibilidade *In Vitro* da Matéria Seca de Gramíneas Forrageiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, n. 30 v. 3, p. 955-963, 2001.

PARBERY, D.P. **Pasture and fodder crop plant introduction at Kymberley Research Station, Perennial legumes**. Australia: CSIRO, Division Land Research, 1967. 64p.

PEDREIRA, J.V.S.; COSENTINO, J.R. Avaliação de leguminosas forrageiras sob condições de várzea parcialmente drenada. **Boletim da Indústria Animal**, Nova Odessa, SP, v.1, n.49, 1992.

PINEDO, L.A.; CAMPOS, F.C.; PEÇANHA, M.R.S.R. et al. COMPOSIÇÃO química e compostos fenólicos em diferentes frações da planta de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L) Millsp). **PUBVET**, Londrina, v. 2, n. 20, 2008. Disponível em :< [http:// www. pubvet. com. br/texto](http://www.pubvet.com.br/texto)>. Acesso em 25/10/2008.

POTT, A. **Pastagens do Pantanal**. Corumbá: EMBRAPA-CPAP, Documentos 7,1988. 58p.

POTT, A.; POTT, V.J. **Plantas do Pantanal**. Brasília: EMBRAPA/CPAP/SPI, 1994. 320p.

POTT, A., POTT, V.J. Flora do Pantanal, listagem atual de Fanerógamas. In: Simpósio sobre Recursos Naturais e Socioeconômicos do Pantanal, 2, 1996, Corumbá, **Anais...** Embrapa/ CPAP, 1996. p. 297-325.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I. **Análises estatísticas no SAEG**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 301p.

SANTOS, S.A.; POTT, A.; RODRIGUES, C.A.G. et al. Suplementação mineral. In: CARDOSO, E. L. (Ed.). **Gado de Corte no Pantanal: o produtor pergunta a Embrapa responde**. (Coleção 500 perguntas, 500 respostas). Brasília: EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA, 2004. p.129-137.

SANTOS, S.A.; COSTA, C.; SOUZA, G.S.E.; POTT, A.; ALVAREZ, J.M.; RODRIGUES, S. Identificação da composição botânica da dieta de bovinos criados em pastagem nativa na sub-região da Nhecolândia, Pantanal, Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n.4, p.1648-1662, 2002.

SCHOLLES, D.; VARGAS, L.K. Viabilidade da inoculação de soja com estirpes de *Bradyrhizobium* em solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, n.28, p.973-979, 2004.

SEIFFERT, N. F. Manejo de leguminosas forrageiras arbustivas de clima tropical. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 9, 1988, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1988. p.285-314.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3 ed. Viçosa: UFV, 2002. 253p.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. **Biotecnologia de Solo: Fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC/Abeas, Esal/Faepe, Lavras. 1988. 235 p.

SOUSA, J.C., CONRAD, J.H.; MOTT, G.O. et al. Interrelações entre minerais no solo, plantas forrageiras e tecido animal. 4, Zinco, magnésio, sódio e potássio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, n.17, v.1, p.11-20, 1982.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; MORAES, S.S. Situação atual e perspectivas da investigação sobre nutrição mineral em bovinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, n.8, v1/2, p.1-16, 1988.

VALENTIN, J.F.; CARNEIRO, J.C.; VAZ, F.A. SALES, M.F.L. Velocidade de estabelecimento de acessos de amendoim forrageiro nas condições ambientais do Acre. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, Piracicaba, **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001. p.292-294.

VANCE, C.P.; JOHNSON, L.E.B.; STADE, S.; et al. Birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) root nodules: morphogenesis and the effect of forage harvest on structure and function. **Canadian Journal Botanic**, Ottawa, n.60, v.5, p.505-516, 1982.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476 p.

VAN SOEST, P.J. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: Voluntary intake relation to chemical composition and digestibility. **Journal Animal Science**, Connecticut, v.24, n.3, p.834-844, 1965.

VENTRELLA, M.C.; RODELLA, R.A.; COSTA, C. et al. Anatomia e bromatologia de espécies forrageiras de *Cynodon* Rich. II. Colmo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34, 1997, Juiz de Fora, **Anais...** Juiz de Fora: Sociedade Brasileira de Zootecnia. 1997, p.6-8.

WARING, R.H. e SCHLESINGER, W.H. **Forest ecosystems: concepts and management**. San Diego: Academic Press, 1985. 340p.

WILKINS, R.J. The potential digestibility of cellulose in forages and faeces. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.73, p.57-64, 1969.

