

Nodulação e Fixação Biológica de Nitrogênio de *Adesmia latifolia* e *Lotus corniculatus* em Vasos de Leonard¹

Simone Meredith Scheffer-Basso², Márcio Voss³, Aino Victor Ávila Jacques⁴

RESUMO - *Adesmia latifolia*, que é uma leguminosa forrageira nativa do Sul do Brasil, destaca-se pelo seu hábito de crescimento estolonífero e por produzir forragem durante a estação fria. O *Lotus corniculatus* (cornichão) é uma forrageira comercialmente utilizada na formação de pastagens hibernais em regiões subtropicais e temperadas. Para ambas as espécies, no entanto, são limitados os trabalhos científicos relacionados ao padrão de nodulação e à fixação biológica de nitrogênio (FBN). Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de analisar tais processos nessas espécies, bem como comparar o seu desenvolvimento morfológico sob diferentes fontes de N: N-mineral (nitrato de amônio 5%), N-simbiótico (inoculação) e na ausência dessas fontes (testemunha). O ensaio foi conduzido em casa de vegetação, utilizando-se vasos de Leonard com solução nutritiva; o substrato constou de uma mistura de areia + vermiculita + carvão. O delineamento foi completamente casualizado, com quatro repetições. Ao final de 65 dias, as plantas foram colhidas e avaliadas quanto ao comprimento e volume de raízes, número e peso de nódulos, acúmulo de MS e FBN. *A. latifolia* destacou-se pelo maior número de nódulos (126/vaso) e peso total de nódulos (82,22 mg MS/vaso) em relação ao cornichão, com 82 nódulos/vaso e 20,25 mg MS/vaso. A FBN foi mais efetiva em *A. latifolia*, cujas plantas inoculadas produziram, em média, 37% de MS em relação às plantas supridas com N-mineral; no cornichão esse percentual foi de apenas 15%. A quantidade de N fixado simbioticamente foi de 43,12 mg/vaso em *Adesmia* e de 9,92 mg N/vaso em cornichão.

Palavras-chave: leguminosa, pastagem, simbiose

Nodulation and Biological Nitrogen Fixation of *Adesmia latifolia* and *Lotus corniculatus* in Leonard Jars

ABSTRACT - *Adesmia latifolia* is a forage legume native from Southern Brazil which is outstanding due to stoloniferous growth habit and for forage production during the cool season. The *Lotus corniculatus* (birdsfoot trefoil) is a forage usually utilized as cool season species in subtropical and temperate regions. For both species, however, there is a reduced number of scientific works related to the nodule type and biological nitrogen fixation (BNF). This work had the purpose to analyze such processes in these species and also to compare their morphological development under different nitrogen sources: mineral-N (ammonium nitrate - 5%), symbiotic-N (inoculation) and without nitrogen (control). The experiment was carried out in greenhouse conditions, utilizing Leonard Jars with nutritive solution; the substrate consisted of mixture of sand, vermiculite and charcoal. It was a randomized complete design with four replications. At the end of 65 days the plants were harvested and evaluated for length and volume of roots, number and weight of nodules, dry matter (DM) accumulation and BNF. *A. latifolia* stand out for the character number of nodules (126/jar) and total nodule weight (82.22 mg DM/jar) as compared to birdsfoot trefoil with 82 nodules/jar and 20.25 mg DM/jar. The BNF was more effective in *A. latifolia*, whose inoculated plants produced an average of 37% of DM that was obtained by plants supplied with mineral-N, while birdsfoot reached only 15% of DM production with BNF. The amount of symbiotic fixed nitrogen was 43.12 mg N/jar in *Adesmia* and 9.92 mg in birdsfoot trefoil.

Key Words: legume, pasture, symbiosis

Introdução

Uma das principais justificativas do uso de leguminosas em pastagens é a sua capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico que, posteriormente, será transferido às gramíneas associadas. Em nível mundial, esse assunto tem sido muito debatido e avanços consideráveis têm sido feitos na área de plantas forrageiras.

No Brasil, os estudos estão concentrados nas

espécies exóticas, cultivadas comercialmente, para as quais existem estirpes de rizóbio selecionadas à disposição dos produtores. Infelizmente, apesar da justificativa do uso e da manutenção de leguminosas em pastagens repousar em grande parte na sua capacidade de obter nitrogênio via fixação simbiótica, muito pouca atenção foi dedicada a este assunto, para espécies nativas, demonstrando falta de interdisciplinaridade nos trabalhos de pesquisa.

