

EFEITO DE FONTES DE NITROGÊNIO SOBRE A ABSORÇÃO IÔNICA, NODULAÇÃO E
FIXAÇÃO SIMBIÓTICA DE NITROGÊNIO EM FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)*

Effect of Nitrogen Sources on the Ionic Absorption, Nodulation and
Nitrogen Symbiotic Fixations in Bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

Clovis Lemos Veiga** e Alaidés Puppim Ruschel***

RESUMO

Esta pesquisa foi realizada no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) em Piracicaba, São Paulo, em 1979, e teve como principais objetivos verificar qual a fonte de nitrogênio mais adequada tanto para absorção iônica como molecular em feijoeiro e qual a cultivar mais produtiva.

O trabalho foi feito em solução nutritiva de Hoagland, em casa de vegetação, utilizando-se as seguintes fontes de N: sulfato de amônio, nitrato de potássio, nitrato de amônio, uréia e duas misturas de sulfato e nitrato de sódio nas proporções 1:1 e 1:3. Utilizaram-se duas cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), Venezuela 350 e Ica pijao, sendo um tratamento com 42ppm de N, sem inoculação e outro com 4,2ppm de N com plantas inoculadas com uma mistura de três estirpes de *Rhizobium phaseoli* (C-05, C-19 e 127-K-17). A partir dos dados obtidos concluiu-se que: a cultivar Ica pijao mostrou ser mais produtiva do que a Venezuela 350; o sulfato de amônio e a mistura $\text{NM}_4^+/\text{NO}_3^-$ 1:3 determinaram maior aproveitamento do N fixado, sendo que o nitrato de potássio determinou maior peso de nódulos e maior atividade da nitrogenase e que o sulfato de amônio quando em concentração alta, determinou a queda das folhas.

UNITERMOS: Fixação de nitrogênio, Feijão, Absorção iônica.

SUMMARY

This research was carried out at Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), Piracicaba, São Paulo, in 1979. The main objectives were: To verify the better nitrogen source for both ionic and molecular

* Parte da Tese de Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas do primeiro autor, realizada na ESAIQ, Piracicaba - SP.

** Prof. Adjunto do Departamento de Zootecnia - UFSM. 97.119 - Santa Maria - RS.

*** Engenheiro Agrônomo, pesquisador do CENA. 13.400 - Piracicaba - SP.

N absorption, using bean (*Phaseolus vulgaris*) as a plant test, and to determine the most productive cultivar.

The experiment was performed in a Hoagland nutritive solution, in a Green-house. The following nitrogen sources were used: ammonium sulphate, potassium nitrate, ammonium nitrate, urea, and two ammonium sulphate and sodium nitrate mixtures, 1:1 and 1:3 ratio. Two bean plant cultivars were used: Venezuela 350 and Ica pijao. There were imposed two treatments: One with a 42ppm nitrogen concentration without inoculation and the other one, a 4.2ppm nitrogen, inoculated with a mixture of C-05, C-19 and 127-K-17 *Rhizobium phaseoli* strains. It were concluded that: the Ica pijao cultivar was more productive than the Venezuela 350 cultivar; the ammonium sulphate, ammonium nitrate and $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 1:3 ratio determined both more nodules weight and nitrogenase activity and the high concentration ammonium sulphate caused the drops of leaves. KEY WORDS: Nitrogen fixation, Bean, Ionic absorption.

INTRODUÇÃO

O aumento de produtividade do feijoeiro é algo que se impõe visto que esta leguminosa faz parte da alimentação básica da América Latina. Muitos trabalhos tem sido feitos usando-se doses crescentes de nitrogênio, entretanto poucos são aqueles onde se pesquisa qual a fonte ou forma de nitrogênio mais adequada para uma boa nodulação e fixação de nitrogênio e melhor desenvolvimento da planta.

As diferentes cultivares reagem de modo distinto com respeito à fixação do nitrogênio. Isto é causado por diferenças fisiológicas existentes entre elas, determinadas por fatores genéticos (EVANS, 6).

