

POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE NITROGÊNIO NA FORMA  
IÔNICA E MOLECULAR, DE CULTIVARES DE  
FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris*, L.)

CLOVIS LEMOS VEIGA

Engenheiro-Agrônomo

Orientador: Dra. Alaidés Puppim Ruschel

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura  
"Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo,  
para obtenção do título de Doutor em Solos e  
Nutrição de Plantas.

P I R A C I C A B A  
Estado de São Paulo - Brasil  
Setembro, 1980

À memória de meu pai e irmão

À minha dedicada esposa Iria  
e às minhas filhas Ana Aurora ,  
Vera Denise, Rita de Cássia, Mar  
cia Regina e Angela Patrícia, sem  
a compreensão das quais seria im  
possível a realização deste tra-  
balho.

D E D I C O

## A G R A D E C I M E N T O S

- Ao Magnífico Reitor e Egrégio Conselho Universitário, da Universidade Federal de Santa Maria, pela concessão da licença que possibilitou a realização deste Curso;
- À PICD / CAPES, representados pela pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da UFSM pela concessão de bolsa de estudos oferecida durante o período do Curso e redação da Tese;
- Ao CENA (Centro de Energia Nuclear na Agricultura), pelo suporte financeiro e franquia de suas instalações, com os quais foi possível a excecussão deste trabalho;
- À Dr.<sup>a</sup> Alaides Puppim Ruschel , pela acolhida, amizade e inestimável orientação;
- À Dr.<sup>a</sup> Siu Mui Tsai Saito, pelas sugestões valiosas e pela amizade dedicada ao autor;
- Ao Dr. Ismar Leal Barreto, do Departamento de Zootecnia da UFSM , pelo incentivo e amizade sem os quais seria impossível a realização deste Curso;
- Ao Departamento de Técnica Experimental Vegetal da UFSM na pessoa de seu Chefe Prof. Ailo Valmir Saccol e especialmente ao Professor Valduíno Estefanel, pelo apoio na realização das análises estatísticas;

Aos Funcionários da Secção de Microbiologia do Solo, pelo auxílio e amizade durante as análises de laboratório, imprescindíveis para a realização do trabalho;

A todas as pessoas que, de uma forma ou de outra, auxiliaram na realização do presente trabalho.

## Í N D I C E

	Pág.
1 - RESUMO .....	1
2 - INTRODUÇÃO .....	4
3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	7
3.1 - Metabolismo do Nitrogênio .....	7
3.2 - Fixação Simbiótica de Nitrogênio .....	9
3.3 - Efeito do Nitrogênio Mineral .....	15
3.4 - Efeito de Cultivar .....	18
4 - MATERIAL E MÉTODOS .....	21
4.1 - Seleção de Cultivares .....	21
4.1.1 - Solução nutritiva .....	22
4.1.2 - Tratamentos .....	23
4.1.3 - Delineamento experimental .....	24
4.1.4 - Preparo do inoculante .....	24
4.1.5 - Instalação do experimento .....	24
4.1.6 - Amostragens e análises realizadas ...	26
4.1.6.1 - Determinação da atividade da <u>ni</u> trogenase .....	27
4.1.6.2 - Determinação da atividade da <u>re</u> dutase de nitrato ... ..	27
4.1.6.3 - Determinação do nitrogênio .....	28

	Pág.
4.2 - Efeito de Fontes de Nitrogênio .....	28
4.2.1 - Tratamentos .....	28
4.2.2 - Determinações .....	30
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	31
5.1 - Primeiro Experimento .....	31
5.2 - Segundo Experimento .....	44
5.3 - Terceiro Experimento .....	56
5.4 - Comentários Gerais sobre os Experimentos 1, 2 e 3 .....	69
5.5 - Efeito de Fontes de Nitrogênio .....	72
6 - CONCLUSÕES .....	94
7 - SUMMARY .....	96
8 - LITERATURA CITADA .....	99
9 - APÊNDICE .....	111

## LISTA DE TABELAS

	Pág.
TABELA 1 - Composição química da solução estoque e a concentração usada na solução original, em ml por litro .....	23
TABELA 2 - Formulação química da solução nutritiva básica sobre a qual foram usados os tratamentos de fontes de nitrogênio .....	29
TABELA 3 - Valores de peso de matéria seca (g/pl) de doze cultivares de feijoeiro submetidas a duas concentrações de nitrogênio, completa (42 ppm) e inoculada (4,2 ppm) e colhidas aos 10, 20 e 30 dias após o transplante. Médias de três repetições .....	36
TABELA 4 - Valores de nitrogênio total em mg/pl de doze cultivares de feijoeiro submetidas a duas concentrações de nitrogênio, completa (42 ppm de N) e inoculada (4,2 ppm de N), colhidas aos 10, 20 e 30 dias após o transplante. Médias de três repetições ...	37
TABELA 5 - Valores da atividade da redutase de nitrato ( $\mu\text{g}$ de $\text{NO}_2/\text{pl}/\text{h}$ ) de doze cultivares de feijoeiro submetidas a duas concentrações de nitrogênio, completa (42 ppm de N) e inoculada (4,2 ppm de N) e colhidas aos 10 e 20 dias após o transplante. Médias de três repetições .....	38
TABELA 6 - Valores de matéria seca (g/pl), nitrogênio total (mg/pl) de doze cultivares de feijoeiro, submetidas a duas concentrações de nitrogênio (42 ppm e 4,2 ppm) colhidas na última época (30 dias após o transplante). Médias de três repetições .....	39

TABELA 7 -	Valores de peso de nódulos (mg/pl) de doze cultivares de feijoeiro colhidas aos 10, 20 e 30 dias após o transplante. Médias de três repetições .....	42
TABELA 8 -	Valores da atividade da nitrogenase ( $\mu$ moles/pl/h) de doze cultivares de feijoeiro colhidas aos 10 e 20 dias após o transplante. Médias de três repetições .....	43
TABELA 9 -	Peso de matéria seca de doze cultivares de feijoeiro em solução nutritiva com 42 ppm de N e 4,2 ppm de N em diferentes épocas de amostragem .....	48
TABELA 10 -	Valores de nitrogênio total em mg por planta de doze cultivares de feijoeiro submetidas a duas concentrações de nitrogênio (42 e 4,2 ppm) em diferentes épocas de amostragem. Médias de três repetições .....	49
TABELA 11 -	Valores da atividade da redutase de nitrato ( $\mu$ moles/planta) de doze cultivares de feijoeiro, submetidas a dois níveis de nitrogênio e em duas épocas de amostragem. (Média de três repetições) .....	50
TABELA 12 -	Valores de peso de matéria seca (g), nitrogênio total (mg), atividade da redutase de nitrato ( $\mu$ moles de $\text{NO}_2$ /pl/h), de doze cultivares de feijoeiro submetidas a duas concentrações de nitrogênio (42 e 4,2 ppm) e colhidos aos 40 dias após a germinação (30 dias após o transplante). Médias de três repetições .....	51
TABELA 13 -	Peso de nódulos (mg/planta) de doze cultivares de feijoeiro, em três épocas de amostragem, cultivadas em solução nutritiva .....	54



TABELA 14 -	Valores da atividade da nitrogenase de doze cultivares de feijoeiro em moles de $C_2H_4$ em três épocas de amostragem. Média de três repetições .....	55.
TABELA 15 -	Peso da matéria seca da parte aérea (g/pl) de 16 cultivares de feijoeiro, submetidas a duas soluções nutritivas e colhidas em três épocas. Médias de três repetições .....	60
TABELA 16 -	Valores de nitrogênio total (mg/pl) de 16 cultivares de feijoeiro submetidas a duas soluções nutritivas e colhidas em três épocas. Médias de três repetições ..	61
TABELA 17 -	Atividade da redutase de nitrato ( $\mu$ moles/pl) de 16 cultivares de feijoeiro submetidas a duas soluções nutritivas, completa (42 ppm de N) e inoculada (4,2 ppm de N), colhidas em três épocas. Médias de três repetições .....	62
TABELA 18 -	Valores de peso de matéria seca da parte aérea, nitrogênio total e atividade da redutase de nitrato de 16 cultivares de feijoeiro submetidas a duas diferentes concentrações de nitrogênio, 42 e 4,2 ppm e colhidas com 40 dias após a germinação (30 dias após o transplante) ..	63
TABELA 19 -	Peso de nódulos de 16 cultivares de feijoeiro, em mg por planta amostrado em três épocas de amostragem. Média de três repetições .....	66
TABELA 20 -	Valores da atividade da nitrogenase ( $\mu$ moles/pl/h) de 16 cultivares de feijoeiro cultivadas em solução nutritiva e colhidas aos 10, 20 e 30 dias após o transplante. Médias de três repetições ..	68

TABELA 21 -	Valores do peso de matéria seca (g/pl) de duas cultivares de feijoeiro inoculadas e sem inoculação, colhidas em duas épocas de amostragem submetidas a seis fontes de nitrogênio. (Média de quatro repetições) .....	79
TABELA 22 -	Valores de nitrogênio total (mg/pl) de duas cultivares de feijoeiro inoculadas e sem inoculação, colhidas em duas épocas de amostragem, submetidas a seis fontes de nitrogênio. Média de quatro repetições .....	81
TABELA 23 -	Valores de peso de matéria seca na última época de amostragem nos tratamentos, completo (N) e inoculado (I) e relação I/N de duas cultivares de feijoeiro, submetidas a seis fontes de nitrogênio. Média de quatro repetições .....	89
TABELA 24 -	Valores de peso de raiz em gramas de duas cultivares de feijoeiro cultivadas em duas concentrações de nitrogênio 42 ppm (sem inoculação) e 4,2 ppm (inoculada), submetidas a seis fontes de nitrogênio e colhidas em duas épocas (20 e 40 dias) após o transplante. Médias de quatro repetições .....	90
TABELA 25 -	Valores de atividade da redutase de nitrato ( $\mu$ moles de $\text{NO}_2$ /pl/h) de duas cultivares de feijoeiro inoculadas e sem inoculação, colhidas em duas épocas de amostragem, submetidas a seis fontes de nitrogênio. Médias de três repetições ...	91
TABELA 26 -	Peso de nódulos em mg por planta de duas cultivares de feijoeiro submetidas a seis fontes de nitrogênio e amostradas e três épocas. Média de quatro repetições .....	92

TABELA 27 - Valores da atividade da nitrogenase ( $\mu\text{moles de } \text{C}_2\text{H}_4/\text{ph/h}$ ) de duas cultivares de feijoeiro, em solução nutritiva submetidas a seis fontes de nitrogênio e colhidas em duas épocas de amostragem 20 e 40 dias após o transplante. Médias de quatro repetições .....	93
--	----

## LISTA DE FIGURAS

Pág.

FIGURA 1 -	Peso de matéria seca de doze cultivares de feijoeiro submetidas a duas soluções, completa (42 ppm de N) e inoculada (4,2 ppm de N) colhidas na última época de amostragem (40 dias de idade) - 1º Experimento .....	40
FIGURA 2 -	Nitrogênio total (g) de doze cultivares de feijoeiro submetidas a duas soluções, completa (42 ppm de N) e inoculada (4,2 ppm de N) colhidas na última época de amostragem (40 dias de idade). 1º Experimento .....	41
FIGURA 3 -	Peso de matéria seca da parte aérea de doze cultivares de feijoeiro submetidas a duas soluções, completa (42 ppm de N) e inoculada (4,2 ppm de N) colhidas na última época de amostragem (40 dias de idade). 2º Experimento .....	52
FIGURA 4 -	Nitrogênio total de doze cultivares de feijoeiro submetidos a duas soluções, completa (42 ppm de N) e inoculada (4,2 ppm de N) colhidas na última época (40 dias de idade). 2º Experimento .....	53
FIGURA 5 -	Peso de matéria seca de 16 cultivares de feijoeiro cultivado em duas soluções nutritivas, 42 ppm de nitrogênio (completa) e 4,2 ppm de nitrogênio (inoculada) colhidas na última época de amostragem (40 dias de idade). 3º Experimento .....	64
FIGURA 6 -	Nitrogênio total de 16 cultivares de feijoeiro, submetidas a duas soluções, completa (42 ppm de N) e inoculada (4,2 ppm de N), colhidas na última época (40 dias de idade). 3º Experimento .....	65

FIGURA 7 - Regressão do nitrogênio total sobre o peso de nódulos de 16 cultivares de feijoeiro cultivadas em solução nutritiva .....	67
FIGURA 8 - Comparação entre duas variedades de feijoeiro, no peso de matéria seca, com inoculação, usando-se seis fontes de nitrogênio .....	80
FIGURA 9 - Comparação entre duas variedades de feijoeiro, no teor de nitrogênio total da parte aérea, usando-se seis fontes de nitrogênio .....	82
FIGURA 10 - Aumento de N total de duas cultivares de feijoeiro submetidas a solução nutritiva contendo nitrogênio na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , em solução completa e com 10% de N (inoculada) .....	83
FIGURA 11 - Aumento de N total de duas cultivares de feijoeiro submetidas a solução nutritiva contendo nitrogênio na forma de $\text{KNO}_3$ , em solução completa e com 10% de N (inoculada) .....	84
FIGURA 12 - Aumento de N total de duas cultivares de feijoeiro dos 20 e 40 dias após o transplante submetidas a dois tratamentos com e sem inoculação, com nitrogênio na forma de $\text{NH}_4\text{NO}_3$ .....	85
FIGURA 13 - Aumento de N total de duas cultivares de feijoeiro dos 20 e 40 dias após o transplante submetidas a dois tratamentos, completo e inoculado, usando-se N na forma de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ .....	86

- FIGURA 14 - Aumento de N total de duas cultivares de feijoeiro dos 20 aos 40 dias após o transplante submetidas a dois tratamentos, completo e inoculado, com nitrogênio na forma  $\text{NH}_4 + \text{NO}_3$  1:1 ..... 87
- FIGURA 15 - Aumento do N total de duas cultivares de feijoeiro dos 20 aos 40 dias após o transplante, em solução completa e inoculada, com nitrogênio na forma  $\text{NH}_4 + \text{NO}_3$  1:3 .... 88

## 1 - RESUMO

Com o objetivo de avaliar a capacidade de utilização do nitrogênio, tanto mineral como fixado simbioticamente, e o efeito de fontes de nitrogênio sobre a absorção iônica e molecular do nitrogênio em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), realizaram-se experimentos em casa de vegetação e câmara de crescimento, utilizando-se solução nutritiva de Hoagland modificada, diluída a 1/5. Os experimentos foram conduzidos nas dependências do CENA (Centro de Energia Nuclear na Agricultura) em Piracicaba, Estado de São Paulo.

Usou-se 38 cultivares de feijoeiro, as quais foram: Carioca, Rosinha, Bico de ouro, Rico 23, Goiano precoce, Rio Tibagi, Roxinho precoce, Cuva 168 N, 129, Tayhū, Porillo 70, Porillo sintético, Aroana, Moruna, Carioca precoce, 51051, N 159, Carioca, México 309, Negro 325, Ica pijao, Composto chimaltengo, Composto negro chimaltengo,

Charque 2 , Magdalena 9 , Preto 143 , Chumbinho , Vagem roxa de cacho , Sacavem , Paulista branco , Fosco vermelho , Iguaçu , Trujillo 3 , 26003 , Mexico 262 , Brasil 343 , Paranazinho e Venezuela 350 . A cultivar Venezuela 350 foi usada como teste nos três experimentos realizados. Foram dois os níveis de nitrogênio utilizados em todos os experimentos: 42 ppm (sem inoculação) e 10% do nitrogênio do primeiro (com plantas inoculadas).

O trabalho constou de duas partes. Na primeira, procurou-se selecionar cultivares de maior potencial de absorção de nitrogênio na forma iônica ( $\text{NO}_3^-$ ) e na forma molecular ( $\text{N}_2$ ). Duas cultivares selecionadas na primeira etapa foram usadas com o objetivo de testar a influência de fontes de nitrogênio, tanto para a absorção iônica, como para o nitrogênio advindo, da fixação simbiótica. As fontes estudadas foram: sulfato de amônio, nitrato de potássio, nitrato de amônio, uréia e duas misturas de nitrato de sódio com sulfato de amônio, nas proporções de 1:1 e 1:3 , tomando-se como base a mesma solução da etapa anterior.

As plantas foram colhidas 10 , 20 e 30 dias após o transplante, na etapa de seleção varietal e aos 20 e 40 dias, no estudo de fontes. Foram avaliados os seguintes parâmetros: peso de matéria seca da parte aérea , nitrogênio total , atividade da redutase de nitrato , peso de nódulos e atividade da nitrogenase.



As plantas desenvolveram-se melhor na solução completa (42 ppm de N) do que com inoculação ; as melhores cultivares, tanto para a absorção iônica como para a fixação simbiótica de nitrogênio foram: Rosinha , Bico de ouro , Carioca e Brasil 343 e, para a fixação simbiótica: Tayhū , Venezuela 350 , Aroana , Moruna , Porriilo sintético , Charque 2 , Paulista branco e México 262 ; as plantas se desenvolveram melhor quando o nitrogênio foi oferecido na forma de nitrato de amônio e uréia. O sulfato de amônio, quando em dose elevada (42 ppm) prejudicou o desenvolvimento das plantas. O peso de nódulos, aumentou nas plantas inoculadas desenvolvidas em solução com  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  e  $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$  (1:1). A uréia determinou menor nodulação (peso) do que as demais fontes, e maior atividade da nitrogenase ; houve efeito de variedade na absorção de íons nitrogenados provenientes das diferentes fontes usadas.

## 2 - INTRODUÇÃO

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das leguminosas mais utilizadas na alimentação básica do povo da América Latina, o que justifica a grande área de expansão de seu cultivo (VILANOVA e LARIOS, 1972 ; MALAVOLTA *et alii*, 1974). Segundo a FAO (1977), na América do Sul 3.334.000 hectares são plantados com feijão, correspondente a 15,5% da área mundial desta planta. O Brasil é o país de maior área de cultivo e maior produtor, contribuindo com 15,2% da produção mundial e com 57,6% da produção da América do Sul.

A produção brasileira de feijão, em 1977, foi de 2.290.000 toneladas, sendo os Estados do Paraná, Minas Gerais, São Paulo e Santa Catarina, em ordem decrescente, os maiores produtores, com 1.200.000 toneladas, equivalente a 52% da produção nacional (ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL, 1978). No entanto, a produtividade do feijoeiro nos estados de maior pro-

dução varia muito. Difícil se torna precisar as causas dessas diferenças, mas admite-se que devem ser muitas. Segundo GALLO e MIYASAKA (1961), a principal delas é o baixo teor de nitrogênio dos solos, visto que este elemento é absorvido em maior quantidade do que o potássio, cálcio, magnésio, enxofre e fósforo que o seguem, em ordem decrescente. Uma cultura de feijoeiro correspondente a uma colheita de 500 kg/ha de grãos é capaz de retirar 201 kg/ha de nitrogênio (HAAG e MALAVOLTA, 1967), devido, de um lado à extração, e de outro, à prática de remoção dos restos culturais sem que haja um retorno ao solo dos mesmos (MALAVOLTA *et alii*, 1974).

O ar atmosférico possui um teor de nitrogênio de aproximadamente 78%, porém este nitrogênio, estando sob a forma molecular, impossibilita sua utilização direta pelas plantas.

Algumas bactérias simbiotes, especialmente do gênero *Rhizobium*, são capazes de aproveitar o nitrogênio molecular e cedê-lo às plantas. A utilização dessas bactérias, como intermediárias no aproveitamento do nitrogênio do ar, tem sido feita, já de longa data, em culturas de leguminosas tanto na produção de alimentação para o homem como para os animais (DART, 1974). A simbiose *Rhizobium* - feijoeiro tinha sido pouco estudada, até que RAGGIO *et alii* (1959) observaram incorporação de  $^{15}\text{N}_2$  em nódulos, sendo demonstrado o sistema fi

xador nesta planta. DOBEREINER e RUSCHEL (1961) demonstraram que a associação *Rhizobium* - feijoeiro podia fornecer, economicamente, com N do solo e fertilizante, nitrogênio para a subsistência dessa planta, em nossas condições. Desde então, muitos trabalhos tem sido feitos em entidades estatais e particulares, com diversos objetivos: verificar o efeito de macro e micronutrientes sobre a produtividade ; efeito da toxicidade de alumínio e manganês ; influência de doses de nutrientes na nodulação e fixação de nitrogênio ; seleção de estirpes ; estudos de fatores ecológicos, físicos e químicos.

Tendo em vista a sinergia determinando o aumento de nitrogênio na planta, com a utilização do nitrogênio do fertilizante e da inoculação, é evidente a necessidade de estudos do efeito de fontes de nitrogênio sobre a nodulação e fixação de nitrogênio atmosférico, nesta planta.

Com base nestas considerações, no presente trabalho os seguintes objetivos são os procurados:

- Verificar a influência de cultivares na nodulação e fixação de nitrogênio;
- Avaliar a capacidade de utilização do nitrogênio fixado e N - mineral das cultivares;
- Verificar o efeito de fontes de nitrogênio na fixação biológica e na absorção das mesmas;
- Conhecer através desta metodologia o potencial de utilização de nitrogênio da cultivar, em relação à inoculação e adubação nitrogenada.

### 3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 - METABOLISMO DO NITROGÊNIO

O nitrogênio é absorvido da solução nutritiva, que pode ser a solução do solo, provavelmente pelo fluxo de massa (MALAVOLTA, 1979), podendo ser sob a forma nítrica ( $\text{NO}_3^-$ ) ou amoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ), porém, a maioria das plantas preferem a nítrica à amoniacal (BEEVERS, 1976 ; CROCOMO, 1979).

A planta, após a absorção, não incorpora às proteínas o nitrogênio na forma nítrica; este deverá ser reduzido à forma amoniacal através de uma série de reações enzimáticas, que pode ter lugar nas raízes ou nas folhas. Em feijoeiro, GUTIERREZ e CROCOMO (1978) observaram que essa transformação têm lugar principalmente nas folhas. Esta redução é catali-

zada por duas enzimas, a redutase de nitrato que reduz o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) em nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) e a redutase de nitrito que reduz o  $\text{NO}_2^-$  em  $\text{NH}_4^+$ . A redutase de nitrato para agir necessita de NADH como doador de elétrons. Segundo CROCOMO (1979), a redução de nitrato em extratos brutos de plantas é estimulada por FAD e FMN, doadores de elétrons.

Alta temperatura (30 a 40°C) pode também prejudicar sua ação, diminuindo a produção de nitrito. Posteriormente catalizado pela redutase de nitrito, dá-se a redução do  $\text{NO}_2^-$  em  $\text{NH}_4^+$ , em função de condições aeróbicas na planta. Nenhum outro intermediário foi detectado nesta reação. Durante a fosforilação não cíclica, a ferredoxina é reduzida, funcionando como doador de elétrons para o processo.

O nitrogênio absorvido e reduzido está em condições de ser incorporado às proteínas na planta. Este processo pode ser realizado por duas vias metabólicas: pela enzima GDH (deshidrogenase glutâmica), a qual a partir do ácido cetoglutárico gera a produção de glutamato. A reação pode ser esquematizada como segue:  $\alpha\text{-cetoglutárico} + \text{NH}_4^+ + \text{NADPH} + \text{H}_2 \xrightleftharpoons{\text{GDH}} \text{Glutamato} + \text{NADP} + \text{H}_2\text{O}$ . Esta reação tem como doador de elétrons NADPH; outra enzima capaz de transferir o nitrogênio amídico da glutamina para o ácido  $\alpha\text{-cetoglutárico}$ , é a aminotransferase do cetoglutárico (GOGAT)  $\text{Glutamina} + \alpha\text{-cetoglutárico} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \xrightleftharpoons{\text{GOGAT}} 2 \text{Glutamato} + \text{NADP}$ . Os dois processos são simultâneos, entretanto, a via GOGAT é pre

ferencial em meio contendo excesso de  $\text{NO}_3^-$  e a via GDH em excesso de nitrogênio amoniacal.

### 3.2 - FIXAÇÃO SIMBIÓTICA DE NITROGÊNIO

A primeira notícia de que as plantas podem fixar nitrogênio foi dada por Boussingault, em 1838. Aproximadamente 50 anos mais tarde, em 1866, Hellriegel e Wilfarth descobriram que bactérias encontradas em nódulos de leguminosas são as responsáveis por este processo. Estes pesquisadores provaram, cultivando plantas em meio estéril, que estas eram incapazes de nodular e, conseqüentemente, de fixar nitrogênio e, além disso, em solos deficientes de nitrogênio não podiam se desenvolver adequadamente (BIDWELL, 1974 ; DART, 1974).

O *Rhizobium* penetra na raiz da planta por meio dos pelos radiculares, em células do córtex. A parede celular invagina-se formando, deste modo, o cordão de infecção. Eventualmente a extremidade do cordão de infecção rompe-se liberando as bactérias para dentro da zona cortical da raiz que se hipertrofia formando o nódulo (BRILL, 1977).

O reconhecimento da planta pela bactéria e vice-versa é feito através de uma proteína chamada lectina, a qual faz a ponte entre a planta e a bactéria. Esta ligação é feita entre a lectina e carboidratos da parede celular da bactéria (SKINNER, 1976). Segundo DAZZO (1978), trata-se de uma proteína hemoaglutinadora ou glicoproteína da semente da planta.

Existe uma especificidade para ligações com um único carboidrato. Uma aglutinina de feijão *sõ* pode fazer ligação com *Rhizobium phaseoli*. Tratamento de cobertura de semente de trevo com esta proteína (Trifoliin para o gênero *Trifolium*), determinou maior ataque de *Rhizobium trifolii* à raiz do hospedeiro do que na testemunha (SKINNER, 1976).

A bactéria no nódulo cresce aumentando muito de volume, com diversidade de formas. Neste estágio elas são chamadas de bacteróides. Os bacteróides formados ficam envolvidos por uma membrana ou envelope, constituída de polilipossacarídeos (COSTERTON *et alii*, 1974). Esta membrana não é muito rígida e osmoticamente instável, absorvendo compostos carbonados postos a disposição pelas células da planta. A presença ou ausência de permeases controla o transporte destes compostos carbonados para dentro do citoplasma dos bacteróides. Uma vez dentro dos bacteróides, os compostos carbonados são metabolizados via ciclo TCA, acoplado à cadeia respiratória, produtora de energia, capaz de funcionar sob tensões de oxigênio baixas (SHANMUGAN *et alii*, 1978).

A princípio, pensava-se que o sítio das reações primárias da fixação do nitrogênio localizava-se nas membranas dos envelopes dos bacteróides (BERGERSEN, 1960). Mais tarde, Kennedy, trabalhando com nódulos de serradela (*Ornithopus sativus*), usando  $^{15}\text{N}_2$ , determinou que o sítio das reações primárias residia nos próprios bacteróides. Sugeriu-se, então, que a causa da falha nos experimentos iniciais foi devida ao



uso de um tampão inadequado (BERGERSEN, 1971).

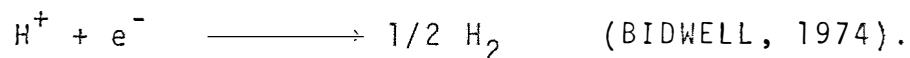
Um fato de grande importância na redução do nitrogênio é a energia necessária para quebrar a ligação tripla da molécula de nitrogênio. Esta energia é obtida através da decomposição de carboidratos, como a glicose que é fornecida na forma de ATP. Segundo BRILL (1977), são necessárias de 12 a 24 moléculas de ATP para reduzir uma molécula de  $N_2$  em duas moléculas de  $NH_3$ . No entanto, estes valores variam de microrganismo para microrganismo. Foram calculadas as relações ATP /  $NH_3$  para diversos microrganismos: *Clostridium pasteurianum* - 15, *Azotobacter chroococum* - 5, *Klebsiella pneumoniae* - 29 (YATES, 1977).