¹ Parte da tese de Doutorado do primeiro autor. Trabalho financiado por Finep-Pronex.

² Eng^o.-Agr^o., Dra., Universidade de Passo Fundo, Caixa Postal 567, Passo Fundo, RS. Cep: 99001-970. E.mail: simone@upf.tche.br

³ Eng^o.-Agr^o., Dr., Embrapa-Trigo, Passo Fundo, RS. E.mail: voss@cnpt.embrapa.br

⁴ Eng^o.-Agr^o., Ph.D., Pesquisador CNPq-UFRGS. E.mail: aino@vortex.ufrgs.br

As poucas referências, das décadas de 70 e 80, dizem respeito aos aspectos de manejo de espécies exóticas, como alfafa (*Medicago sativa* L.), cornichão (*Lotus corniculatus* L.), trevo-branco (*Trifolium repens* L.), trevo-vermelho (*T. pratense* L.) e trevo subterrâneo (*T. subterraneum* L.), concluindo-se da necessidade da correção do solo para garantir a eficiência do processo simbiótico (KORNELIUS et al., 1972; KORNELIUS e SAIBRO, 1973; KOLLING e SCHOLLES, 1980).

Um dos poucos estudos com leguminosas nativas, desenvolvido por ANDRADE (1986), demonstrou a necessidade de seleção dentro de espécies nativas de rizóbio para *T. riograndense* Burkart., de forma a obter-se estirpes competitivas e efetivas, denotando que mesmo espécies nativas podem se beneficiar da inoculação com estirpes selecionadas (FREDERICK, 1978). BROSE (1991, 1992, 1994) demonstrou, em Santa Catarina, a variabilidade dentre estirpes selecionadas e isolados nativos de rizóbio na adaptação à acidez do solo ou tolerância ao alumínio.

Entre as leguminosas nativas do Sul do Brasil, tem aumentado o interesse pela colheita e pela conservação de germoplasma de *Adesmia*, pelo fato de várias espécies desse gênero serem potencialmente boas forrageiras para as regiões de clima temperado (MIOTTO e LEITÃO FILHO, 1993). Porém, quanto aos aspectos da simbiose, existem poucas informações sobre esse gênero. DATE e HALLIDAY (1980) caracterizaram *Adesmia* entre os gêneros promíscuos, mas frequentemente inefetivos quanto à sua resposta a *Rhizobium*. SCHEFFER-BASSO et al. (1995) observaram em *A. araujoi* excelente nodulação em plantas colhidas em campo, mas verificaram experimentalmente baixa eficiência na fixação de N.

Nos Estados Unidos, têm-se implementado linhas de pesquisa com cornichão no que se refere à fixação de N, já que essa espécie é considerada pouco eficiente quanto ao processo simbiótico. EHLKE et al. (1996) obtiveram sucesso nesse sentido, por intermédio de estudos morfofisiológicos, no qual foram selecionadas plantas maiores, com maior quantidade de raízes fibrosas, maior massa de nódulos e maior quantidade de N fixado. No Brasil, os trabalhos com essa espécie, considerando aspectos de desenvolvimento morfológico associado à eficiência na fixação de N, são restritos. No Rio Grande do Sul, KOLLING et al. (1983), cultivando cornichão, cv. São Gabriel, em solo, não obtiveram resposta à inoculação com estirpes selecionadas e à fertilização nitrogenada, atribuída à presença de estirpes naturalizadas e ao uso do N do

solo, que supriu as necessidades da cultura.

Entre as técnicas utilizadas para estudos iniciais de fixação biológica de nitrogênio em espécies novas ou ainda não estudadas estão os cultivos em Vasos de Leonard. Por essa técnica as plantas são cultivadas durante oito a doze semanas em casa de vegetação, sendo colhidas para exame da produção de matéria seca e, segundo NORRIS e DATE (1976), é uma ferramenta adequada para seleção prévia de estirpes para futuros testes em campo. Este trabalho é parte de um estudo inédito e pioneiro com *A. latifolia* e cornichão cv. São Gabriel, com o objetivo de analisar o desenvolvimento morfológico e acúmulo de matéria seca de plantas inoculadas em relação a plantas fertilizadas com N-mineral, bem como a fixação de N, de forma a obter-se informações básicas que possam dar subsídios a futuros estudos nas áreas de microbiologia e manejo dessas espécies.

