

CONSIDERAÇÕES SOBRE A FIXAÇÃO SIMBIÓTICA DO N₂ NO FEIJOEIRO COMUM.

Considerations about Symbiotic Fixation of N₂ on Common Bean

Fernando T. Nicoloso* & Osmar S. dos Santos**.

RESUMO

Este trabalho objetiva abordar a situação em que se encontram as pesquisas a nível de respostas das estirpes de rizóbio em cultivares de feijoeiro, teor de N e Mo do solo e teor de Mo das diferentes partes da planta em relação à fixação simbiótica do N₂. A extração de N pelo feijoeiro pode chegar a 425 kg/ha e a exportação a 80 kg/ha. A cultura pode utilizar para sua nutrição conjuntamente o N proveniente do solo ou de adubos e o N₂ atmosférico. Em função dos crescentes aumentos nos custos dos fertilizantes nitrogenados, tem se intensificado as pesquisas para maximizar os ganhos em N₂ fixado simbioticamente. O processo de fixação do N₂ pode ser considerado como a resultante de um sistema onde interagem a bactéria, a planta e o ambiente. As variações genotípicas dentro das espécies de rizóbio e feijoeiro mostram diversidades marcantes em potencial de fixação de N₂. Estas variações, juntamente com os fatores ambientais, formam intrincadas interações que, muitas vezes, para o feijoeiro, têm se apresentado problemáticas. Quanto maiores os teores de N no solo menor é a fixação do N₂; entretanto, teores baixos auxiliam a cultura a se desenvolver nos estádios iniciais de desenvolvimento, provocando benefícios na fixação do N₂ posteriormente. As respostas à aplicação de Mo em solos ácidos tropicais são cada vez mais frequentes. Estudos recentes sugerem que o nível crítico de Mo deve ser observado nos nódulos. A variação da concentração de Mo na planta ocorre durante todo o seu desenvolvimento. Sementes com altos teores de Mo tornam as plantas originadas destas auto-suficientes neste nutriente.

UNITERMOS: simbiose *Phaseolus vulgaris*-*Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*, nitrogênio, molibdênio.

* Eng. Agrônomo, bolsista do CNPq/RHAE em doutorado na Universidade de Leiden (The Netherlands).

** Eng. Agrônomo, Prof. Titular do Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Rurais, Univ. Federal de Sta Maria. 97119, Sta Maria, RS

SUMMARY

The objective of this paper is to review the research conducted in regard to responses of rizobia races, black bean varieties, levels of N and Mo in the soil and Mo levels in different parts of the plant and its relationship to simbiotic nitrogen fixation. Black bean can extract up to 425 kg and export up 80 kg of N per hectare. The crop can use its nutrition nitrogen originated from the soil, fertiliser or simbiotically fixed. As result of increasingly higher nitrogen fertiliser costs research to maximise simbiotically fixed N has increased. The process of nitrogen fixation is resulted of an interaction between bacteria, plant and environment. There are great genotypic differences among rizobia races and black bean varieties in regard to their potencial capability to fix nitrogen. Such variability as well as environmental factors do form complex interactions that presents difficulties. The higher the N levels in the soil the lower is N₂ fixation however low N levels do help the early plant development that is favourable for latter N fixation. Responses to Mo application in acid soils are observed with increasing frequency. Recent studies suggests that critical Mo levels should be observed in the nodules. Variation on the concentration of Mo levels within the plant occurs during the whole development. Seeds with high Mo levels give origem to plants that are self-sufficient of this element.

KEY WORDS: *Phaseolus vulgaris* - *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* relationship simbiotic, nitrogen, molybdenum.

INTRODUÇÃO

O feijoeiro pode utilizar para sua nutrição tanto o nitrogênio do solo ou de adubos como também o N₂ atmosférico. Em função dos crescentes aumentos nos custos dos fertilizantes nitrogenados, tem se intensificado as pesquisas para maximizar os ganhos em N₂ fixado simbioticamente. Este processo para o feijoeiro tem-se apresentado problemático, por causa da complexidade das interações entre as estirpes de *Rhizobium*, as cultivares e os fatores ambientais. Entre os fatores ambientais destacam-se os teorés de nitrogênio do solo e de molibdênio. Este último vem sendo estudado em função de ser essencial ao processo de redução do N₂ e por ser deficiente na maioria dos solos ácidos das regiões tropicais e subtropicais, onde o feijoeiro é cultivado.

Este trabalho pretende informar e avaliar a situação em que se encontram os principais fatores envolvidos no processo de fixação simbiótica do N₂ na cultura do feijoeiro.

ABSORÇÃO E EXPORTAÇÃO DE N

O nitrogênio é componente essencial das proteínas e de outras biomoléculas indispensáveis ao metabolismo das plantas.

Há décadas foi constatado que o feijoeiro, mesmo sendo cultura de ciclo curto, necessita de quantidades elevadas de nitrogênio. HAAG et alii (1967), trabalhando em casa de vegetação, verificaram que uma produção média de 500 kg de grãos/ha exporta 14,3 kg de N. Em trabalho semelhante, COBRA NETO et alii (1971), em condições de campo, constataram que uma população de 250.000 plantas/ha extrai 102 kg de N. Já AMARAL et alii (1980), estudando as exigências em diversos nutrientes e potencial de produção de 80 cultivares de feijoeiro, observaram que a extração de N variou entre limites de 50 a 425 kg/ha e a exportação entre 10 e 80 kg/ha.

O feijoeiro pode utilizar duas fontes de nitrogênio para sua nutrição: o N (nitrato e amônio) proveniente do solo através da mineralização dos compostos orgânicos nitrogenados ou de adubos e o N proveniente da fixação biológica do N₂ atmosférico, através da simbiose com o rizóbio (*Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*).