WILSON, J.R. Organization of forage plant tissues. In: JUNG, H.G, BUXTON, D.R., HATFIELD, R.D., RALPH, J. (Eds.). **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: ASA/CSSA/SSSA, 1993. p.1-32.

WILSON, J.R. Structural and anatomical traits of forages influencing their nutritive value for ruminants. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO, 1997, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SBZ, 1997. p.171-208.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O germoplasma *Discolobium* apresenta-se com potencial para ser utilizado como recurso forrageiro em áreas com características semelhantes ao seu ambiente natural de ocorrência, pois apresenta-se com elevados teores de proteína bruta na matéria seca e composição químico-bromatológica que poderá contribuir com a criação de animais nativos e bovinos da região.

Sua característica evolutiva de nodulação caulinar representa um potencial elevado de novas descobertas no campo da pesquisa em fixação biológica de nitrogênio, sendo, dessa forma, um potencial de reserva extraordinário em diversidade de diazotróficos.

Novas pesquisas deverão ser efetuadas, avaliando a qualidade dessa proteína e a digestibilidade dos componentes da parede celular.

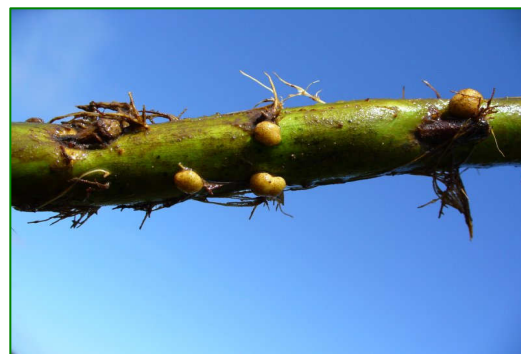
Banco de germoplasma de *Discolobium* spp., e das bactérias que se associam às raízes devem ser formados para futuros estudos de domesticação.

Para efetiva avaliação da fixação biológica de nitrogênio pelos simbioses, novos estudos deverão ser efetuados com as plantas com técnicas como a redução do acetileno (qualitativa) combinada com isótopos radioativos (quantitativa).

## **5. APÊNDICES**



**Apêndice 1.** Nodulação radicular e caulinar e sinais de pastoreio por herbívoros em *Discolobium* spp, na sub-região Poconé, Pantanal de Mato Grosso.



**Apêndice 2.** Alteração do nível de inundação em sítio de coleta em duas épocas do ano de 2007 na sub-região Poconé, Pantanal de Mato Grosso.