A inibição da fixação de nitrogênio pelo nitrogênio mineral é fato sobejamente conhecido (RIGAUD, 25; GIBSON & PAGAN, 11), sendo a fixação inibida por produtos que são facilmente convertidos em amoníaco como nitrato, nitrito, uréia e aminoácidos (MALAVOLTA, 17; MALAVOLTA et alii, 18). Isto é causado pela inibição da síntese da nitrogenase e sua atividade (FRANCO, 9), e pela produção de senescência da massa modular (GIBSON, 10). Entretanto, pequenas doses de nitrogênio são necessárias para dar início ao desenvolvimento dos nódulos (GUSS & DOBEREINER, 12). MUNNS (20) observou que com teores maiores do que 0,02mMol já houve inibição na nodulação, mas PAZ (23) encontrou que até 1,2mMol determinou aumento na nodulação e na atividade da nitrogenase.

O efeito nocivo do nitrato sobre a nodulação é um fato admitido por diversos pesquisadores, mas a intensidade de inibição varia com o

hospedeiro, estirpe utilizada e época de aplicação (3, 4, 7, 15, 27).

NETLES (22) 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 usadas ($\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ 1:1 1/2 de NO_3^-) e ambas as fontes continham nitrogênio na forma amoniacal superaram as de NO_3^- . Julgou o autor que este fato foi devido à maior lixiviação do nitrato pelas águas da chuva. Por outro lado, WALLACE & ASHCROFT (29), encontraram resultados contraditórios trabalhando com areia em casa de vegetação, isto é, o tratamento com NH_4^+ , determinaram a queda prematura das folhas e, conseqüentemente, baixa produção de matéria seca. Este efeito foi também verificado por MC ELHANNON & MILLS (19).

A fonte amoniacal provoca um efeito detrimental sobre a nodulação, quando em doses elevadas, substituindo a fixação simbiótica pela absorção iônica (1, 2, 24, 26).

Quando se usa a mistura NH_4^+ com NO_3^- , como fonte de nitrogênio, parece haver uma preferência do feijoeiro pela relação $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 3:1 (MC ELHANNON & MILLS, 19).

A uréia pode ser absorvida como uma molécula indestrutível pelo feijoeiro, o que foi verificado por HENTSCHEL (16) usando inibidores da atividade metabólica. CARTWRIGHT & SNOW, (5) verificaram que a uréia diminui a nodulação, mas RUSCHEL et alii (26) e VON BULOW (28) encontraram que a uréia é uma das fontes de nitrogênio que causa menores prejuízos.

Os principais objetivos deste trabalho foram verificar o efeito de cultivar na absorção das diversas fontes de nitrogênio; o efeito de fontes de nitrogênio na fixação simbiótica de nitrogênio, e o efeito das diversas fontes na absorção de nitrogênio na forma iônica e seus efeitos na produtividade da planta.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação com solução nutritiva e as cultivares usadas como teste foram Venezuela 350 e Ica pijao. A solução básica sobre a qual foram adicionados os tratamentos figura na Tabela 1.

Os tratamentos utilizados foram: sulfato de amônio, nitrato de potássio, nitrato de amônio, uréia e sulfato de amônio + nitrato de sódio nas proporções de 1:1 e 1:3. Foram usadas duas concentrações de nitrogênio, 42ppm, sem inoculação e 4,2ppm com plantas inoculadas.

TABELA 1. Formulação química da solução nutritiva básica sobre a qual foram usados os tratamentos de fontes de nitrogênio.

Substância química (p.a.)	Molaridade	ml/litro de solução
MgSO ₄ .7H ₂ O	1,00 M	0,4
K ₂ SO ₄	0,50 M	1,0
Ca(H ₂ PO ₄) ₂ .2H ₂ O	0,05 M	2,0
CaSO ₄ .2H ₂ O	0,01 M	40,0
Solução de micronutrientes	-	0,2
Solução de Fe-EDTA	-	0,2

OBS.: Quando a fonte de nitrogênio foi de NO₃⁻ o K₂SO₄, foi substituído por KNO₃ e o Ca(H₂PO₄)₂ por KH₂PO₄ para equilibrar a solução em íon K⁺.