O ponto chave na fixação de nitrogênio é a enzima nitrogenase, sem a qual não se poderia completar este processo. Consiste esta enzima de duas sub-unidades: o componente I contém 24 átomos de ferro e dois de molibdênio, possuindo um peso molecular de 220.000; o componente II possui quatro átomos de ferro e peso molecular de 55.000. Segundo ORME-JOHNSON (1977), o primeiro acontecimento que leva à fixação do nitrogênio é a redução do componente II (ferro-proteína) por uma proteína (ferredoxina ou flavodoxina) transportadora de elétrons, de origem externa à nitrogenase. O componente II reduzido reage com ATP e reduz o componente I (Fe-Mo proteína). Finalmente, o componente I reduz os átomos de  $N_2$  formando  $NH_3$ .

Altas concentrações de oxigênio inibe o funcionamento de nitrogenase (BRILL, 1974; EVANS, 1975; SHANMUGAN *et*

alii, 1976 ; YATES, 1977). A leghemoglobina, sintetizada pela concorrência das células do hospedeiro, bem como de bacteróides (BERGERSEN, 1960), está localizada entre as membranas do envelope dos bacteróides (BERGERSEN, 1970), cuja função parece ser a regulação da pressão do  $O_2$  no nódulo. Dilworth (citado por BERGERSEN, 1970), concluiu que a hemoglobina do *Rhizobium lupini*, em plantas de tremoço e serradela, são proteínas diferentes. Isto mostra a importância do hospedeiro na síntese da hemoglobina. Existe, entretanto, um mecanismo de controle da síntese da nitrogenase. A amônia é o principal fator inibidor. Segundo EVANS (1975), este fator parece estar ligado à síntese da sintetase de glutamina; essa enzima pode ligar-se a uma região do DNA, responsável pela síntese da nitrogenase. Esta reduz o  $N_2$  que é incorporado aos aminoácidos. Havendo excesso do produto da reação de redução do  $N_2$ , isto é, amônio, este reduz a capacidade da glutamina sintetase ligar-se ao DNA, cessando a formação da nitrogenase (SKINNER, 1976). Quando a célula necessita de nitrogênio a sintetase da glutamina volta a sua forma anterior e a nitrogenase é produzida novamente.

Durante o processo de fixação de nitrogênio há evolução de hidrogênio, reação esta também catalizada pela nitrogenase, isto é, ATP dependente, resumida em:



Nesta reação há uma perda de 40 a 60% de energia (SCHUBERT e EVANS, 1975) ou de 25% (Schrauser, 1977), sendo esta necessária para a fixação do nitrogênio, reduzindo, portanto, a eficiência da fixação. Esta eficiência pode ser melhorada pela seleção de simbiontes que utilizam convenientemente a energia fornecida pela fotossíntese e que deixem evoluir menor quantidade de  $H_2$ , ou, então, que reciclem convenientemente o  $H_2$  evoluído. A incorporação da amônia se dá, como anteriormente foi descrito, pelas vias GDH e GOGAT.

Como vimos acima, toda a energia necessária, tanto para a fixação como para a assimilação do nitrogênio, é obtida através da fotossíntese. Portanto, os fatores que influem na fotossíntese também podem afetar, direta ou indiretamente a fixação do nitrogênio (FRED e WILSON, 1934 ; SMALL e LEONARD, 1969 ; SRIVASTAVA *et alii*, 1975a , 1975b).

O decréscimo na atividade da nitrogenase em soja, devido ao sombreamento e ao desfolhamento, foi comprovado por LAWN e BRUN (1974). Segundo MINCHIN e PATE (1973), de todo o carbono obtido pela fotossíntese, 26% é incorporado da matéria orgânica, 32% translocado para o nódulo e 42% para as raízes. Da parte correspondente aos nódulos, 5% é usado para o seu crescimento, 12% na respiração e 15% volta às folhas, via xilema, como compostos aminados gerados na fixação do nitrogênio. O crescimento da raiz utiliza 7% e a respiração 35%. O número de horas - luz / dia e a intensidade da luz são fatores importantes na atividade dos nódulos. Os nódulos, no período

que vai do florescimento à emissão das vagens, diminuem em muito sua atividade em razão da competição na utilização dos produtos da fotossíntese com as vagens. Do mesmo modo, condições adversas de luminosidade, condicionado por pequeno espaçamento e sombreamento ocasionado pelo crescimento da própria planta, diminuem a atividade dos nódulos (LAWN e BRUN, 1974a). As sementes não utilizam os fotossintatos da vagem, este suprimento vem de fora, provavelmente das folhas. O aparelho fotossintetizador das vagens pode ter a função de refixar o  $CO_2$  liberado pela respiração (ÓLIKER *et alii*, 1978).

Períodos alternados de 12 horas de luz e 12 horas de escuridão são quase tão inibitórios como a exposição contínua de luz (GROBBELAAR *et alii*, 1971). O feijoeiro, quando cultivado em fotoperíodos maiores que 14 horas - luz / dia, tende a perder as vagens. Este fenômeno é causado pela formação de substâncias inibitórias à formação das vagens nos fotoperíodos muito grandes, identificado por BENTLEY *et alii* (1975) como sendo ácido abscísico (ABA).

Por outro lado, o comprimento de onda de luz também é importante. Segundo LIE (1971), o infravermelho inibe a nodulação, quando no fim do fotoperíodo. A luz vermelha é benéfica à nodulação, produzindo abundante número de nódulos e a luz azul um pouco menos. Encontra-se na bibliografia algumas controvérsias. Admite-se que seja devido a espécies vegetais diferentes, pois, enquanto a ervilha, estudada por Lie, funcio-

na com um sistema foto-reativo de baixa energia, o feijão possui um sistema foto-reativo de alta energia (GROBBELAAR *et alii*, 1971).

### 3.3 - EFEITO DO NITROGÊNIO MINERAL

Muitos autores têm comentado o efeito inibitório do nitrogênio mineral na nodulação e na fixação simbiótica do nitrogênio (DART, 1974 ; MUNS, 1977 ; RIGAUD, 1976 ; GIBSON e PAGAN, 1977). Segundo MALAVOLTA (1976), a fixação do nitrogênio é inibida pela presença de amoníaco ou de produtos que são facilmente convertidos em amoníaco, como nitrato, nitrato, uréia e aminoácidos.

O  $\text{NH}_4^+$  inibe a síntese da nitrogenase e sua atividade (FRANCO, 1976). FONTES (1972), usando adubação com 40 kg/ha de sulfato de amônio em solo Podzólico Vermelho Amarelo de Viçosa, observou diminuição do número de nódulos em feijoeiro. Entretanto, pequenas quantidades de nitrogênio são necessárias para aumentar a nodulação e a produtividade do feijoeiro (GUSS e DOBEREINER, 1972). MUNNS (1968) observou que em teores maiores do que 0,02 mM já houve inibição da nodulação, mas da PAZ (1978) encontrou que, até doses de 1,2 mM determinaram um aumento na nodulação e na atividade da nitrogenase. ROTHAMSTED REPORT (1976) relata que um experimento em vasos contendo solo Kettering franco misturado com areia a 4% , onde foi adi -

cionadas doses crescentes de nitrogênio nítrico (0 , 30 e 60 kg/ha) e cultivado com duas cultivares de feijoeiro, observou-se nodulação, sendo o N fixado inversamente proporcional às doses de nitrogênio empregadas.

Parece que o efeito nocivo do nitrato na nodulação e na fixação do nitrogênio é devido ao desvio de produtos da fotossíntese para a assimilação do  $\text{NO}_3^-$ , privando o nódulo dos carboidratos necessários para o seu desenvolvimento (RAGGIO *et alii*, 1965 ; SMALL e LEONARD, 1969 ; GIBSON e PAGAN, 1977). Segundo o último autor citado, ensaios realizados com nódulos de siratro (*Macroptilium atropurpureum*) e de trevo subterrâneo (*Trifolium subterraneum*), demonstraram que estirpes de *Rhizobium* mutantes deficientes em redutase de nitrato, apresentaram atividade da nitrogenase diminuída, quando avaliadas 24 e 48 horas após a administração de  $\text{NO}_3^-$  na solução. Isto indica que outros fatores, além da deficiência de produtos da fotossíntese, podem influenciar na capacidade de fixação do nitrogênio.

Inúmeros pesquisadores são unânimes em afirmar que o nitrogênio na forma de nitrato inibe a nodulação, com maior ou menor intensidade, dependendo do hospedeiro, estirpe utilizada e época de aplicação (EZEDINMA, 1964 , VINCENT, 1965 ; CARTRIGHT, 1967 ; HATFIELD *et alii*, 1974 ; DEAN e CLARK, 1977; BETHLENFALVAY e PHILLIPS, 1977). Doses altas de nitrogênio na forma amoniacal também afetam a nodulação afetando a senescência do tecido nodular (GIBSON, 1974).

O *Rhizobium* tem a capacidade de transformar o nitrato em nitrito e converter triptofano e AIA (ácido indol-acético). Sabe-se que o nitrato destrói o AIA, cataliticamente. Como o AIA é necessário para a infecção, há indicações que o nitrato reduz a infecção. É um efeito externo (destruição do AIA), que age num efeito interno (desenvolvimento do nódulo) (TANNER e ANDERSON, 1963 ; DART, 1974).

NETTLES (1954), trabalhando com fontes de nitrogênio, com feijoeiro, em solo franco-arenoso, encontrou que o amônio, como única fonte de nitrogênio, condicionou maior produtividade do que as outras fontes ( $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$  1:1 e  $1/2 \text{NO}_3^-$ ) e ambas as fontes que continham nitrogênio na forma amoniacal superaram a de  $\text{NO}_3^-$ . Julgou que este fato foi devido à maior lixiviação do nitrato, pelas águas da chuva. Por outro lado WALLACE e ASHCROFT (1956) encontraram resultados contraditórios trabalhando com areia em casa de vegetação, isto é, o tratamento com  $\text{NH}_4^+$  determinou a queda prematura das folhas e baixa produção de matéria seca. Este efeito também foi verificado por Mc ELHANNON e MILLS (1978). A fonte amoniacal provoca um efeito detrimental sobre a nodulação, quando em doses elevadas, substituindo a fixação simbiótica (RICHARDSON *et alii*, 1957 ; ALLOS e BARTHOLOMEW, 1959 ; BEARD e HOOVER, 1971 ; RUSCHEL *et alii*, 1974).

Quando se usa a mistura de  $\text{NO}_3^-$  com  $\text{NH}_4^+$ , como fonte de nitrogênio, parece haver uma preferência do feijoeiro pela relação  $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$  3:1 (Mc ELHANNON e MILLS, 1977). Quando

o teor na solução é médio (50 a 100 ppm), a absorção de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  se dá nas primeiras semanas, mas quando esta concentração é mais elevada (150 ppm), a absorção diminui nas últimas semanas (frutificação) (MC ELHANNON e MILLS, 1978).

A uréia pode ser absorvida como uma molécula indestrutível pelo feijoeiro, o que foi verificado por HENTSCHEL (1976) usando inibidores da atividade metabólica. CARTRIGHT e SNOW (1962) verificaram que a uréia diminui a nodulação. A absorção iônica é aumentada pelos níveis crescentes do solo, entretanto, isto não é acompanhado pelo aumento da produtividade (NEPTUNE e MURAOKA, 1978).

Embora se saiba que todas as fontes de nitrogênio, tanto mineral como orgânica, prejudicam a nodulação, a uréia é a que causa menores prejuízos (RUSCHEL *et alii*, 1974; Von BULOW, 1977).

### 3.4 - EFEITO DE CULTIVAR

Tanto espécies diferentes de leguminosas como variedades e cultivares influem na eficiência da simbiose *Rhizobium* - hospedeiro. Segundo BRILL (1977), a maneira mais simples de aumentar a eficiência da simbiose é selecionar espécies de plantas e bactérias, a fim de determinar as combinações mais adequadas.



Sabe-se que um dos fatores mais importantes na atividade da nitrogenase e, conseqüentemente, na fixação do nitrogênio é o fornecimento de energia na forma de produtos sintetizados pela planta. O cruzamento de plantas de alta eficiência fotossintética, talvez fosse uma das maneiras de aumentar a eficiência da fixação de nitrogênio. Já foi relatado acima que a nitrogenase utiliza grande parte da energia na evolução do hidrogênio. A seleção de sistemas (planta-bactéria) dirigida para as características de maior economia na utilização da energia para a evolução do  $H_2$ , também poderia efetivar uma maior eficiência na simbiose (BRILL, 1977).

RIVERO *et alii* (1976), com um trabalho de pesquisa comparando a eficiência da fixação de nitrogênio entre feijão e soja, verificaram que o período de máxima fixação para o feijoeiro era de 48 dias e da soja 38 dias, mas enquanto a soja reduziu 18 micromoles de  $C_2H_2$  por planta / hora, no seu período de máxima atividade, o feijão variedade Porrillo reduziu apenas 8,5 micromoles.

Mesmo entre cultivares da mesma espécie há diferenças bastante grandes, às vezes, o que é devido a diferenças fisiológicas relacionadas com o metabolismo, determinadas por fatores genéticos (EVANS, 1975 ; DOBEREINER e ARRUDA, 1967).

RUSCHELL *et alii* (1976), estudando o efeito da inoculação e do nitrogênio em diversas cultivares de feijoeiro em solo, verificaram que a cultivar Carioca aos 35 dias de idade apresentou maior peso de nódulos do que as demais no tratamen

to onde levou N . Entretanto, a atividade da nitrogenase foi maior em Bico de ouro e Venezuela 350.

FREIRE (1977), em uma revisão sobre o assunto, chegou à conclusão que os genótipos de soja, com respeito à afinidade com a bactéria, variam muito. A época do ciclo e a localidade também podem influir, estando esta última em função da taxa de luminosidade (RUSCHEL e REUZER, 1973 ; MONTOS e MAGALHÃES, 1971). O genótipo para maior atividade dos nódulos está ligado à capacidade de fixação do  $CO_2$ , aumentando assim a área foliar e a fotossíntese (LAWN e BRUN, 1974a). Trabalhos tem sido relatados para frizar a influência da variedade na capacidade de absorção ou fixação de nitrogênio. Os parâmetros usados para definir estas influências têm sido: nitrogênio total, peso de nódulos e atividade da nitrogenase. Inúmeros pesquisadores têm encontrado correlação entre estes parâmetros: em soja LAWN e BRUN (1974a) ; em alfafa, RICHARDSON *et alii* (1957) ; em trevos, NUTMAN *et alii* (1971) ; feijoeiro, DOBEREINER *et alii* (1966) ; FRANCO e DOBEREINER (1967, 1968) ; RUSCHEL *et alii* (1974) ; RUSCHEL e RUSCHEL (1975) ; ROTHAMSTED REPORT (1976) e PAZ (1978).

#### 4 - MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado com solução nutritiva , em câmara de crescimento e casa de vegetação, nas dependências do CENA (Centro de Energia Nuclear na Agricultura), em Piracicaba, Estado de São Paulo, nos anos de 1978 e 1979.

O trabalho foi feito em duas etapas: na primeira , seletiva, onde foram selecionadas cultivares de maior potencial de utilização e de fixação simbiótica de nitrogênio ; na segunda foi estudado o efeito de fontes de nitrogênio na absorção deste elemento e na simbiose *Rhizobium* - feijoeiro.

##### 4.1 - SELEÇÃO DE CULTIVARES

Foram usadas cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*, L.) procedentes da EMBRAPA e do IAC , sendo as seguintes as cultivares usadas em cada um dos experimentos realizados:

## 1º Experimento:

Carioca , Rosinha , Bico de ouro , Rico - 23 , Goiano precoce , Rio Tibagi , Roxinho precoce , Cuva - 168 N , Tayhū , L - 29 , Porrillo - 70 e Venezuela 350.

## 2º Experimento:

Porrillo sintético , Aroana , Moruna , Carioca precoce , 51051 , N - 159 , Carioca , México 309 , Negro - 325 , Ica pijao , Composto chimaltengo e Venezuela 350.

## 3º Experimento:

Composto negro chimaltengo , Charque 2 , Magdalena 9 , Preto - 143 , Chumbinho , Vagem roxa de cacho , Sacavem , Paulista branco , Fosco vermelho , Iguaçū , Trujillo - 3 , México 262 , 26003 , Brasil - 343 , Paranazinho e Venezuela 350.

Em todos os experimentos, foi usada a cultivar Venezuela 350 , como termo de comparação entre experimentos.

#### 4.1.1 - SOLUÇÃO NUTRITIVA

Foi usada a solução nutritiva de HOAGLAND e ARNON (1950) modificada, diluída a 1/5 , completa, com 42 ppm de nitrogênio e com 10% da concentração do nitrogênio da primeira, ou seja, 4,2 ppm de N. A composição química da solução original está na Tabela 1.

TABELA 1 - Composição química da solução estoque e a concentração usada na solução original, em ml por litro

Substância química (p.a.)	Molaridade	ml da solução estoque por litro de solução
$MgSO_4 \cdot 7 H_2O$	1 M (246 g/l)	0,4
$KH_2PO_4$	1 M (136 g/l)	0,2
$Ca(NO_3)_2 \cdot 4 H_2O$	1 M (236 g/l)	1,0
$KNO_3$	1 M (101 g/l)	1,0
Solução de micronutrientes (*)		0,2
Solução Fe - EDTA (**)		0,2

(\*)  $MnCl_2$  - 1,81 g ;  $H_3BO_3$  - 2,86 g ;  $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$  - 0,22 g ;  $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$  - 0,08 g ;  $H_2MoO_4$  - 0,09 g ;  $CaCl_2$  - 0,002 g ;  $H_2O$  - q.s.p. 1.000 ml.

(\*\*) 33,2 g de NaEDTA em 89,2 ml de NaOH 1N. Adicionar a seguir 24,9 g de  $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$  dissolvido em água. A-rejar durante doze horas no escuro. Completar um li-tro com água.

#### 4.1.2 - TRATAMENTOS

Foram usados dois tratamentos: plantas não inocula-das colocadas na solução completa e plantas inoculadas na so-lução com 10% de nitrogênio da solução completa, correspon-den-tes a 42 ppm e 4,2 ppm de nitrogênio, respectivamente.

### 4.1.3 - DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O desenho experimental foi inteiramente casualizado e o esquema foi em parcelas sub-divididas, com três repetições. Foi feita a análise da variância, sendo utilizado o teste de Tukey a 5% de significância.

### 4.1.4 - PREPARO DO INOCULANTE

Foram usadas três estirpes de *Rhizobium phaseoli*: 127 - k 17, originária da Cia Nitragin (EUA), C - 05 e C - 19, provenientes da Seção de Microbiologia do Solo do CENA, Piracicaba. As bactérias foram desenvolvidas em meio de cultura líquido com extrato de levedura e postas em agitador rotatório por três dias, à temperatura de 37°C, cada estirpe separadamente. No momento da inoculação, partes iguais do inoculo foram adicionadas às sementes (2 ml / 30 sementes).

### 4.1.5 - INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO

Foram usadas, aproximadamente, 25 sementes de cada cultivar, esterilizadas superficialmente com álcool absoluto por três minutos, afim de solubilizar os lipídios e após, colocadas em uma solução de hipoclorito de sódio comercial a 10% em água durante dez minutos e a seguir lavadas com água esterilizada (cinco vezes) até que desaparecesse o cheiro caracte

rístico do hipoclorito.

A metade das sementes assim tratadas foram inoculadas e semeadas em bandejas de plástico (previamente desinfetadas pelo mesmo processo) contendo vermiculita lavada com água corrente por 24 horas e esterilizada por duas horas em autoclave.

A outra metade (sem inoculação) foi semeada em outra bandeja nas mesmas condições da anterior. Ambas receberam regas com uma solução isenta de nitrogênio, quando necessário.

Após dez dias da germinação, quando foi observado que as plantas inoculadas já apresentavam nódulos, foi realizado o transplante para as bandejas contendo solução nutritiva. As bandejas foram previamente pintadas externamente com tinta betuminosa preta e desinfetadas internamente com solução de hipoclorito, usando o mesmo procedimento de desinfecção utilizado nas bandejas de germinação. As plântulas foram extraídas, cuidadosamente, das bandejas onde germinaram e fixadas nos furos da chapa superior das bandejas, por meio de esponjas plásticas, usando-se um espaçamento de 15 cm. As plantas inoculadas foram transplantadas para solução nutritiva com 10% de nitrogênio da completa (4,2 ppm) e as não inoculadas para bandejas com solução original completa (42 ppm N).

Os dois primeiros experimentos foram conduzidos em câmara de crescimento, com controle de temperatura para que não fossem ultrapassados os limites compreendidos entre 20 e 32°C (diurnos) e temperatura ambiente no período noturno.

Usou-se um conjunto de lâmpadas fluorescentes de gás neon, tipo luz do dia, que fornecia uma luminosidade correspondente a  $25 \text{ W/m}^2$  e era acionada por um "timer" fornecendo um fotoperíodo de 14 horas de luz e 10 de escuridão e o terceiro, em casa-de-vegetação.

As soluções nutritivas eram substituídas cada dez dias para permitir um fornecimento adequado de nutrientes durante todo o período experimental.

#### 4.1.6 - AMOSTRAGENS E ANÁLISES REALIZADAS

Foram realizadas amostragens em três épocas do ciclo vegetativo, de dez em dez dias, a partir da data do transplante, sendo determinados os seguintes parâmetros: peso de matéria seca, da parte aérea e da raiz; atividade da nitrôgenase; atividade da redutase de nitrato; peso de nódulos e nitrogênio total.

As plantas foram retiradas dos orifícios das bandejas, com cuidado afim de serem evitados danos à raiz ou à parte aérea. A planta foi cortada na altura do colo, sendo separada a raiz da parte aérea e colocadas em sacos de papel convenientemente etiquetados e secadas em estufa a  $70^{\circ}\text{C}$  até peso constante, e pesados. O peso da parte aérea (em gramas) foi denominado peso de matéria seca. O peso da raiz foi usado apenas para a determinação do peso total da planta. Os nódulos



das plantas inoculadas, após realizada a atividade da nitrogenase, foram separados e ambos, nódulos e raízes, secados separadamente e pesados.

#### 4.1.6.1 - DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA NITROGENASE

As raízes com nódulos foram enxugadas com papel absorvente e colocadas em vidros com tampa hermética e determinada a atividade da nitrogenase pelo método da redução do acetileno, descrito por HARDY *et alii* (1968). As raízes com nódulos foram incubadas em atmosfera de acetileno a 1.0% , por uma hora, retirada uma amostra de 0,5 ml da atmosfera contida no vidro, para análise de etileno, em cromatógrafo de gás, contra um padrão de 500 vpm de etileno. Os resultados foram expressos em micromoles de  $C_2H_4$  .

#### 4.1.6.2 - DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA REDUTASE DE NITRATO

A atividade da redutase do nitrato foi determinada em amostras da parte aérea, pesadas no momento da colheita, utilizando-se o método de HARPER (1972). Foram retiradas 0,2 g de rodelinhas de 0,5 cm de diâmetro de material fresco provenientes da segunda folha trifoliada. As amostras foram colocadas em tampão de fosfato, pH 7,5 e, por meio de uma bomba de vácuo, foi feita a extração da enzima (três minutos), sen-

do incubadas em banho-maria à temperatura de 35°C (vinte minutos), ao abrigo da luz. A reação de  $\text{NO}_2^-$  presente foi colorimetricamente obtida usando-se uma solução de  $\alpha$ -naftil-dicloro-etileno-diamino, sendo avaliada em comprimento de onda de 550 nanômetros contra um padrão de 1 micrograma de  $\text{NO}_2^-$ . A partir do peso de matéria verde, foi calculada a atividade por planta, sendo os resultados expressos em micromoles de  $\text{NO}_2^-$  por planta e por hora.

#### 4.1.6.3 - DETERMINAÇÃO DO NITROGÊNIO

O nitrogênio foi determinado na parte aérea, pelo método do micro-Kjeldhal e os resultados expressos em mg por planta.

### 4.2 - EFEITO DE FONTES DE NITROGÊNIO

Baseado nos resultados obtidos na etapa anterior, foram utilizadas duas cultivares, Ica pijao e Venezuela 350 para estudar o efeito de fontes nitrogenadas.

#### 4.2.1 - TRATAMENTOS

As cultivares selecionadas foram submetidas aos seguintes tratamentos (fontes de nitrogênio): sulfato de amônio -

nio , nitrato de potássio , nitrato de amônio , uréia , sulfato de amônio + nitrato de sódio, na proporção 1:1 e sulfato de amônio + nitrato de sódio, na proporção 1:3.

Foi utilizada uma solução nutritiva básica (Tabela 2), na qual foram adicionados nitrogênio, segundo os tratamentos acima referidos, usando-se as mesmas concentrações descritas para os experimentos de seleção de cultivares, isto é, completa (42 ppm de N) com plantas não inoculadas e 10% de nitrogênio da solução completa (4,2 ppm) com plantas inoculadas.

TABELA 2 - Formulação química da solução nutritiva básica sobre a qual foram usados os tratamentos de fontes de nitrogênio

Substância química (p.a.)	Molaridade	ml por litro de solução
$MgSO_4 \cdot 7 H_2O$	1,00 M	0,4
$K_2SO_4$	0,50 M	1,0
$Ca(H_2PO_4)_2 \cdot 2 H_2O$	0,05 M	2,0
$CaSO_4 \cdot 2 H_2O$	0,01 M	40,0
Solução de micronutrientes		0,2
Solução de Fe - EDTA		0,2

Obs.: - Quando a fonte de nitrogênio foi  $NO_3^-$ , o  $K_2SO_4$  foi substituído por  $KNO_3$  e o  $Ca(H_2PO_4)_2$  por  $KH_2PO_4$  para equilibrar a solução em íon  $K^+$ .

#### 4.2.2 - DETERMINAÇÕES

Foram realizadas determinações de peso de matéria seca, atividade da redutase de nitrato, atividade da nitrogenase, peso de nódulos e nitrogênio total, como na primeira etapa, descrita no item 3.1.7.

Foi calculado o percentual de matéria seca das plantas submetidas ao tratamento com inoculação (I) em relação ao peso de matéria seca obtido no tratamento sem inoculação (N), usando-se a fórmula:

$$I / N \times 100 .$$

## 5 - RESULTADOS E DISCUSSAO

Primeiramente serão discutidos os resultados obtidos nos três experimentos de seleção de cultivares e posteriormente os referentes ao experimento de influência de fontes de nitrogênio sobre o desenvolvimento das duas cultivares em estudo e o comportamento dessas cultivares no que diz respeito à nodulação e fixação de nitrogênio, em função dessas mesmas fontes.

### 5.1 - PRIMEIRO EXPERIMENTO

As cultivares que apresentaram os maiores valores de peso de matéria seca (Tabela 3) na solução com dose alta de

nitrogênio também foram para a solução onde as plantas foram inoculadas. Estes resultados sugerem que estas foram realmente as cultivares de maior potencialidade de produção em quaisquer dos meios estudados.

As cultivares Rosinha , Bico de ouro , L-29 e Venezuela 350 foram as que obtiveram maior desenvolvimento na solução mais rica em nitrogênio, na média das três épocas, sendo que Bico de ouro apresentou o maior desenvolvimento tanto numa como na outra solução, mostrando sua superioridade sobre as demais, podendo ser indicada como a melhor do grupo (peso da planta). Algumas cultivares mostraram um aumento gradativo em peso com a idade (Rosinha , Goiano precoce , Rio Tibagi , Cuva 168 N , L-29 e Porrillo 70) , outras tiveram seu maior crescimento na segunda época, decrescendo na terceira , devido, provavelmente, à perda das folhas (Bico de ouro, Roxinho precoce, Tayhū e Venezuela 350). Esta característica indica que estas cultivares são mais precoces do que as anteriormente citadas.

A diferença observada entre as duas soluções mostra que o feijoeiro aproveita melhor o nitrogênio na forma mineral do que na molecular, pela fixação.

Os dados de nitrogênio total, Tabela 4 , mostram semelhanças em relação ao crescimento da planta em função das épocas de amostragem. Isto é perfeitamente normal, já que o nitrogênio total é função do peso de matéria seca, indicando, também que não houve muita variação no teor de nitrogênio (N%).

No tratamento onde as plantas foram inoculadas não houve diferença significativa entre os tratamentos para nitrogênio total, comportando-se todas de maneira análoga.