Material e Métodos

Em casa de vegetação, *A. latifolia* e cornichão (cv. São Gabriel) foram submetidos a três tratamentos quanto ao fornecimento de N: testemunha (sem N-mineral e sem inoculação), N-mineral e N-simbiótico (inoculação), num delineamento completamente casualizado, com quatro repetições. As unidades experimentais consistiram de vasos de Leonard (ANDRADE e HAMAKAWA, 1994), cujo substrato foi preparado com uma mistura de vermiculita, areia e carvão, na proporção de 5:3:1. Tanto os vasos quanto o substrato foram autoclavados, para fins de esterilização. A solução nutritiva utilizada seguiu formulação de Bergensen (VINCENT, 1970), modificada por VOSS e SCHEFFER (dados não publicados). A água utilizada para o preparo da solução nutritiva teve o pH 6,2. A solução foi colocada no dia da semeadura e renovada semanalmente até o final do período experimental.

Antes da semeadura, as sementes foram imersas durante dez segundos em álcool, posteriormente em hipoclorito de sódio (solução comercial com 2% do princípio ativo cloro), durante cinco minutos, e, em seguida, enxaguadas seis vezes com água destilada, deionizada e esterilizada. As sementes de *Adesmia* foram escarificadas mediante a imersão em água fervente durante cinco minutos; posteriormente foram colocadas em germinador. O plantio foi realizado em 29 de agosto 1997, com plântulas de cinco dias, mantendo-se duas plântulas por vaso.

As plântulas submetidas ao tratamento de

inoculação receberam em via líquida, no dia seguinte ao transplante, a estirpe previamente selecionada E-226 (Embrapa-Trigo) de *Rhizobium*, na dose de 1 mL/vaso, com mais de 1×10^8 unidades formadoras de colônias. No tratamento N-mineral, as plântulas receberam 1 mL de nitrato de amônio a 5%, semanalmente, totalizando ao final do experimento 122,5 mg de N/vaso. Em 3 de novembro de 1997, decorridos 65 dias após o plantio, as plantas foram colhidas e avaliadas quanto ao número de nódulos e hastes, altura da parte aérea e comprimento das raízes. Terminada essa etapa, foram separadas parte aérea e raízes e colocadas em estufa a 70°C, durante 72 horas, sendo posteriormente pesadas e moídas. Os nódulos também foram secados, porém não foram moídos, em razão do pequeno volume de material. Raízes e parte aérea foram analisadas quanto ao teor de N no tecido, pelo método de Micro-Kjeldhal, descrito por TEDESCO et al. (1995). A efetividade da fixação biológica de nitrogênio foi calculada de acordo com GIBSON (1980):

$$Ef (\%) = \{ (PSR - \text{simbiótico} + PSPA - \text{simbiótico}) / (PSR - \text{mineral} + PSPA - \text{mineral}) \} \times 100$$

em que PSR refere-se a peso seco de raízes e PSPA, peso seco de parte aérea. Para fins de comparação da quantidade de N fixado pelas espécies, foram realizados os seguintes cálculos:

1º) Quantidade de N acumulado

$$N(\text{mg}) = [N (\%) \text{ da raiz} \times \text{MS raiz}] + [N (\%) \text{ da parte aérea} \times \text{MS parte aérea}]$$

2º) Quantidade de N fixado

$$N(\text{mg}) = N - \text{simbiótico} - N - \text{testemunha}$$

Resultados e Discussão

Nodulação e desenvolvimento morfológico

A. latifolia apresentou maior quantidade de nódulos ($P < 0,01$), tanto em número quanto em peso, em relação ao cornichão (Tabela 1). Para uma leguminosa em fase inicial de caracterização, como *A. latifolia*, tais observações são muito relevantes, pois, segundo BLISS (1991), na ausência de fatores físicos limitantes e na presença de rizóbio efetivo, a densidade e o padrão da nodulação são controlados pela planta, embora o meio circundante produza grandes variações. É interessante destacar que, neste trabalho, pela própria estrutura dos vasos utilizados para o cultivo, a nodulação ocorreu apenas no sistema de raízes da planta-mãe, pois os estolões, uma vez que não

Tabela 1 - Número e peso de nódulos de *Adesmia latifolia* e *Lotus corniculatus* em vasos de Leonard
Table 1 - Number and nodules weight of *Adesmia latifolia* and *Lotus corniculatus* in Leonard Jars

Espécie <i>Specie</i>	Nódulos <i>Nodules</i>	
	Número (nº/vaso) <i>Number</i>	Peso (mg MS/vaso) <i>Weight</i>
	(n./pot)	(mg DM/pot)
<i>A. latifolia</i>	126,26 ^a	82,22 ^a
<i>L. corniculatus</i>	38,50 ^b	20,25 ^b

Médias seguidas por letras distintas nas colunas são diferentes pelo teste de Tukey a 1%.

