

Desafios de uso da fixação biológica de nitrogênio em plantas de cobertura como estratégia de incremento da produção de silagem e capim de entressafra, em Valença RJ⁽¹⁾

Luiz Claudio de Araújo Costa⁽²⁾; *Rodrigo Nogueira Silvestre Batista*⁽³⁾; *Samara Rosa Ferreira Silva*⁽⁴⁾; *Guilherme K. Donagemma*⁽⁵⁾; *Rosângela Straliozzo*⁽⁵⁾; *Alexandre Ortega*⁽⁵⁾; *Roberta Aparecida Carnevali*⁽⁶⁾; *Marcelo Dias Muller*⁽⁶⁾; *Carlos Eugênio Martins*⁽⁶⁾; *Inácio Barros*⁽⁶⁾; *Fabiano de Carvalho Balieiro*⁽⁵⁾

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos de. ⁽²⁾ Acadêmico do Curso de Engenharia Agrícola e Ambiental - TER/UFF, Bolsista (CNPq), Embrapa Solos, Laboratório de Biorreatores, Rua Jardim Botânico, 1024 - Bairro Jardim Botânico, CEP: 22460-000 - Rio de Janeiro, RJ. ⁽³⁾ Engenheiro Ambiental Graduando, Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca, CEFET, RJ. Zootecnista, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. Engenheiro Agrônomo, Doutor em Agronomia - UFRRJ, Pesquisador, Embrapa Solos, Laboratório de Biorreatores, Rua Jardim Botânico, 1024 - Bairro Jardim Botânico, CEP: 22460-000 - Rio de Janeiro, RJ. Engenheiro Agrônomo e Florestal, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG.

Resumo – O trabalho avaliou espécies (leguminosas e crucífera) para produção de silagem de milho e capim de entressafra para sistema lavoura-pecuária e melhoria da qualidade do solo no Médio Vale Paraíba do Sul. O sistema iLP implantado tem o desenho experimental com as espécies condicionadoras/melhoradoras de solo (feijão guandu, crotalaria, estilosantes, mucuna e nabo forrageiro) e braquiária como tratamentos, sendo repetidas 4 vezes (blocos). A fase de implantação foi realizada por semeadora de milho em área total e após a germinação, as áreas foram divididas. Cada bloco (48 x 48m) foi subdividido em faixas de 8 por 48 m (ver detalhe em Silva, 2023). Após a colheita do milho foi realizada a semeadura das espécies “melhoradoras de solo” (consórcios), em fevereiro de 2020. Usando a técnica da abundância natural do ¹⁵N, foi possível constatar ausência da contribuição da fixação biológica de N₂ às leguminosas, o que foi corroborado pela avaliação visual da nodulação. As plantas de cobertura, e a pastagem sofreram com a reduzida janela de plantio e oferta de água na região, por isso produziram pouca biomassa e acumularam pouco N. As mudanças climáticas já afetam a região e deixam evidentes que a busca por soluções de adaptação dos sistemas de produção é urgente

Palavras-Chave : adubo verde, mudanças climáticas; sistema lavoura-pecuária, conservação do solo.

Introdução

Focado na avaliação de espécies (leguminosas e crucífera) para produção de silagem de milho e capim de entressafra para sistema lavoura-pecuária e melhoria da qualidade do solo em região fortemente afetada pela degradação do solo, o projeto avança na proposição de um sistema voltado para o Médio Vale Paraíba do Sul que melhora a oferta de alimento para o gado e a fertilidade do solo.

A entrada de N biologicamente fixado pelas leguminosas é agente de mitigação da emissão de gases de efeito estufa, pois reduz, em longo prazo, a demanda de N mineral em sucessões posteriores de culturas de interesse, ao mesmo tempo que é agente de intensificação da incorporação de C ao solo, como outros trabalhos demonstram (Sisti et al., 2004; Resh et al., 2002; Chaer et al., 2011; Balieiro et al., 2020). O trabalho objetiva quantificar e qualificar a contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN) ao sistema pecuária-floresta implantado na Fazenda Santa Mônica, de propriedade da Embrapa Gado de Leite. Dois métodos foram utilizados para tal estimativa, o método da abundância natural do ¹⁵N (Unkovich et al., 1989) e o método visual preconizado por Peoples et al. (1989).

Material e Métodos

O experimento foi montado no Campo Experimental de propriedade da Embrapa Gado de Leite, em Valença, RJ (22°21'S e 43°42'W; 364m acima do nível do mar), Fazenda Santa Mônica. A região é bastante montanhosa, caracterizada pela nomenclatura regional Mares de Morros. A agricultura

é possível apenas em áreas menos íngremes da paisagem, por isso o experimento foi implantado numa área de baixada próxima à base do morro (mais indicadas ao sistema pela possibilidade de mecanização).