MEIRELLES et alii (1980), estudando em feijoeiro a marcha de absorção do nitrogênio proveniente do solo e do fertilizante (100 kg/ha na semeadura), observaram que o N total da planta aumentou sensivelmente dos 20 aos 60 dias após a emergência (DAE), permanecendo, a partir daí, praticamente constante até a colheita. A percentagem de N proveniente do fertilizante teve comportamento oposto, isto é, decresceu durante o ciclo até 60 DAE, permanecendo também constante a partir daí até a colheita. Foi constatado que até aos 20 DAE houve alta utilização do N-fertilizante, porém com baixa eficiência devido ao pequeno porte da cultura. No período de 20 a 40 DAE, houve aumento sensível na eficiência de utilização do N-fertilizante, a partir daí, permanecendo praticamente constante até a colheita.

A absorção do nitrogênio proveniente do fertilizante aumenta, geralmente, com o aumento das doses do adubo. LIBARDI & REICHARDT (1978), estudando o destino do nitrogênio aplicado sob a forma de uréia (zero, 40 e 120 kg N/ha) durante o ciclo da cultura do feijão (13, 28 e 77

DAE), verificaram os seguintes valores em percentagem de nitrogênio na massa seca da planta derivada do fertilizante (% Ndf): para a dose de 40 kg N/ha aos 13 DAE 19,8% Ndf, aos 28 DAE 16,2% Ndf e aos 77 DAE 18,6% Ndf; e para a dose de 120 kg N/ha aos 13 DAE 29,7% Ndf, aos 28 DAE 33,9% Ndf e aos 77 DAE 38,4% Ndf. O solo deste experimento possuía altoteor de matéria orgânica, comprovado pela quantidade de N total na camada de 0 a 105 cm, no início do ciclo de 12.628 kg/ha e, no final, 12.580 kg/ha.

O exemplo descrito evidencia que a adição do fertilizante, apesar de representar uma percentagem muito pequena em relação ao armazenamento do solo, pode contribuir efetivamente na nutrição da cultura.

O estágio de desenvolvimento do feijoeiro determina o aproveitamento do adubo nitrogenado. NEPTUNE & MURAOKA (1978) verificaram diferenças significativas na eficiência de uso do fertilizante nitrogenado, sendo tanto maior quanto mais próximo da floração. O coeficiente de eficiência variou de 11,24% (30 Kg N/ha aplicado na semeadura) a 35,7% (30 kg N/ha aplicado duas semanas antes da floração). A maior taxa de utilização do N proveniente do fertilizante foi encontrada por CABALLERO et alii (1985), que foi de 75,88% aos 66 DAE coincidindo com o estágio de maior desenvolvimento das vagens.

Por outro lado, mesmo ocorrendo aumento na absorção de nitrogênio, através da sua aplicação, nem sempre é observado aumento correspondente em produção. NEPTUNE E MURAOKA (1978), utilizando a técnica da diluição isotópica do ^{15}N , não encontraram efeito das doses (15, 30, 60 e 120 kg/ha) e épocas de aplicação (semeadura, 15 dias antes da floração e na floração) na produção de grãos. Estes autores sugerem que a quantidade de N do solo mais a proveniente da fixação foram suficientes para suprir as necessidades da cultura.

Muitos pesquisadores, apesar dos poucos resultados promissores, perseguem o objetivo de aumentar os benefícios da simbiose feijoeiro-rizóbio. A utilização de inoculante eficiente do rizóbio específico, no caso de solos sem população estabelecida e/ou a correção dos fatores limitantes à formação de nódulos e a seu adequado funcionamento seria uma forma econômica de substituir, ao menos em parte, a adubação nitrogenada.

Um exemplo marcante foi obtido por HUNGRIA et alii (1985 a). Estes autores estudando os padrões de absorção e translocação do nitrogênio em sistemas simbióticos feijoeiro/rizóbio, através do método de diluição isotópica de ^{15}N , verificaram que as raízes inicialmente crescem, se desenvolvem e elaboram seu N estrutural a partir do N do fer-

tilizante ou do solo, e que após o início da fixação do N₂, o N proveniente da fixação é primeiramente translocado para a parte aérea em desenvolvimento e, mais tarde, redistribuído preferencialmente para as vagens. No caso de uma associação simbiótica eficiente, como a Negro Argel/C05, o N₂ chega a 75% do total das sementes. Este resultado é muito promissor porque se aproxima dos 89% encontrados por Eaghesham et alii, citados pelos autores, em caupi, que atinge o máximo potencial produtivo apenas com a fixação do N₂.

SIMBIOSE FEIJOEIRO-RIZÓBIO

O processo de fixação do nitrogênio atmosférico em leguminosas pode ser considerado como sendo a resultante de um sistema onde interagem a bactéria, a planta e o ambiente.

A importância da fixação biológica do N₂ pela simbiose do rizóbio com o feijoeiro tem estado sujeita a controvérsias, pois tem sido observada boa nodulação e efetiva contribuição da fixação simbiótica em casa de vegetação (FRANCO & DOBEREINER, 1968; RUSCHEL & RUSCHEL, 1975). Entretanto, a campo constatam-se esses mesmos resultados somente em determinadas ocasiões (REIS et alii, 1972; KORNELIUS et alii, 1976; NEPTUNÉ & MURAOKA, 1978; JACOB-NETO et alii, 1982; PEREIRA et alii, 1984).