Means followed by different letters, in the column, are different at 1% by Tukey test.

foram mantidos sobre o substrato, não enraizaram.

A análise de variância mostrou efeito significativo entre espécie, fontes de N e da interação desses dois fatores também para variáveis relacionadas ao desenvolvimento morfológico das leguminosas estudadas (Tabela 2).

Comparando-se o comportamento das duas espécies, verifica-se que o hábito de crescimento das mesmas refletiu-se nos dados obtidos. Assim, as plantas de cornichão foram significativamente ($P < 0,05$) mais altas e mais ramificadas em relação às de *A. latifolia*. O sistema radicular foi caracterizado, no cornichão, leguminosa com sistema axial, de raízes mais longas, do que *A. latifolia* (Tabela 2). Entretanto, mais relevantes foram as respostas de cada espécie ao suprimento nitrogenado. No cornichão houve diferença significativa ($P < 0,01$) entre as fontes de N para altura das plantas, comprimento de raízes e número de hastes, sendo as plantas submetidas ao N-mineral mais altas e mais ramificadas, enquanto aquelas decorres da simbiose apresentaram maior comprimento do sistema radicular, em relação às plantas que receberam N-mineral. Considerando-se a importância do processo de formação de caules para plantas forrageiras na fase do estabelecimento, especialmente sob consorciação com gramíneas, destaca-se a importância do adequado suprimento de nitrogênio e, portanto, de uma efetiva seleção de estirpes. Em cornichão, as plantas testemunhas, extremamente deficientes em N, tiveram raízes mais longas, em relação ao tratamento N-mineral, indicando tratar-se de um sintoma de deficiência de nitrogênio para essa espécie (Tabela 2).

O volume de raízes ficou reduzido a 0,61 cm³/vaso na testemunha, enquanto, sob presença de N-

mineral obtiveram-se 9,98 cm³/vaso. Tal comportamento encontra suporte na afirmação de MENGEL e KIRKBY (1987) de que um dos sintomas da deficiência de N, além da baixa taxa de crescimento das plantas, é a diminuição da ramificação das raízes. Assim, considerando-se que o cornichão tem um sistema axial caracteristicamente bem ramificado, a restrição do suprimento nitrogenado parece implicar em menor absorção de água e nutrientes. Já para *A. latifolia*, a fonte de N não afetou o comprimento de raízes, mas observou-se diferença significativa (P<0,01) para o volume de raízes (Tabela 2), em que plantas sujeitas à adição de N-mineral apresentaram cerca de cinco vezes maior volume de raízes em relação àquelas noduladas. Essa resposta diferencial entre as duas leguminosas sugere o efeito dos distintos sistemas de raízes que, no cornichão, caracterizam-se pela presença de um eixo principal com crescimento contínuo, enquanto *Adesmia* prioriza o desenvolvimento de raízes adventícias, mais curtas e fasciculadas.

Quanto à parte aérea, *A. latifolia* não apresentou alterações significativas na altura e número de hastes, mas teve o comprimento dos estolões reduzido prati-

camente à metade. Para essa leguminosa, a altura do dossel vegetativo não tem um significado tão importante quanto o tem para o cornichão, pois seu crescimento é lateral, dependendo do alongamento dos estolões para a formação de sua área foliar.

Acúmulo de biomassa

A. latifolia apresentou maior (P<0,01) acúmulo de biomassa tanto da parte aérea quanto de raízes. Considerando-se a resposta intraespecífica, plantas supridas com nitrato de amônio acumularam significativamente (P<0,01) maior biomassa, tanto da parte aérea quanto de raízes (Tabela 3).