Por motivos técnicos, não foi avaliada a atividade da redutase de nitrato na última época estudada, e por esta razão, apresentamos os dados relativos somente às duas primeiras épocas (10 e 20 dias após o transplante) - Tabela 5. Vê-se, como nos demais parâmetros já discutidos, que a solução com dose mais elevada de nitrogênio determinou, significativamente, maior atividade da redutase de nitrato do que no tratamento com inoculação. Isto já era de se esperar, pois sendo esta enzima induzível, quanto maior a quantidade de substrato ( $\text{NO}_3^-$ ) tanto maior sua síntese e atividade da enzima (BIDWEL, 1974 ; BEEVERS, 1975 ; CROCOMO, 1979 e outros). Houve, também, aumento gradativo nas duas épocas em que as plantas foram amostradas, para todas as cultivares em estudo. Verificando-se as médias das cultivares, para o parâmetro, atividade da redutase ( $\text{NO}_3^-$ ), no tratamento com 42 ppm de nitrogênio, nota-se que a cultivar Tayhū apresentou maior atividade, o que não está de acordo com os dados de peso de matéria seca e de nitrogênio total. Isto, talvez venha a indicar que a atividade da enzima em épocas determinadas não podem ser comparadas com o teor de nitrogênio, que representa um somatório dos eventos da planta com aquele nutriente. Na média geral das cultivares, Tayhū e Porrillo 70 foram aquelas mais eficientes quanto a atividade da redutase ( $\text{NO}_3^-$ ).

Comparando-se os valores de peso de matéria seca e de nitrogênio total da terceira época (Tabela 6), já discutidos anteriormente de forma global nas três épocas, nota-se que tanto na solução com dose mais elevada de nitrogênio, como na inoculada, as cultivares Rosinha, Cuva 168 N e Porrillo 70 foram as que responderam melhor, indicando sua capacidade de alta absorção do elemento nas duas situações, quando comparadas às demais. Ver Figuras 1 e 2.

Para o aproveitamento do nitrogênio da fixação simbiótica, as cultivares Rosinha, Bico de ouro e Cuva 168 N foram as melhores, mostrando a boa adaptabilidade das mesmas no aproveitamento do nitrogênio na forma molecular, nas condições do experimento analisado. Os valores de peso de nódulos (Tabela 7) mostram que houve crescimento linear com a idade, até a segunda época, pois, na terceira, devido a fatores não determinados, foi diminuído a ponto de não apresentar atividade da nitrogenase. A cultivar mais bem nodulada foi a Venezuelana 350 embora não tenha obtido o maior valor na atividade da nitrogenase, indicando que seus nódulos não estavam fixando muito. Estes resultados são corroborados pelos valores de peso de matéria seca e de nitrogênio total (Tabelas 3 e 4). As cultivares Rosinha, Bico de ouro e Tayhū, embora não tenham mostrado diferenças significativas nos valores de nitrogênio total (Tabela 4), apresentavam boa concordância no peso de nódulos e na atividade da nitrogenase, conforme pode-se ver pelas Tabelas 7 e 8.



Não houve correlação entre peso de nódulos e nitrogênio total, dentro das condições experimentais usadas, considerando-se todas as cultivares em conjunto, de acordo com o coeficiente de correlação de apenas 0,18 , não significativo, embora inúmeros pesquisadores tenham encontrado correlação positiva entre estas duas variáveis.

Cultivares	42 ppm de N			4,2 ppm de N			Média Geral
	Dias após o transplante			Dias após o transplante			
	10	20	30	10	20	30	
Carrioca	0,69 c	2,75 b	2,91 a	2,11 d	0,48 c	0,17 b	1,25 cd
Rosinha	0,94 c	3,22 b	5,97 a	3,38 a	0,50 b	0,69 a	1,97 a
Bico de ouro	1,02 c	4,80 a	4,11 b	3,31 a	0,56 b	0,89 a	1,96 a
Rico-23	0,99 b	2,86 a	2,88 a	2,24 d	0,35 c	0,50 a	1,33 d
Giuliano precoce	0,86 c	2,32 b	2,52 a	1,90 e	0,71 a	0,47 b	1,26 cd
Rio Tibagi	0,78 c	2,30 b	2,45 a	1,84 e	0,27 b	0,57 a	1,11 c
Roxinho precoce	1,03 c	2,45 a	2,13 b	1,87 c	0,36 b	0,18 c	1,10 c
Cuva 168 N	0,96 c	2,09 b	5,80 a	2,95 b	0,36 c	0,76 a	1,75 b
L-29	1,13 c	3,85 b	4,99 a	3,32 a	0,47 a	0,51 a	1,26 ab
Tayhū	0,88 c	3,76 a	2,91 b	2,52 c	0,42 b	0,69 a	1,25 c
Porfiliro-70	0,95 c	2,34 b	5,53 a	2,94 b	0,44 c	0,70 a	1,75 b
Venezuela - 350	0,84 c	5,38 a	3,64 b	3,29 a	0,31 b	0,68 a	1,91 ab
Médias Épocas	0,92 a	3,18 b	3,82 a		0,43 c	0,49 b	
Médias Soluções		2,64 a			0,50 b		

C. V. (%) = 9,95

DMs (5%): Soluções

Cultivares

Épocas

Épocas d/Soluções

Cultivares d/Soluções

(\*) Valores seguidos da mesma letra não diferem

significativamente pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 3 - Valores de peso de matéria seca (g/pl) de doze cultivares de feijoeiro submetidas a duas concentrações de nitrogênio, com plena (42 ppm) e inoculada (4,2 ppm) e colhidas aos 10, 20 e 30 dias após o transplante. Médias de três repetições.

Cultivares	42 ppm de N			4,2 ppm de N			Média Geral		
	Dias após o transplante			Dias após o transplante					
	10	20	30	10	20	30			
Carrioca	3,34 c	13,53 b	14,06 a	10,31* c	1,44 a	1,63 a	0,60 b	1,29 a	5,80 cd
Rosinha	4,39 c	15,73 b	25,41 a	15,17 a	1,32 b	1,69 b	2,88 a	1,96 a	8,57 a
Bico de ouro	5,22 c	21,04 a	19,58 b	15,28 a	1,38 b	1,29 b	3,32 a	2,00 a	8,64 a
Rico-23	4,91 c	11,97 b	13,77 a	10,22 cd	0,96 c	1,14 b	1,89 a	1,33 a	5,77 cd
Goiano Precoce	4,03 c	10,12 b	12,24 a	8,80 d	2,05 b	2,52 a	1,99 b	2,18 a	5,49 cd
Rio Tibagi	3,70 c	9,85 b	12,00 a	8,52 d	0,64 b	0,97 b	2,40 a	1,33 a	4,83 d
Roxinho Precoce	4,78 c	11,05 a	9,06 b	8,30 d	1,08 b	1,62 a	0,45 c	1,05 a	4,67 d
Cuva-168-N	4,61 c	9,19 b	30,01 a	14,60 ab	0,99 c	1,86 b	3,07 a	1,97 a	8,29 a
L-29	5,10 c	16,20 b	24,28 a	15,19 a	1,13 b	1,48 b	2,07 a	1,56 a	8,36 a
Tayhú	4,26 c	15,64	14,61 b	11,50 c	1,16 b	1,55 b	2,78 a	1,83 a	6,67 b
Porriño-70	4,47 c	10,36 b	24,95 a	13,26 b	1,03 c	1,65 b	2,35 a	1,67 a	7,47 ab
Venezuela - 350	3,80 c	24,21 c	14,90 b	14,30 ab	0,75 b	2,08 a	2,22 a	1,68 a	7,99 ab
Médias Epocas	4,38 c	14,07 b	17,90 a		1,16 b	1,64 b	2,17 a		
Médias Soluções		12,12 a				1,66 b			

C. V. (%) = 18,30

DMS (5%): Soluções 0,50

Cultivares \*

Epocas

Epocas d/Soluções 0,73

Epocas d/Cultivares 1,80

(\*) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 4 - Valores de nitrogênio total em mg/pl de doze cultivares de feijoeiro submetidas a duas concentrações de nitrogênio, com pleia (42 ppm de N) e inoculada (4,2 ppm de N), colhidas aos 10, 20 e 30 dias após o transplante. Médias de três repetições.

TABELA 5 - Valores da atividade da redutase de nitrato ( $\mu\text{g}$  de  $\text{NO}_2^- / \text{pl} / \text{h}$ ) de 12 cultivares de feijoeiro submetidas a duas concentrações de nitrogênio, completo (42 ppm de N) e inoculada (4,2 ppm de N) e colhidas aos 10 e 20 dias após o transplante. Médias de três repetições

Cultivares	42 ppm de N			4,2 ppm de N			Média Geral
	Dias após transplante		Média Cultivar	Dias após transplante		Média Cultivar	
	10	20		10	20		
Carioca	6,69 b	36,38 a	21,53 def	1,55 b	5,88 a	3,71 a	12,62 d
Rosinha	15,23 b	77,14 a	46,19 c	1,69 b	4,11 a	2,90 a	24,54 ed
Bico de ouro	19,38 b	38,85 a	29,12 d	2,86 b	5,65 a	4,25 a	16,68 d
Rico 23	14,06 b	17,53 a	15,79 f	1,98 b	7,08 a	4,53 a	10,16 d
Goiano precoce	9,62 b	107,77 a	58,70 b	5,84 a	5,85 a	5,84 a	32,27 bc
Rio Tibagi	11,11 b	22,53 a	16,82 f	1,18 b	3,26 a	2,22 a	9,52 d
Roxinho precoce	19,55 b	29,13 a	24,34 def	2,45 b	5,39 a	3,92 a	14,13 d
Cuva 168 N	11,18 b	25,99 a	18,59 f	2,14 b	5,94 a	4,04 a	11,31 d
L 29	20,77 b	18,69 a	19,73 ef	2,17 b	6,02 a	4,10 a	11,91 d
Tayhū	13,05 b	163,29 a	88,17 a	2,65 b	10,22 a	6,44 a	47,30 a
Porriño 70	12,36 b	111,96 a	62,16 b	1,24 b	4,29 a	2,76 a	32,46 b
Venezuela 350	10,10 b	43,63 a	26,86 de	0,65 b	2,51 a	1,58 a	14,22 d
Média Epocas	13,59 b	57,74 a		2,20 b	5,52 a		
Média Soluções		35,67 a			3,86 b		

C. V. (%) = 27,99

DMS 95%): Soluções 1,00 Epocas d/soluções 2,20  
 Cultivares 7,81 Epocas d/cultivares 5,38  
 Epocas 2,06

(\* ) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 6 - Valores de matéria seca (g/pl), nitrogênio total (mg/pl) de doze cultivares de feijoeiro, submetidas a duas concentrações de nitrogênio (42 ppm e 4,2 ppm) colhidas na última época (30 dias após o transplante). Médias de três repetições

Cultivares	Peso de matéria seca (g/pl)		Nitrogênio total (mg/pl)	
	42 ppm de N	4,2 ppm de N	42 ppm de N	4,2 ppm de N
Carioca	2,91 d	0,17 c	14,06 bc	0,60 bc
Rosinha	5,97 a	0,69 abc	25,41 ab	2,88 a
Bico de ouro	4,11 c	0,89 a	19,58 b	3,32 a
Rico 23	2,88 d	0,50 abc	13,77 bc	1,89 abc
Goiano precoce	2,52 d	0,47 abc	12,24 bc	1,99 abc
Rio Tibagi	2,45 d	0,57 abc	12,00 bc	2,40 abc
Roxinho precoce	2,13 d	0,18 bc	9,06 c	0,45 c
Cuva 168 N	5,80 ab	0,76 a	30,01 a	3,07 a
L-29	4,99 b	0,51 abc	24,28 ab	2,07 abc
Tayhū	2,91 d	0,69 abc	14,61 bc	2,78 ab
Porriño 70	5,53 ab	0,70 ab	24,95 ab	2,35 abc
Venezuela 350	3,64 cd	0,68 abc	14,90 bc	2,22 abc

C. V. (%) 7,54 16,73 31,93 35,28

DMS (5%) - Tukey 0,85 8,83 0,53 2,25

(\* ) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

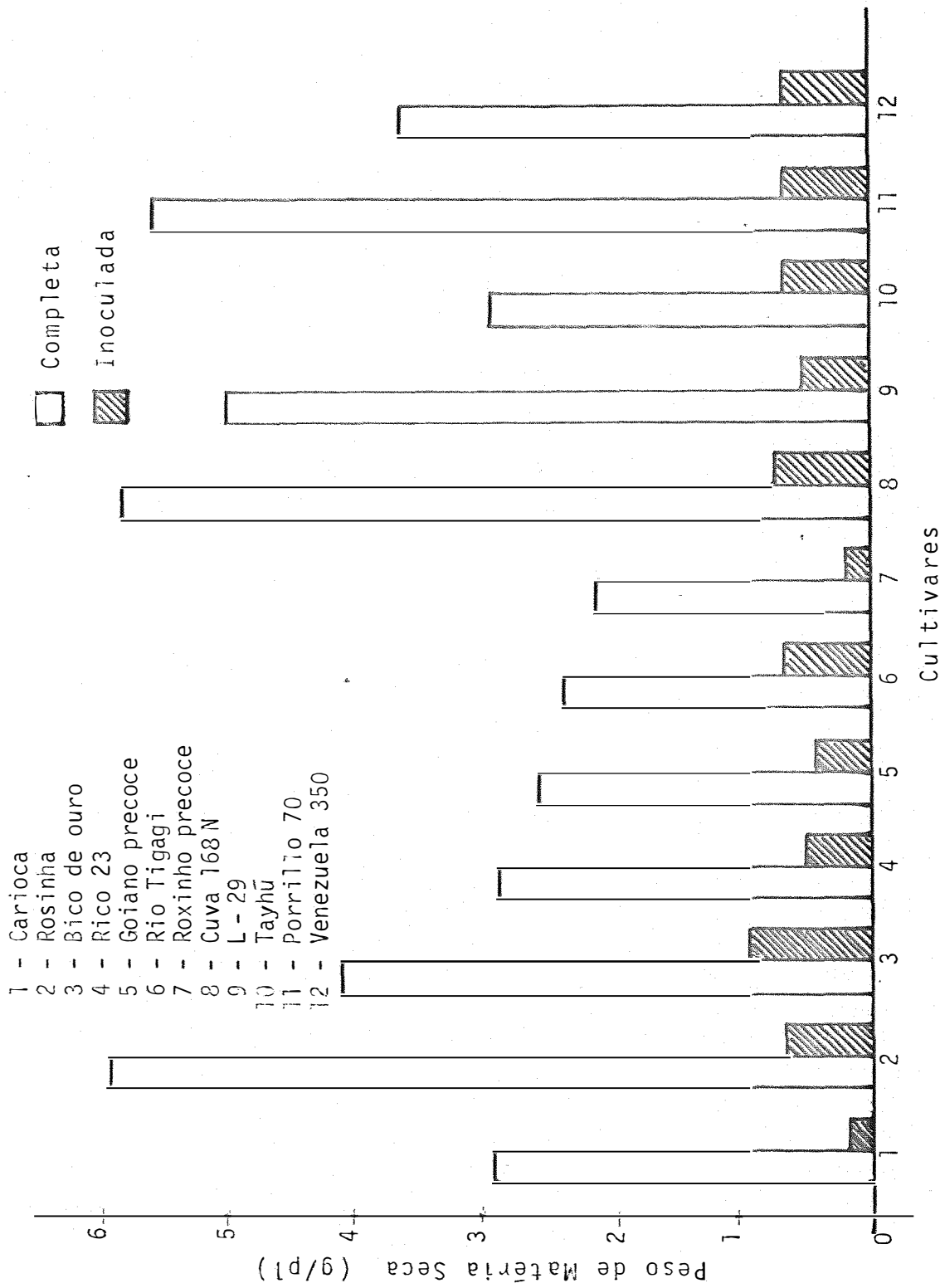


FIGURA 1 - Peso de matéria seca de doze cultivares de feijoeiro submetidas a duas soluções, completa (42 ppm de N) e inoculada (4,2 ppm de N), colhidas na última época de amostragem (40 dias de idade) - 1º Ex perimento.

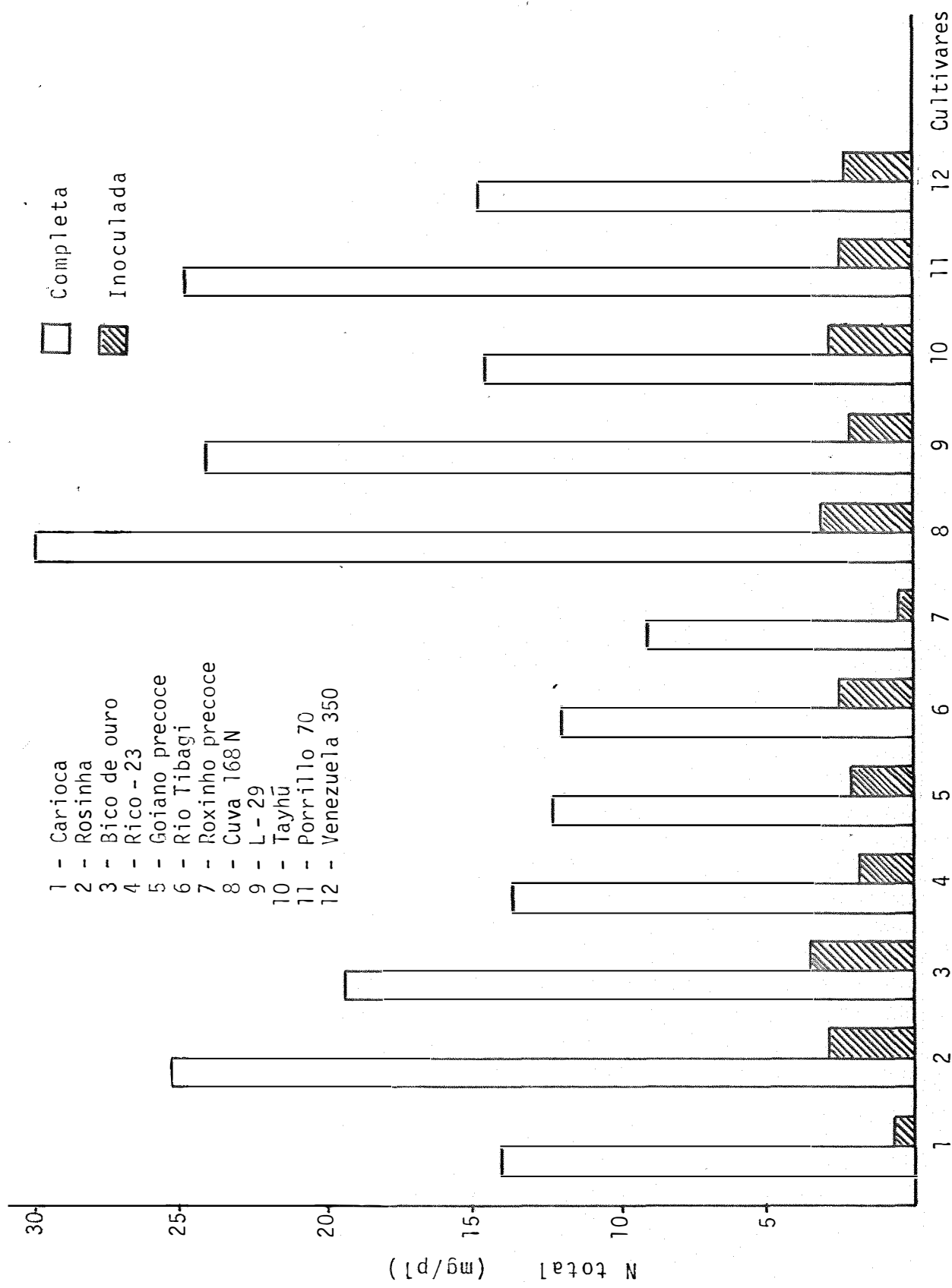


FIGURA 2 - Nitrogênio total (g) de doze cultivares de feijoeiro submetidas a duas soluções, completa (42 ppm de N) e inoculada (4,2 ppm de N) colhidas na última época de amostragem (40 dias de idade) - 1ª Experimento.

TABELA 7 - Valores de peso de nódulos (mg/pl) de 12 cultivares de feijoeiro colhidas aos 10, 20 e 30 dias após o transplante. Médias de três repetições.

Cultivares	Dias após o transplante			Média Cultivar
	10	20	30	
Carioca	7,70	22,96	2,56	11,07 ab*
Rosinha	13,43	17,06	4,80	11,76 ab
Bico de ouro	12,69	19,76	2,46	11,64 ab
Rico 23	12,26	19,33	2,36	11,32 ab
Gioano precoce	12,46	16,40	2,96	10,61 b
Rio Tibagi	4,60	17,06	4,30	8,65 b
Roxinho precoce	13,76	15,10	5,80	11,55 ab
Cuva-168 N	6,96	13,40	6,10	8,82 b
L-29	15,53	15,60	4,06	11,73 ab
Tayhū	12,33	21,13	5,96	13,14 ab
Porrillo 70	4,93	20,03	4,36	9,77 b
Venezuela 350	16,30	25,03	6,73	16,02 a
Médias Épocas	11,08 b	18,57 a	4,37 c	

C. V. (%) = 26,88

DMS (5%): Cultivares 5,18  
 Épocas 2,02  
 Épocas d/cultivares 7,00  
 Cultivares d/Épocas 9,36

(\*) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%



TABELA 8 - Valores da atividade da nitrogenase ( $\mu\text{moles} / \text{pl} / \text{h}$ ) de doze cultivares de feijoeiro colhidas aos 10 e 20 dias apōs o transplante. Mēdias de trēs repetiçōes

Cultivares	Dias apōs o transplante		Mēdias Cultivares
	10	20	
Carioca	0,52	0,216	0,134
Rosinha	0,190	1,399	0,794
Bico de Ouro	0,19	0,728	0,373
Rico 23	0,79	0,497	0,288
Goiano precoce	0,177	0,000	0,088
Rio Tibagi	0,112	0,138	0,125
Roxinho precoce	0,257	0,208	0,232
Cuva 168 N	0,086	0,341	0,213
L 29	0,118	0,247	0,182
Tayhū	0,153	0,702	0,427
Porrillo 70	0,098	0,159	0,128
Venezuela 350	0,081	0,620	0,350

## 5.2 - SEGUNDO EXPERIMENTO

A Tabela 9 apresenta os dados de peso de matéria seca. Observando-se estes dados, verifica-se que a produção de matéria seca, de um modo geral, foi maior no tratamento de maior concentração de nitrogênio, sendo estas médias significativamente diferentes pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, o que está de acordo com a bibliografia. Por estes dados, pode-se ver claramente que o feijoeiro responde mais ao nitrogênio absorvido na forma iônica do que o obtido através da fixação simbiótica. Este fato deve estar ligado à necessidade de altos níveis de energia. No processo de redução de  $N_2$ , além da fixação de nitrogênio, ainda há evolução de hidrogênio, havendo uma perda de energia, reduzindo a eficiência da fixação (SCHUBERT e EVANS, 1976 ; SCHRAUSER, 1977).

Observando-se os dados de cada cultivar dos tratamentos que receberam doses altas de N nas três épocas de amostragem, verifica-se que o aumento da matéria seca foi diretamente proporcional à idade da planta, exceto para a cultivar Carioca. No tratamento com inoculação, em geral, o mesmo não ocorreu, sendo mantida apenas pela cultivar Venezuela 350. Neste tratamento houve, em geral, um aumento até a segunda época, não havendo diferenças significativas desta com a terceira.

As médias das cultivares indicam que a cultivar Carioca precoce é tão boa para absorção iônica como para a fixa

ção do nitrogênio, enquanto que Ica pijao é melhor para a fixação simbiótica de nitrogênio do que para a absorção iônica deste elemento.

Os aumentos de peso de matéria seca da parte aérea, em algumas cultivares, parecem não corresponder ao aumento de nitrogênio total (Tabela 10), pois verifica-se que o maior peso de matéria seca foi obtido na terceira época, enquanto que o de nitrogênio total na segunda e terceira, sem haver diferença significativa entre elas. Parece ter havido uma diluição do nitrogênio da planta e uma maior fixação somente até a segunda época.

A Tabela 11 apresenta os valores de redutase de nitrato nas três épocas de amostragem e a média geral das cultivares estudadas. A média de cada época mostra que houve diferença significativa entre épocas. Entretanto, se examinarmos os dados de atividade da redutase de nitrato para cada cultivar nas três épocas, verificamos diferenças no comportamento de cada uma. Apenas na cultivar Carioca e Composta chil maltengo houve aumento gradativo nas três épocas. Nas cultivares Porrillo sintético e 51051 não houve diferença entre as épocas e nas demais houve variação, sendo que na maioria aumentou na segunda época para diminuir na terceira, sugerindo efeito de cultivar, nesta variável. Na seleção o pesquisador deve escolher uma cultivar como Ica pijao que apresentou níveis altos em todas as épocas.

Na média geral, a Carioca precoce apresentou maior atividade seguida da Ica pijao e Composto chimaltengo e, com menor atividade, Porrillo sintético e N-159, Venezuela 350 e 51051. Estes dados concordam plenamente com os da absorção do nitrogênio e desenvolvimento da planta na solução rica em nitrogênio. Pois, na verdade, quanto maior a redução de nitrato, maior a absorção de nitrogênio (BEEVERS, 1976 ; CROCOMO, 1979).

Analisando estes parâmetros já discutidos, apenas na terceira época, que representa uma integração das épocas anteriores (Tabela 12), podemos notar que nos três parâmetros houve diferenças significativas entre o tratamento com dose maior de nitrogênio e o inoculado. No primeiro, as cultivares Carioca precoce e Ica pijao apresentaram os maiores valores e Carioca e 51051, os menores. Isto indica que as primeiras são boas conversoras de nitrogênio em matéria seca. Para maior visualização, veja as Figuras 3 e 4. No tratamento com inoculação não houveram diferenças significativas, indicando que todas as cultivares se equilibraram na terceira época. Provavelmente, isto seja devido ao coeficiente de variação que foi alto neste tratamento, sugerindo que cada planta amostrada evidenciou características próprias em relação à fixação. Parece que o gasto de energia na absorção iônica é menor do que na fixação, havendo portanto, menores diferenças individuais entre cultivares no primeiro processo.

Observando-se o peso de nódulos (Tabela 13), nota-se que as médias das épocas mostram um aumento gradativo do peso de nódulos em função da idade da planta, entretanto, apenas 40% das cultivares mostraram esta mesma tendência (Porrillo sintético, Aroana, Moruna, N-159 e Negro 325) , 33% (Carioca precoce, 51051 , Composto chimaltengo e Venezuela 350) não mostraram diferenças até a segunda época, e em Ica pijao e México 309 não houve aumento de peso de nódulos a partir de primeira época.

Em média, as cultivares Moruna e Aroana tiveram o maior peso de nódulos, o que está de acordo com a atividade da nitrogenase (Tabela 14), indicando que estas cultivares tinham seus nódulos com maior atividade do que as demais. Os valores de nitrogênio total (Tabela 10) confirmam esta afirmativa.

Embora houvesse bastante variação nos valores da atividade da nitrogenase, a cultivar Moruna não sofreu muita variação, tendo este valor sido aumentado com a idade da planta.

Houve correlação muito baixa entre peso de nódulos e nitrogênio total, quando analisados todas as cultivares em conjunto, obtendo-se um coeficiente de correlação de 0,16 , significativo apenas ao nível de 8,8% .