A habilidade do feijoeiro em associar-se ao rizóbio e o subsequente benefício em N₂ fixado simbioticamente são dependentes de vários fatores, tais como: estirpe do rizóbio (FRANCO & DOBEREINER, 1967; RENNIE & KEMP, 1983a; BARBO, 1985), cultivar (FRANCO & DOBEREINER, 1968; WESTERMANN & KOLAR, 1978; RENNIE & KEMP, 1983b; HUNGRIA et alii, 1985a,b), hábito de crescimento da cultivar (GRAHAM & ROSAS, 1977) e capacidade da cultivar em assimilar o N fixado nos nódulos (PACOSVKY et alii, 1984). Além destes, vários fatores edáficos têm importância, como: umidade (SAITO et alii, 1982), temperatura (GUSS & DOBEREINER, 1972; RENNIE & KEMP, 1981; PIHA & MUNNS, 1987), aeração (GOEPFERT & FREIRE, 1973; KORNELIUS & FREIRE, 1974), microrganismos antagônicos (PITARD et alii, 1982), acidez do solo (FRANCO & MUNNS, 1982; LOVATO, 1984), teor de N no solo ou adicionado (PESSANHA et alii, 1972; WESTERMANN et alii, 1981), teores de cálcio (ANDREW & NORRIS, 1961; FRANCO & DOBEREINER, 1967), fósforo (JUNQUEIRA NETTO et alii, 1977), boro (RUSCHEL et alii, 1966), molibdênio (RUSCHEL et alii, 1966; RUSCHEL et alii, 1970; JACOB NETO, 1985) e de outros nutrientes.

Devido a grande complexidade das interações destes fatores, os principais, considerando os objetivos desta revisão, são abordados em Itens separados.

Efeitos de estirpes e cultivares

A maioria dos solos cultivados com feijoeiro contém geralmente populações nativas de rizóbio que competem pelos sítios de nodulação com as estirpes adicionadas através dos inoculantes.

BARBO (1985) observou que em solos com baixa população de rizóbio, a estirpe nativa SEMIA-4026 e as estirpes SEMIA-4002, SEMIA-487 e CNPAF-150 foram as mais competitivas, enquanto as estirpes CNPAF-150 e SEMIA-492 apresentaram melhor eficiência fixadora de N₂. Em solos com alta população, a estirpe nativa SEMIA-4026 e as estirpes SEMIA-487 e CNPAF-150 foram as mais competitivas, e as estirpes V-23, SEMIA-4002 foram as mais eficientes na fixação do N₂.

Observações de alguns pesquisadores (WESTERMANN & KOLAR, 1978; FRANCO et alii, 1979; PEREIRA et alii, 1984) registram que a fixação do N₂, indicada pela redução do acetileno, é baixa durante as duas primeiras semanas pós-emergência das plântulas e alcança um pico máximo na floração, declinando rapidamente após este estágio. A quantificação da atividade da nitrogenase, traduzida em fixação de N₂ segue os padrões de desenvolvimento dos nódulos. Portanto, tem-se frequentemente relacionado peso de nódulos com fixação de N₂ (DOBEREINER et alii, 1966). Contudo, é sabido que as estirpes mais eficientes fixam N₂ em maior quantidade com menor massa nodular do que estirpes menos eficientes (ARAUJO et alii, 1982; VOSS et alii, 1983).

O estabelecimento dos nódulos e o início da fixação do N₂ estão diretamente relacionados com a produtividade das plantas. BARRADAS & HUNGRIA (1986) constataram comportamento diferenciado de algumas estirpes de rizóbio nestes processos. As duas estirpes mais eficientes, CNPAF-146 e CNPAF-512, fixaram entre os 16 a 23 DAE, período tradicionalmente reconhecido como de deficiência de N em feijão nodulado, em média, 4,25 mg N/planta.dia⁻¹, enquanto as demais fixaram, em média, 0,60 mg N/planta.dia⁻¹. Fica assim evidenciada a possibilidade de selecionar estirpes de rizóbio para feijão, que consigam fixar N₂ mais precocemente em relação as estirpes tradicionais.

SAITO (1982), avaliando a capacidade de fixação simbiótica de dez estirpes de rizóbio com a cv Carioca, verificou significativos aumen-

tos no peso e número de nódulos pela inoculação, mesmo em solo com elevado número de rizóbio nativo. Os aumentos variaram de 40% a 273% em solo Terra Roxa Estruturada (TRE-1) e de 174% a 714% em TRE-2 para peso de nódulos em relação à testemunha sem N e sem inoculação. Entretanto, ficou evidenciado que a maior capacidade de nodulação (% de infecção, número e peso de nódulos) não é a única condição necessária para obtenção de algum efeito da inoculação, mas também a eficiência em fixar N₂. Por exemplo, as estirpes CIAT-57 e CIAT-255 produziram nódulos em quantidades superiores à da testemunha e as altas percentagens de infecção, de 72% e 70% respectivamente, comprovaram a presença nos nódulos da bactéria inoculada; a sua eficiência, porém, foi baixa. Já a estirpe CIAT-903, apesar de não ter se destacado no número e peso de nódulos, apresentou-se muito ativa (4,40 $\mu\text{M C}_2\text{H}_4/\text{planta.h}^{-1}$) e proporcionou aumentos de 47 e 36%, respectivamente, para peso e N total das sementes, em relação à testemunha.

RUSCHEL & SAITO (1977) constataram em feijoeiro, em casa de vegetação, que a inoculação aumentou o número e peso de nódulos e N total da planta, em duas épocas estudadas. Houve, porém, acréscimo na atividade da nitrogenase somente na primeira época (35 dias pós-semeadura). A maior produção de vagens foi obtida com a inoculação, demonstrando a eficiência da simbiose. O nitrogênio adicionado ao solo também aumentou o peso das plantas, o N total e o rendimento, sendo que este foi equivalente ao obtido com a inoculação.