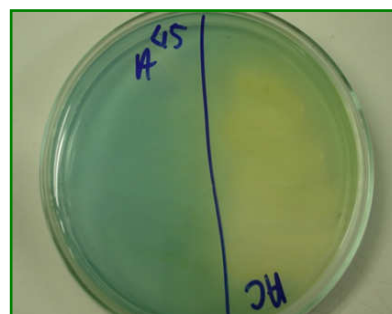


**Fevereiro de 2007**



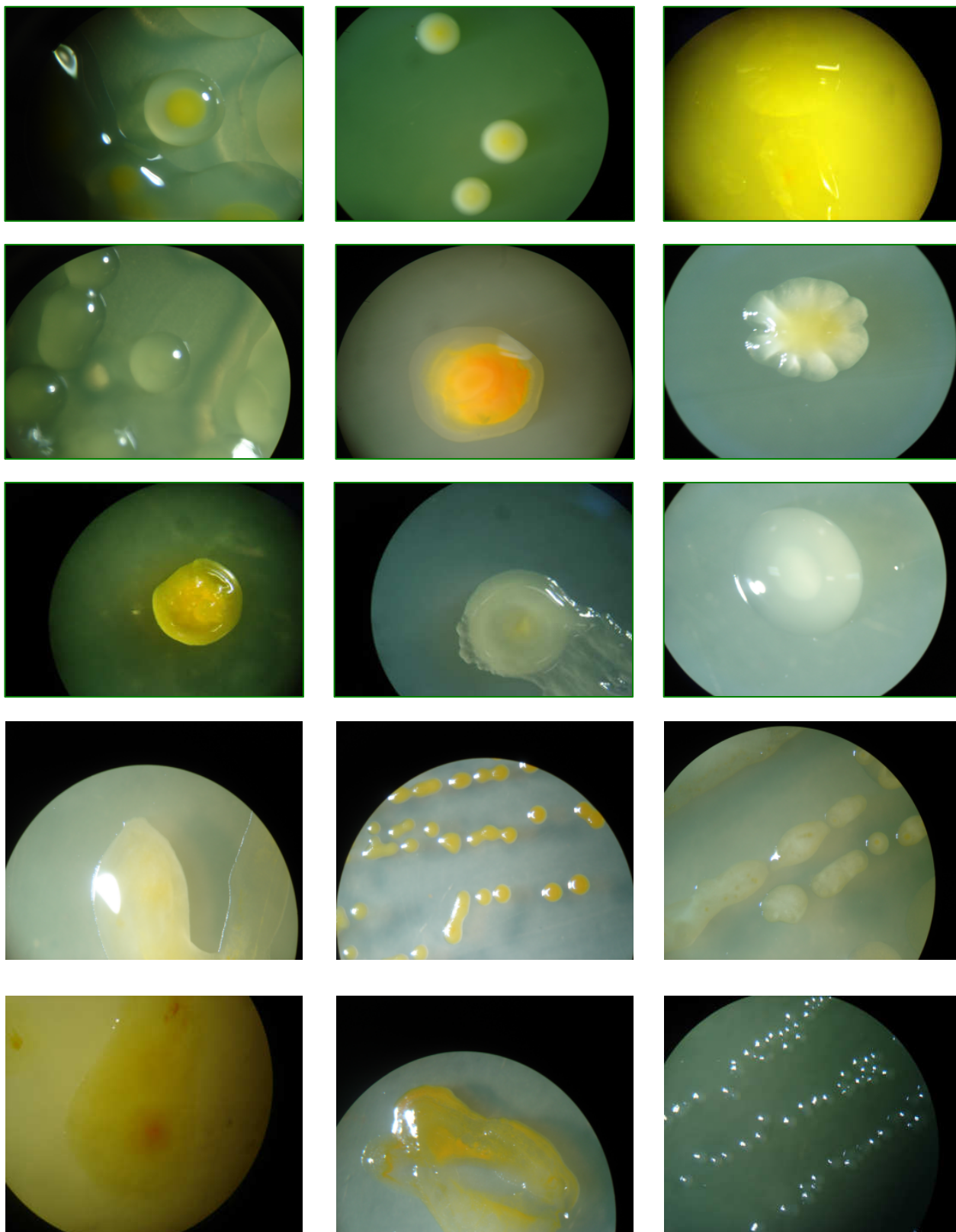
**Julho de 2007**

**Apêndice 3.** Isolamento de bactérias provenientes de nódulos de caule e raiz e alteração do pH do meio de crescimento.

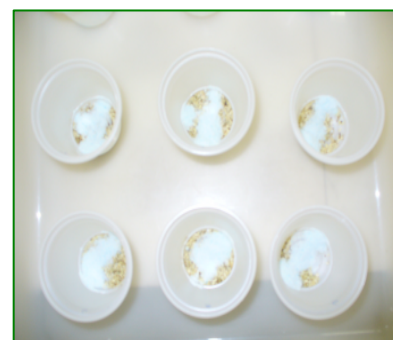




**Apêndice 4.** Diversidade de colônias isoladas em nódulos de caule e raiz de *Discolobium* spp., leguminosa nativa do Pantanal de Poconé, MT.



**Apêndice 5.** Análises bromatológicas realizadas nos Laboratórios de Microbiologia do Solo da FAMEV/UFMT e de Solos da Embrapa Pantanal em Corumbá, MS.



**Apêndice 6.** Composição bromatológica em folhas e caule de *Discolobium* spp., em três sítios de coleta na sub-região Poconé, Pantanal, MT, coletados nas épocas cheia e início da seca no ano de 2007

Composição (% MS)	CV (%)	Porção da Planta	Início da Seca			Cheia		
			Sítio 1	Sítio 3	Sítio 2	Sítio 1	Sítio 3	Sítio 2
			Alta Nodulação	Média Nodulação	Baixa Nodulação	Alta Nodulação	Média Nodulação	Baixa Nodulação
Matéria Seca	0,42	Caule	44,62Aa	44,15Aa	44,51Aa	41,35Aa	40,30Aa	35,45Ba
		Folha	35,10Ab	34,20Ab	29,73Ab	29,22Ab	27,29Ab	25,83Ab
Proteína Bruta	13,35	Caule	4,49 Ab	5,26 Ab	5,34 Ab	3,15Ab	3,91Ab	3,84Ab
		Folha	19,62Ba	25,42Aa	24,46Aa	10,42Ba	11,29Aa	11,64Aa
NDT	14,55	Caule	37,39Ab	38,56Ab	35,35Bb	35,42Bb	35,90Bb	40,59Ab
		Folha	58,51Aa	57,61Ba	60,83Aa	61,03Ba	63,44Ba	69,54Aa
FDN	3,62	Caule	73,90Aa	74,57Aa	75,96Aa	76,51Aa	76,13Aa	72,46Ba
		Folha	55,98Ab	50,55Bb	57,45Ab	57,51Ab	54,13Bb	56,02Ab
FDA	14,04	Caule	57,21Ba	59,82Aa	59,93Aa	59,74Aa	59,13Aa	53,10Ba
		Folha	30,10Ab	27,11Bb	31,25Ab	26,91Ab	23,77Ab	15,93Bb
Lignina	10,28	Caule	12,87Aa	11,91Ba	13,19Aa	12,03Aa	11,46Aa	10,70Ba
		Folha	11,01Ab	8,64Bb	8,07Cb	8,20Ab	8,55Ab	7,47Ab

Letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas iguais na linha, dentro de cada época, não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ,a 5%.