Cultivares	42 ppm de N			42 ppm de N			Média Geral	
	Dias após o transplante			Dias após o transplante				
	10	20	30	10	20	30		
	Média Cultivar			Média Cultivar			Média Cultivar	
Porrillho sintético	0,43 c	0,73 b	1,94 a	1,03 de	0,40 b	0,63 a	0,52 ab	0,77 ef
Aroana	0,35 c	1,10 b	1,84 a	0,76 a	0,32 b	0,46 b	0,62 a	0,78 ef
Moruna	0,57 c	1,24 b	1,56 a	1,13 cd	0,44 b	0,66 a	0,56 ab	0,84 def
Carioca precoce	0,95 c	2,35 b	3,62 a	2,31 a	0,61 a	0,65 a	0,74 a	1,49 a
51051	0,37 c	0,96 b	1,18 a	0,84 e	0,23 b	0,63 a	0,37 b	0,62 g
N-159	0,58 c	1,25 b	1,86 a	1,23 c	0,41 b	0,70 a	0,68 a	0,91 cd
Carioca	0,68 c	1,76 a	1,17 b	1,21 cd	0,44 b	0,60 a	0,72 a	0,89 cd
México 309	0,61 c	1,67 b	2,06 a	1,45 b	0,39 b	0,53 ab	0,65 a	0,98 c
Negro 325	0,42 c	1,04 b	2,38 a	1,28 c	0,31 b	0,45 ab	0,55 a	0,86 cdef
Ica pijao	0,67 c	1,04 b	3,09 a	1,60 b	0,41 b	0,77 a	0,84 a	1,13 b
Comp. chimaitengo	0,46 c	0,97 b	1,74 a	1,06 d	0,27 b	0,72 a	0,61 a	0,79 def
Venezuela 350	0,43 c	1,04 b	1,44 a	0,97 de	0,25 c	0,55 b	0,77 a	0,75 fg
Médias épocas	0,54 c	1,18 b	1,99 a		0,37 b	0,61 b	0,63 a	
Médias soluções		1,27 a				0,54 b		

C. V. (\*) = 16,10

DMS (5%): Soluções 0,08  
 Cultivares 0,12  
 Épocas 0,04  
 Cultivares d/Soluções 0,17  
 Épocas d/Soluções 0,06  
 Épocas d/Cultivares 0,16

(\*) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 9 - Peso de matéria seca de doze cultivares de feijoeiro em solução nutritiva com 42 ppm de N e 4,2 ppm de N em diferentes épocas de amostragem

Cultivares	42 ppm de N			42 ppm de N			Média Geral	
	Dias após o transplante			Dias após o transplante				
	10	20	30	10	20	30		
Porrillo sintético	13,9 c	31,1 b	76,8 a	40,6 e	11,4 b	17,7 a	13,8 ab	27,24 de
Aroana	15,5 c	49,7 b	81,9 a	49,0 de	10,9 b	13,7 b	14,6 ab	31,81 cd
Moruna	26,2 c	48,6 b	74,5 a	49,7 de	14,3 a	13,4 a	14,7 ab	32,26 c
Carlota precoce	42,7 c	108,6 b	168,7 a	106,6 a	16,1 a	17,2 a	17,4 a	62,08 a
51051	12,5 c	36,4 b	44,3 a	31,0 f	7,4 b	13,4 a	11,1 b	21,12 f
N 159	23,7 c	53,1 b	83,9 a	53,5 d	11,1 b	19,7 a	15,7 ab	34,66 c
Carlota	30,2 c	79,7 a	50,3 b	53,4 d	14,1 a	15,4 a	16,1 ab	34,77 c
México 309	25,7 c	71,8 b	91,5 a	63,0 c	12,7 b	15,2 ab	15,0 ab	39,03 b
Negro 325	18,2 c	42,3 b	109,1 a	56,5 d	8,7 b	11,6 ab	11,3 b	33,99 c
Ica pijao	28,1 c	41,3 b	135,0 a	68,1 b	8,8 c	21,8 a	15,6 ab	41,87 b
Comp. chimaltengo	18,1 c	42,4 b	86,2 a	48,9 de	13,7 ac	19,4 b	16,1 ab	32,53 c
Venezuela 350	17,1 c	46,3 b	65,0 a	42,8 e	7,8 c	14,5 b	14,0 ab	28,42 de
Médias épocas	22,65 c	54,27 b	88,93 a		11,41 b	16,08 a		
Médias soluções		55,3 a				14,6 b		

C. V. (%) = 8,6%

DMS (5%):

Soluções 3,52

Cultivares 3,49

Épocas 1,29

Cultivares d/Soluções 4,93

Épocas d/Soluções 1,83

Épocas d/Cultivares 4,47

(\*) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 10 - Valores de nitrogênio total em mg por planta em doze cultivares de feijoeiro submetidas a duas concentrações de nitrogênio (42 e 4,2 ppm) em diferentes épocas de amostragem. Médias de três repetições.

Cultivares	42 ppm de N			4,2 ppm de N			Média Geral		
	Dias após o transplante			Dias após o transplante					
	10	20	30	10	20	30			
	Média Cultivar			Média Cultivar					
Porriño sintético	29,56 a	21,68 b	31,60 a	27,62 e	7,89 a	10,89 a	8,20 a	8,99 ab	18,31 d
Aroana	16,51 c	22,58 b	57,56 a	32,22 d	8,79 a	7,57 a	10,17 a	8,44 ab	20,53 cd
Moruna	23,52 a	36,54 b	33,93 b	31,33 d	6,54 a	9,23 a	7,60 a	7,79 ab	19,56 cd
Carioca precoce	36,04 b	16,01 c	167,44 a	73,16 a	9,55 ab	11,23 b	5,45 c	8,75 ab	40,95 a
51051	15,49 a	14,23 a	15,75 a	15,15 g	5,18 a	8,26 a	5,53 a	6,32 ab	10,74 f
N 159	31,97 a	14,52 c	26,70 b	24,40 ef	7,85 a	7,10 b	10,74 a	8,56 ab	16,48 de
Carioca	26,29 b	26,48 b	43,39 a	32,05 a	6,42 b	16,18 a	6,73 b	9,78 a	20,92 cd
México 309	23,18 b	44,86 a	30,14 c	32,73 d	7,26 b	17,60 a	3,75 c	9,54 a	21,13 cd
Negro 325	27,48 a	44,02 a	34,83 b	35,44 d	5,15 b	7,55 a	8,80 a	7,17 ab	21,31 c
Ica pijao	40,35 b	41,92 b	74,93 a	52,40 c	6,52 b	11,30 a	9,52 ab	9,11 ab	30,76 b
Comp. negro chimaltengo	25,66 c	37,48 b	117,96 a	60,37 b	3,50 b	7,48 a	4,76 b	5,25 b	32,81 b
Venezuela 350	25,42 b	9,95 c	33,53 a	22,97 f	6,82 a	4,91 a	6,51 a	6,08 ab	14,52 e
Médias épocas	26,79	27,52	55,65		6,79	9,94	7,32		
Médias soluções		36,65 a				8,02 b			

C. V. (%) = 11,90

DMS (5%): Soluções 0,71  
 Cultivares 2,95  
 Épocas 1,05  
 Cultivares d/Soluções 4,17  
 Época d/Soluções 1,49

(\*) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 11 - Valores da atividade da redutase de nitrato ( $\mu$  moles/planta) de doze cultivares de feijoeiro, submetidas a dois níveis de nitrogênio e em duas épocas de amostragem. (Média de três repetições).



TABELA 12 - Valores de peso de matéria seca (g), nitrogênio total (mg), atividade da redutase de nitrato ( $\mu\text{moles de NO}_2/\text{pl/h}$ ), de 12 cultivares de feijoeiro submetidas a duas concentrações de nitrogênio (42 e 4,2 ppm) e colhidos aos 40 dias após a germinação (30 dias após o transplante). Médias de três repetições

Cultivares	Peso de matéria seca (g/pl)		Nitrogênio total (mg)		Atividade da redutase ( $\mu\text{m NO}_2/\text{pl}$ )	
	42 ppm	4,2 ppm	42 ppm	4,2 ppm	42 ppm	4,2 ppm
Porrillo sintético	1,94 d	0,52 a	0,68 ef	1,24 a	31,61 c	8,20 ns
Aroana	1,84 d	0,62 a	8,19 def	1,90 a	57,56 d	11,48 ns
Moruna	1,56 f	0,56 a	7,45 fg	1,65 a	33,93 de	7,60 ns
Carioca precoce	3,62 a	0,74 a	16,87 a	1,90 a	167,45 a	10,12 ns
51051	1,18 h	0,36 a	4,43 h	1,25 a	19,06 e	5,53 ns
N-159	1,86 a	0,68 a	8,39 def	1,63 a	33,36 de	10,74 ns
Carioca	1,17 h	0,72 a	5,03 h	1,87 a	43,39 de	6,73 ns
México 309	2,06 c	0,65 a	9,15 d	1,70 a	30,06 e	3,75 ns
Negro 325	2,38 c	0,55 a	10,91 c	1,35 a	34,83 de	8,80 ns
Ica-pijao	3,09 b	0,84 a	13,50 b	1,62 a	84,93 c	9,52 ns
Composto chimaltengo	1,74 f	0,61 a	8,62 de	1,53 a	117,96 b	4,76 ns
Venezuela 350	1,44 g	0,77 a	6,50 g	1,97 a	33,53 de	8,18 ns
C. V. (%)	1,71	34,90	3,96	29,50	15,07	37,22
DMS - Tukey 5%	0,10	0,65	1,03	1,42	25,43	8,75

(\*) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

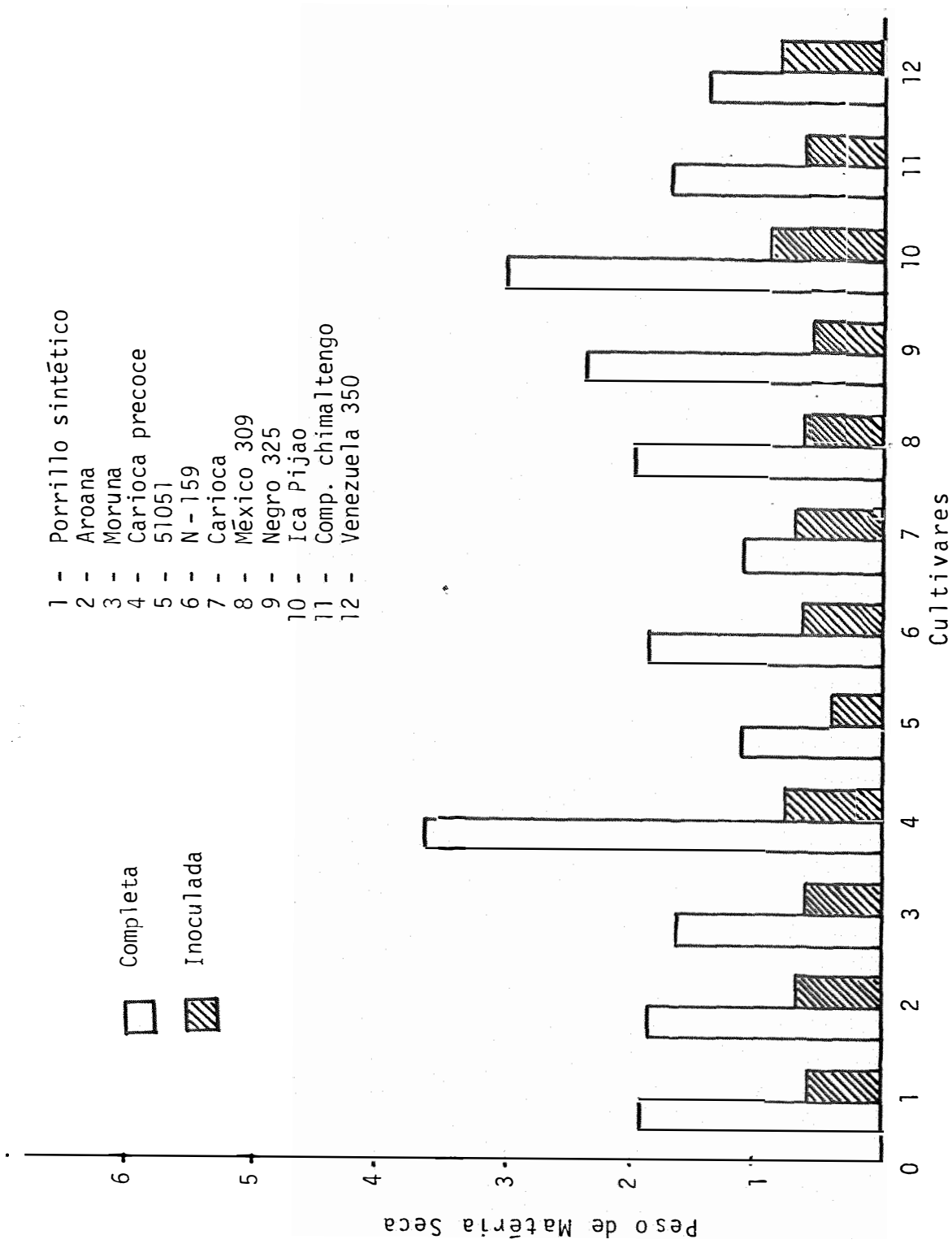


FIGURA 3 - Peso de matéria seca da parte aérea de doze cultivares de feijoeiro submetidas a duas soluções, completa (42 ppm de N) e inoculada (4,2 ppm de N) colhidas na última época de amostragem (40 dias de idade) - 2º Experimento.

- 1 - Porriño sintético
- 2 - Aroana
- 3 - Moruna
- 4 - Carioca precoce
- 5 - 51051
- 6 - N-159
- 7 - Carioca
- 8 - México 309
- 9 - Negro 325
- 10 - Ica pijao
- 11 - Comp. chimaltengo
- 12 - Venezuela 350

Completa  
 Inoculada

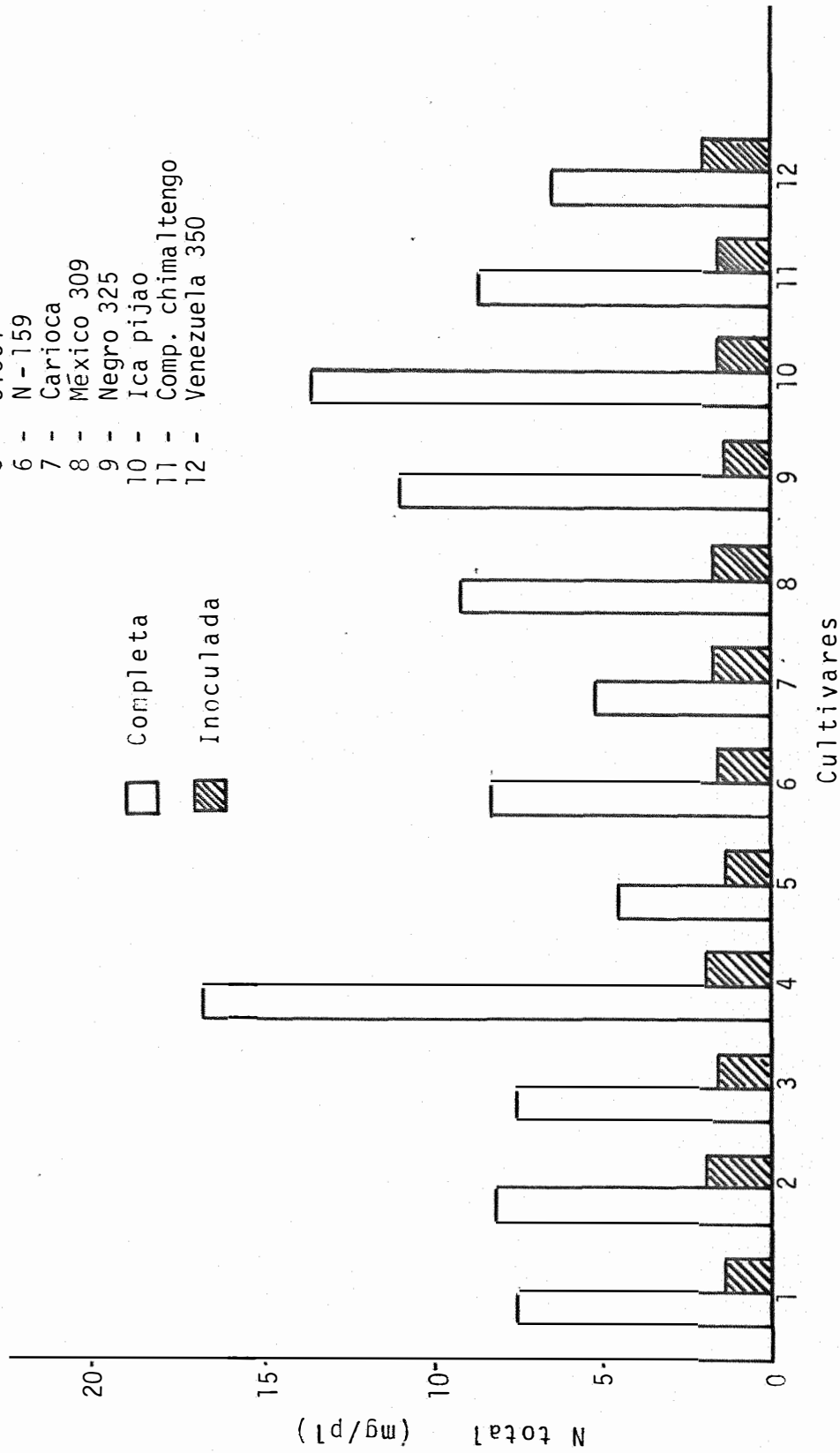


FIGURA 4 - Nitrogênio total de doze cultivares de feijoeiro submetidos a duas soluções, completa (42 ppm de N) e inoculada (4,2 ppm de N) colhidas na última época (40 dias de idade) - 2º Experimento.

TABELA 13 - Peso de nódulos (mg/planta) de 12 cultivares de feijoeiro, em três épocas de amostragem, cultivadas em solução nutritiva

Cultivares	Dias após o transplante			Média Cultivar
	10	20	30	
Porrillo sintético	- 7,06 c	13,60 b	34,80 a	18,49 bc
Aroana	17,00 c	22,86 b	40,90 a	26,92 b
Moruna	16,83 c	45,50 b	81,53 a	47,95 a
Carioca precoce	- 16,46 b	21,06 b	28,96 a	22,16 bc
51051	- 15,86 b	20,06 b	24,70 a	20,21 bc
N 159	10,20 c	18,20 b	25,66 a	18,02 bc
Carioca	* 16,56 b	39,66 a	21,33 b	25,85 b
México 309	15,73 a	16,96 a	18,40 a	17,03 cd
Negro 325	8,23 c	29,10 b	36,36 a	24,56 bc
Ica pijao	- 17,16 a	18,40 a	17,16 a	16,43 cd
Comp. chimaltengo	- 4,70 b	5,26 b	27,66 a	12,54 cd
Venezuela 350	- 15,03 b	16,36 b	23,36 a	18,25 bc
Médias épocas	13,40 c	22,25 b	31,45 a	

C. V. (%) = 20,82

DMS (5%): Cultivares 7,99  
 Épocas 1,67  
 Épocas d/Cultivares 5,80

(\*) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 14 - Valores da atividade da nitrogenase de doze cultivares de feijoeiro em  $\mu$  moles de  $C_2H_4$  em três épocas de amostragem. Média de três repetições

Cultivares	Dias após o transplante *			Média Cultivar
	10	20	30	
Porriho sintético	0,411	0,128	2,242	0,927
Aroana	1,189	0,360	1,790	1,113
Moruna	1,255	1,552	2,733	1,846
Carioca precoce	0,720	1,241	1,415	0,792
51051	0,753	1,160	1,030	0,981
N 159	0,399	0,404	0,636	0,479
Carioca	0,506	0,438	1,060	0,668
México 309	0,279	0,300	1,463	0,680
Negro 325	0,123	0,288	1,096	0,502
Ica pijao	0,713	0,000	0,930	0,268
Comp. chimaltengo	0,126	0,185	0,597	0,302
Venezuela 350	0,299	0,165	0,634	0,276
Médias Épocas	0,564	0,435	1,232	

(\*) O transplante foi efetuado com dez dias após a germinação

### 5.3 - TERCEIRO EXPERIMENTO

A Tabela 15 apresenta os valores de peso de matéria seca da parte aérea, onde se observa que todas as cultivares em estudo mostraram um aumento progressivo de peso de matéria seca em função da idade da planta, nos dois tratamentos a que foram submetidas.

Comparando-se as médias das cultivares em cada concentração de nitrogênio e as médias gerais, nota-se que a cultivar Vagem roxa de cacho, apresentou a maior média e a cultivar Fosco vermelho a menor, embora não significativa nos tratamentos inoculados. Como nos experimentos anteriormente discutidos neste trabalho, o tratamento com dose mais elevada de nitrogênio determinou maior crescimento da parte aérea. Estes mesmos comentários podem ser feitos para os valores de nitrogênio total, cujos valores encontram-se na Tabela 16, mostrando que Vagem roxa de cacho apresenta ótimas condições de desenvolvimento, tanto quanto o nitrogênio lhe é oferecido na forma iônica como na forma molecular. Estas diferenças varietais já foram comentadas por EVANS (1975); DOBEREINER *et alii* (1966); FREIRE (1977), já citados quando da discussão dos dados referentes aos Experimentos 1 e 2.

Os resultados da avaliação da atividade da redutase de nitrato, apresentados na Tabela 17, indicam que a cultivar Brasil 343, na média geral, e tanto no tratamento com dose completa de nitrogênio, quanto naquele com 10% do primeiro, mostrou maior atividade desta enzima do que as demais cultiva

res, mostrando, assim, sua grande capacidade de redução do nitrogênio. Houve também aumento gradativo com a idade de planta e a solução com teor completo de nitrogênio apresentou maior atividade do que quando o nitrogênio foi apresentado em teor mais baixo, o que já era de se esperar, uma vez que a redutase de nitrato é uma enzima induzível pelo substrato, fato comum, observado nos experimentos precedentes. A média geral indica que a cultivar Magdalena 9 tem a menor capacidade de redução de  $\text{NO}_3^-$ . Isto deve ser causado por diferenças genéticas existente entre esta cultivar e as demais em estudo.

Estudando-se os valores de peso de matéria seca, nitrogênio total e atividade da redutase de nitrato obtidos aos 30 dias após o transplante (40 dias de idade) (Tabela 18), pode-se observar que o tratamento completo (42 ppm de nitrogênio), para os dados de matéria seca e nitrogênio total, a cultivar Vagem roxa de cacho foi a que apresentou os maiores valores. Sacavem, Fosco vermelho e Iguaçu as de menor e as demais obtiveram valores intermediários (Figuras 5 e 6). A cultivar Vagem roxa de cacho foi a que melhor absorveu o nitrogênio da solução com alto teor deste elemento, o que indica que esta cultivar aproveita melhor o nitrogênio iônico do que as demais. No tratamento com inoculação (4,2 ppm de N), na produção de matéria seca, a cultivar 26003 diferiu-se das cultivares Chumbinho, Vagem roxa de cacho e Trujillo 3, indicando que 26003 aproveita melhor o nitrogênio na forma molecular para a formação de matéria seca e menor gasto de energia, com

maior aproveitamento do carbono. A cultivar Brasil 343 apresentou maior atividade de redutase de nitrato nas duas condições, nesta época, podendo ser cultivada em meio rico em nitrato, entretanto, parece não ser uma boa conversora, pois apresentou peso de matéria seca baixo.

O peso de nódulos foi maior em 60% das cultivares, na segunda época e o restante na terceira (Tabela 19). Analisando-se estatisticamente a última época, observa-se que a cultivar Preta 143 foi a que apresentou o maior peso de nódulos, sendo que as cultivares Composto chimaltengo, Vagem roxa de cacho, Paulista branco, Trujillo 3 e Paranāzinho, o menor. A análise conjunta de todas as épocas mostrou que a cultivar México 262 apresentou maior peso de nódulos e a Vagem roxa de cacho, o menor, confirmando as observações anteriores de que esta cultivar tem maior aproveitamento do nitrogênio na forma iônica. Parece que este dado para algumas cultivares, não corrobora com a correlação positiva obtida por DOBEREINER *et alii* (1966), entre peso de nódulos e nitrogênio total, embora os resultados deste experimento, tomado como um todo, sugerisse esta correlação cujo coeficiente foi de 0,47 (Figura 7).

Comparando-se os valores de peso de nódulos com a atividade da nitrogenase (Tabela 20), verifica-se que, parece não haver relação entre elas, para a maioria das cultivares. Isto pode ser devido à grande variação ocorrida entre os valores da atividade da nitrogenase e, por ser uma medida que es-



tima o potencial de atividade da enzima num determinado momento não dando uma idéia global da atividade durante todo o desenvolvimento da planta.

TABELA 15 - Peso da matéria seca da parte aérea (g/pl) de 16 cultivares de feijoeiro, submetidas a duas soluções nutritivas e colhidas em três épocas. Médias de três repetições.

Cultivares	42 ppm de N (completa)			Média	4,2 ppm de N (inoculada)			Média	Média
	Épocas de Amostragem				Épocas de Amostragem				
	Dias após o transplante			Cultivar	Dias após o transplante			Cultivar	Geral
	10	20	30		10	20	30		
Comp. negro chimaltengo	1,04 c	3,30 b	8,88 a	4,40 c	0,42 c	0,81 b	1,12 a	0,78 a	2,60 bc
Charque 2	1,85 c	3,14 b	9,05 a	4,68 bc	0,58 c	0,83 b	1,59 a	1,00 b	2,84 bc
Magdalena 9	0,96 c	2,76 b	9,00 a	4,24 c	0,32 c	0,73 b	0,89 a	0,64 a	2,44 c
Preto 143	1,32 c	3,90 b	10,29 a	5,17 b	0,38 c	0,88 b	1,31 a	0,85 a	3,01 b
Chumbinho	1,12 c	3,23 b	7,90 a	4,08 cd	0,33 c	0,51 b	0,76 a	0,53 a	2,31 cd
Vagem roxa de cacho	0,83 c	2,55 b	15,98 a	6,45 a	0,38 b	0,46 b	0,78 a	0,54 a	3,50 a
Sacavem	1,12 c	1,95 b	7,44 a	3,50 de	0,45 c	0,93 b	1,50 a	0,96 a	2,23 cd
Paulista branco	0,84 c	2,31 b	10,16 a	4,43 c	0,55 b	0,76 b	1,26 a	0,85 a	2,65 bc
Fosco vermelho	1,13 c	1,99 b	6,42 a	3,18 e	0,58 b	0,82 a	0,91 a	0,77 a	1,98 d
Iguaçu	1,34 c	1,78 b	7,55 a	3,55 de	0,36 c	0,87 b	1,45 a	0,89 a	2,23 cd
Trujillo 3	0,96 c	3,20 b	9,55 a	4,57 bc	0,54 c	0,78 b	1,65 a	0,99 a	2,61 bc
26003	0,94 c	2,35 b	10,08 a	4,45 c	0,54 b	0,74 b	1,66 a	0,98 a	2,72 bc
México 262	0,96 c	3,51 b	10,58 a	5,00 bc	0,48 c	0,79 b	1,32 a	0,86 a	2,94 b
Brasil 343	0,64 c	3,70 b	8,10 a	4,14 cd	0,46 c	0,72 b	1,62 a	0,93 a	2,59 bc
Venezuela 350	0,84 c	3,70 b	7,33 a	3,95 cd	0,46 b	0,76 b	1,45 a	0,89 a	2,42 c
Paranazinho	0,36 c	3,46 b	7,62 a	3,81 cde	0,42 c	0,90 b	1,56 a	0,96 a	2,39 cd
Médias Épocas	1,02	2,94	9,12		0,45	0,77	1,24		
Médias Soluções		4,36 a				0,82 b			

C. V. (%) = 14,44

DMS (5%): Soluções 0,03  
 Cultivares 0,44  
 Épocas 0,17  
 Cultivares d/Soluções 0,63  
 Épocas d/Soluções 0,23  
 Épocas d/Cultivares 0,67

(\*) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

Cultivares	42 ppm de N (completa)			4,2 ppm de N (Inoculada)			Média Geral	
	Épocas de Amostragem			Épocas de Amostragem				
	Dias após o transplante			Dias após o transplante				
	10	20	30	10	20	30		
Comp. Negro Chimaltengo	42,99 b	108,40 a	108,36 a	86,58 de *	17,38 c	21,87 b	41,25 a	26,83 a
Charque 2	75,62 c	105,83 b	149,49 a	110,31 c	27,12 b	29,18 a	32,83 a	29,71
Magdalena 9	40,95 c	97,37 b	138,06 a	92,12 cde	7,55 b	14,58 a	17,78 a	13,32
Preto 143	58,67 c	211,90 b	204,50 a	158,35 ab	9,87 c	18,62 b	25,16 a	17,88
Chumbinho	42,58 c	77,30 b	130,10 a	83,32 de	9,19 b	12,71 a	14,83 c	12,24
Vagem roxa de cacho	42,57 c	89,05 b	385,14 a	172,25 a	7,66 b	8,77 b	14,18 a	10,20
Savagem	52,61 c	64,83 b	174,97 a	97,47 cd	11,80 c	19,07 b	29,39 a	20,09
Paulista branco	59,17 c	67,83 b	285,08 a	136,36 b	51,07 a	21,19 c	30,80 b	25,34
Fosco vermelho	37,93 c	63,17 b	108,90 a	70,00 e	23,47 b	22,34 b	26,45 a	24,09
Iguaçu	41,19 b	41,92 b	164,30 a	82,47 de	11,03 b	20,60 a	24,83 a	18,82
Trujillo-3	34,65 c	70,70 b	237,71 a	114,35 bc	14,07 a	12,45 a	13,92 a	13,48
26003	47,15 c	97,61 b	190,97 a	111,91 c	13,20 b	17,91 a	22,12 a	17,74
México 262	39,75 c	117,35 b	224,80 a	127,30 bc	18,18 b	24,24 a	18,94 b	20,45
Brasil 343	25,80 c	139,78 b	210,50 a	125,36 bc	14,66 a	22,07 b	18,30 a	18,34
Venezuela-350	39,15 c	136,25 b	162,01 a	112,47 c	12,99 b	15,05 b	21,41 a	16,48
Paranazinho	15,98 a	134,64 b	194,56 c	115,06 bc	14,59 b	23,29 a	20,75 c	19,54
Médias Épocas	43,54 c	101,49 b	191,84 a		16,49 b	18,99 b	23,30 a	
Médias Soluções		68,28 a				62,99 b		

C. V. (%) = 15,57

DMS (5%): Soluções 3,40

Cultivares 16,38

Épocas 3,49

Cultivares d/Soluções 23,16

Épocas d/Soluções 4,94

(\*) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 16 - Valores de nitrogênio total (mg/pl) de 16 cultivares de feijão submetidas a duas soluções nutritivas e colhidas em três épocas. Médias de três repetições.