Devido ao grande número de trabalhos com resultados negativos ou pouco promissores obtidos até o presente momento com o feijoeiro em condições de campo, alguns pesquisadores (SAITO et alii, 1970; RUSCHEL & REUSZER, 1973; RUSCHEL et alii, 1979; BARBO, 1985), salientam que a substituição total do adubo nitrogenado pela inoculação ainda não pode ser recomendada.

O processo de nodulação é controlado geneticamente pela leguminosa e pela bactéria. Segundo Nutman, citado por PEREIRA et alii (1984), o genótipo da planta parece ter maior influência sobre o mecanismo da nodulação do que o da bactéria. No entanto, a maior concentração da pesquisa de fixação biológica de N₂ pelo feijoeiro está voltada principalmente para o rizóbio e suas interrelações com o ambiente.

No CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL - CIAT (1976) foram observadas diferenças marcantes entre cultivares na fixação simbiótica. A cultivar P-590 alcançou níveis de fixação equivalentes a um aumento de nitrogênio de 41 kg/ha. Brakei e Manil, citados por RUS-

CHEL & REUSZER (1973), estudando a inoculação de diferentes cultivares de feijoeiro em três solos, verificaram aumento de produção semelhante à adição de 50 kg N/ha em solo com baixo teor de N; quanto a nodulação, houve abundância para todos os solos sem ocorrer efeito para cultivares.

A técnica de diluição isotópica do ^{15}N , usada direta (RUSCHEL et alii, 1982; RENNIE & KEMP, 1983 a e b) ou indiretamente (WESTERMANN et alii, 1981) para quantificar a fixação do N_2 no campo, tem mostrado que algumas cultivares de feijoeiro podem obter 50% do seu requerimento de N pela fixação do N_2 .

RENNIE & KEMP (1983 a) observaram ganho superior a 100 kg N/ha pela simbiose de algumas estirpes de rizóbio com duas cultivares de feijoeiro (cv Aurora e Kentwood); todavia a resposta média, de todas combinações estudadas, foi de 58 a 88 kg N fixado/ha nos dois anos de estudo, ainda que o teor de N no solo, no início do experimento, fosse alto. Isto está de acordo com os resultados obtidos por WESTERMANN et alii (1981), que encontraram em algumas cultivares de feijoeiro capacidade de alcançar seu potencial genético de rendimento, no campo, quando dependentes da fixação do N_2 .

PEREIRA et alii (1984) em programa de triagem para avaliar a potencialidade de 339 genótipos de feijoeiro à fixação de N_2 , observaram ampla variabilidade no peso seco de nódulos e na atividade da nitrogenase. Mais de 40% dos genótipos estudados apresentaram massa nodular superior a 92,5 mg/planta, e alguns alcançaram 200 mg/planta, podendo ser comparado à massa nodular de outras leguminosas (soja e caupi) tidas como eficientes na simbiose com bactérias.

Resultados contraditórios quando a inoculação tem sido frequentes. Em casa de vegetação, BARBO (1985) constatou que as cultivares Carioca e Negro Argel, entre outras, formaram a melhor combinação simbiótica quando inoculadas com diversas estirpes; porém, a fixação de N_2 biótica quanto inoculadas com diversas estirpes, porém a fixação de N_2 não foi suficiente para substituir totalmente a adubação nitrogenada. DUQUE et alii (1985), em experimento de campo, observaram que a nodulação de quatro cultivares não inoculadas foi pobre. Quando inoculadas, as cv. Carioca e Negro Argel apresentaram boa nodulação, sendo que a produção de grãos foi superior ao tratamento que recebeu 100 kg N/ha como adubo. Já as cv. Venezuela-350 e Rio Tibagi apresentaram pequena resposta à inoculação.

Uma vez que estirpes eficientes de *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* podem suprir quantidades suficientes de N para a plan-

PIHA & MUNNS (1987), comparando o potencial de fixação de N₂ do feijoeiro comum com o da soja, caupi e outras espécies de feijoeiro, verificaram que a performance inferior do feijoeiro comum é devida, principalmente, a evolução de H₂ pelos nódulos.

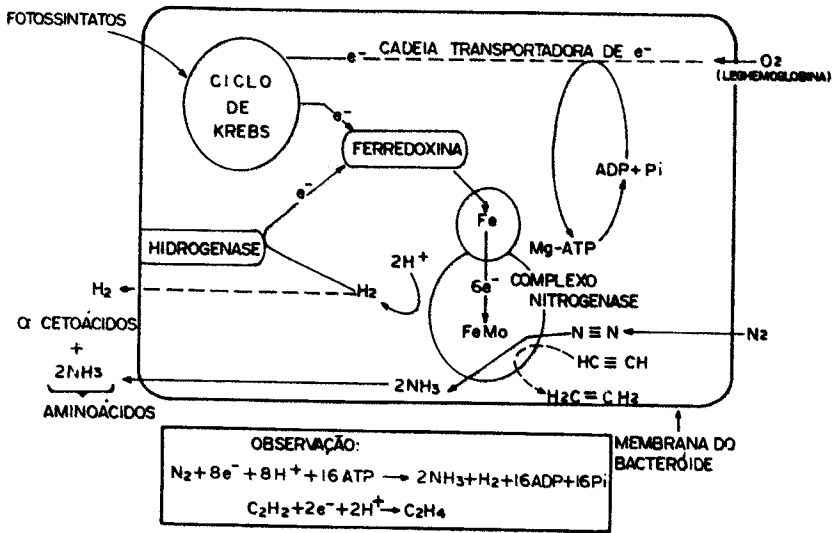


FIGURA 1- Esquema de redução do N₂ na simbiose.