O sistema iLP implantado tem o desenho experimental baseado na consorciação e sucessão de espécies condicionadoras/melhoradoras de solo (feijão guandu, crotalaria, estilosantes, mucuna e nabo forrageiro) e braquiária. A fase de implantação foi realizada por semeadora de milho em área total e após a germinação, as áreas foram divididas.

Cada bloco (48 x 48m) foi subdividido em faixas de 8 por 48 m (ver detalhe em Silva, 2023). Após a colheita do milho foi realizada a semeadura das espécies “melhoradoras de solo” (consórcios), em fevereiro de 2020. Com a falta de chuva na ocasião e ausência de germinação das plantas condicionadoras de solo, um novo ciclo de milho mais braquiária foi realizado nas águas (novembro). Em fevereiro de 2021, as condicionadoras foram novamente semeadas. Uma parcela testemunha foi deixada em cada bloco, na qual a braquiária como vinha sendo manejada anteriormente possa ser usada até o final do experimento como referência. Da região central de cada parcela foram coletadas amostras de todas as plantas ocupantes de um quadrado de 1m² lançado ao solo para estimativa da biomassa aérea das plantas de cobertura e espontâneas da parcela (Silva, 2023). As coletas se deram aos 45 dias após o plantio. Todas as plantas que ocupavam o quadrado supracitado foram cortadas rente ao solo e colocadas em sacos plásticos, levadas ao laboratório para serem separadas em gramínea (forrageira), planta espontânea e planta de cobertura (incluindo as leguminosas). Após segregação, todas foram secas (45°C até peso constante). Após peso constante foram pesadas. Sub amostras foram finamente moídas para então serem enviadas para laboratório de análise química (teores de C e N) e isotópica (abundância natural do ¹⁵N).

A estimativa da *fixação biológica de N₂* (FBN) foi programada para ser feita usando a técnica da abundância natural de ¹⁵N, que utiliza o ar como referência (Unkovich *et al.*, 1989) e por definição o d¹⁵N do N₂ atmosférico é igual a zero, pois o ar possui 0,3663% do N na forma isotópica de ¹⁵N. Amostras dos tecidos das plantas de cobertura e de referência foram encaminhadas para serem analisadas no Laboratório de Biotransformação de Carbono e Nitrogênio (LABCEN) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), RS. Com os teores de N total nos tecidos das plantas e a abundância natural de ¹⁵N será possível estimar a contribuição percentual de N oriundo da fixação biológica das plantas leguminosas (Cfb-leg) e de posse de dados de biomassa acumulada nas plantas leguminosas (Silva, 2023) e dos conteúdos de N nas plantas, foi possível estimar a quantidade, em kg ha⁻¹ de N oriundos da FBN.

Uma avaliação visual da nodulação foi realizada no momento da amostragem das plantas, adaptando trabalho de Peoples *et al.* (1989). De quatro a seis plantas próximas aos quadrantes lançados sobre o solo para avaliação da biomassa do bloco 1 (3 pontos) e de 4-6 plantas no ponto central dos blocos 2 e 3 foram utilizadas neste estudo. A metodologia usada para avaliação visual das leguminosas fixadoras foi adaptada de Peoples *et al.* (1989).

Resumidamente, avalia-se o número de nódulos e a distribuição nos primeiros 10cm (0-5cm e 5-10cm). Os nódulos não foram contados em todas as plantas para registro, mas sua avaliação visual levou em consideração sua distribuição (número indiretamente) no perfil de raízes, tamanho. Foi feito o registro fotográfico de plantas do Bloco 1.

Resultados e Discussão

O solo, antes do experimento ser implantado apresentava-se com razoável acidez (pH=5,4), baixos teores de P e teores de bases trocáveis que levaram a saturação por eles a ~40%, evidenciando que para o cultivo do milho, correção e adubação seriam essenciais. A textura da camada superficial é argilosa (>60% de argila) e a densidade da camada de 0-10cm é de 1,47 g cm⁻³ e de

10-20 e 20-40cm iguais a $1,58 \text{ g cm}^{-3}$. Nas mesmas camadas, os teores de Corg atingiram valores iguais a 20,7; 15,7 e $6,2 \text{ g kg}^{-1}$.

Todas as parcelas apresentaram solo completamente coberto com a vegetação, no momento da avaliação da FBN de forma visual. Algumas parcelas apresentavam pouca presença da planta de cobertura, e numa avaliação bem grosseira constata-se que essa taxa não passa de 30%. Nas parcelas de *Stylosanthis*, não foi observada a leguminosa, pois ela não germinou.

Dada a adubação nitrogenada ao milho, ficou evidente que a mucuna é mais sensível ao N do solo, pois quase não apresentou nódulos. A exceção foi o bloco 3, que 2 de 4 plantas apresentaram nódulos muito grandes e muito ativos (Figura 1).