Cultivares	42 ppm de N (completa)			4,2 ppm de N (inoculada)			Média Geral		
	Média			Média					
	Epoas de Amostragem			Epoas de Amostragem					
	Dias após o transplante			Dias após o transplante					
	10	20	30	10	20	30			
Comp. Negro Chimaltengo	97,27 a	66,11 b	19,36 c	59,80 b *	3,79 c	19,82 a	11,28 b	11,43 cd	35,62 bc
Charque 2	45,93 b	98,22 a	39,06 c	57,74 b	5,79 c	22,66 b	30,00 a	19,62 c	38,68 bc
Megdalena 9	21,47 b	48,47 a	13,23 c	26,61 d	1,88 b	4,28 a	4,55 a	3,57 d	15,09 e
Preto 143	27,94 b	83,19 a	13,52 c	40,44 cd	5,17 b	9,26 a	5,63 a	6,69 d	23,56 d
Chumbinho	84,48 b	112,45 a	11,47 c	68,36 a	3,06 b	9,24 a	7,36 a	6,55 d	37,46 bc
Vagem roxa de cacho	82,23 a	87,77 a	22,62 c	61,98 b	2,12 a	3,77 a	5,58 a	3,86 d	32,90 c
Sacavem	49,41 b	90,51 a	14,90 c	50,50 bc	5,05 b	15,90 a	18,34 a	13,09 cd	31,80 cd
Paulista branco	56,20 a	58,51 a	18,67 b	43,35 c	7,08 c	11,14 b	16,68 a	11,63 d	27,49 cd
Fosco vermelho	10,48 c	109,80 a	84,69 b	58,32 b	5,28 a	4,10 a	4,01 a	4,46 d	31,39 cd
Iguaçu	76,58 b	80,63 a	13,45 c	55,78 bc	4,35 b	2,52 c	10,83 a	5,90 d	30,84 cd
Trujillo 3	6,25 c	139,49 a	24,79 b	53,51 bc	4,88 b	3,69 b	9,13 a	5,90 d	29,71 cd
26003	18,51 c	48,52 a	35,63 b	29,77 d	20,98 a	3,84 b	18,48 a	14,43 cd	22,10 d
México 262	23,27 c	82,00 a	38,75 b	45,78 c	15,43 b	10,47 c	33,35 a	19,75 c	32,77 cd
Brasil 343	4,00 c	128,65 a	104,01 b	67,78 ab	8,78 c	12,32 b	125,33 a	48,81 a	58,29 a
Venezuela 350	11,38 c	88,95 a	58,60 b	50,76 c	12,92 b	3,04 c	84,59 a	33,52 b	42,14 b
Paranazinho	9,65 b	30,95 a	33,40 a	22,44 d	20,82 b	9,07 c	24,56 a	18,15 c	20,30 d
Médias Épocas	39,06 a	84,64 b	34,13 c		7,96 a	9,03 b	25,62 c		
Médias Soluções	52,61 a				14,20 b				

C. V. (%) = 25,60

DMS (5%): Soluções 17,50

Cultivares 7,46

Épocas 2,70

Cultivares d/Soluções 10,56

Épocas d/Soluções 3,94

(\*) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 17 - Atividade da redutase de nitrato ( $\mu$  moles/pl) de 16 cultivares de feijoeiro submetidas a duas soluções nutritivas, completa (42 ppm de N) e inoculada (4,2 ppm de N), colhidas em três épocas. Médias de três repetições.

TABELA 18 - Valores de peso de matéria seca da parte aérea, nitrogênio total e atividade da redutase de nitrato de 16 cultivares de feijoeiro submetidas a duas diferentes concentrações de nitrogênio, 42 e 4,2 ppm e colhidas com 40 dias após a germinação (30 dias após transplante)

Cultivares	Peso de matéria seca (g/pl)		Nitrogênio total (mg)		Atividade da redutase ( $\mu\text{M NO}_2/\text{pl}$ )	
	42 ppm	4,2 ppm	42 ppm	4,2 ppm	42 ppm	4,2 ppm
Comp. negro chimalt.	8,88 bcd	1,12 ab	108,36 g	41,25 a	19,36 c	11,22 ef
Charque 2	9,05 bcd	1,59 abc	149,49 efg	32,83 ab	39,06 bc	30,40 cd
Magdalena 9	9,00 bcd	0,89 abcd	138,06 efg	17,78 b	13,23 c	4,55 f
Preto 143	10,29 bc	1,31 abcd	204,50 cde	25,16 ab	13,52 c	5,63 f
Chumbinho	7,90 bcd	0,76 cd	130,10 fg	14,83 b	11,47 c	7,36 g
Vagem roxa de cacho	15,98 a	0,78 bcd	385,14 a	14,18 b	22,62 c	5,58 f
Sacavem	7,44 cd	1,50 abcd	174,98 cedfg	29,39 ab	14,90 c	18,34 def
Paulista branco	10,16 bc	1,26 abcd	282,08 b	30,80 b	18,67 c	16,68 def
Fosco vermelho	6,42 d	0,91 abcd	108,90 g	26,45 ab	84,69 ab	4,01 f
Iguaçu	7,55 cd	1,45 abcd	164,30 cdefg	24,83 ab	13,45 c	10,83 ef
Trujillo 3	9,55 bc	1,65 d	237,71 bc	13,92 b	24,79 c	9,13 f
26003	10,08 bc	1,66 a	190,97 cdef	22,12 b	35,63 c	18,48 cde
México 262	10,58 b	1,32 abcd	224,80 bcd	18,94 b	38,75 c	33,35 c
Brasil 343	8,10 bcd	1,62 ab	210,50 bcde	18,30 b	104,01 a	125,33 a
Venezuela 350	7,33 cd	1,45 abcd	162,00 defg	21,41 b	58,60 b	84,59 b
Paranazinho	7,62 bcd	1,56 abc	194,56 cdef	20,75 b	33,40 c	24,56 cde
C. V. (%)	10,70	22,70	12,64	27,00	90,00	19,22
DMD - Tukey 5%	2,96	0,86	73,42	19,1	68,60	14,93

(\* ) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

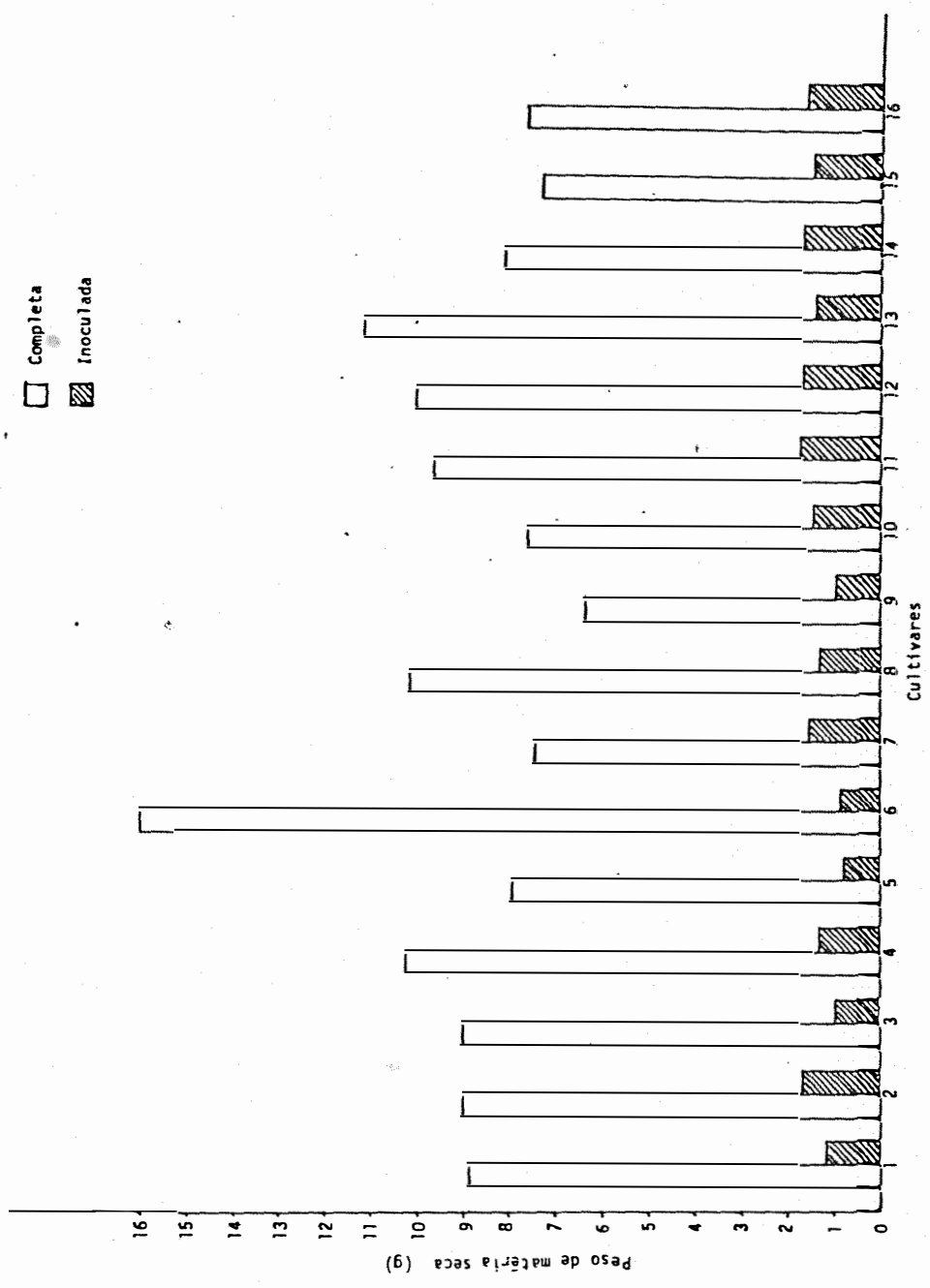


FIGURA 5 - Peso de matéria seca de 16 cultivares de feijoeiro cultivado em duas soluções nutritivas, 42 ppm de nitrogênio (completa) e 4,2 ppm de nitrogênio (inoculada), colhidas na última época de amostragem (40 dias de idade). 3º Experimento.

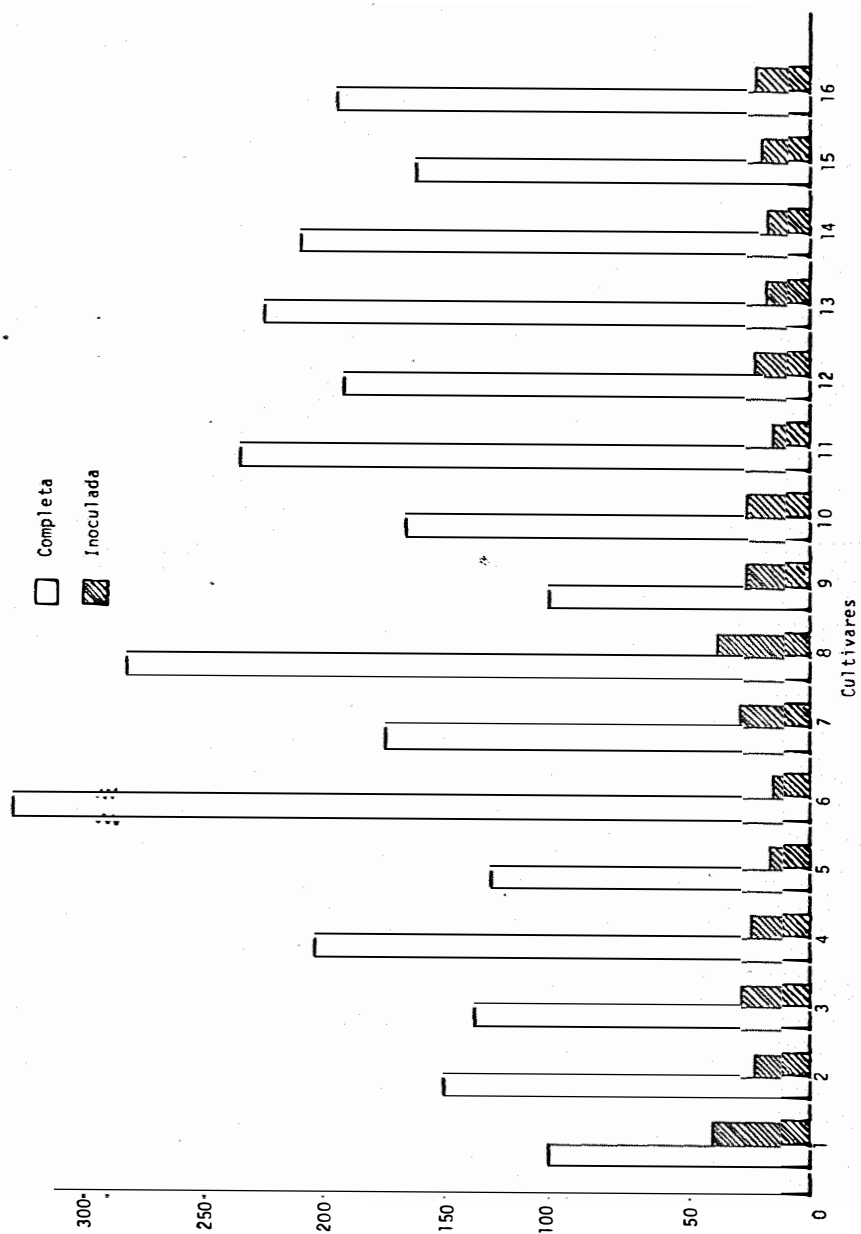


FIGURA 6 - Nitrogênio total de 16 cultivares de feijoeiro, submetidas a duas soluções, completa (42 ppm de N) e inoculada (4,2 ppm de N), colhidas na última época (40 dias de idade). 3º Experimento.

TABELA 19 - Peso de nódulos de 16 cultivares de feijoeiro, em mg por planta amostrado em três épocas de amostragem. Média de três repetições

Cultivares	Dias após o transplante			Média
	10	20	30	
Comp. negro chimaltengo	34,33	76,66	45,33 cde *	52,10 abcd
Charque II	40,33	76,66	60,00 abcde	59,00 ab
Magdalena	22,00	43,33	92,00 ab	52,44 abcd
Preto 143	19,00	51,66	93,66 a	54,77 abcd
Chumbinho	13,66	63,33	34,66 de	37,21 de
Vagem roxa de cacho	14,00	35,00	28,66 a	25,88 e
Sacavem	49,33	55,00	69,00 abcde	57,77 abc
Paulista branco	67,66	48,33	26,00 e	47,33 abcd
Fosco vermelho	48,33	50,00	56,33 cde	51,55 abcd
Iguaçu	15,33	61,66	82,66 abc	53,21 abcd
Trujillo 3	29,00	56,66	34,33 de	40,00 cde
26003	20,00	78,33	76,00 abc	58,11 ab
México 262	50,66	88,33	45,66 cde	61,55 a
Brasil 343	28,33	55,00	46,66 cde	43,33 bcde
Venezuela 310	42,33	45,00	48,33 bcde	45,22 abcd
Paranazinho	38,66	52,66	34,33 de	41,88 cde

C. V. (%) = 21,05

DMS (5%): Cultivares 18,07

Épocas 4,60

Épocas d/Cultivares 18,42

(\*) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%



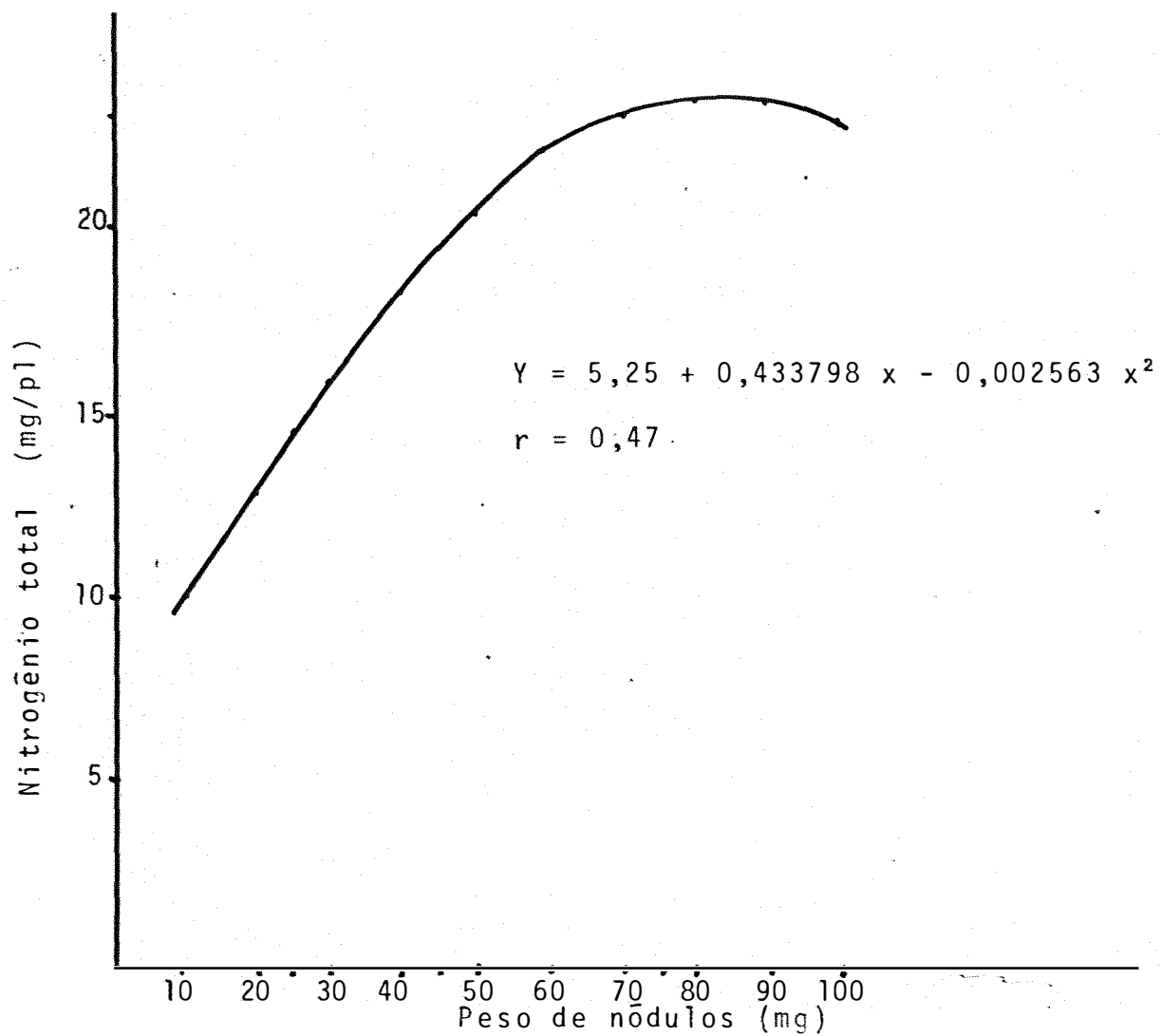


FIGURA 7 - Regressão do nitrogênio total sobre o peso de nódulos de 16 cultivares de feijoeiro cultivadas em solução nutritiva

TABELA 20 - Valores da atividade da nitrogenase ( $\mu\text{moles/pl/h}$ ) de 16 cultivares de feijoeiro cultivadas em solução nutritiva e colhidas aos 10, 20 e 30 dias após o transplante. Média de três repetições

Cultivares	Dias após o transplante			Média
	10	20	30	
Comp. negro chimaltengo	1,39	0,28	0,49	0,72
Charque II	4,75	1,52	0,69	2,32
Magdalena 9	1,97	0,62	0,20	0,93
Preto 143	1,48	1,77	4,39	2,54
Chimbinho	1,07	1,24	6,93	3,08
Vagem roxa de cacho	0,32	0,37	2,36	1,01
Saravem	5,33	0,34	0,19	1,95
Paulista branco	10,44	0,41	0,38	3,74
Fosco vermelho	4,24	0,26	2,43	2,31
Iguaçu	3,36	1,61	22,24	9,07
Trujillo 3	3,30	0,62	6,16	3,36
26003	3,40	2,41	9,15	4,98
México 262	10,40	0,77	1,22	4,13
Brasil 343	8,96	2,83	6,99	6,26
Venezuela 350	0,56	1,23	9,35	3,71
Paranazinho	5,15	4,59	13,58	7,77

#### 5.4 - COMENTÁRIOS GERAIS SOBRE OS EXPERIMENTOS 1 , 2 E 3

Enquanto que os dois experimentos iniciais foram realizados em câmara de crescimento construída para este fim, o terceiro experimento o foi em casa de vegetação.

Comparando-se os dados dos experimentos feitos na câmara com os do experimento em casa de vegetação, pode-se notar que neste os parâmetros avaliados alcançaram valores bem mais altos, tomando-se como comparação a cultivar Venezuela 350 , como teste, indicando que, possivelmente na câmara (16.000 lux) não foi alcançado o valor ideal de luz para a fotossíntese.

Houve bastante variação no desenvolvimento da cultivar Venezuela 350 , apresentando, no primeiro experimento, valores maiores do que no segundo, embora fossem realizados em condições semelhantes. Talvez estas diferenças sejam devidas a variações de fatores não determinados, como origem das sementes, época em que foi realizado o experimento, variações de temperatura noturna e outros. A nodulação, entretanto, não seguiu a mesma tendência, uma vez que o peso de nódulos foi relativamente semelhante em ambos os experimentos analisados. Isto sugere que uma seleção de cultivares desta natureza deve ser realizada em um único experimento.

As condições experimentais vieram a mostrar que existem cultivares com maior potencial de absorção de nitrogênio mineral que outros com o mesmo potencial de fixação do nitrogênio, existindo ainda outras que reúnem ambas as caracte-

rísticas estudadas, isto é, absorção de nitrogênio e ainda são capazes de fixar o nitrogênio simbioticamente. Talvez seja esta a característica ideal a ser procurada, pois geralmente, os solos possuem nitrogênio na forma nítrica e amoniacal disponíveis.

Com base nesta idéia, a seleção de cultivares que mais respondem ao nitrogênio mineral deverá ser baseada tomando-se como critério os valores de N total acompanhado de uma atividade alta da redutase de nitrato, em diferentes épocas, pois estes dois parâmetros indicam o bom funcionamento da enzima.

No caso de seleção de cultivares para fixação simbiótica de  $N_2$ , o peso de nódulos e a atividade da nitrogenase seriam os primeiros indicativos da simbiose eficiente, contribuindo para aumento de N total. Outros autores (DOBEREINER *et alii*, 1966 e da PAZ, 1978) utilizaram o critério da regressão do N total sobre o peso de nódulos, dando correlação positiva.

Tomando-se em consideração o aproveitamento do nitrogênio tanto na forma iônica como molecular, os critérios usados podem ser: nitrogênio total, peso de nódulos, atividade da nitrogenase e da redutase de nitrato. Estando as duas enzimas funcionando concomitantemente, haveria uma indicação de uma maior utilização do nitrogênio na planta, o que deveria ser levado em consideração para uma seleção em solo, uma vez que o efeito da atividade da nitrogenase é somada à ati-

vidade da nitrogenase é somada à atividade da redutase de nitrato.

Baseados nestes critérios, as cultivares Goiano precoce, Porrillo 70, Carioca precoce, Ica pijao, Composto chimaltengo, e Vagem roxa de cacho preenchem todos os requisitos para serem classificadas como as melhores para a absorção do nitrogênio na forma iônica ( $\text{NO}_3^-$ ). Para aproveitamento do nitrogênio pela fixação simbiótica, Venezuela 350, Tayhū, Arroana, Moruna e Charque 2, preenchem todos os requisitos. Porrillo sintético, embora não apresentasse peso de nódulos alto, foi classificada para fixação de N, tendo em vista sua alta atividade da nitrogenase e N total; Paulista branco pela atividade da nitrogenase alta e México 262 pela atividade da nitrogenase e peso de nódulos altos.

Para absorção tanto na forma iônica como molecular, Rosinha, Bico de ouro e Carioca preencheram todos os requisitos, sendo que o Brasil 343 foi selecionada para esta aptidão em vista das atividades altas das duas enzimas, redutase de nitrato e atividade da nitrogenase, embora não apresentasse grande acúmulo de nitrogênio.

## 5.5 - EFEITO DE FONTES DE NITROGÊNIO

Na Tabela 21 são apresentados os valores médios de peso de matéria seca da parte aérea de duas cultivares de feijoeiro em função das fontes de nitrogênio a que foram submetidas. Observa-se que em ambas as cultivares, o crescimento foi maior no tratamento onde usou-se nitrogênio na forma de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Embora a maioria das plantas prefira o nitrogênio na forma nitrátrica (WALLACE e ASHCROFT, 1956 ; MC ELHANNON e MILLS, 1977), elas absorvem também o  $\text{NH}_4$ . Isto foi comprovado por ZSOLDOS (1971), trabalhando com milho. No caso presente houve influência muito grande da forma de nitrato de amônio na absorção de nitrogênio na cultivar Venezuela 350, sendo maior do que quando o nitrogênio foi oferecido nas demais formas. Já a cultivar Ica pijao, embora tenha mostrado maior peso de matéria seca, quando o nitrogênio lhe foi oferecido nessa forma, obteve bons resultados com nitrogênio nas formas de  $\text{KNO}_3$ , uréia e com a mistura de  $\text{NH}_4^+$  +  $\text{NO}_3^-$  na proporção para três, havendo, portanto um efeito de cultivar preferencial em relação as formas de nitrogênio. O fato do feijão ter preferência pela mistura  $\text{NH}_4^+$  +  $\text{NO}_3^-$  já foi comprovado por WILLIAM e MILLS (1977).