As sementes foram postas a germinar, inoculadas e sem inoculação, separadamente, em bandejas contendo vermiculita e regadas com solução básica esterilizada. Foram transplantadas para a solução com os tratamentos de fontes de nitrogênio, quando as plantas inoculadas apresentavam nódulos.

As amostragens foram feitas em duas épocas, 20 e 40 dias após o transplante e avaliados os seguintes parâmetros: peso da matéria seca da parte aérea e das raízes, peso do nódulos, atividade da redutase de nitrato e da nitrogenase.

As plantas foram colhidas cuidadosamente e as raízes destacadas. No tratamento sem inoculação foram levadas à estufa para posterior pesagem, as noduladas foram levadas para o laboratório para a avaliação da atividade de nitrogenase, pelo método da redução do acetileno, segundo HARDY et alii, (13). Após, os nódulos foram destacados e ambos levados para secagem em estufa para posteriormente serem pesados. A parte aérea foi usada, em estudo natural, como amostragem para a avaliação da atividade da redutase de nitrato pelo método de HARPER et alii (14), e posteriormente secadas em estufa e pesada. O nitrogênio foi determinado pelo método do micro Kjeldahl e o nitrogênio total calculado a partir do peso da parte aérea.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e o esquema em parcelas sub-divididas com 4 repetições. Usou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade para a comparação das médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Tabelas 2 e 3 apresentam os valores de peso de matéria seca da parte aérea e de nitrogênio total, respectivamente das duas cultivares, em função das fontes de nitrogênio a que foram submetidas.

Observando-se os dados de peso de matéria seca, no tratamento sem inoculação (42ppm de N), verifica-se que parece não haver preferência a qualquer das fontes de nitrogênio, em especial, pois não houve diferenças significativas para as duas cultivares em estudo, em cada época de amostragem. A absorção de nitrogênio (Tabela 3) foi maior quando oferecido na forma de nitrato de amônio, para a cultivar Venezuela 350. A Ica pijao não mostrou preferência entre as formas nitríca e amoniacal. Embora a maioria das plantas prefira o nitrogênio na forma nitríca (WALLACE & ASHCROFT, 29; MC ELHANNON & MILLS, 19), elas absorvem o nitrogênio também na forma amoniacal (MALAVOLTA, 17; ZSOLDOS, 30). Pelos valores de peso de matéria seca e de nitrogênio total, observa-se que a cultivar Ica pijao tem maior capacidade de absorção de nitrogênio e produção de matéria seca do que a Venezuela 350.

Com relação as plantas inoculadas (4,2ppm de N) verifica-se que na primeira época os resultados foram similares, não havendo diferenças significativas, ao passo que na segunda época nota-se variação entre tratamentos, sendo que as fontes contendo os dois íons (NH_4^+ e NO_3^-) determinaram maior crescimento da parte aérea. Esta mesma observação é válida para os valores de nitrogênio total.

O tratamento com dosagem maior de nitrogênio, quando aplicado na forma de sulfato de amônio, influi negativamente na produção de matéria e na absorção de nitrogênio. Isto foi devido à acidificação do meio (MALAVOLTA, 17; FASSBENDER, 8) determinando a queda das folhas, como já havia sido observado por WALLACE & ASHCROFT, 29; MC ELHANNON & MILLS, 19. Este efeito não foi observado no tratamento com inoculação, pois a concentração de sulfato de amônio foi 10 vezes menor do que no tratamento sem inoculação.

O sulfato de amônio, para a cultivar Ica pijao, com inoculação, determinou maiores valores de nitrogênio e de matéria seca do que as demais fontes.

Observando-se os valores da atividade da redutase de nitrato, Tabela 4, verifica-se que estes valores nas plantas inoculadas foram menores do que nas não inoculadas, estando plenamente de acordo com a literatura. No tratamento com 42ppm de N, ambas as cultivares estudadas

TABELA 2. Valores de peso de matéria seca da parte aérea (g/pl) de duas cultivares de feijoeiro, inoculadas e sem inoculação, colhidas de duas épocas de amostragem e submetidas a seis (6) fontes de nitrogênio. Médias de quatro (4) repetições.