**Apêndice 7.** Composição de macrominerais nas folhas e caule de *Discolobium* spp., em três sítios de coleta na sub-região Poconé, Pantanal, MT, coletados nas épocas cheia e início da seca no ano de 2007.

Composição (% MS)	CV (%)	Porção da Planta	Início da Seca			Cheia		
			Sítio 1	Sítio 3	Sítio 2	Sítio 1	Sítio 3	Sítio 2
			Alta Nodulação	Média Nodulação	Baixa Nodulação	Alta Nodulação	Média Nodulação	Baixa Nodulação
P	12,93	Caule	0,10Ab	0,10Ab	0,10Ab	0,11	0,11	0,12
		Folha	0,24Ba	0,30Aa	0,30Aa	0,24	0,24	0,25
Ca	11,58	Caule	0,10	0,94	0,73	0,77Aa	0,71Aa	0,70Aa
		Folha	0,70	0,58	0,49	0,12Bb	0,18Ab	0,12Bb
K	9,28	Caule	0,11	0,13	0,13	0,11	0,11	0,12
		Folha	0,70	0,78	0,66	0,19	0,18	0,19
Mg	15,09	Caule	0,05 Ab	0,05Ab	0,05Ab	0,05Ab	0,05Ab	0,07Ab
		Folha	0,23Aa	0,22Aa	0,20Ba	0,27Ca	0,35Aa	0,32Ba
Na	24,17	Caule	0,04	0,04	0,05	0,02Ba	0,03Ab	0,04Aa
		Folha	0,03	0,04	0,04	0,02Ba	0,05Aa	0,03Bb

Letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas iguais na linha, dentro de cada época, não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, a 5%.

**Apêndice 8.** Composição de microminerais nas folhas e caule de *Discolobium* spp em três sítios de coleta na sub-região Poconé, Pantanal, MT, coletados nas épocas cheia e início da seca no ano de 2007.

Composição	CV (%)	Porção da Planta	Início da Seca			Cheia		
			Sítio 1	Sítio 3	Sítio 2	Sítio 1	Sítio 3	Sítio 2
			Alta Nodulação	Média Nodulação	Baixa Nodulação	Alta Nodulação	Média Nodulação	Baixa Nodulação
Mn (mg/kg)	30,39	Caule	134,30Ab	130,54Ab	79,69Ba	65,02Bb	102,33Aa	134,33Ab
		Folha	192,80Ba	377,90Aa	87,13Ca	193,50Aa	117,26Ba	198,61Aa
Fe (mg/kg)	31,50	Caule	192,36Bb	208,70Bb	693,80Ab	439,56Aa	380,03Ab	354,62Ab
		Folha	251,30Ba	716,50Aa	830,30Aa	278,92Bb	575,80Aa	599,45Aa
Cu (mg/kg)	25,0	Caule	7,85Aa	4,00Bb	6,59Ab	7,18Aa	6,76Aa	5,22Bb
		Folha	7,60Ba	7,70Ba	12,77Aa	6,36Aa	6,70Aa	7,43Aa
Zn (mg/kg)	17,96	Caule	11,04	12,43	12,21	14,15	14,42	15,58
		Folha	41,55	46,69	44,02	49,53	42,17	46,67

Letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas iguais na linha, dentro de cada época, não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, a 5%.

**Apêndice 9.** Diversidade bacteriana encontrada em três sítios do Pantanal de Poconé, MT, de isolados de caule e raiz através dos índices de diversidade de Shannon (H), de riqueza de Margalef (Mng) e equitabilidade de Pielou (J).

Índices	Sítio RC		Sítio PF		Sítio PBa	
	Caule	Raiz	Caule	Raiz	Caule	Raiz
Shannon (H)	1,82	1,13	1,03	1,04	1,13	0,69
Margalef (Mng)	4,54	2,76	2,27	2,02	3,21	1,30
Pielou (J)	0,69	0,39	0,86	0,42	0,45	0,30



# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)