Comparando-se as duas cultivares em estudo, verifica-se que Ica pijao mostrou maior crescimento do que a Venezuela 350, em todas as formas em que o nitrogênio lhe foi oferecido, ver Figura 8. Isto também pode ser verificado pelos valores de nitrogênio total (Tabela 22). A fonte que determinou menor crescimento, na solução com dose maior de nitrogênio -

nio, foi o  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , sendo cerca de 50% menor do que a média das demais fontes, provavelmente devido à ação acidificante desta fonte; já WALLACE e ASHCROFT (1956) e MC ELHANNON e MILLS (1977) haviam verificado quedas das folhas de feijoeiro quando usaram nitrogênio na forma de sulfato de amônio.

Ao se observar, na Tabela 21, o efeito do sulfato de amônio sobre, a produção de matéria seca, no tratamento com inoculação, vê-se claramente que este fenômeno não aconteceu, pois neste tratamento o nitrogênio foi adicionado numa concentração dez vezes menor do que no tratamento completo, sendo diluído este efeito de acidificação.

A cultivar Ica pijao, no tratamento com inoculação, mostrou ser mais sensível à acidez do meio, produzindo maior peso no tratamento com sulfato de amônio do que com as demais fontes (Figura 8). Os tratamentos onde a forma nítrica foi predominante ( $\text{KNO}_3$ , 1:3) determinaram maior prejuízo à fixação simbiótica, pelo efeito do nitrogênio na forma nítrica, como foi mencionado por RAGGIO *et alii* (1965); SMALL e LEONARD (1969); GIBSON (1977). Estes autores concluíram que o efeito do  $\text{NO}_3^-$  é devido ao desvio de produtos da fotossíntese para a assimilação do  $\text{NO}_3^-$ , privando o nódulo de carboidratos necessários ao seu desenvolvimento.

Com referência ao nitrogênio total (Tabela 22), as mesmas diferenças podem ser observadas. A média geral, considerando as duas cultivares em conjunto, mostra que maior nitrogênio total foi obtido nas plantas do tratamento com  $\text{NH}_4\text{NO}_3$

e a menor nas do tratamento com  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  .

A cultivar Ica pijao mostrou preferência pelas fontes que tinham  $\text{NO}_3^-$  enquanto que a Venezuela 350 preferiu o nitrogênio na forma de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Nota-se um efeito de cultivar na preferência de absorção de ions nitrogenados.

Embora não houvesse diferenças estatísticas entre fontes de N no tratamento com inoculação, ambas as cultivares obtiveram maiores valores de N total com as fontes que contêm  $\text{NH}_4^+$ , embora não houvesse diferenças estatisticamente significativas entre fontes para as duas cultivares. Na última época, com excessão da fonte  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , Ica pijao sempre obteve as maiores médias (Figura 9).

Pelas Figuras 9, 10, 11, 12, 13, 14 e 15 visualiza-se melhor a influência das fontes de nitrogênio sobre as cultivares em estudo.

Observando-se o peso das plantas do tratamento com inoculação em relação ao de solução completa (Tabela 23), verifica-se que o tratamento com nitrogênio na forma de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  determinou maior produção de matéria seca e a menor pela fonte  $\text{KNO}_3$ , ratificando o que foi discutido acima.

As diversas fontes, utilizadas neste experimento, também influenciaram no desenvolvimento da raiz (Tabela 24). Nota-se pela análise da variância, que houve diferenças significativas entre fontes. O  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  e  $\text{KNO}_3$  influenciaram negativamente sobre o desenvolvimento da raiz, no tratamento onde se usou a maior dose de nitrogênio. A fonte de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  te



ve um efeito acidificante sobre a solução, embora tenha-se procurado equilibrar o pH, diariamente. Este reflexo se fez sentir no desenvolvimento da raiz e, conseqüentemente no crescimento da parte aérea e na absorção de nitrogênio, como já foi discutido (Tabelas 21 e 22). A solução contendo 10% de nitrogênio da primeira não sofreu este efeito, por efeito da diluição.

A fonte  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  determinou maior desenvolvimento da raiz; corroborando perfeitamente com os valores de peso de matéria seca e de nitrogênio total, no tratamento com dose mais elevada de nitrogênio. O tratamento com plantas inoculadas não sofreu o mesmo efeito, já que não houveram diferenças significativas, exceto quando o  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$  estavam na proporção 1:1, o que provavelmente indica um efeito do íon acompanhante ( $\text{NO}_4^{+2}$  e  $\text{Na}^+$ ).

A Tabela 25 apresenta os valores de atividade de redutase de nitrato. Como foi verificado, quando da discussão dos parâmetros anteriores, aparece aqui, também, um efeito de cultivar sobre a atividade desta enzima, sendo maior na cultivar Ica pijao do que na Venezuela 350, mostrando maior capacidade da primeira em reduzir nitrato a nitrito, indicando assim, maior capacidade de incorporar o nitrogênio que lhe é oferecido nesta forma. Verifica-se, também, que 40 dias após o transplante a atividade da enzima já estava sendo diminuída.

Esta atividade foi menor no tratamento com inoculação do que no completo, em razão do teor mais baixo em nitrato da solução do tratamento correspondente. Pela mesma razão apontada acima, as fontes  $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$  1:3 foi maior do que na relação 1:1. No cômputo geral, sem considerar cultivares ou tratamentos de soluções, a atividade da redutase de nitrato foi maior nos tratamentos cujas fontes de nitrogênio foram  $\text{KNO}_3$  e  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  do que nas duas misturas de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ .

Verifica-se, ainda, pelos dados desta tabela que a média do peso de matéria seca da solução completa (42 ppm de nitrogênio) foi significativamente maior do que o da solução com 4,2 ppm de nitrogênio e inoculada. Observa-se que este experimento não fugiu à regra, tendo resultados semelhantes aos dos outros experimentos anteriormente apresentados. A seletividade de absorção de íons nitrogenados no feijoeiro é de muita importância, e não encontrado na bibliografia.

A cultivar Ica pijao teve maior produção de matéria seca do que a Venezuela 350, tanto na solução completa como na que contém 10% de nitrogênio desta. Observa-se aí um efeito de cultivar com melhores características genéticas para o melhor aproveitamento do nitrogênio da solução, o que já foi discutido anteriormente.

A Tabela 26 apresenta os valores de peso de nódulos nas duas cultivares e nas seis fontes de nitrogênio a que foram submetidas. Por estes dados, verifica-se que a cultivar Ica pijao apresentou, significativamente, maior peso de nódulo-

los do que a Venezuela 350, entretanto não houve variação entre as duas cultivares nos teores de nitrogênio total. Houve grande variação no peso de nódulos nas duas cultivares, em relação às fontes de nitrogênio usadas. Para Ica pijao, as fontes que determinaram menor peso de nódulos foram uréia e a mistura 1:3 de sulfato de amônio com nitrato de sódio. CARTRIGHT e SNOW (1962) já haviam observado este efeito em feijoeiro. Parece que neste caso não houve efeito nocivo do sulfato de amônio, pois a concentração de nitrogênio era muito baixa, determinando maior peso de nódulos, embora não houvesse diferença significativa entre esta e  $KNO_3$  e  $NH_4NO_3$ . Para a Venezuela 350 aconteceu o mesmo, na mistura 1:3 das duas fontes, mas com relação à uréia não houve diferença significativa entre as demais. Por estes resultados pode-se inferir que Ica pijao é mais sensível aos prejuízos causados pela uréia. As fontes que possuíam nitrogênio na forma de nitrato não foram prejudiciais para nenhuma das cultivares, embora já tenha sido relatado o efeito prejudicial do nitrato na nodulação e na fixação do nitrogênio (RAGGIO *et alii*, 1965; SMALL e LEONARD, 1969; GIBSON, 1977). Observando-se a média geral das duas cultivares vê-se que houve um efeito negativo da uréia e  $NH_4^+ + NO_3^-$  1:3. As fontes que determinaram maior peso de nódulos foram sulfato de amônio, nitrato de potássio, nitrato de amônio e  $NH_4^+ + NO_3^-$  1:1, mostrando que o íon amônio não foi prejudicial à nodulação. Estas diferen-

ças não concordantes com a bibliografia provavelmente são devidas as características individuais destas duas cultivares.

Na média geral das fontes, observa-se que as fontes uréia, e  $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$  1:3 foram as que determinaram menor peso de nódulos, enquanto que as demais fontes não foram influenciadas para este parâmetro.

Os dados de atividade da nitrogenase (Tabela 27), mostram que a fonte  $\text{KNO}_3$  determinou maior atividade. As fontes que possuíam o íon  $\text{NH}_4^+$  determinaram os menores valores de atividade da nitrogenase, estando de acordo com FRANCO (1976), que observou que o nitrogênio na forma de  $\text{NH}_4^+$  diminui a síntese e a atividade da nitrogenase. A uréia, que teve uma ação negativa sobre o peso de nódulos, determinou alta atividade desta enzima. Estes resultados contraditórios nos sugerem que, como a técnica de avaliação da atividade da nitrogenase mostra esta atividade apenas no momento da amostragem, parece não ser um bom parâmetro para se avaliar a fixação do nitrogênio tomado num sentido total, como é o parâmetro nitrogênio total, que é cumulativo. Isto pode ser comprovado observando-se as variações da atividade desta enzima nas épocas de amostragem, havendo, às vezes, aumento e em outras ocasiões, diminuição com a idade da planta. Isto também foi observado nos experimentos de seleção de cultivares.

Fontes de Nitrogênio	Sem inoculação (42 ppm N)						Inoculadas (4,2 ppm N)					
	Venezuela 350			Ica pijao			Venezuela 350			Ica pijao		
	20	40	Média	20	40	Média	20	40	Média	20	40	Média
$(NH_4)_2SO_4$	0,59	1,91	1,25 *	1,15	1,82	1,49 d	0,65	0,99	0,82 a	1,24	1,82	1,53 a
$NO_3$	1,53	4,15	2,84 c	2,18	7,64	4,91 a	0,61	0,91	0,75 a	0,67	1,29	0,85 b
$NH_4NO_3$	1,93	5,75	3,85 a	2,29	6,57	4,43 ab	0,68	1,41	1,05 a	0,99	1,60	1,29 a
$Ca(NO_2)_2$	1,77	5,27	3,52 ab	1,97	6,50	4,23 b	0,50	0,98	0,74 a	0,82	1,26	1,04 a
$NH_4^+ NO_3^-$ 1:1	1,05	4,07	2,55 c	1,81	4,91	3,36 c	0,61	1,17	0,89 a	0,92	1,32	1,12 a
$NH_4^+ NO_3^-$ 1:3	1,82	4,11	2,97 bc	2,51	5,18	3,84 bc	0,59	1,10	0,84 a	0,81	1,45	1,13 a
Médias Epocas	1,45 b	4,21 a	1,98 b	1,98 b	5,43 a	3,71 a	0,61 b	0,92 a	0,91 b	1,45 a	1,45 a	2,19 b
Médias Cultiv.			2,83 c			3,71 a			0,85 b			1,16 b
Médias Soluç.			3,27 a			3,27 a			1,00 b			

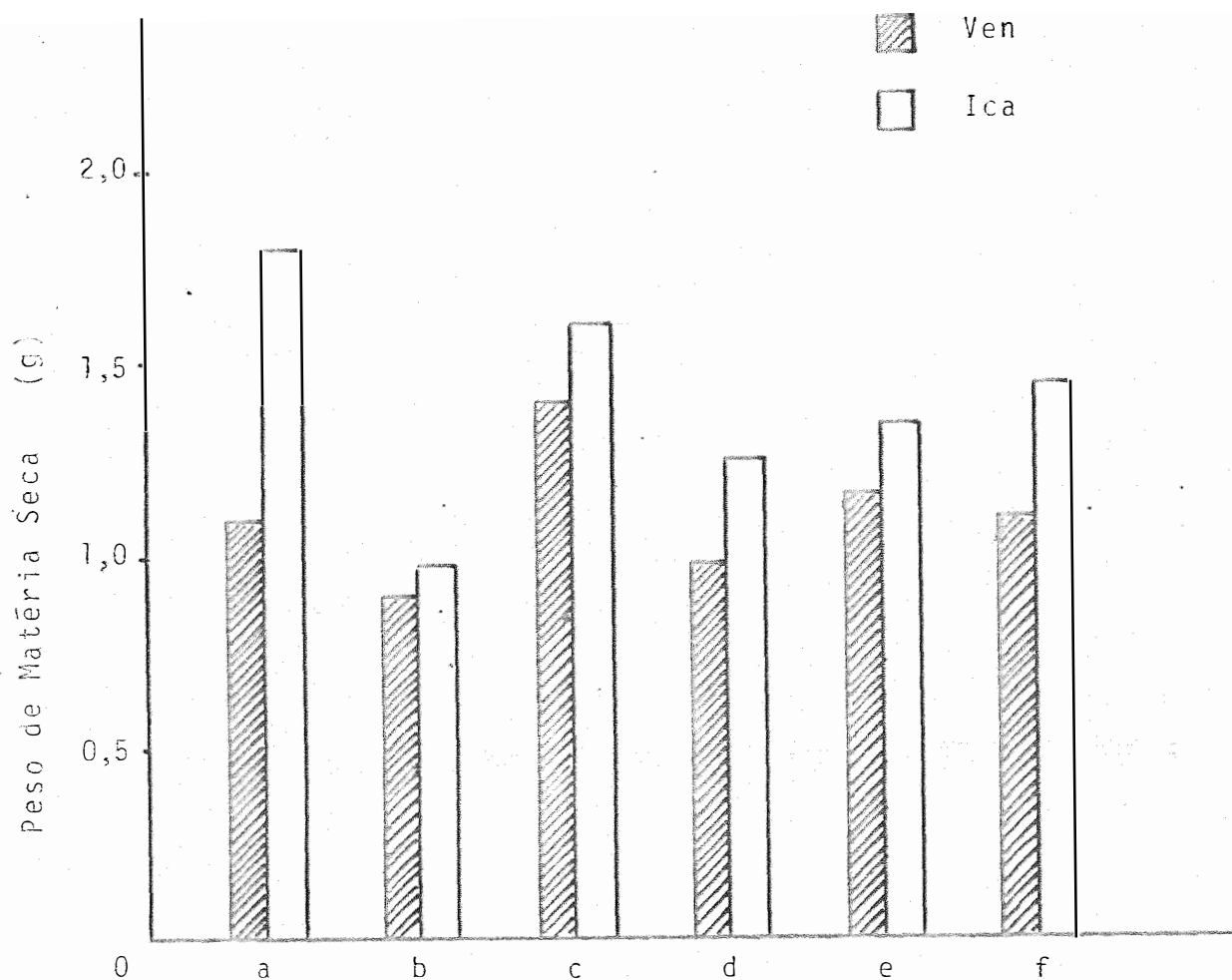
C. V. (%) = 27,65

DMS (5%):

Soluções	0,17
Cultivares	0,17
Epocas	0,17
Fontes	0,42
Cultivares d/Soluções	0,24
Epocas d/Cultivares	0,24
Fontes d/Cultivares	0,60

(\*) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 21 - Valores do peso de matéria seca (g/pl) de duas cultivares de feijoeiro inoculadas e sem inoculação, colhidas em duas épocas de amostragem submetidas a seis fontes de nitrogênio. (Média de quatro repetições).



a =  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$   
 b =  $\text{KNO}_3$   
 c =  $\text{NH}_4\text{NO}_3$   
 d =  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$   
 e =  $\text{NH}_4 - 1$   
      $\text{NO}_3 - 1$   
 f =  $\text{NH}_4 - 1$   
      $\text{NO}_3 - 3$

FIGURA 8 - Comparação entre duas variedades de feijoeiro, no peso de matéria seca, com inoculação, usando - se seis fontes de nitrogênio.

Fontes de Nitrogênio	Sem inoculação (42 ppm)				Inoculadas (4,2 ppm N)				Média				
	Venezuela 350		Ica pijao		Venezuela 350		Ica pijao						
	20	40	20	40	20	40	20	40					
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	25,85	85,55	55,70 d	48,82	61,05	54,93 c	10,97	20,02	15,56 a	26,12	40,85	33,48 a	39,92 c
KNO <sub>3</sub>	59,32	148,25	103,78 b	83,60	224,40	154,00 a	14,30	20,45	17,37 a	14,05	21,12	17,58 a	73,18 b
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	111,50	171,75	141,62 a	119,37	204,62	162,00 a	17,37	29,60	23,48 a	24,45	33,65	29,05 a	89,04 a
Co(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	73,30	121,52	97,41 bc	73,37	165,55	119,46 b	11,92	17,65	14,78 a	24,67	24,70	24,68 a	64,08 b
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 1:1	45,55	115,62	80,65 c	90,90	214,37	152,63 a	15,60	34,20	24,90 a	23,45	32,35	27,90 a	71,52 b
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 1:3	71,27	138,05	104,66 b	90,95	196,70	143,82 a	13,80	20,70	17,25 a	15,70	26,55	21,12 a	71,71 b
Médias Epocas	52,58 b	130,12 a		84,50 b	177,78 a		13,99 b	24,82 a		21,40 b	29,87 a		
Médias Cultiv.			97,30 b			131,14 a			18,89 b				25,63 a
Médias Soluç.			114,22 a						22,26 b				

C. V. (%) = 26,50

DMS (5%):

Soluções	5,16
Cultivares	5,16
Epocas	5,16
Fontes	13,09
Cultivares d/Soluções	7,30
Epocas d/Cultivares	9,62
Fontes d/Cultivares	18,51

(\*) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 22 - Valores de nitrogênio total (mg/pl) de duas cultivares de feijoeiro inoculadas e sem inoculação, colhidas em duas épocas de amostragem, submetidas a seis fontes de nitrogênio. Médias de quatro repetições.

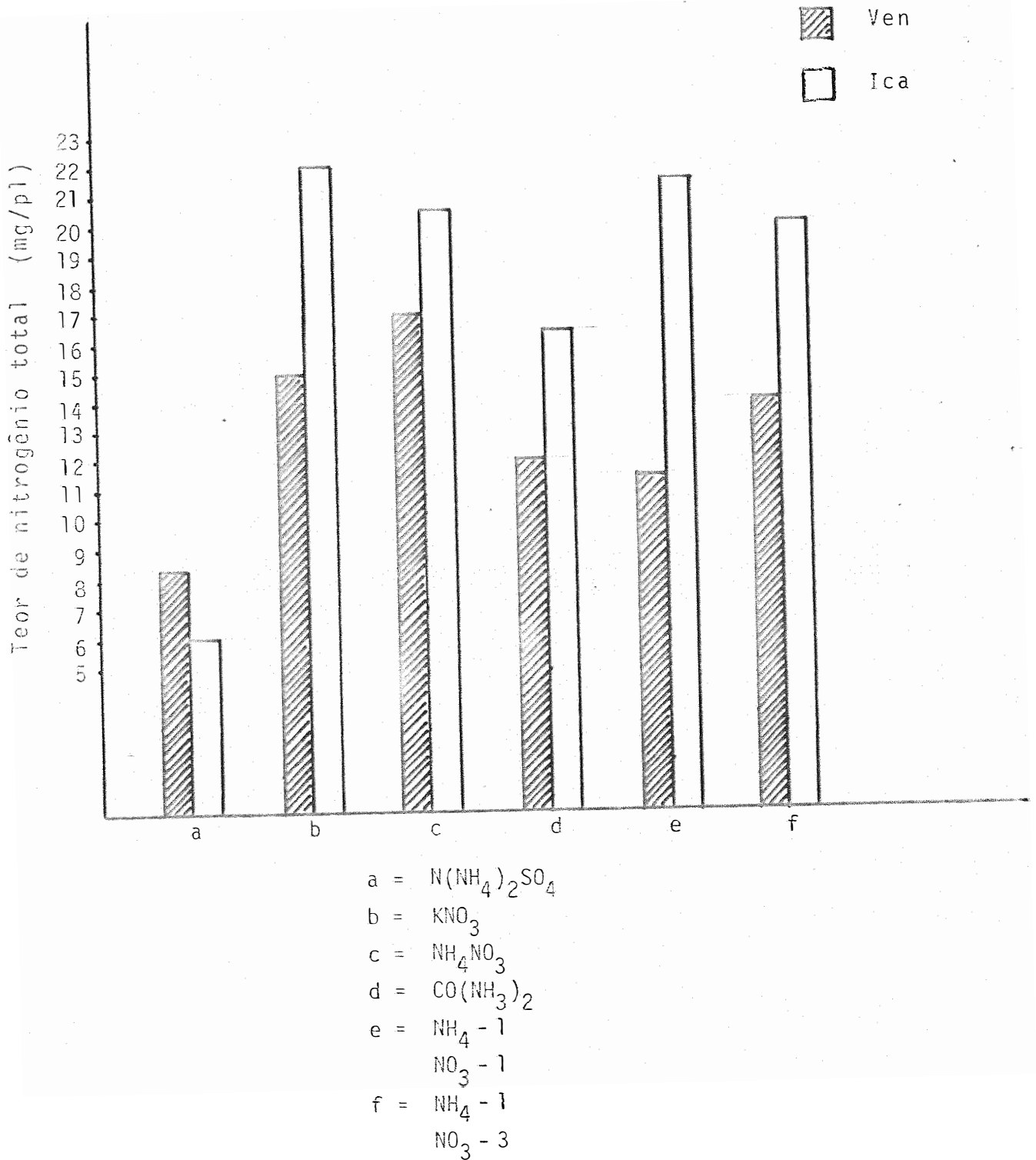


FIGURA 9 - Comparação entre duas variedades de feijoeiro, no teor de nitrogênio total da parte aérea, usando-se seis fontes de nitrogênio.



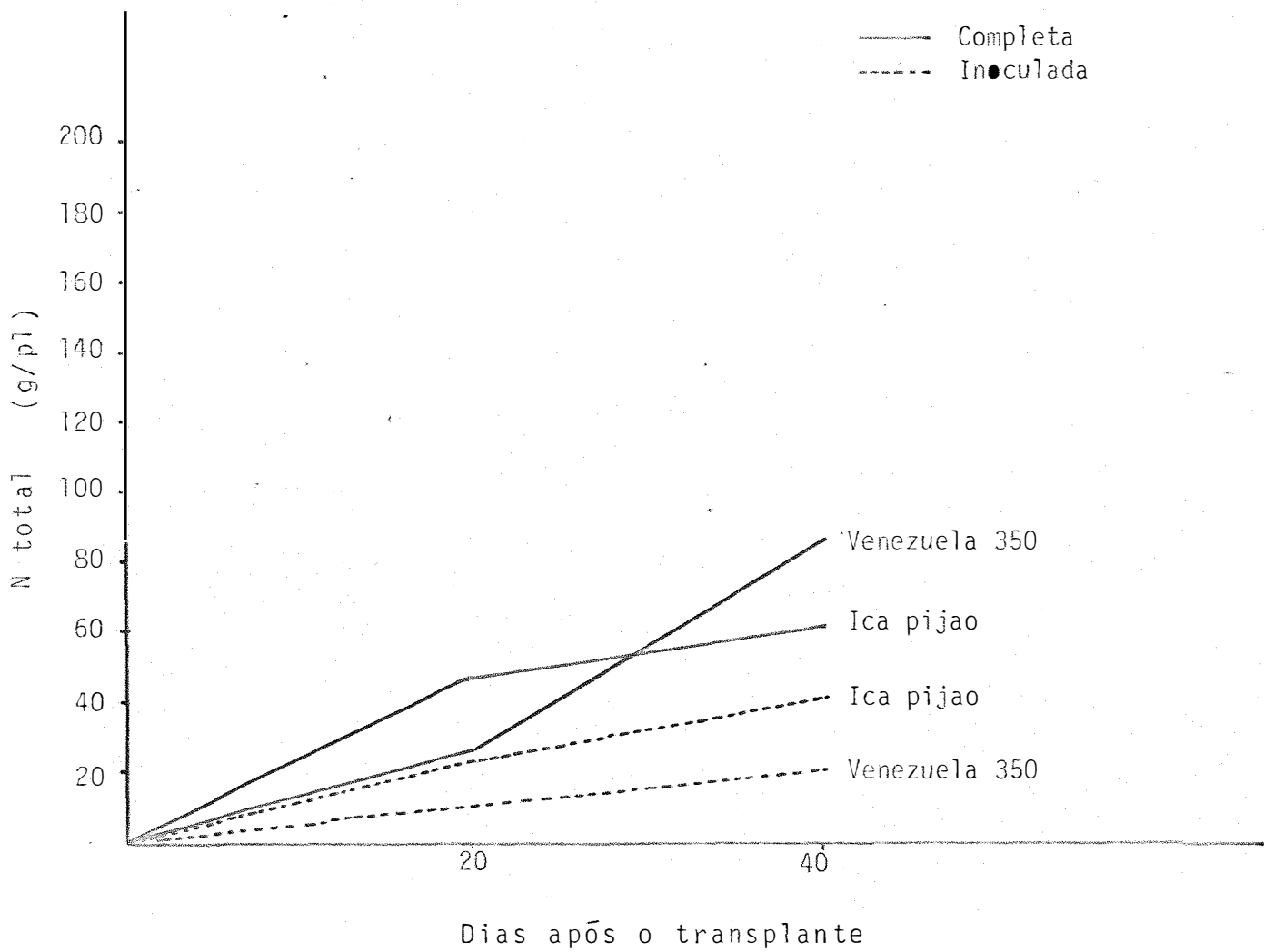


FIGURA 10 - Aumento de N total de duas cultivares de feijoeiro submetidas a solução nutritiva contendo nitrogênio na forma de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , em solução completa e com 10% de N (inoculada)

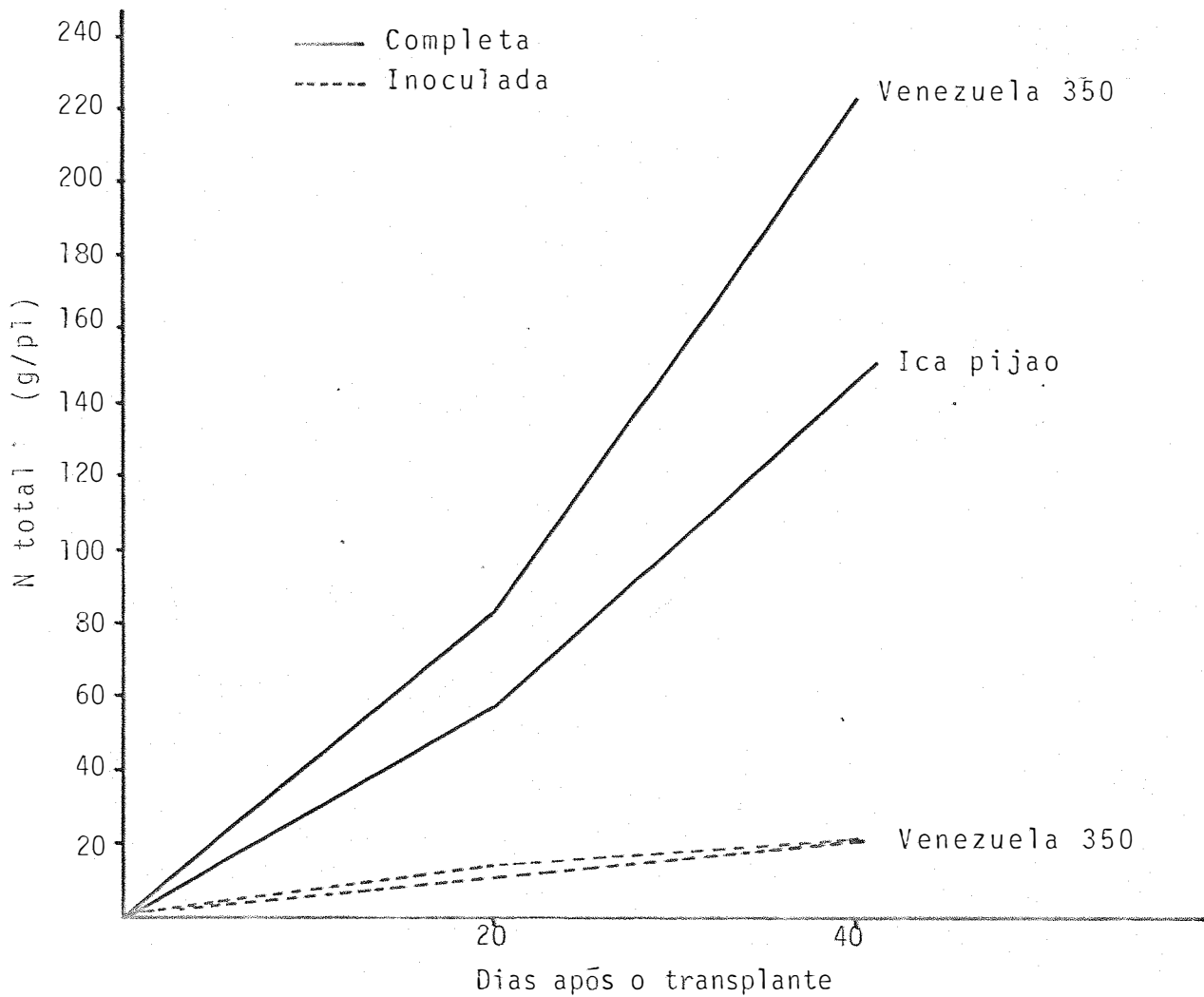


FIGURA 11 - Aumento de N total de duas cultivares de feijoeiro submetidas a uma solução nutritiva contendo nitrogênio na forma de  $\text{KNO}_3$  em solução completa e com 10% de N (inoculada).