A variabilidade genética dentro da mesma espécie é uma das alternativas para solucionar problemas como este. HUNGRIA & NEVES (1987) constataram que uma combinação eficiente (estirpe CO5 com cv Negro Argel) apresentou menor evolução de H₂ dos nódulos, taxa superior de transporte de N e percentagem superior de N-ureídios na seiva do xilema do que uma simbiose ineficiente (estirpe 127K-17 com cv Venezuela-350).

Resultados positivos no aumento da atividade da nitrogenase pela adição de Mo ao sistema simbiótico feijoeiro-rizóbio foram observados em vários trabalhos (FRANCO & DAY, 1980; FRANCO & MUNNS, 1981; JACOB-NETO, 1985).

A pequena nodulação e fixação de N₂ pelas leguminosas em solos

ácidos tropicais e subtropicais tem sido atribuída, como uma das causas principais, à deficiência de Mo (BATAGLIA et alii, 1976; DE-POLLI et alii, 1976; FRANCO et alii, 1978), agravada pela sua imobilização em pH baixo (BARSHAD, 1951; REISENAUER, 1962; SIQUEIRA & VELOSO, 1978). FRANCO & DAY (1980) obtiveram respostas positivas à aplicação de Mo em feijoeiro, em vários solos do Brasil, somente quando o pH foi corrigido para valores acima de 5,5. Acima de pH 6,0, as plantas cresceram bem, com abundante fixação de N₂, sem ocorrer resposta significativa à aplicação de Mo.

Siqueira, citado por FRANCO (1978), observou em um estudo feito com quatro solos, com diferentes capacidades de adsorção inicial, que entre pH 5,4 e 5,6 todos perderam a capacidade de reter o Mo.

Diferenças entre cultivares de feijoeiro quanto a capacidade de absorver Mo em diversos valores de pH foram constatadas por FRANCO & MUNNS (1981).

Falta de respostas positivas a adição de Mo, em muitos casos, é devida a presença de outros fatores limitantes. RUSCHEL & EIRA (1969) encontraram benefícios do Mo em soja só depois que a toxidez de Mn foi eliminada.

FRANCO & DOBEREINER (1967), em experimento com solo arenoso, verificaram que a aplicação de Mo no solo, apesar de ter sido indispensável à fixação de N₂ para o feijoeiro, quando em excesso, prejudicou mais o processo da simbiose do que o desenvolvimento das plantas.

Em experimentos conduzidos em Minas Gerais na cultura do feijoeiro, BRAGA (1972), estudando doses de Mo (0, 20 e 40 g/ha), via solo, associados ao boro e enxofre sobre a produção de grãos, observou efeito quadrático deste, sendo 13,4 g/ha a dose ideal. ROBITAILLE (1975) constatou que não houve diferença significativa na produção entre aplicação de 40 kg N/ha e aplicação de 113 g Mo/ha como molibdato de amônio (via foliar quando a 1ª folha trifoliolada estava completamente desenvolvida). Isto evidencia o aumento da eficiência da fixação simbiótica do N₂ pelo Mo adicionado. Entretanto, foi verificada considerável variação entre as cultivares, sendo as de maior importância comercial menos responsivas.

JUNQUEIRA NETTO et alii (1977), estudando os efeitos do Mo sobre o feijoeiro, em dois solos de Minas Gerais, verificaram incremento significativo na produção de grãos pelo Mo aplicado isoladamente, via semente, somente em um deles; onde 12,9 g/ha proporcionou produção de grãos de 759 kg/ha a mais do que a testemunha. No outro solo somente

houve incremento significativo quando o Mo foi aplicado associado a outros nutrientes. MACHADO (1977) também observou que o Mo e o Co, quando aplicados isoladamente, não influenciaram a produção de feijão. Quando combinados, na presença ou na ausência de fósforo, proporcionaram aumentos significativos na produção.

SANTOS et alii (1979) obtiveram, em dois solos de Viçosa e um de Paula Cândido, Minas Gerais, respostas variadas do feijoeiro à aplicação de doses de molibdênio e cobalto. O Mo não teve efeito sobre o peso da massa seca, colhida aos 56 dias após a semeadura. Quanto à produção de grãos, no solo de Paula Cândido, ela declinou linearmente com a aplicação de Mo; provavelmente devido à calagem aplicada que aumentou a disponibilidade do nutriente. Em um dos solos de Viçosa, a produção cresceu linearmente com o aumento da dose de Mo, já no outro solo de Viçosa, a resposta foi quadrática, obtendo-se a maior produção com a dose de 12,3 g Mo/ha via semente.

Em solo de cerrado, CORREA (1984) verificou que a aplicação de Mo (14 g/ha) via semente, na presença de inoculante determinou aumento significativo na produção de grãos.

NICOLOSO & SANTOS (1990) constataram, em feijoeiro cultivado em solo Podzólico Vermelho Amarelo, em casa de vegetação, que o Mo (10 g/ha via semente) + inoculação associado a 10 kg/ha na semeadura + 20 kg N/ha em cobertura proporcionou produção de grãos equivalente ao mesmo tratamento porém com 40 kg N/ha em cobertura.

Segundo GUPTA & LIPSETT (1981) a presença de quantidades extremamente pequenas de Mo nos solos, a interferência das características químicas dos solos e a possibilidade das reservas das sementes poderem mascarar uma deficiência do solo tornam a interpretação do Mo disponível mais difícil do que a de outros micronutrientes.