Fontes de Nitrogênio	Sem inoculação (42ppm de N)						Inoculadas (4,2ppm de N)					
	Venezuela 350			Ica pijao			Venezuela 350			Ica pijao		
	20	40	40	20	40	40	20	40	40	20	40	40
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,59c	1,91b	1,91b	1,15b	1,82c	1,82c	0,65a	0,99c	0,99c	1,24a	1,82a	1,82a
KNO_3	1,53ab	4,15a	4,15a	2,18a	7,64a	7,64a	0,61a	0,91a	0,91a	0,67a	1,29b	1,29b
NH_4NO_3	1,93a	5,76a	5,76a	2,29a	6,57ab	6,57ab	0,68a	1,41a	1,41a	0,99ab	1,60ab	1,60ab
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	1,77a	5,27a	5,27a	1,97a	6,50ab	6,50ab	0,50a	0,98c	0,98c	0,82bc	1,26b	1,26b
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ 1:1	1,05bc	4,07ab	4,07ab	1,81ab	4,91b	4,91b	0,61a	1,17b	1,17b	0,92bc	1,32b	1,32b
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ 1:3	1,82a	4,11a	4,11a	2,51a	5,18b	5,18b	0,59a	1,10b	1,10b	0,81bc	1,45ab	1,45ab
Médias épocas	1,45B	4,21A	4,21A	1,93B	5,43A	5,43A	0,61B	0,92A	0,92A	0,91B	1,45A	1,45A
Médias soluções				3,27A						1,00B		
C.V. %	17,7	34,0	34,0	16,6	6,0	6,0	15,59	7,3	7,3	13,42	14,3	14,3
DMS Tukey 5%	0,56	2,73	2,73	0,73	1,75	1,75	0,38	0,18	0,18	0,27	0,47	0,47

Valores seguidos da mesma letra minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

TABELA 3. Valores de nitrogênio total da parte aérea (mg/pl) de duas cultivares de feijoeiro, inoculadas e sem inoculação, colhidas em duas épocas de amostragem e submetidas a 6 fontes de nitrogênio. Médias da 4 repetições.

Fontes de nitrogênio	Sem inoculação (42ppm de N)				Inoculadas (4,2ppm de N)			
	Venezuela 350		Ica pijao		Venezuela 350		Ica pijao	
	20	40	20	40	20	40	20	40
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	25,85d	85,55c	48,82bc	61,05c	10,97b	20,02b	26,12a	40,85a
KNO_3	59,32c	148,25ab	83,60ab	224,40a	14,30ab	20,45b	14,05b	21,12cd
NH_4NO_3	111,50a	171,75a	119,37a	204,62ab	17,37a	29,60a	24,45a	33,65b
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	73,30b	121,52b	73,37ab	165,55b	11,92b	17,65b	24,67a	24,70c
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ 1:1	45,55c	115,62b	90,90ab	214,37ab	15,60ab	34,20a	23,45a	32,35bc
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ 1:3	71,27b	138,05ab	90,95ab	196,70ab	13,80ab	20,70b	15,70b	26,55c
Médias épocas	52,58B	130,12A	84,50B	177,78A	13,99B	24,82A	21,40B	29,87A
Médias soluções		114,22A				22,26B		
C.V.%						26,5%		

Valores seguidos da mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

TABELA 4. Valores da atividade da redutase de nitrato (Mol de $\text{NO}_2/\mu\text{l}$) de duas cultivares de feijoeiro inoculados e sem inoculação, colhidas em duas épocas da amostragem, submetidas a 6 fontes de nitrogênio. Média de 3 repetições.