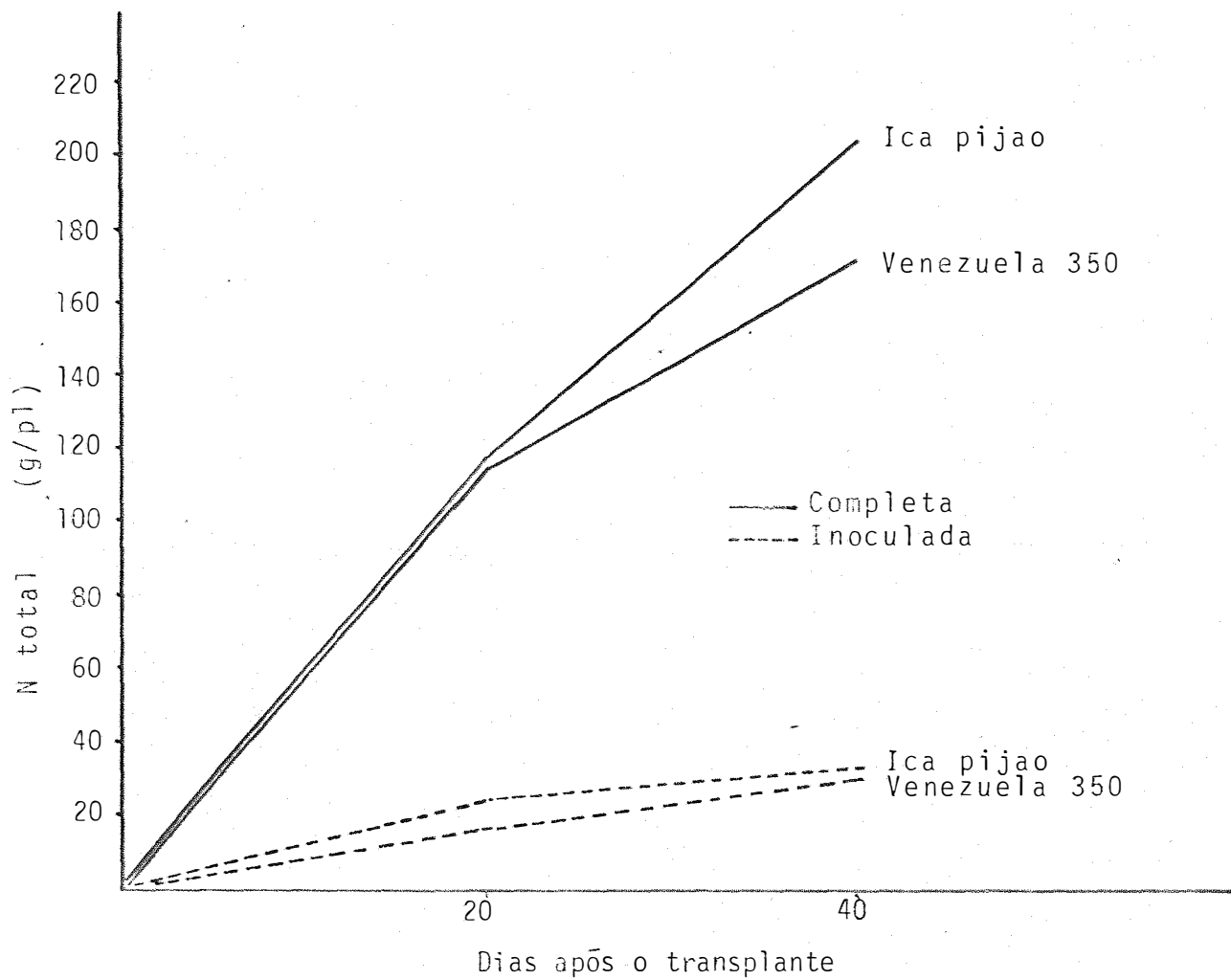


FIGURA 12 - Aumento de N total de duas cultivares de feijoeiro dos 20 e 40 dias ap̄s o transplante submetidas e dos tratamentos com e sem inoculaç̄o, com nitroḡnio na forma de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ .

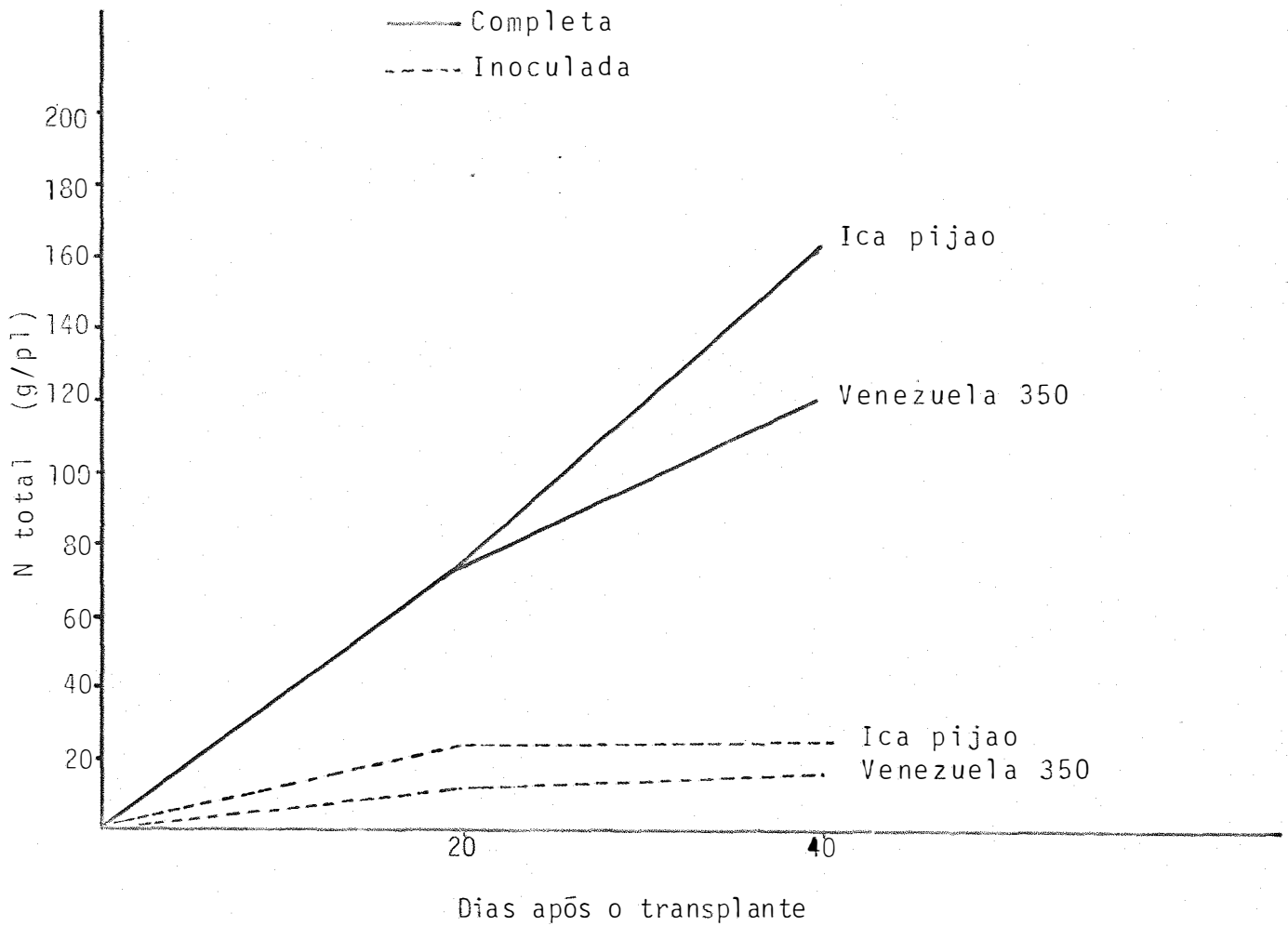


FIGURA 13 - Aumento de N total de duas cultivares de feijoeiro dos 20 aos 40 dias após o transplante submetidas a dois tratamentos, completo e inoculado, usando-se N na forma de  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ .

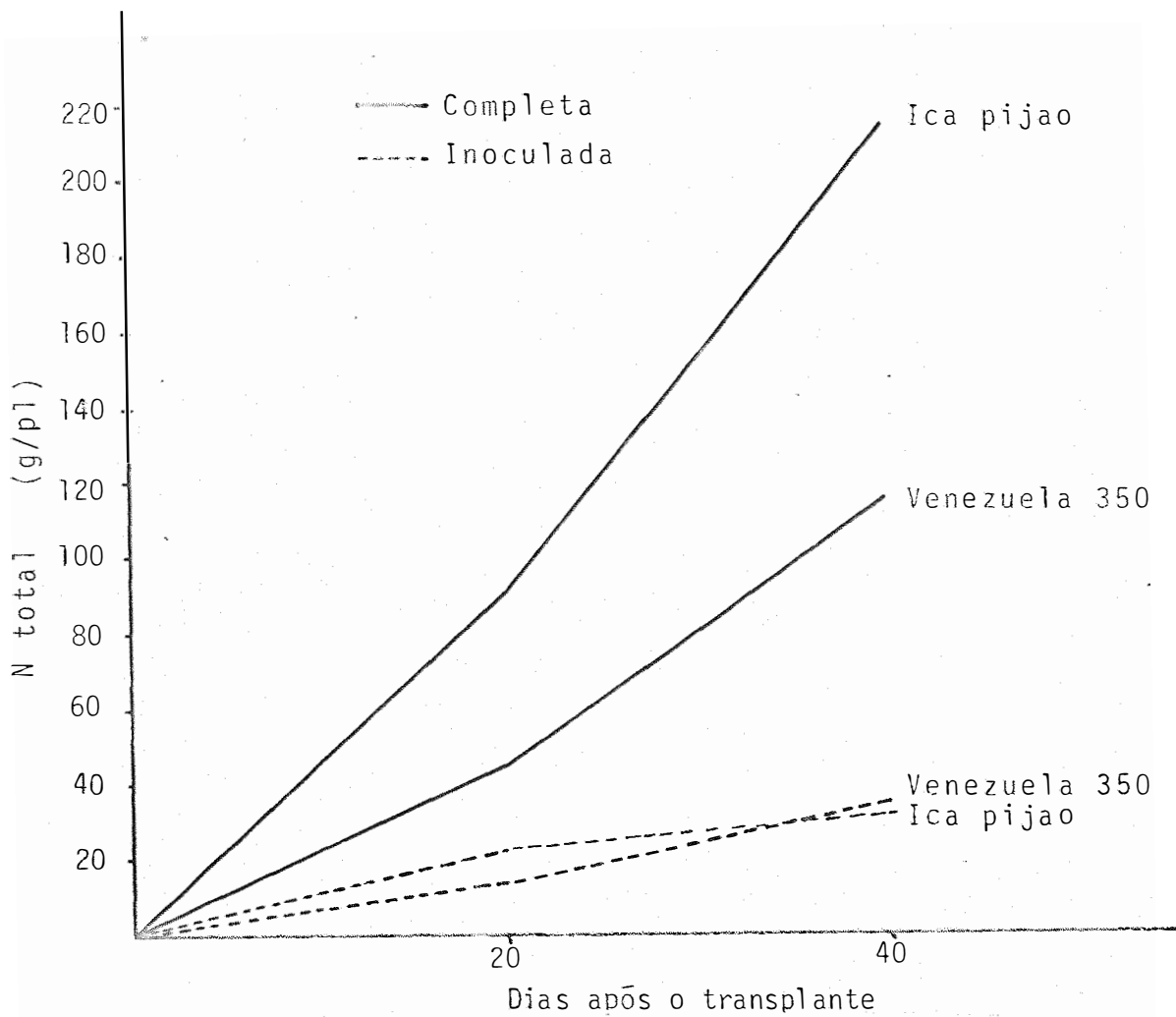


FIGURA 14 - Aumento de N total de duas cultivares de feijoeiro dos 20 aos 40 dias após o transplante submetidas a dois tratamentos, completo e inoculado, com nitrogênio na forma  $\text{NH}_4 + \text{NO}_3$  1:1.

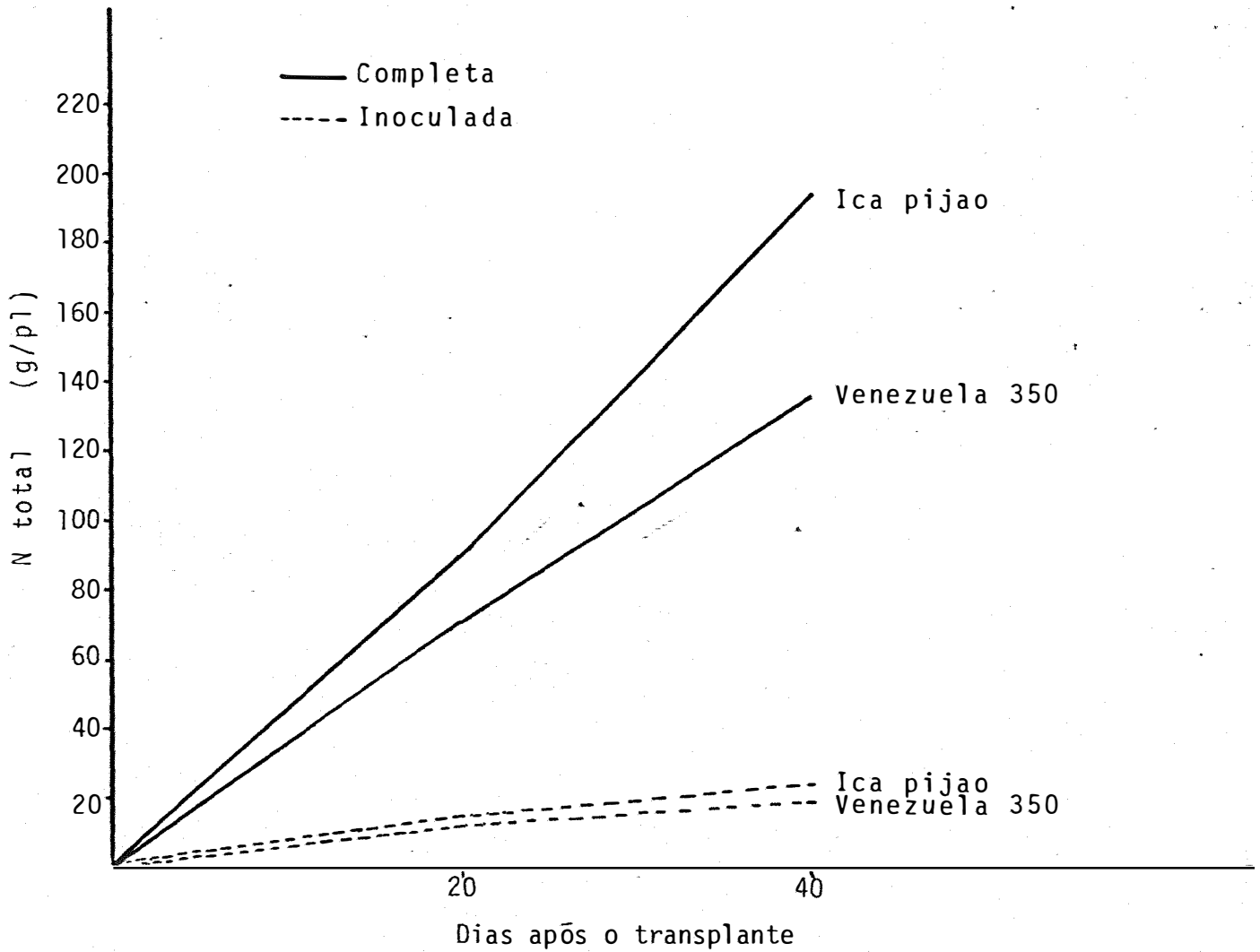


FIGURA 15 - Aumento do N total de duas cultivares de feijoeiro dos 20 aos 40 dias após o transplante, em solução completa e inoculada, com nitrogênio na forma  $\text{NH}_4 + \text{NO}_3$  1:3.

TABELA 23 - Valores de peso de matéria seca na última época de amostragem nos tratamentos, completo (N) e inoculado (I) e relação I/N de duas cultivares de feijoeiro, submetidas a seis fontes de nitrogênio. Médias de quatro repetições.

Fontes de Nitrogênio	Venezuela 350				Ica pijao				
	N (g)	I (g)	I/N (%)	N (g)	I (g)	I/N (%)	N (g)	I (g)	I/N (%)
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1,912	0,993	51,93	1,821	1,825	100,21			
$\text{KNO}_3$	4,155	0,915	22,02	7,646	1,295	16,93			
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	5,766	1,413	24,52	6,575	1,599	24,32			
$\text{Co}(\text{NH}_2)_2$	5,273	0,984	18,66	6,500	1,254	19,44			
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ 1 : 1	4,068	1,169	28,73	4,915	1,322	26,89			
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ 1 : 3	4,114	1,106	26,88	5,178	1,455	28,10			

Fontes de Nitrogênio	Sem Inoculação (42 ppm N)						Inoculadas (4,2 ppm N)					
	Venezuela 350			Ica p/jao			Venezuela 350			Ica p/jao		
	20	40	Média	20	40	Média	20	40	Média	20	40	Média
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,11	0,39	0,25 b	0,30	0,39	0,34 d	0,27	0,33	0,30 a	0,50	0,49	0,35 c
KNO <sub>3</sub>	0,35	0,62	0,48 b	0,49	0,27	0,38 d	0,18	0,35	0,26 b	0,27	0,54	0,51 ab
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0,40	0,81	0,60 a	0,42	1,26	0,84 a	0,21	0,42	0,31 a	0,35	0,53	0,55 a
Co(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	0,49	0,80	0,64 a	0,45	0,92	0,68 b	0,26	0,36	0,31 a	0,38	0,45	0,52 ab
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 1:1	0,21	0,45	0,33 b	0,28	0,80	0,54 c	0,22	0,39	0,30 a	0,29	0,38	0,38 bc
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 1:3	0,32	0,52	0,42 b	0,41	0,67	0,54 c	0,26	0,46	0,36 a	0,26	0,57	0,41 a
Médias Epocas	0,31 b	0,60 a	0,46 b	0,39 b	0,072 a	0,23 b	0,38 a	0,31 b	0,34 b	0,49 a		0,43 a
Médias Cultiv.			0,46 b			0,64 a						
Médias Soluç.			0,55 a					0,37 b				

C. V. (%) = 25,68%

O.M.S. (5%): Soluções Cultivares 0,03  
 Epocas 0,03  
 Fontes 0,08  
 Epocas d/Cultivares 0,06  
 Fontes d/Cultivares 0,12  
 Soluções d/Fontes 0,11

(\*) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 24 - Valores de peso de raiz em gramas de duas cultivares de feijão cultivadas em duas concentrações de nitrogênio 42 ppm (sem inoculação) e 4,2 ppm (inoculada), submetidas a seis fontes de nitrogênio e colhidas em duas épocas (20 e 40 dias) após o transplante. Médias de quatro repetições.



Fontes de Nitrogênio	Sem inoculação (42 ppm N)						Inoculadas (4,2 ppm N)					
	Venezuela 350			Ica pijao			Venezuela 350			Ica pijao		
	20	40	Média	20	40	Média	20	40	Média	20	40	Média
KNO <sub>3</sub>	1,66	1,88	1,77 a	2,30	1,94	2,12 a	0,95	0,87	0,91 a	1,53	1,07	1,30 a
	*											
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	2,20	1,69	1,94 a	2,30	1,82	2,06 a	1,07	1,11	1,09 a	1,49	1,02	1,26 a
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 1:1	1,42	1,34	1,38 b	1,77	1,24	1,50 b	1,14	0,91	1,02 a	1,45	1,07
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 1:3		1,76	1,39	1,57 b	2,08	1,79	1,93 a	1,04	0,88	0,96 a	1,11	0,98
	Médias Épocas	1,76 a	1,55 b		2,11 a	1,56 b		1,05 a	0,94 b		1,39 a	1,03 b
Médias Cultiv.												
	1,67 b			1,90 a			1,00 b			1,21 a		
Médias Soluç.	1,78 a			1,10 b								

C. V. (%) = 13,46

DMS (5%):

Soluções	0,08
Cultivares	0,08
Épocas	0,08
Fontes	0,15
Cultivares d/Soluções	0,11
Épocas d/Cultivares	0,11
Fontes d/Cultivares	0,21

(\*) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

(\*\*) Dados transformados em log x.

TABELA 25 - Valores de atividade da redutase de nitrato ( $\mu$  moles de NO<sub>2</sub>/pl/h) de duas cultivares de feijoeiro inoculadas e sem inoculação, colhidas em duas épocas de amostragem, submetidas a seis fontes de nitrogênio. Médias de três repetições.

TABELA 26 - Peso de nódulos em mg por planta de duas cultivares de feijoeiro submetidas a seis fontes de nitrogênio e amostradas e três épocas - cas. Média de quatro repetições

Fontes de Nitrogênio	Venezuela - 350			Ica pijao			Média Geral
	Dias após trans- plante		Média	Dias após trans- plante		Média	
	20	40		20	40		
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	27,50	105,70	66,37 ab	108,90	144,20	126,55 a	96,46 a
$\text{KNO}_3$	51,95	130,00	90,97 a	77,05	134,45	105,75 ab	98,36 a
$\text{Co}(\text{NH}_2)_2$	39,40	66,02	52,71 ab	44,15	61,82	52,98 c	52,85 b
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	63,22	73,52	68,37 a	102,65	139,85	121,25 ab	94,81 a
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ 1 : 1	52,05	95,72	73,88 a	87,02	97,65	92,33 b	83,11 a
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ 1 : 3	47,15	27,77	37,46 b	36,00	30,07	33,04 c	35,25 b
Médias das épocas	46,80 b	83,12 a		75,96 b	101,34 a		
Médias cultivares			64,96 b			88,65 a	

C. V. (%) = 26,60

DMS (5%): Cultivares 12,03 Cultivares d/Fontes 29,45  
 Épocas 7,84 Épocas d/Fontes 19,21  
 Fontes 23,55 Épocas d/Cultivares 11,09

(\*) Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 27 - Valores da atividade da nitrogenase ( $\mu\text{moles de } \text{C}_2\text{H}_4 / \text{pl} / \text{h}$ ) de duas cultivares de feijoeiro, em solução nutritiva submetidas a seis fontes de nitrogênio e colhidas em duas épocas de amostragem 20 e 40 dias após o transplante. Médias de quatro repetições

Fontes de nitrogênio	Venezuela 350			Ica-pijao		
	Dias após o transplante		Média	Dias após o transplante		Média
	20	40		20	40	
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1,08	6,90	3,99	9,67	3,72	6,69
$\text{KNO}_3$	40,30	7,10	23,70	63,90	4,76	34,33
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	9,44	1,68	5,56	41,87	0,89	21,38
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	8,32	2,76	5,54	9,87	5,01	7,44
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ 1 : 1	6,66	3,66	5,16	6,64	2,64	4,64
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ 1 : 3	9,64	0,22	4,93	29,42	0,89	15,15

## 6 - CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, nas condições em que foram realizados os experimentos, pode-se chegar às seguintes conclusões:

- O feijoeiro apresentou efeito diferencial entre cultivares, tanto na absorção de N combinado ( $\text{NO}_3$ ), como na fixação simbiótica ( $\text{N}_2$ ) e em relação a utilização de diferentes fontes de nitrogênio;
- As cultivares indicadas para maior absorção de nitrogênio na forma iônica são: Goiano precoce , Porrillo 70 , Carioca precoce , Ica pijão , Composto chimaltengo e Vagem roxa de cacho ; para fixação simbiótica: Venezuela 350 , Tayhū, Aroana , Moruna , Porrillo sintético , Charque 2 , Paulista branco e México 262 e, para maior utilização do nitrogênio nas formas  $\text{NO}_3$  e  $\text{N}_2$  : Rosinha , Bico de ouro , Carioca e Brasil 343 ;

- No experimento que estudava o efeito de fontes, o nitrogênio fornecido na forma de nitrato de amônio determinou maior peso de matéria seca em ambas as cultivares estudadas (Ica pijao e Venezuela 350), sendo que a Ica pijao mostrou preferência pelas fontes contendo  $\text{NO}_3^-$  e Venezuela 350 aquelas contendo  $\text{NH}_4^+$ , porém a atividade da nitrogenase dos nódulos foi maior quando o nitrogênio foi fornecido na forma de  $\text{NO}_3^-$  ;
- O nitrogênio na forma de sulfato de amônio prejudicou o desenvolvimento das raízes e da parte aérea das plantas;
- A cultivar Ica pijão mostrou ser mais produtiva (maior peso, N - total, atividade da nitrogenase e redutase de nitrato) do que a Venezuela 350.

## 7 - SUMMARY

The objectives of this thesis were to evaluate capacity for nitrogen utilization when supplied with different mineral and molecular forms, as well as to study the effect of different sources of nitrogen on N-uptake and symbiotic  $N_2$  - fixation. Experiments were carried out at CENA, Piracicaba, in a growth chamber and greenhouse in modified 1/5 Hoagland nutrient solution.

The following varieties were used: Carioca, Rosinha, Bico de ouro, Rico 23, Goiano precoce, Rio Tibagi, Roxinho precoce, Cuva 168 N, L-29, Porrillo 70, Porrillo sintético, Aroana, Moruna, Carioca precoce, 51051, N-159, Carioca, Mexico 309, Negro 325, Ica pijao, Composto chimaltengo, Composto negro chimaltengo, Charque 2, Magdalena 9, Preto 143, Chumbinho, Vagem roxa de cacho, Sacavem, Paulista branco, Fosco vermelho, Iguaçu, Trujillo-3, 23003,

Mexico 262 , Brasil 343 , Paranazinho and Venezuela 350. The last variety was used as a control in the different experiments. Two levels of nitrogen were used: 42 ppm (without inoculation) and 4.2 ppm (plants inoculated with a mixture of *Rhizobium phaseoli* 127- -K17, C-05 and C-19).

This study was made in two parts: In the first a selection of varieties was made to obtain the potential for N-uptake as  $\text{NO}_3^-$ , and symbiotic fixation ( $\text{N}_2$ ). Two varieties selected (Ica pijao and Venezuela 350) in the first experiment were used to check the effect of different N-sources on N-uptake and  $\text{N}_2$ -fixation. The N sources were: ammonium sulphate, potassium nitrate, ammonium nitrate, urea and two mixtures of  $\text{NaNO}_3$  and  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1:1 and 1:3. Plants were harvested 10, 20 and 30 days after transplanting (10-day old plants) them to the solution, the plants and nodules were dried and weighed and N analysed by micro Kjeldahl analysis, while activities of nitrogenase and nitrate reductase were determined immediately after harvesting.