Segundo CASSMAN et al. (1980), leguminosas supridas exclusivamente pelo N-simbiótico, normalmente, não conseguem expressar seu potencial produtivo, uma vez que o processo de fixação biológica do N promove alterações fundamentais na morfofisiologia das plantas, que resultam no decréscimo de crescimento. Os nódulos representam um dreno adicional de fotoassimilados e nutrientes, competindo com outros órgãos da planta pelos assimilados. Conforme ATKINS (1984), em situações de muito

Tabela 2 - Altura das plantas (AP), comprimento (CR) e volume (VR) de raízes, número de hastes (H) e estolões (E) de *Adesmia latifolia* e *Lotus corniculatus* influenciados pelos diferentes tratamentos

Table 2 - Plants height (PH), roots length (RL), root volume (RV), stems (ST) and stolons (SS) number of *Adesmia latifolia* and *Lotus corniculatus* influenced by different treatments

Tratamento Treatment	AP (cm) PH (cm)	Raízes Roots		H (n°/vaso) ST (n°/jar)	E (n°/vaso) ¹ SS (n°/jar)
		CR (cm) RL	VR (cm ³ /vaso) RV		
<i>A. latifolia</i>					
N- mineral <i>N-mineral</i>	16,50 ^a	29,50 ^a	17,63 ^a	8,00 ^a	29,77
N- simbiótico <i>N-symbiotic</i>	13,25 ^a	23,00 ^a	3,74 ^b	5,75 ^a	15,84
Testemunha <i>Control</i>	4,25 ^b	15,50 ^a	0,52 ^c	1,00 ^b	0
Média <i>Mean</i>	11,33(B)	22,66(B)	7,30(A)	2,25(B)	-
<i>L. corniculatus</i>					
N- mineral <i>N-mineral</i>	31,00 ^a	27,75 ^b	9,98 ^a	28,25 ^a	-
N- simbiótico <i>N-symbiotic</i>	17,50 ^b	49,00 ^a	1,71 ^b	7,75 ^b	-
Testemunha <i>Control</i>	6,50 ^c	58,00 ^a	0,61 ^b	3,00 ^c	-
Média <i>Mean</i>	18,33(A)	44,92(A)	4,10(B)	13,00(A)	-

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna e letras maiúsculas na linha são diferentes pelo teste Tukey a 1%.

Means followed by different small letters in the column and capital letters in the row are different at 1% by Tukey test.

¹Somente *A. latifolia* possui caule do tipo estolão (*Only A. latifolia has stolons*).

baixa eficiência, os nódulos podem carrear até 25% de fotoassimilados para o seu funcionamento. VANCE et al. (1982) acreditam que a reduzida fixação biológica de nitrogênio no cornichão, em relação à alfafa, pode ser reflexo das maiores necessidades de fotoassimilados para a manutenção e funcionamento dos seus nódulos, conduzindo a um maior custo energético.

Efetividade da fixação biológica de nitrogênio

A efetividade do processo simbiótico avaliada segundo GIBSON (1980) foi de 34,80 e 15,99% para *A. latifolia* e *L. corniculatus*, respectivamente. Pelo critério de MIRANDA (1995) que na seleção de estirpes de rizóbios devem-se escolher aquelas que promovam efetividade de pelo menos 70% em relação à testemunha com N-mineral, a fixação de N nas espécies estudadas foi pouco efetiva.

O processo simbiótico foi mais efetivo em *A. latifolia* do que no cornichão e mostra potencial da

espécie, uma vez que os trabalhos de colheita e seleção de estirpes encontram-se em fase inicial. Já para o cornichão, para o qual existe inoculante comercial, estudos mais complexos e interdisciplinares devem ser realizados, com intuito de selecionar plantas mais eficientes na fixação do nitrogênio.

Um dos fatores que podem estar vinculados à fixação biológica de nitrogênio de *A. latifolia*, em relação ao cornichão, é o maior tamanho das sementes. Sabe-se que a nutrição da plântula é importante no início do crescimento, antes que os nódulos comecem a exportar o N fixado (BLISS, 1987). Nesse sentido, McKEE (1962) observou os primeiros nódulos em cornichão aos 23 dias após a sementeira; nesse momento, tais estruturas eram ainda pequenas, brancas e não funcionais. Segundo ATKINS (1984), uma a três semanas podem ser necessárias antes de começar a fixação biológica de nitrogênio e, nesse período, a plântula pode utilizar o N da semente e do solo para a síntese de proteínas. Assim, leguminosas de sementes pequenas podem mostrar sintomas de deficiência de N, no início do desenvolvimento. Outros fatores que devem ser considerados é o fato de que *A. latifolia* se mostrou capaz de formar maior número e massa de nódulos, embora nem sempre tais variáveis estejam associadas com o acúmulo de biomassa (BROSE, 1984, 1992).