Fontes de nitrogênio	Sem inoculação (42ppm de N)				Inoculadas (4,2ppm de N)			
	Venezuela 350		Ica pijao		Venezuela 350		Ica pijao	
	20	40	20	40	20	40	20	40
KNO_3	1,66b	1,88a	2,30a	1,94a	0,95ab	0,87a	1,53a	1,07a
NH_4^+NO_3	2,20a	1,69b	2,30a	1,82ab	1,07a	1,11a	1,49a	1,02a
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ 1:1	1,42b	1,34c	1,77b	1,24b	1,14ab	0,91a	1,45a	1,07a
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ 1:3	1,76b	1,39bc	2,08ab	1,79ab	1,04b	0,88a	1,11b	0,98a
Médias épocas	1,76a	1,55b	2,11a	1,56b	1,05a	0,94b	1,39a	1,03b
Médias soluções	1,78a		1,10b					
C.V. (%)	48,7	35,9	29,8	44,3	71,0	37,7	27,1	30,3

Valores seguidos da mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

apresentaram maior atividade da redutase de nitrato, no tratamento cuja fonte era nitrato de amônio, do que nas demais fontes. Esta resposta é lógica pois o nitrato de amônio possui maior percentagem de NO_3^- do que as demais fontes. Também neste aspecto a cultivar Ica pijao supera a Venezuela 350, razão porque foi superior tanto em nitrogênio total como no peso de matéria seca da parte aérea.

Na 2ª época de amostragem, as fontes onde as plantas obtiveram maior nodulação, Tabela 5, foram nitrato de potássio e sulfato de amônio, e a maior atividade da nitrogenase na fonte KNO_3 . O fato encontrado na literatura de que tanto o íon amoniacaal como o nitrato são prejudiciais à nodulação (FRANCO, 9; MUNNS, 21) é real, entretanto, a concentração de nitrogênio usada no presente trabalho não ultrapassou o limite encontrado por PAZ (23). Nota-se que a atividade da nitrogenase diminuiu na 2ª época de amostragem (40 dias) em todas as fontes indicando um decréscimo na fixação do nitrogênio. O fato de que os teores de nitrogênio total não decrescerem, Tabela 3, dão a idéia que são muitos os eventos até a formação da matéria vegetal, os quais não foram estudados neste trabalho.

Analisando os dados da relação entre peso da matéria seca do tratamento com inoculação e do tratamento onde as plantas não foram inoculadas, Tabela 6, pode-se observar que houve efeito diferencial entre as fontes. Estes resultados estão correlacionados entre as duas cultivares em estudo. Os valores altos de 51,93 e 100,21% para as cultivares Venezuela 350 e Ica pijao, respectivamente, tendo como fonte o sulfato de amônio, indica apenas que houve perda das folhas (WALLACE & ASHCROFT, 29) provocada pela acidez do meio. A cultivar Ica pijao mostrou ser mais resistente a este fenômeno.

CONCLUSÕES

Os dados obtidos nas condições em que foi realizado o experimento permitem concluir:

- Houve efeito diferencial entre as duas cultivares testadas, sendo a cv Ica pijao de maior capacidade de absorção de nitrogênio e produção de matéria seca do que a Venezuela 350.
- As fontes que determinaram maior aproveitamento do nitrogênio fixado na formação de MS foram sulfato de amônio, nitrato de amônio e a mistura $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ 1:3.
- O sulfato de amônio, quando em concentração alta, produziu a queda das folhas nas duas cultivares estudadas.

TABELA 5. Valores de peso de nódulos (mg/pl) e da atividade na nitrogenase (Mol de $C_2H_4/pl/h$) de suas cultivares de feijoeiro submetidas a 6 fontes de nitrogênio. Médias de 4 repetições.

Fontes de nitrogênio	Peso de nódulos (mg/pl)				Ativ. da nitrogenase Mol/pl/h					
	Venezuela 350		Ica pijao		Venezuela 350		Ica pijao			
	20	40	\bar{x}	\bar{x}	20	40	20	40		
$(NH_4)_2SO_4$	27,50	105,70	63,37ab	108,90	144,20	126,55a	1,08	6,90	9,67	3,72
KNO_3	51,95	130,00	90,97a	77,05	134,45	105,75ab	40,30	7,10	63,90	4,76
NH_4NO_3	63,22	73,52	52,71ab	102,65	139,85	52,98c	8,32	2,76	9,87	5,01
$CO(NH_2)_2$	39,40	66,02	68,37a	44,15	61,82	121,25ab	9,44	1,68	41,87	0,89
$NH_4^+ + NO_3^-$ 1:1	52,05	95,72	73,88a	87,02	97,65	92,33b	6,66	3,66	6,64	2,64
$NH_4^+ + NO_3^-$ 1:3	47,15	27,77	37,46b	36,00	30,07	33,04c	9,64	0,22	29,42	0,89
Médias cultivares	64,96b		88,65a							

C.V. (%) = 26,6

Valores seguidos da mesma letra nas colunas não diferem significativamente pelo Teste de Tukey a 5%.