O método do oxalato de amônio para a determinação do Mo disponível, apesar de não apresentar altas correlações com o Mo absorvido por diversas espécies de plantas (KARIMIAN & COX, 1979), tem sido o mais utilizado desde a sua publicação por Grigg em 1953, citado por FRANCO (1978). Esse autor encontrou 0,14 ppm de Mo extraído como sendo o teor crítico entre solos deficientes e não deficientes. Este método, consiste basicamente na extração do Mo trocável do solo por uma solução ácida de oxalato de amônio, tamponada em pH 3,3.

Devido estas dificuldades, JOHNSON (1966) sugeriu que se deva dar prioridade nos estudos com Mo, principalmente, no estabelecimento dos níveis críticos nos tecidos das plantas.

JOHNSON (1966) e JONES (1967) citam, como critério para avaliação do conteúdo de Mo na planta, o seguinte: teor deficiente: inferior a 0,4 ppm; teor baixo, de 0,5 a 0,9 ppm; teor suficiente, 1,0 a 5,0 ppm; teor alto de 5,1 a 10 ppm; teor excessivo, maior de 10 ppm. Para feijoeiro, JOHNSON et alii (1952) consideram 0,4 ppm de Mo na massa seca (parte aérea com oito semanas de idade) como teorsuficiente.

NICOLOSO et alii (1990) observaram em feijoeiro cultivado no campo que o teor máximo de Mo nas folhas ocorreu aos 49 DAE (coincidindo com o início da formação de vagens) e o menor aos 39 DAE (início da floração). Nos talos a concentração aumentou dos 20 DAE até os 39 DAE, tendo aí seu pico máximo, decrescendo até os 60 DAE e depois retornando a aumentar até os 82 DAE. Nas folhas ocorreu o inverso. Isto sugere que até o início da floração o Mo absorvido foi translocado principalmente para os talos, sendo depois redistribuído para as folhas até os 69 DAE, e após isto até os 82 DAE aumenta o teor nos talos devido as folhas estarem em início de senescência.

Variação na concentração de Mo em função do tipo de tecido e da época de amostragem também foram observados por FRANCO & MUNNS (1981) e JACOB NETO (1985). Portanto, trabalhos com finalidade de estudar a concentração de Mo nos tecidos, devem levar em consideração estes fatores.

As análises nos tecidos das plantas são prejudicadas geralmente pelos baixos teores encontrados. Várias partes da planta tem sido utilizadas para estabelecer o teor crítico de Mo. Alguns autores, considerando que o compartimento mais exigente em Mo é o nódulo; no caso de leguminosas dependentes da fixação do N₂, acham que o estabelecimento do teor crítico deve ser em tecido deste componente. FRANCO & MUNNS (1981) sugeriram que o nível crítico de Mo nos nódulos de feijoeiro, cultivado em solução nutritiva, fica entre 3 e 5 ppm. Também encontraram altos coeficientes de correlação entre conteúdo de Mo dos nódulos com o Mo das raízes, caules e folhas. O mais alto foi obtido entre Mo dos nódulos e Mo do caule.

JACOB-NETO (1985), também em solução nutritiva, verificou que as concentrações de Mo nos tecidos da planta variaram com o estágio de desenvolvimento, sendo encontrado nos nódulos as maiores concentrações quando as plantas cresceram em níveis baixos de disponibilidade de Mo. Do início da floração à floração plena foi o período mais indicado para amostragens dos nódulos para determinação do teor de Mo e, baseado

nos dados da atividade da nitrogenase foi estimado que o nível crítico de Mo nos nódulos situa-se na faixa de 1,17 a 2,45 ppm em nódulos secos.

JACOB-NETO (1985), com experimento em solo Podzólico Vermelho Amarelo, baseando-se na correlação do nitrogênio total da parte aérea com as concentrações de Mo nos nódulos, encontrou 3,66 ppm como sendo o teor crítico.

Apesar de alguns autores considerarem os nódulos como o melhor tecido para determinação de teor crítico, trabalhos com leguminosas foram feitos analisando Mo na parte aérea da planta (ANDERSON, 1956; REISENAUER et alii, 1973).

Quanto a acumulação de Mo, NICOLGSO et alii (1990) verificaram aos 82 DAE do feijoeiro extração de 10,80 μg Mo/planta (somente parte aérea), valor correspondente a 2,59 g Mo/ha. Valores superiores a este foram observados por JACOB-NETO (1985), trabalhando com solução nutritiva trocada semanalmente. Este autor registrou valores de 237,14, 28,66 e 17,9 μg Mo/planta respectivamente para níveis correspondentes a 120, 12 e zero g Mo aplicado/ha. Fica evidenciado que no nível mais inferior houve considerável acúmulo de Mo, provavelmente proveniente da semente.

Considerando que o Mo é necessário em pequenas quantidades, classificado assim como micronutriente, muitos autores afirmam que plantas cultivadas a partir de sementes com alto conteúdo de Mo mostram ser auto-suficientes. MEAGHER et alii (1952) relataram que sementes de feijoeiro podem conter até 10 vezes mais a quantidade de Mo requerida para o crescimento de sua descendência; sendo 0,5 μg /semente o teor crítico.

Para corrigir a deficiência de Mo dos solos vários métodos tem sido testados. Segundo MURPHY & WALSH (1977) a técnica do tratamento da semente em solução talvez seja a mais prática e eficiente, devido à uniformidade de aplicação e à pequena quantidade requerida pelas culturas.