É provável que as diferenças de efetividade entre *Adesmia* e cornichão se alterem sob condições de maior tempo de crescimento, em virtude da estratégia diferenciada de crescimento de ambas. Enquanto a primeira espécie prima pela expansão da área foliar, o cornichão investe inicialmente mais no desenvolvimento das raízes, expandindo sua área foliar às custas de um processo intenso de emissão de hastes, para onde são drenadas grande parte dos fotoassimilados. Some-se a isso o custo adicional de manutenção dos nódulos, com o que se obtém um período crítico para o cornichão. São comuns os relatos da sua baixa fixação biológica de nitrogênio (VANCE et al., 1982, EHLKE et al., 1996), assim como a ausência de sua resposta ao N, em condições de campo (KOLLING et al., 1983). Para EHLKE et al. (1996), o meio mais efetivo de melhorar a fixação biológica de nitrogênio em cornichão é por intermédio da seleção para maior massa de raízes fibrosas, de forma a prover maior quantidade de sítios de nodulação, que condicionem, por sua vez, maiores massas de nódulos e biomassa aérea. A preocupação desses autores com a morfofisiologia da planta de-

Tabela 3 - Acúmulo de matéria seca (MS) da parte aérea (caules+folhas) e raízes de *Adesmia latifolia* e *Lotus corniculatus* influenciados pelos diferentes tratamentos

Table 3 - Dry matter (DM) accumulated of aerial part and roots of *Adesmia latifolia* and *Lotus corniculatus* influenced by different treatments

Tratamento Treatment	MS (mg MS/vaso) DM (mg DM/jar)	
	Caules + folhas Stems + leaves	Raízes * Roots
<i>A. latifolia</i>		
N-mineral <i>N-mineral</i>	2705,00 ^a (100%)	1000,00 ^a (100%)
N-simbiótico <i>N-symbiotic</i>	995,00 ^b (37%)	294,40 ^b (29%)
Testemunha <i>Control</i>	48,25 ^c (1,78%)	39,75 ^b (3,98%)
Média total <i>Total mean</i>	1249,42(A)	447,75 (A)
<i>L. corniculatus</i>		
N-mineral <i>N-mineral</i>	1745,00 ^a (100%)	742,50 ^a (100%)
N-simbiótico <i>N-symbiotic</i>	262,50 ^b (15%)	135,25 ^b (18%)
Testemunha <i>Control</i>	19,25 ^b (1,10%)	34,50 ^b (4,65%)
Média total <i>Total mean</i>	675,58 (B)	304,08 (B)

* As raízes incluem os nódulos no tratamento N-simbiótico. Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna e letras maiúsculas na linha são diferentes pelo teste de Tukey a 1%.

* The roots include the nodules in N-symbiotic treatment. Means followed by different small letters in the column and capital letters in the row are different at 1% by Tukey test.

monstra com clareza a importância de trabalhos interdisciplinares no processo de melhoramento da fixação biológica de nitrogênio.

Quantidade de N fixado

Como padrão geral para ambas as espécies, observa-se que a parte aérea apresentou as maiores concentrações de N (Tabela 4). As mais elevadas concentrações de N na parte aérea de *Adesmia* sob N-simbiótico (36,3 g/kg) em relação ao N-mineral (22,0 g/kg) podem ser atribuídas ao efeito de diluição, em vista da maior produção de MS nesse último tratamento, conforme discutido anteriormente. Tal fato é comumente relatado, como no trabalho de BIEDERBECK et al. (1993), com *Pisum sativum* L., em que as maiores produções estavam associadas às menores concentrações de N, sugerindo diluição desse elemento pela maior produção de biomassa.

Considerando-se os dados de biomassa e de teor de N, *A. latifolia* teve fixação média de 42,10 mg N/vaso, enquanto em cornichão foi de apenas 9,38 mg N/vaso.

É importante, porém, chamar atenção para o fato de que, nesses cálculos, não foi considerado o N dos nódulos e, segundo DUBACH e RUSSELE (1994), em cornichão, é comum ter-se elevado teor de N nos nódulos. O fato de *A. latifolia* ter fixado maior quantidade de N, como um resultado conjunto de maior acúmulo de biomassa e concentração de N no tecido, em relação ao cornichão, é alentador, tendo em vista que ambos, rizóbio e leguminosa, só foram submetidos até então ao processo natural de melhoramento. Outro fator a ser considerado é que, nas condições deste trabalho, o N foi fixado apenas em nódulos presentes no sistema de raízes da planta-mãe. Em situação de campo, as raízes estoloníferas devem, em tese, contribuir muito mais em termos de N fixado por área, tema a ser investigado no futuro. Embora não haja maiores informações sobre fixação biológica de nitrogênio nesse gênero, observações de COLL e ZARZA (1992) indicam que *Adesmia bicolor*, espécie também estolonífera, possui elevada capacidade de fixação de N em solos arenosos, com baixa disponibilidade de N.