Plants grew better in complete nutrient solution (42 ppm N) than when inoculated; the best varieties for N uptake and utilization of  $\text{N}_2$ -fixation were: Rosinha bico de ouro, Carioca and Brasil 343; and for  $\text{N}_2$ -fixation were: Tayhū, Venezuela 350, Aroana, Moruna, Porrillo sintético, Charque 2, Paulista branco and Mexico 262. The plants grew more when given  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  or urea in solution; am-

monium sulphate (42 ppm) caused damage and decreased weight of plants. The weight of nodules increased in inoculated plants grown in solutions with  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  and  $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$  1:1 ; urea resulted in smaller nodule weight than other sources of N , but increased nitrogenase activity of nodules when compared with other N - sources. There was an effect of varieties on N - uptake of N - ions from different sources as well on  $\text{NO}_3^-$  reductase activity.



## 8 - LITERATURA CITADA

- ALLOS, H. F. e W. V. BATHOLOMEW, 1959. Replacement of symbiotic fixation by available nitrogen. Soil Sci., 87(2): 61-66.
- BEARD, B. H. e R. M. HOOVER, 1971. Effect of nitrogen on nodulation and yield of irrigated soybeans. Agron. J., 63: 815-816.
- BEEVERS, L., 1976. Nitrogen metabolism in plants. London, Edward Arnold. 333 p.
- BENTLEY, B. ; D. G. MORGAN e F. A. SAAD, 1975. Plant growth substances and effects of photoperiod on flower bud development in *Phaseolus vulgaris*. Nature, 256: 121-122.
- BERGERSEN, F. J., 1960. Biochemical pathways in legume root nodule nitrogen fixation. Bacter. R., 24: 246-250.

- BERGERSEN, F. J., 1970. The biochemistry of symbiotic nitrogen fixation in legumes. 2.5.1. Intact plants and detached nodules. In: DOBEREINER, J. , J. I. da EIRA , A.A. FRANCO e A. B. CAMPELO, Coord. Seminário sobre Metodologia e Planejamento de Pesquisas com Leguminosas Tropicais. Rio de Janeiro. Instituto de Pesquisas Agronômicas do Centro-Sul. p. 98-107.
- BERGERSEN, F. J., 1971. Biochemistry of symbiotic nitrogen fixation in legumes. Ann. R. Plant Physiol., 21: 121-146.
- BETHLENFALVAY, G. D. e D. A. PHILLIPS, 1977. Ontogenic interactions between photosynthesis and symbiotic nitrogen fixation of legumes. Plant Physiol., 60(3): 419-421.
- BIDWELL, R. G. S., 1974. Plant Physiology. New York, Macmillan. Cap. 8.
- BRASIL, Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1978. Anuário Estatístico do Brasil. Rio de Janeiro. p. 359-367.
- BRILL, W., 1977. Biological nitrogen fixation. Sci. Amer., 236(3): 68-81.
- CARTWRIGHT, P. M., 1967. The effect of combined nitrogen on the growth and inoculation of excised roots of *Phaseolus vulgaris* L. Ann. Bot., 31: 309-321.
- CARTWRIGHT, P. M. e D. SNOW, 1962. The influence of foliar application of urea and the nodulation patterns of certain leguminous species. Ann. Bot., London, 26(102): 251-259.

- COSTERTON, J. W. ; J. M. INGRAM e K. J. CHENG, 1974. Structure and function of the cell envelope of Gram-negative bacteria. Amer. Soc. Microb., 1: 87-110.
- CRÓCOMO, O. J., 1979. Assimilação do nitrogênio pelas plantas. In: FERRI, M. G., Coord. Fisiologia Vegetal. São Paulo, EDUSP. p. 179-207.
- DART, P. J., 1974. The infection process. In: QUISPEL, A. Coord. The Biology of Nitrogen Fixation, Amsterdam, North Holland. p. 382-396.
- DAZZO, F. B., 1978. Lectins and the *Rhizobium* - legume symbiosis. Rhizobium Newsletter, 23(1): 21-25.
- DEAN, J. R. e K. W. CLARK, 1977. Nodulation, acetylene reduction and yield of faba beans as affected by inoculum concentration and soil nitrate level. Can. J. Plant Sci. 57(4): 1051-1061.
- DOBEREINER, J. e A. P. RUSCHEL, 1961. Fixação simbiótica de nitrogênio atmosférico em feijão. I. Influência do solo e da variedade. Comunicado Técnico do Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícolas (10): 1-16.
- DOBEREINER, J. ; N. B. ARRUDA e A. F. PENTEADO, 1966. Avaliação da fixação do nitrogênio, em leguminosas, pela regressão do nitrogênio total das plantas sobre o peso de nódulos. Pesq. Agropec. Bras., 1: 233-237.
- DOBEREINER, J. e N. B. ARRUDA, 1967. Interrelação entre variedades e nutrição na nodulação e simbiose da soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Pesq. Agropec. Bras., 2: 475-487.

EVANS, H. J., 1975. Enhancing biological nitrogen fixation. Washington, National Science Foundation. 32 p.

EZEDINMA, F. O. C., 1964. Effects of inoculation with local isolates of cow-pea *Rhizobium* and application of nitrate nitrogen on the development of cow-peas. Trop. Agric., 41(3): 243-247.

FAO, 1977. FAO Production Yearbook. Rome, Italy. p. 117.

FONTES, L. A. N., 1972. Nota sobre aplicação do adubo nitrogenado e fosfatado, calcário e inoculante na cultura do feijão. R. Ceres, 19(103): 211-216.

FRANCO, A. A. e J. DOBEREINER, 1967. Especificidade hospedeira na simbiose com *Rhizobium* - feijão e influência de diferentes nutrientes. Pesq. Agropec. Bras., 2: 467 - 474.

FRANCO, A. A., 1977. Nutritional restraints for tropical grains legume symbiosis. In: VINCENT, J. M. ; A. S. WITNEY and J. BOSE. Exploiting the Legume Rhizobium Symbiosis in Tropical Agriculture. Proceedings. Hawaii, University of Hawaii. p. 237-251. (College of Tropical Agriculture Miscellaneous Publication, 145).

FRED, E. B. e P. W. WILSON, 1934. On photosynthesis and free nitrogen assimilation by leguminous plants. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 20(7): 403-409.

- FREIRE, J. R. J., 1977. Inoculation of soybeans. In: VINCENT, J. M. ; A. S. WITNEY e J. BOSE. Exploiting the Legume - Rhizobium Symbiosis in Tropical Agriculture. Proceedings. Hawaii, University of Hawaii. p. 335-379. (College of Tropical Agriculture Miscellaneous Publications 145).
- GALLO, J. R. e S. MIYASAKA, 1961. Composição química do feijoeiro e absorção de elementos nutritivos do florescimento à maturação. Bragantia, 20: 867-884.
- GIBSON, A. H., 1974. Consideration of the growing legume as a symbiotical association. Proc. Ind. Nat. Sci. Acad., 40: 741-767.
- GIBSON, A. H. e J. D. PAGAN, 1977. Nitrate effects on the nodulation of legumes inoculated with nitrate reductase deficient mutants of *Rhizobium*. Planta, 134: 17-22.
- GROBBELAAR, N. ; B. CLARK e C. HOUGH, 1971. The nodulation and nitrogen fixation of isolated roots of *Phaseolus vulgaris*, L. II. The influence of light on nodulation. Plant and Soil. p. 203-214. Volume especial.
- GUTIERREZ, L. E. e O. J. CROCOMO, 1978. Atividade de enzimas relacionadas com a assimilação do nitrogênio em raízes de feijoeiro durante o desenvolvimento. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica, 70, Caxambu, 19 a 22 de abril, 1978. São Paulo. SBBq. C-14.
- GUSS, A. e J. DOBEREINER, 1972. Efeito da adubação nitrogenada e temperatura do solo na fixação do nitrogênio em feijão (*Phaseolus vulgaris*). Pesq. Agropec. Bras., 7: 87-92.

- HAAG, H. P. e E. MALAVOLTA, 1967. Absorção de nutrientes pela cultura do feijoeiro. Bragantia, 26(30): 381-391.
- HARDY, R. W. F. ; R. D. HOLSTEN ; K. E. JACKSON e R. C. BURNS, 1968. The acetylene-ethylene assay for N<sub>2</sub> fixation: Laboratory and field evaluation. Plant Phys., 43: 1185-1207.
- HARPER, J. E. ; J. C. NICHOLAS e R. H. HAGEMAN, 1972. Seasonal and canopy variation in nitrate reductase activity of soybean leaves. Plant Physiol., 49: 448-450.
- HATFIELD, J. L. ; J. E. LEGGET e D. E. PEASLE, 1974. Effect of applied nitrogen on the nodulation and early growth of soybeans (*Glycine max* (L.) Merrill). Agron. J., 66(1): 112-115.
- HENTSCHEL, G., 1976. The uptake and distribution of <sup>15</sup>N-labelled urea by *Phaseolus vulgaris* L. Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde, Zpbeal (2): 251-272.
- HOAGLAND, D. R. e D. I. ARNON, 1950. The water culture method for growing plants without soil. Calif. Agr. Exp. Sta. Circ., nº 347.
- LAWN, R. J. e N. A. BRUN, 1974a. Symbiotic nitrogen fixation in soybeans. I. Effect of photosynthetic source-sink manipulations. Crop. Sci., 14(4): 11-16.
- LAWN, R. J. e N. A. BRUN, 1974b. Nitrogen fixation in soybeans. Effect of supplemental nitrogen and intervarietal grafting. Crop. Sci., 14(4): 22-25.

- LIE, T. A., 1971. Symbiotic nitrogen under stress conditions. In: LIE, T. A. e E. G. MULDER. Plant and Soil. p. 117-127. Volume especial.
- MALAVOLTA, E. ; H. P. HAAG ; F. A. F. MELLO e M. O. C. BRASIL SOBO, 1974. Nutrição Mineral e Adubação de Plantas Cultivadas. São Paulo, Pioneira, 727 p.
- MALAVOLTA, E., 1976. Manual de Química Agrícola. São Paulo. Ceres. 528 p.
- MALAVOLTA, E., 1979. Absorção e transporte de ions. In: FERRI, M. G., Coord. Fisiologia Vegetal. São Paulo, EDUSP, v. 1. p. 77-95.
- MC ELHANNON, N. S. e H. A. MILLS, 1977. The influence of nitrogen concentration and  $\text{NO}_3 / \text{NH}_4$  ratio on the growth of lima and snap bean and southern field pea seedlings. Comm. Soil Sci, Plant Anal., 8(8): 677-687.
- MC ELHANNON, N. S. e H. A. MILLS, 1978. Influence of percent  $\text{NO}_3 / \text{NH}_4$  on growth, nitrogen absorption and assimilation by lima beans in solution culture. Agron. J., 70: 1027-1032.
- MINCHIN, F. R. e J. S. PATE, 1973. The carbon balance of a legume and the functional economy of its root nodules. Journ. Exp. Botany, 24(79): 259-271.
- MONTOJOS, J. C. e A. C. MAGALHÃES, 1971. Growth analysis of dry bean (*Phaseolus vulgaris*, L. var. Pintado) under varying conditions of solar radiation and nitrogen application. Plant and Soil, 35: 217-233.

- MUNNS, D. N., 1968. Nodulation of *Medicago sativa* in solution culture. II. Compensating effects of nitrate and of prior nodulation. Plant Soil, 28(2): 246-257.
- MUNNS, D. N., 1977. Soil acidity and related factors. In: VINCENT, J. M. ; A. S. WITNEY e J. BOSE. Exploiting the Legume Rhizobium - Symbiosis in Tropical Agriculture. Proc. Workshop, 23/28 Aug. Hawaii, 1976. Hawaii, University of Hawaii, p. 211-236. (College of Tropical Agriculture Miscellaneous Publication, 145).
- NEPTUNE, A. M. L. e T. MURAOKA, 1978. Aplicação de uréia - <sup>15</sup>N em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*, L.), cultivar carioca. R. Bras. Ci. Solo, 2: 51-55.
- NETLES, V. F., 1954. Yield response of beans to repeated use of soil fumigants and three sources of nitrogen. Amer. Soc. Hort. Sci. Proc., 63: 320-324.
- NUTMAN, P. S. ; H. MARECKOVA e L. RAICHEVA, 1971. Selection for increased nitrogen fixation in red clover. Plant and Soil. p. 27-31. Volume especial.
- OLIKER, M. ; POLJAKOFF - MAYBER e A. M. MAYER, 1978. Changes weight nitrogen accumulation, respiration and photosynthesis during growth and development of seeds and pods of *Phaseolus vulgaris*. Amer. J. Bot., 65(3): 366-371.
- ORME-JOHNSON, W. H., 1977. Biochemistry of nitrogenase. In: NEWTON, W. ; J. R. POSTGATE e C. RODRIGUEZ-BARRUECO. Recent Development in Nitrogen Fixation. New York. Academic Press. p. 131-178.



- ORME-JOHNSON, W. H. ; L. C. DAVIS ; M. T. HENZI ; B. A. AVE - RILL ; N. R. ORME-JOHNSON ; E. MUNCK e R. ZIMMERMAN, 1977. Components and pathways in biological nitrogen fixation. In: NEWTON, W. ; J. R. POSTGATE e C. RODRIGUEZ-BARRUECO. Recent Development in Nitrogen Fixation. New York, Academic Press. p. 131-178.
- PAZ, L. G. da, 1978. Influência do pH e da nutrição mineral na nodulação e fixação do nitrogênio molecular pelo feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*, L.), cultivado em solução nutritiva. Piracicaba, ESALQ/USP, 186 p. (Tese de Doutorado).
- RAGGIO, M. ; N. RAGGIO e J. G. TORREY, 1959. The nodulation of isolated leguminous roots. Amer. J. Bot., 44(4): 325-334.
- RAGGIO, M. ; N. RAGGIO e J. G. TORREY, 1965. The interaction of nitrate and carbohydrate in Rhizobial root nodule formation. Plant Physiology, 40(4): 601-606.
- RICHARDSON, D. A. ; D. C. JORDAN e E. H. GARRARD, 1957. The influence of combined nitrogen on nodulation and nitrogen fixation by *Rhizobium meliloti* dangeard. Cann. Journ. Bot., 37: 205-214.
- RIGAUD, J., 1976. Effect de nitrate sur la fixation d'azote par les nodules de haricot (*Phaseolus vulgaris*, L.). Phy sioloque Végétale, 14(2): 297-308.
- RIVERO, C. R. ; O. C. T. GIRALDO e P. H. GRAHM, 1976. Comparación de nodulación y fijación de nitrogeno por *Rhizobium* en frijol (*Phaseolus vulgaris*, L.) y soya (*Glycine max* (L.) Merril.). Acta Agronomica, 26(3/4): 104-115.

- ROTHAMSTED REPORT, 1976. Nodulation and nitrogen fixation. Part 1. p. 154-292.
- RUSCHEL, A. P. e H. W. REUZER, 1973. Desenvolvimento da nodulação e fixação simbiótica de nitrogênio em variedades de soja, em diferentes estádios de desenvolvimento da planta. Pesq. Agropec. Bras. Ser. Agron., 8: 251-256.
- RUSCHEL, A. P. ; R. RUSCHEL ; D. L. ALMEIDA e A. R. SUHET, 1974. Influência do nitrogênio mineral e orgânico na fixação simbiótica de nitrogênio em soja. Pesq. Agropec. Bras. 9: 125-129.
- RUSCHEL, A. P. e R. RUSCHEL, 1975. Avaliação da fixação simbiótica de nitrogênio em feijão. Pesq. Agropec. Bras. Ser. Agron. 10: 11-17.
- RUSCHEL, A. P. ; S. M. T. SAITO e P. B. VOSE, 1976. Variation in nodulation, nitrogen fixation and efficiency of nitrogen conversion in different cultivars of beans (*Phaseolus vulgaris*). VI Reun. Soc. Latino Americana de Fis. Veg., Campinas, SP. In: Reunião Latino Americana de Fisiologia Vegetal, Campinas, 1976. (no prelo).
- RUSCHEL, A. P., 1979. Fixação biológica de nitrogênio. In: FERRI, M. G., Coord. Fisiologia Vegetal. São Paulo, EDUSP, v. 1. p. 167.
- SCHRAUSER, G. N., 1977. Nitrogenase model systems and the mechanism of biological nitrogen reduction: advances since 1947. In: NEWTON, W. ; J. R. POSTGATE e C. RODRIGUEZ BARRUECO, Eds. Recent Developments in Nitrogen Fixation. Londres, Academic Press, p. 109-118.

- SCHUBERT, K. R. e H. J. EVANS, 1976. Hydrogen evolution: a major factor affecting the efficiency of nitrogen fixation in nodulated symbionts. Proc. Nat. Ac. Sci. USA, 73(4): 1207-1211 .
- SHANMUGAN, K. T. ; F. O'GARA ; K. ANDERSEN e R. C. VALENTINE, 1978. Biological nitrogen fixation. Ann. R. Plant. Phys. 29: 263-276.
- SKINNER, K. J., 1976. Nitrogen fixation. C. & EN. pp. 23-35. Trad. D. Scholler e J. R. J. Freire. UFRGS. Porto Alegre..
- SMALL, J. G. C. e O. A. LEONARD, 1969. Translocation of <sup>14</sup>C labeled photosynthate in nodulated leges as influenced by nitrate nitrogen. Amer. J. Bot., 56(2): 187-194.
- SRIVASTAVA, H. S. ; P. A. JOLLIFFE e V. C. RONECKLES, 1975a. The effects of environmental conditions on the inhibition of leaf gas exchange by NO<sub>2</sub>. Can. J. Bot., 53: 475-482.
- SRIVASTAVA, H. S. ; P. A. JOLLIFFE e V. C. RONECKLES, 1976b. Inhibition of gas exchange in bean leaves by NO<sub>2</sub>. Can. J. Bot., 53(4): 446-474.
- TANNER, J. W. e I. C. ANDERSON, 1963. An external effect of inorganic nitrogen in root nodulation. Nature, 198(4877): 303-304.
- VILANOVA, J. R. e J. F. LARIOS, 1972. Efecto de interacción del ácido giberelico y sulfato de amônio en el crecimiento de tres variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris*, L.). Turrialba, 22(3): 293-298.

- VINCENT, J. M., 1965. Environmental factors in the fixation of nitrogen by the legume. In: BARTHOLOMEW, W. V. e F. CLARK. Soil Nitrogen. Madison, American Society of Agronomy. Cap. 11. p. 384-408.
- VON BÜLOWF, W., 1977. Plant influence in symbiotic nitrogen fixation. In: DOBEREINER, J., Ed. Limitations and Potentials for Biological Nitrogen Fixation in Tropics. New York, Phenum Press. p. 75-94.
- WALLACE, A. e R. T. ASHCROFT, 1956. Preliminary comparisons on the effects of urea and other nitrogen sources of the mineral composition of rough lemon and bean plants. Amer. Soc. Hort. Sci., 68: 227-233.
- YATES, M. G., 1977. Physiological aspects of nitrogen fixation. In: NEWTON, W. ; J. R. POSTGATE e C. RODRIGUEZ-BARRUECO. Recent Developments in Nitrogen Fixation. London, Academic Press, p. 219-270.
- ZSOLDOS, F., 1971. Ammonium and nitrate ion uptake by plants. In: International Atomic Energy Agency. Nitrogen-15 in soil-plant studies. Vienna. p. 81-89. (Panel Proceedings Series)

9 - APÊNDICE

APÊNDICE 1 - Peso seco da raiz e da parte aérea e peso total da planta de doze cultivares de feijoeiro cultivada em solução nutritiva com dois níveis de nitrogênio, 42 ppm (sem inoculação) e 4,2 ppm (inoculada), colhidas na última época de amostragem, 30 dias após o transplante (40 dias de idade). 1º Experimento

Cultivares	42 ppm de N			4,2 ppm de N		
	Matéria seca (g)	Raiz (g)	Total	Matéria seca (g)	Raiz (g)	Total
Carioca	2,91	0,33	3,24	0,39	0,13	0,52
Rosinha	5,97	0,92	6,89	0,56	0,19	0,75
Bico de ouro	4,11	0,73	4,84	0,64	0,15	0,79
Rico 23	2,88	0,54	3,42	0,41	0,13	0,54
Goiano precoce	2,52	0,36	2,88	0,62	0,13	0,75
Rio Tibagi	2,45	0,33	2,78	0,38	0,20	0,58
Roxinho precoce	2,13	0,28	2,41	0,34	0,12	0,46
Cuva 168 N	5,80	0,75	6,55	0,54	0,16	0,70
L 29	4,99	0,65	5,64	0,47	0,14	0,61
Tayhū	2,91	0,93	3,84	0,51	0,14	0,65
Porrillo 70	5,53	0,74	6,27	0,57	0,11	0,68
Venezuela 350	3,64	0,61	4,25	0,54	0,13	0,67

APÊNDICE 2 - Peso de matéria seca, de raiz e peso total da planta de doze cultivares de feijoeiro cultivados em solução nutritiva com dois níveis de nitrogênio, 42 ppm (sem inoculação) e 4,2 ppm (inoculada), colhido na última época (30 dias após o transplante, 40 dias de idade). Média de três repetições. 2º Experimento

Cultivares	42 ppm de N			4,2 ppm de N		
	Matéria seca (g)	Raiz (g)	Total	Matéria seca (g)	Raiz (g)	Total
Porrillo sintético	1,94	0,26	2,20	0,52	0,24	0,76
Aroana	1,84	0,28	2,12	0,62	0,40	1,02
Moruna	1,56	0,25	1,81	0,56	0,39	0,95
Carioca precoce	3,62	0,54	4,16	0,74	0,55	1,29
51051	1,18	0,16	1,34	0,37	0,27	0,64
N 159	1,86	0,23	2,09	0,68	0,28	0,96
Carioca	1,17	0,20	1,37	0,72	0,36	1,08
México 309	2,06	0,20	2,26	0,65	0,25	0,90
Negro 325	2,38	0,26	2,64	0,55	0,30	0,85
Ica pijao	3,09	0,40	3,49	0,84	0,36	1,20
Comp. chimaltengo	1,74	0,37	2,11	0,61	0,17	0,78
Venezuela 350	1,44	0,21	1,65	0,77	0,23	1,00

APÊNDICE 3 - Peso de matéria seca, da raiz e peso total da planta de 16 cultivares de feijoeiro em solução nutritiva com dois níveis de nitrogênio, 42 ppm (sem inoculação) e 4,2 ppm (inoculada) colhido na última época de amostragem, 30 dias após o transplante (40 dias de idade). Média de três repetições. 3º Experimento

Cultivares	42 ppm de N			4,2 ppm de N		
	Matéria seca (g)	Raiz (g)	Total	Matéria seca (g)	Raiz (g)	Total
Comp. neg. chimal.	8,88	1,86	10,74	1,12	0,51	1,63
Charque 2	9,05	1,80	10,85	1,59	0,24	1,83
Magdalena 9	9,00	1,74	10,74	0,89	0,41	1,30
Preto 143	10,29	1,61	11,90	1,31	0,47	1,79
Chumbinho	7,90	1,77	9,67	0,76	0,49	1,25
Vagem roxa cacho	15,98	0,52	16,50	0,78	0,38	1,16
Sacavem	7,44	1,67	9,11	1,50	0,51	2,01
Paulisa branco	10,16	2,15	12,31	1,26	0,40	1,66
Fosco vermelho	6,42	1,18	7,60	0,91	0,37	1,28
Iguaçu	7,55	2,61	10,16	1,45	0,24	1,69
Trujillo 3	9,55	1,68	11,23	1,65	0,34	1,99
26003	10,08	1,39	11,47	1,66	0,44	2,10
México 262	10,58	2,28	12,86	1,32	0,66	1,98
Brasil 343	8,10	1,89	9,99	1,652	0,44	2,06
Venezuela 350	7,33	1,87	9,20	1,45	0,43	1,88
Paranazinho	7,62	1,47	9,09	1,56	0,27	1,83



APÊNDICE 4 - Análise da variância dos dados onde se testa o potencial de absorção iônica e de fixação simbiótica de nitrogênio de culturas de feijoeiro em solução nutritiva (1º Experimento)

Causas da variação	F				
	Peso de matéria seca	Nitrogênio total	Ativ. red. nitrato	Peso nódulos	
Soluções	990,32 **	8.030,10 **	18.497,39 **	--	
Cultivares	87,16 **	21,76 **	55,30 **	4,21 **	
Soluções x Cultivares	60,08 **	16,95 **	49,19 **	--	
Épocas	1.342,15 **	585,42 **	945,28 **	449,80 **	
Soluções x Épocas	1.142,82 **	442,95 **	699,58 **	--	
Cultivares x Épocas	48,69 **	21,36 **	82,14 **	4,18 **	
Sol. x Cult. x Épocas	41,32 **	17,68 **	79,62 **	--	

(\*\*) Significativo ao nível de 1%

APÊNDICE 5 - Análise da variância dos dados onde se testa o potencial de absorção iônica e de fixação simbiótica de nitrogênio de culturas de feijoeiro em solução nutritiva (2º Experimento)

Causas da variação	F			
	Peso de matéria seca	Nitrogênio total	Ativ. red. nitrato	Peso nódulos
Soluções	1.338,74 **	2.476,28 **	3.121,52 **	--
Cultivares	75,43 **	199,41 **	107,50 **	34,25 **
Soluções x Cultivares	42,29 **	155,59 **	100,51 **	--
Épocas	946,92 **	2.166,83 **	274,39 **	235,84 **
Soluções x Épocas	458,46 **	1.617,47 **	451,19 **	--
Cultivares x Épocas	17,52 **	46,22 **	75,06 **	24,56 **
Sol. x Cult. x Épocas	19,24 **	55,64 **	69,42 **	--

(\*\*) Significativo ao nível de 1%

APÊNDICE 6 - Análise da variância dos dados onde se testa o potencial de absorção iônica e de fixação simbiótica de nitrogênio de culturas de feijoeiro em solução nutritiva (3º Experimento)

Causas da variação	F				
	Peso de matéria seca	Nitrogênio total	Ativ. red. nitrato	Peso nódulos	
Soluções	182.673,69 **	13.871,90 **	75,61 **	--	
Cultivares	17,26 **	17,22 **	45,95 **	7,65**	
Soluções x Cultivares	22,60 **	20,79 **	33,04 **	--	
Épocas	2.126,58 **	1.428,88 **	242,84 "	69,79 **	
Soluções x Épocas	1.469,42 **	1.139,10 **	528,62 **	--	
Cultivares x Épocas	11,17 **	31,82 **	33,64 **	8,12 **	
Sol. x Cult. x Épocas	12,38 **	33,02 **	19,66 **	--	

(\*\*) Significativo ao nível de 1%

APÊNDICE 7 - Análise da variância do experimento onde se testa diversas fontes de nitrogênio na absorção iônica e fixação simbiótica do nitrogênio em duas cultivares de feijoeiro

Causas da variação	F				
	Peso matéria seca	Nitrogênio total	Ativ. red. nitrato	Peso da raiz	Peso de nódulos
Soluções	702,77 **	1.240,79 **	292,45 **	112,13 **	---
Fontes	20,98 **	25,41 **	11,50 **	15,25 **	26,82 **
Cultivares	48,67 **	60,41 **	32,66 **	75,95 **	17,09 **
Épocas	445,54 **	287,87 **	44,62 **	242,57 **	63,22 **
Épocas x Soluções	233,09 **	181,43 **	0,67 ns	52,84 **	---
Épocas x Fontes	8,60 **	4,30 **	1,05 ns	7,08 **	9,02 **
Soluções x Fontes	27,74 **	26,57 **	10,28 **	19,09 **	---
Épocas x Cultivares	4,28 *	6,34 *	9,19 **	8,21 **	1,98 **
Soluções x Cultivares	11,11 **	26,92 **	0,04 ns	3,92 *	---
Fontes x Cultivares	1,36 ns	2,59 *	1,60 ns	2,67 *	3,68 ns
Épocas x Sol. x Fontes	8,59 **	4,73 **	1,71 ns	2,76 *	---
Épocas x Sol. x Cult.	3,80 ns	7,69 **	0,03 ns	10,15 **	---
Épocas x Fontes x Cult.	1,99 ns	1,86 ns	1,89 ns	3,11 **	2,02 ns
Sol. x Fontes x Cult.	3,59 *	5,88 **	1,24 ns	2,92 *	---

(\*\*) Significativo ao nível de 1%

(\* ) Significativo ao nível de 5%

(ns) Não significativo