JACOB-NETO (1985) observaram aumentos lineares das concentrações de Mo nas sementes colhidas em função da aplicação ao solo e nas folhas. A aplicação foliar mostrou-se mais eficiente do que a aplicação ao solo. Para este autor, a produção de sementes com teor adequado de Mo é a melhor solução para suprir as necessidades das plantas dependentes da fixação do N₂.

Quanto a fonte de Mo aplicado ao solo, FRANCO & DAY (1980) cons-

tatarem que o molibdato de amônio e o ácido molíbdico são igualmente boas fontes, enquanto as fritas mostraram-se sem efeito.

Nas aplicações via foliar e via semente têm sido utilizadas com êxito as fontes molibdato de amônio e molibdato de sódio.

Efeitos do nitrogênio mineral

Quanto aos efeitos do nitrogênio presente no solo sobre o processo de fixação do N_2 têm-se verificado resultados geralmente negativos. Porém, algumas interações feijoeiro-rizóbio são mais sensíveis à adubação nitrogenada do que outras (WESTERMANN et alii, 1981).

RUSCHEL & REUSZER (1973) em três experimentos, verificaram que o peso fresco de nódulos em feijoeiro diminuiu significativamente na presença de N. Entretanto, constataram que existe comportamento diferenciado entre as estirpes à presença ou ausência de N. Em outro trabalho, porém em soja, RUSCHEL & RUSCHEL (1975) observaram que o sulfato de amônio, nitrato de amônio e nitrato de potássio inibiram a nodulação, o que não se observou com uréia. O número de nódulos diminuiu com a adição de N ao solo, porém não se verificou inibição da atividade da nitrogenase.

HUNGRIA et alii (1985 a) usando nitrato de potássio (zero e 2,5 mg N/planta.dia⁻¹) em duas combinações simbióticas feijoeiro-rizóbio, registraram atraso no início da atividade da nitrogenase, por ação do nitrato. O pico máximo, 60 dias após a emergência (DAE), foi atingido um pouco mais tarde em relação às plantas que não receberam N. Mesmo assim, a atividade máxima aos 60 DAE foi inferior à das plantas somente inoculadas, devido ao efeito inibitório do N mineral.

Lie, citado por RUSCHEL et alii (1979), revisando trabalhos de outros autores, encontrou que altas doses de N-mineral prejudicaram a fixação do N_2 , sendo o íon NO_3^- mais prejudicial que o NH_4^+ nos processos iniciais da fixação em leguminosas de clima temperado. Todavia, Ruschel e Bonati, citados pelos mesmos autores, observaram para feijoeiro, em condições tropicais, que a forma amoniacal prejudicou o desenvolvimento dos nódulos já formados, enquanto a uréia e o nitrato não interferiram significativamente na atividade da nitrogenase dos mesmos.

Em feijoeiro inoculado, Cartwright, citado por OSORIO (1978), trabalhando com raízes isoladas, observou que a adição de nitratos inibiu a formação dos nódulos. A adição de uréia apenas reduziu o núme-

ro de nódulos. DART & MERCER (1965), trabalhando com *Vigna unguiculata*, concluíram que com uma única aplicação de nitrato de amônio na sementeira, os efeitos inibidores verificados no início da nodulação foram reduzidos, à medida em que a planta foi utilizando o nitrato de amônio adicionado, diminuindo sua concentração na rizosfera. Desta maneira, o nível de nitrato de amônio na rizosfera pode ser suficiente alto para inibir a infecção nas raízes primárias, mas é reduzido a níveis não inibitórios no estágio em que as raízes secundárias estão sujeitas à infecção.

FRANCO & DOBEREINER (1967) verificaram que o adubo nitrogenado age distintamente na simbiose das cultivares, inibindo-a na cv Rico-23 e não afetando em outras três cultivares. Resultados semelhantes foram observados por VEIGA (1980).

Por outro lado, a adubação nitrogenada pode contribuir significativamente na fixação do N_2 quando em baixas doses. Tem sido observado que o feijoeiro no início do desenvolvimento, quando recebe apenas a inoculação como futura fonte de N, sofre deficiência desse nutriente. GUSS & DOBEREINER (1972) observaram superação da fase crítica de deficiência de N pela aplicação de 23 ppm de N na sementeira ou 20 dias após. Resultados semelhantes foram constatados por FRANCO & DOBEREINER (1968), porém, com dose de 10 ppm N; variando os efeitos com a cultivar e os níveis de cálcio empregados. A adubação de 40 ppm de N reduziu a nodulação.

FRANCO et alii (1979) verificaram que a aplicação de pequena dose, 20 kg N/ha na sementeira, não afetou o peso de nódulos e a atividade da nitrogenase. Com 40 kg N/ha na floração, não houve decréscimo significativo na quantidade de N_2 fixado.

Esse benefício pode ser devido a utilização do N mineral no período entre o esgotamento das reservas cotiledonares e o início da atividade dos nódulos, ou mesmo posteriormente através da complementação nutricional, uma vez que as plantas noduladas obtêm o benefício máximo dessas fontes de N em épocas diferentes do ciclo das plantas (FELIX et alii, 1981).

O feijoeiro pode se beneficiar tanto da assimilação do nitrato como da fixação do N_2 , cada processo contribuindo em máximo potencial em diferentes períodos de desenvolvimento da planta (FRANCO et alii, 1979; FELIX et alii, 1981; HUNGRIA et alii, 1985 a e b). Esta suposi-

ção está baseada em observações que mostram serem diferentes os picos máximos de atividade das enzimas responsáveis por estes processos.