Conclusões

Face à resposta positiva à aplicação de N-mineral, as leguminosas *Adesmia latifolia* e *Lotus corniculatus* merecem trabalhos de seleção de estirpes de rizóbio mais efetivas.

As diferenças de acúmulo e repartição de biomassa sob N-mineral e N-simbiótico ressaltam a importância da avaliação da fixação biológica de nitrogênio em trabalhos de introdução e avaliação de leguminosas.

Para *L. corniculatus*, espécie de crescimento inicial lento, deve-se buscar maior efetividade inicial no processo simbiótico, enquanto em *A. latifolia* os estudos devem contemplar também a nodulação nas raízes estoloníferas.

Referências Bibliográficas

- ANDRADE, D.S. *Seleção de estirpes nativas de Rhizobium leguminosarum biovar. trifolii para Trifolium riograndense* Burk. Porto Alegre, RS: UFRGS, 1986. 93p. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Ciência do Solo) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1986.
- ANDRADE, D.S., HAMAKAWA, P.J. 1994. Estimativa do número de células de rizóbio no solo e inoculante por infecção em planta. In: HUNGRIA, M. ARAÚJO, R.S. (Eds.). *Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola*. Brasília: EMBRAPA-SPI. p.63-92.
- ATKINS, C.A. 1984. Efficiencies and inefficiencies in the legume/Rhizobium symbiosis - a review. *Plant and Soil*, 82(3):273-284.

Tabela 4 - Conteúdo e quantidade de nitrogênio em plantas de *Adesmia latifolia* e *Lotus corniculatus* influenciados pelos diferentes tratamentos

Table 4 - Nitrogen content and amount in *Adesmia latifolia* and *Lotus corniculatus* plants influenced by different treatments

Tratamento Treatment	Espécie Species		Espécie Species	
	<i>A. latifolia</i>		<i>L. corniculatus</i>	
	Parte aérea Shoot	Raízes Roots	Parte aérea Shoot	Raízes Roots
	Concentração (g/kg) Concentration			
N-mineral <i>N-mineral</i>	22,0	16,3	28,3	18,8
N-simbiótico <i>N-symbiotic</i>	36,3	23,8	27,4	20,2
Testemunha Control	6,6	17,6	12,2	9,1
	Quantidade (mg/vaso) Amount (mg N/jar)			
N-mineral <i>N-mineral</i>	59,51	16,10	49,38	13,96
N-simbiótico <i>N-symbiotic</i>	36,12	7,00	7,19	2,73
Testemunha Control	0,32	0,70	0,23	0,31

Dados não submetidos à análise estatística por insuficiência de material vegetal para analisar o conteúdo de N em todas as repetições. Results not submitted to statistical analysis by insufficiency of vegetal material to analyze the N content in whole repetition.