TABELA 6. Valores de peso de matéria seca (g/pl) na última época de amostragem nos tratamentos, sem inoculação (N) e inoculação (I) e relação I/N de duas cultivares de feijoeiro, submetidas a 6 fontes de nitrogênio. Médias de 4 repetições.

Fontes de nitrogênio	Venezuela 350				Ica pijao			
	N(g)		I/N(%)		N(g)		I/N(%)	
	I(g)	N(g)	I/N(%)	I(g)	N(g)	I/N(%)	I/N(%)	
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,993	1,912	51,93	1,825	1,821	100,21		
KNO_3	0,915	4,155	22,02	1,295	7,646	16,93		
NH_4NO_3	1,413	5,766	24,52	1,599	6,575	24,32		
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	0,984	5,273	18,66	1,254	6,500	19,44		
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ 1:1	1,169	4,068	28,73	1,322	4,915	26,89		
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ 1:3	1,106	4,114	26,88	1,455	5,178	28,10		

- A fonte que determinou maior peso de nódulos e maior atividade d nitrogenase foi KNO_3 .

LITERATURA CITADA

01. ALLOS, H.F. & BATHOLOMEW, W.V.. Replacement of symbiotic fixation by available nitrogen. *Soil Sci.*, 87(2):61-6, 1959.
02. BEARD, B.H. & HOOVER, R.M.. Effect of nitrogen on nodulation and yield of irrigated soybeans. *Agron. J.*, 63:815-6, 1971.
03. BETHLENFALWAY, G.D. & PHILLIPS, D.A.. Ontogenic interactions between photosynthesis and symbiotic nitrogen fixation of legumes. *Plant Phys.*, 60(3):419-21, 1977.
04. CARTWRIGHT, P.M.. The effect of combined nitrogen on the growth and inoculation of excised roots of *Phaseolus vulgaris*, L, *Ann.Bot.*, 31:309-21, 1967.
05. CARTWRIGHT, P.M. & SNOW, D.. The influence of foliar application of urea and the nodulation patterns of certain leguminous species. *Ann. Bot.*, London, 26(10):251-9, 1962.
06. EVANS, H.J., *Enhancing biological nitrogen fixation*. Washigton, National Science Foundation, 1975. 32p.
07. EZEDINMA, F.O.C.. 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):243-7, 1964.
08. FASSBENDER, H.W.. *Química de suelos*, Turrialba, Instituto Interamericano de Ciências Agrárias, 1975. 390p.
09. FRANCO, A.A.. Nutritional restraints for tropical grains legume symbiosis. In: VINCENT, J.M.; WITNEY, A.S. & BOSE, J. *Exploiting the Legume Rhizobium Symbiosis in Tropical Agriculture*. Proceedings. Hawaii, University of Hawaii. 1976. p.237-251 (College of Tropical Agriculture Miscellanius Publication, 145).
10. GIBSON, A.H.. Consideration of the growing legume as a symbiotic association. *Proc.Ind.Nat.Sci.Acad.*, 40:741-67, 1974.
11. GIBSON, A.H. & PAGAN, J.D.. Nitrate effects on the nodulation of legumes inoculated with nitrate reductase deficient mutants of *Rhizobium*. *Planta*, 134:17-22, 1977.
12. GUSS, A. & DOBEREINER, J.. Efeito da adubação nitrogenada e temperatura do solo na fixação do nitrogênio em feijão (*Phaseolus vulgaris*). *Pesq.agropec.bras.*, 7:87-92, 1972.
13. HARDY, R.W.; HOLSTEN, R.D.; JACKSON, K.E. & BURNS, R.C.. Acetylene-ethylene assay for N_2 fixation. Laboratory and field evaluation. *Plant Phys.*, 43:1185-207, 1968.
14. HARPER, J.E.; NICHOLAS, J.C. & HAGEMAN, R.H.. Seasonal and canopy variation in nitrate reductase activity in soybean leaves. *Plant Phys.*, 49:448-50, 1972.
15. HATFIELD, J.L.; LEGGET, J.E. & PEASLE, D.E.. Effect of applied nitrogen on the nodulation and early growth of soybean (*Glycine max* (L) Merrill). *Agron. J.*, 66(1):112-5, 1974.