Usando a abordagem de avaliação visual citada por Peoples et al. (1989), pode-se qualificar a nodulação. Foi ponderado a relação do número de plantas que tinham nódulo e que não tinham (Tabela 1). Todas as leguminosas apresentaram status baixo para a nodulação, sendo a mucuna a espécie com pior performance e a crotalaria aquela com melhor performance (Tabela 2). Esta constatação pode ter haver com o efeito residual da adubação nitrogenada realizada ao milho.



Figura 1. Imagens de nódulos de mucuna preta, (*Mucuna pruriens*) com expressão de atividade da nitrogenase dada pela coloração rósea do seu interior. Mesmo com performance fraca para nodução, no bloco 3 foi encontrado plantas com nódulos ativos.

A semeadura do milho RB 9005PRO foi realizada no dia 20/11/2020 e foi acompanhada da adubação de plantio de 400 kg ha^{-1} da fórmula 10-30-10 e no dia 11/12/2020 uma adubação de cobertura de 400 kg ha^{-1} na fórmula 20-00-20 foi realizada. Como é sabido, a FBN é minimizada quando o N mineral está disponível para as espécies fixadoras.

Usando a técnica da abundância natural do ^{15}N , foi possível constatar que todas as plantas utilizaram o N mineral do solo como fonte principal do elemento para sua nutrição. Ou seja, corroborando a avaliação visual. Apesar de leguminosas nodulíferas, a quantidade de N aplicado ao milho anteriormente ao semeio inibiu fortemente a nodulação e as taxas de fixação biológica de N_2 .

Desta forma, ao invés de sinais próximos a zero ou negativos para $\delta^{15}\text{N}$, as leguminosas e não leguminosas apresentaram valores positivos, indicando que o N assimilado era mais enriquecido no isótopo mais pesado, comum em fontes minerais do solo (Peoples et al., 1989; Unkovich et al., 1989; Boddey et al., 2000). Desta forma, não foi possível calcular a contribuição da fixação biológica de N_2 para as leguminosas e respectiva contribuição ao N acumulado na parte aérea das plantas. Até os 40cm do solo, a marcação isotópica do solo para o ^{15}N era de 8,418 até 12,280‰.

Com a chegada dos resultados do teor de N das plantas do experimento (Nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.), Mucuna Preta (*Mucuna pruriens*), Crotalaria (*Crotalaria ochroleuca*), Feijão Guan-du (*Cajanus cajan*) e controle (*Urochloa brizantha* cv. Marandu)), foi possível calcular os estoques

de N associado a cada tipo de planta do sistema (planta de cobertura, espécies espontâneas e a espécie de capim semeado, *Urochloa brizantha* cv. Marandu (Tabela 3).

A discussão sobre a baixa produção de massa verde das plantas de cobertura, e maior destaque para o guandu e o nabo, nas condições de condução do experimento, foram feitos por Silva (2023). Vale ressaltar, porém, a produção de matéria seca de plantas espontâneas que na realidade eram predominantemente gramíneas forrageiras que já existiam na área e que foram beneficiadas pelas condições impostas pela adubação, banco de sementes, e baixa competitividade das *Urochloa brizantha* e plantas de cobertura semeadas.

A mucuna e o guandu se destacaram pelo teor de N em seus tecidos (>20 g kg⁻¹); ao passo que o nabo e a crotalaria os menores teores, entre as plantas de cobertura. Pelo maior potencial entre as plantas de coberturas, o guandu se destacou na acumulação de N na parte aérea. A mucuna, mesmo produzindo pouca biomassa, acumulou quantidade de N equivalente ao nabo, dada a superioridade no teor de N de seus tecidos.

Tabela 1. Status da nodulação das plantas de cobertura, visualmente

Espécie	Abundância amostra (nod: não nod)	Abundância na planta (vertical)	LegHemog (+++ : vermelho; + : marrom)	Tamanho e característica
Bloco 1				
Mucuna	3:6	++; 0-5	+++	Médios (~1-2mm)
Guandu	6:6	+; 0-5 e 5-10	++	Pequenos (<1mm); individuais
Crotalaria	6:6	+; 0-5 e 5-10 (1* com muito)	+	Pequenos
Bloco 2 (so o mais pedregoso)				
Mucuna	1:3	+ (5-10cm)	n.a.	n.a.
Guandu	6:6	+; 0-5; 5-10cm	n.a.	n.a
Crotalaria	6:6	++; 0-5 e 5-10cm	++	Pequenos (caule e raízes finas)
Bloco 3 (mais úmido e menos pedregoso. Aparentemente mais MOS; leguminosas muito abafadas; guandu estava bem desenvolvido, germinou bem)				
Mucuna	2:4	+; 0-5 e 5-10	++++	Muito grande; cordiforme e grumoso
Guandu	4:4	++		Pequenos no caule e raízes finas isolados
Crotalaria		++; 0-5 e 5-10	+++	Muito pequenos em raízes finas. Ausente no caule. Grumosos também

Tabela 2. Notas aplicadas as parcelas com plantas de cobertura, seguindo critérios adaptados de Peoples et al. (1989).