- BIEDERBECK, V., BOUMAN, O.T., LOOMAN, J. et al. 1993. Productivity four annual legumes as green manure in dry land cropping systems. *Agr. J.*, 85(5):1035-1043.
- BLISS, F.A. 1987. Host plant control of symbiotic N₂ fixation in grain legumes. In: GABELMAN, H.W., LOUGHMAN, B.C. (Eds.). *Genetic aspects of plant mineral nutrition*. Dordrecht: Martinus Nijhoff. p.479-493.
- BROSE, E. 1991. Seleção de rizóbio tolerante a Al e a baixo pH. *Pesq. Agr. Bras.*, 26(1):125-136.
- BROSE, E. 1992. Avaliação de rizóbio em cornichão em solo ácido. *Pesq. Agr. Bras.*, 27(9):1237-1242.
- BROSE, E. 1994. Seleção de rizóbio para trevo-branco em solo ácido. *Pesq. Agr. Bras.*, 29(2):281-285.
- CASSMAN, K.G., WHITNEY, A.S., STOCKINGER, K.R. 1980. Root growth and dry matter distribution of soybean as affected by phosphorus stress, nodulation, and nitrogen source. *Crop Sci.*, 20(2):239-244.
- COLL, J., ZARZA, A. 1992. *Leguminosas nativas promisorias: trebol polimorfo y babosita*. Montevideo: INIA. 19p. (Boletín de divulgación, 22).
- DATE, R.A., HALLIDAY, J. 1980. Relationships between *Rhizobium* and tropical forage legumes. In: SUMMERFIELD, R.J., BUNTING, A.H. (Eds.). *Advances in legume science*. Kew: University of Reading. p.597-601.
- DUBACH, M., RUSSELE, M.P. 1994. Forage legume roots and nodules and their role in nitrogen transfer. *Agr. J.*, 86(2):259-266.
- EHLKE, N., VELLEKSON, D.J., LYMAN, B.E. 1996. Selection for biological nitrogen fixation and nitrogen utilization in birdsfoot trefoil. *Crop Sci.*, 36(1):104-109.
- FREDERICK, L.R. 1978. Effectiveness of rhizobia-legume associations. In: ANDREW, C.S., KAMPRATH, E.J. (Eds.). *Mineral nutrition of legumes in tropical and subtropical soils*. Melbourne: CSIRO. p.265-276.
- GIBSON, A.H. 1980. Methods for legumes in glasshouses and controlled environment cabinets. In: BERGENSEN, F.L. (Ed.). *Methods for evaluating biological nitrogen fixation*. Canberra: CSIRO/John Wiley. p.139-184.
- KOLLING, J., SCHOLLES, D., SELBACH, P.A. 1983. Seleção de estirpes de *Rhizobium* para trevo subterrâneo, alfafa e cornichão. *Agr. Sulriogr.*, 19(2):103-111.
- KOLLING, J., SCHOLLES, D. 1980. Peletização e inoculação convencional de alfafa em diferentes níveis de calcário. *Agr. Sulriogr.*, 16(2):313-321.
- KOLLING, J., SCHOLLES, D., SELBACH, P.A. 1983. Seleção de estirpes de *Rhizobium* para trevo subterrâneo, alfafa e cornichão. *Agr. Sulriogr.*, 19(2):103-111.
- KORNELIUS, E., FREIRE, J.R.J., BARRETO, I.L. 1972. Influência do calcário na eficiência e sobrevivência de estirpes de *Rhizobium trifolii* em trevo subterrâneo (*Trifolium subterraneum* L. cv. Mount Barker). *Agr. Sulriogr.*, 8(1):95-105.
- KORNELIUS, E., SAIBRO, J.C. 1973. Influência do calcário e de estirpes de *Rhizobium trifolii* na produção de matéria seca e de sementes de trevo subterrâneo (*Trifolium subterraneum* L. cv. Mount Barker). *Agr. Sulriogr.*, 9(1):57-70.
- McKEE, G.W. 1962. Some effects of daylength on seedling growth and nodulation in birdsfoot trefoil. *Crop Sci.*, 2(4):315-317.
- MENGEL, K., KIRKBY, E.A. 1987. *Principles of plant nutrition*. Bern: Ed. International Potash Institute. 687p.
- MIOTTO, S.T.S., LEITÃO FILHO, H.F. 1993. *Leguminosae-Faboideae - Gênero Adesmia* DC. *Bol. Inst. Bioc.*, 53:1-157.
- MIRANDA, C.H.B. 1995. Eficiência em fixação de nitrogênio de estirpes de *Bradyrhizobium* sp. em *Centrosema acutifolium*. *R. Bras. Zootec.*, 24(2):185-191.
- NORRIS, D.O., DATE, R.A. 1976. Legume bacteriology. In: SHAW, N.H., BRYAN, W.W. (Eds.) *Tropical pasture research - principles and methods*. Brisbane: CAB. p.134-173.
- SCHEFFER-BASSO, S.M., CARNEIRO, C.M., VOSS, M. Radical nodulation and biological nitrogen fixation in *Adesmia araujoi* Burk. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM - SUSTAINABLE AGRICULTURE FOR THE TROPICS: THE ROLE OF BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION, 1995, Angra dos Reis. *Proceedings...* Rio de Janeiro: CNPAB/UFRRJ/BAS, 1995. p.178-179.
- TEDESCO, J.M., GIANELLO, C., BISSANI, C.A. et al. 1995. *Análise de solo, plantas e outros materiais*. Porto Alegre: UFRGS. 174p.
- VANCE, C.P., JOHNSON, L.E.B., STADE, S. et al. 1982. Birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) root nodules: morphogenesis and the effect of forage harvest on structure and function. *Can. J. Bot.*, 60(5):505-516.
- VINCENT, J.M. 1970. *A manual for the practical study of root-nodule bacteria*. Oxford: Blackwell. 164p.

Recebido em: 03/03/00

Aceito em: 25/01/01