16. HENTSCHEL, G.. The uptake and distribution of ^{15}N -labelled urea by *Phaseolus vulgaris* L. *Zeitschrift für Pflanzenzucht und Bodenkunde*, Zpceal (2):251-272, 1976.
17. MALAVOLTA, E.. *Manual de Química Agrícola*. S.Paulo, Ceres, 1967. 606p.
18. MALAVOLTA, E.; HAAG, H.P.; MELLO, F.A.F. & BRASIL SOBÒ, M.O.O. *Nutrição e adubação de plantas cultivadas*. São Paulo, Pioneira, 1974. 727p.
19. MC ELHANNON, N.S. & MILLS, H.A.. The influence of nitrogen NO_3/NH_4 on growth, nitrogen absorption and assimilation by lima beans in solution culture. *Agron.J.*, 70:1027-32, 1978.
20. MUNNS, D.N.. Nodulation of *Medicago sativa* in solution culture. II. Compensating effects of nitrate and of prior nodulation. *Plant Scil.*, 28(2):246-57, 1968.
21. MUNNS, D.N.. Soil acidity and related factors. In: VINCENT, J.M.; WITNEY, A.S. & BOSE, J. *Exploiting the legume Rhizobium-symbiosis in Tropical Agriculture*. Proceedings Works-hop, 23-28 Aug. Hawaii, 1976. University of Hawaii. 1977. p.221-236. (College of Tropical Agriculture Miscellaneous Publication, 145).
22. NETLES, V.F.. Yield response of bean to repeated use of soil fumigants and three sources of nitrogen. *Amer.Soc.Hort. Soc. Proc.*, 63:320-4, 1954.
23. PAZ, L.G. da. Influência do pH e da nutrição mineral na nodulação e fixação do nitrogênio molecular pelo feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*, L.), cultivado em solução nutritiva. Piracicaba, São Paulo, ESALQ/USP, 1978. 186p. (Tese de Doutorado).
24. RICHARDSON, D.A.; JORDAN, D.C. & GARRARD, E.H.. The influence of combined nitrogen on nodulation fixation by *Rhizobium mililoti* dangeard. *Cann.Journ.Bot.*, 37:205-14, 1957
25. RIGAUD, J.. Effect de nitrate sur la fixation d'azote par le nodule de haricot (*Phaseolus vulgaris*, L.). *Physiologia Vegetale*, 14(2):297-308, 1976.
26. RUSCHEL, A.P.; RUSCHEL, R.; ALMEIDA, D.L. & SUHET, A.R.. Influência do nitrogênio mineral e orgânico na fixação simbiótica de nitrogênio em soja. *Pesq.agrop.bras.* 9:125-9, 1974.
27. VINCENT, J.M.. Environmental factors in the fixation of nitrogen by the legume. In: BARTOLOMEW, W.V. & CLARK, F. *Soil nitrogen*. Madison. American Society of Agronomy, 1965. Chap.11. p.384-408.
28. VON BÜLOW, W.. Plant influence in symbiotic nitrogen fixation. In: DOBEREINER, J., Ed. *Limitations and potentials for biological nitrogen fixation in tropics*. New York, Plenum Press. 1977.p.75-94.
29. WALLACE, A. & ASHCROFT, R.T.. Preliminary comparisons of the effects of urea and other nitrogen sources of the mineral composition of rough lemon and bean plants. *Amer.Soc.Hort.Sci.*, 68:217-33,1956.
30. ZSOLDOS, F.. Ammonium and nitrate ion uptake by plants. In: *International Atomic Energy Agency. Nitrogen - 15 in soil plant studies*. Vienna. 1971. p.81-89. (panel Proceedings Series).