Espécie	Bloco 1	Bloco 2	Bloco 3
Mucuna	1	1	1-2
Crotalaria	2-3	2-3	2-3
Guandu	2	1-2	2-3

Tabela 3. Massa seca acumulada das plantas (kg ha⁻¹), abundância natural do ¹⁵N (em δ¹⁵N, ‰), teor de N (g kg⁻¹) e quantidade de N (kg ha⁻¹) em tecidos aéreos de plantas de cobertura (PC) (Nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.), Mucuna Preta (*Mucuna pruriens*), Crotalária (*Crotalaria ochroleuca*), Feijão Guandu (*Cajanus cajan*)), controle *Urochloa brizantha* cv. Marandu (U), e plantas espontâneas (E), após 3 cortes sucessivos. Teores do último corte e estimativa dos totais acumulados, baseados no teor do 3º corte.

Planta	Massa seca de plantas			δ ¹⁵ N	N	Acúmulo de N: PC+ (U)	Acúmulo de N: (E)
	(Kg ha ⁻¹)						
	Pl. de cobertura (PC)	Urochloa (U)	Espontâneas	(‰)	(G kg ⁻¹)	(Kg ha ⁻¹)	(Kg ha ⁻¹)
Crotalaria	672	141	2501	3,536±0,978	12,4±2,5	8,34(2,03)	36,03
Mucuna	859	105	2018	5,607±3,165	27,7±4,8	23,84(1,63)	25,59
Guandu	1463	337	1481	5,395±0,226	20,2±3,4	29,51(5,67)	44,99
Nabo	1765	204	954	3,738±1,385	12,6±2,7	22,17(3,64)	32,76
Urochloa		2070	2658	6,377±0,373	17,6±0,5	(36,39)	17,75

Conclusões

Usando a técnica da abundância natural do ¹⁵N, foi possível constatar que todas as espécies avaliadas utilizaram o N mineral do solo, ou seja, mesmo as leguminosas nodulíferas foram afetadas pela quantidade de N aplicado ao milho, inibindo fortemente a nodulação e as taxas de fixação biológica de N₂.

Estes achados foram corroborados com a avaliação visual da nodulação.

As plantas de cobertura, e a pastagem sofreram com a reduzida janela de plantio e oferta de água na região, por isso produziram pouca biomassa e acumularam pouco N.

As mudanças climáticas já afetam a região e deixam evidentes que a busca por soluções de adaptação dos sistemas de produção é urgente.

Agradecimentos

FCB agradece o CNPq pela Bolsa de Produtividade (2021-2024). A Embrapa e a Rede ILPF pelo apoio financeiro.

Referências

BALIEIRO, F. C.; CESARIO, F. V.; SANTOS, F. M. Litter Decomposition and Soil Carbon Stocks in Mixed Plantations of Eucalyptus spp. and Nitrogen-Fixing Trees. In: CARDOSO, E.J.B.N., GONÇALVES, J.L.M., BALIEIRO, F.C., FRANCO, A.A. (Org.). Mixed Plantations of Eucalyptus and Leguminous Trees: Soil, Microbiology and Ecosystem Services. 1ed. Cham: Springer, 2020, v. 1, p. 57-90

CHAER, G.M., RESENDE, A.S., CAMPELLO, E.F.C., BODDEY, R.M. (2011) Nitrogen-fixing legume tree species for the reclamation of severely degraded lands in Brazil. *Tree Physiol* 31:139–149. doi:10.1093/treephys/tpq116

PEOPLES, M.B., FAIZAH, A.W., RERKASEM, B., HERRIDGE, D.F. Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. ACIAR Monograph, N° 11, ACIAR, 1989, 76pp.

SILVA, S.R.F. Avaliação de plantas de cobertura para uso na safrinha. Instituto de Zootecnia: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 39p., 2023.

SISTI, C.P.J., DOS SANTOS, H.P., KOHHANN, R., ALVES, B.J.R., URQUIAGA, S., BODDEY, R.M., 2004. Change in carbon and nitrogen stocks in soil under 13 years of conventional or zero tillage in southern Brazil. *Soil and Tillage Research* 76, 39- 58.

UNKOVICH M., HERRIDGE D., PEOPLES M., CADISCH G., BODDEY R., GILLER K., ALVES B. AND CHALK P. Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems. ACIAR, Monographh, 1989.