SENARATNE et alii (1987) verificaram, em soja, que a sensibilidade do processo de fixação do N_2 ao N mineral foi muito dependente da estirpe do rizóbio e da interação planta-rizóbio. Isto, portanto não permitiu descrever se certa bactéria é completamente efetiva/inefetiva ou sensível/tolerante ao N mineral, exceto em relação a um genótipo (hospedeiro) particular. Porém, salientam que existe campo promissor para obter associações hospedeiro-rizóbio tolerantes ao N mineral, através da exploração dos efeitos interativos entre estes.

Considerando que o feijoeiro pode nutrir-se conjuntamente de duas fontes de nitrogênio e que, as interações feijoeiro-rizóbio apresentam sensibilidade diferenciada à adubação nitrogenada, torna-se difícil recomendar a quantidade necessária de N-adubo quando se procura explorar tanto os benefícios da fixação do N_2 como da redução de NO_3^- .

Segundo WESTERMANN et alii (1981) a quantidade de N-adubo recomendada deve ser suficiente para assegurar o crescimento inicial vigoroso da planta, particularmente quando o teor de nitrato no solo for menor que 50 kg N/ha. Em alguns casos, a dose total não necessitaria ser maior do que 40 a 50 kg N/ha.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMARAL, F.A.L.; REZENDE, H.E.C.; BRASIL SOBRINHO, M.O.C. & MURAOKA, E. Exigências de nitrogênio, fósforo e potássio de algumas cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Anais da E. S.A. "Luiz de Queiroz"*, 37:223-39, 1980.
2. ANDERSON; A.J. Molybdenum as a fertilizer. *Advance in Agronomy*, 8:163-202, 1956.
3. ANDREW, C.S. & NORRIS, D.O. Comparative responses to calcium of five tropical and four temperature pasture legumes species. *Aust. J. Agric. Res.*, 12:40-50, 1961.
4. ARAUJO, R.S.; ROCHA, R.E.M. da & PEREIRA, P.A.A. Avaliação de estirpes de *Rhizobium phaseoli*. EMBRAPA/CNPAF. Goiânia, (38):1-6, 1982.
5. BARBO, C.V.S. *Eficiência simbiótica de cultivares de feijão*. Porto Alegre, UFRGS, 1985. 136p. (Tese Mestrado).
6. BARRADAS, A.A. & HUNGRIA, M. Estudos fisiológicos sobre a fase inicial da fixação do nitrogênio em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO, XVII., Londrina. *Resumos ...* Londrina, SBCS/EMBRAPA/IAPAR, 1986. p 37.
7. BARSHAD, I. Factors affecting the molybdenum content of pasture plants; I - Nature of soil molybdenum, growth of plants and soil pH. *Soil Science*, 71:297-313, 1951.

8. BATAGLIA, O.C.; FURLANI, P.R. & VALADARES, J.M.A.S. O molibdênio em solos do Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, XV. Campinas, 1975. *Anais...* Campinas, Soc. Bras. Ci. Solo, 1976. p. 107-11.
9. BERGERSEN, F.J. Biochemistry of symbiotic nitrogen fixation in legumes. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 22:121-40, 1971.
10. BRAGA, J.M. Resposta do feijoeiro "Rico 23" à aplicação de enxofre, boro e molibdênio. *Revista Ceres*, 19(103):202-6, 1972.
11. CABALLERO, S.U.; LIBARDI, P.L.; MATSUI, E. & VICTORIA, R.L. Utilização do fertilizante nitrogenado aplicado a uma cultura de feijão. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, 20(9):1031-40, 1985.
12. CANDELA, M.I.; TISHER, E.G. & HEWITT, E.J. Molybdenum as a plant nutrient; X - Some factors affecting the activity of nitrate reductase in cauliflower plants grown with different nitrogen sources and molybdenum levels in sand culture. *Plant Physiol*, 32:280-88, 1957.
13. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL, CIAT. *Informe Anual*. Cali, 1976.p. 24-34.
14. COBRA NETO, A.; ACCORSI, W.R. & MALAVOLTA, E. Estudos sobre a nutrição mineral do feijoeiro. *Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz*, Piracicaba, 28:257-97, 1971.
15. CORREA, J.R.V. Efeitos de inoculação, Mo e Co sobre o feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca. Lavras, ESAL, 1984, 86p. (Tese Mestrado).
16. DART, P.J. & MERCER, F.V. The effect of growth, temperature, level of ammonium, nitrate and light intensity on the growth and nodulation of cowpea. *Australian Journal of Agricultural Research*, 16(3):321-45, 1965.
17. DE-POLLI, H.; SUHET, A.R. & FRANCO, A.A. Micronutrientes limitando a fixação de nitrogênio atmosférico e produção de Centrosema em solo podzólico vermelho amarelo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, XV., Campinas, 1975. *Anais...* Campinas, Soc. Bras. Ci. Solo, 1976. p.151.
18. DOBEREINER, J.; ARRUDA, N.B. & PENTEADO, A.F. Avaliação da fixação do nitrogênio em leguminosas pela regressão do nitrogênio total das plantas sobre o peso dos nódulos. *Pesq. Agropec. Bras.*, 1:233-7, 1966.
19. DUQUE, F.F.; NEVES, M.C.P.; FRANCO, A.A.; VICTORIA, R.L. & BODDEY, R.M. The response of field grown *Phaseolus vulgaris* to *Rhizobium* inoculation and the quantification of N₂ fixation using N. *Plant and Soil*, 88:333-43, 1985. *
20. EISBRENNER, G. & EVANS, H.J. Aspects of hydrogen metabolism in nitrogen-fixing legumes and other plant-microbe associations. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 34:105-36, 1983.
21. EVANS, H.J. Role of molybdenum in plant nutrition. *Soil Sci.*, 81:199-208, 1956.
22. FELIX, J.F.; OBATON, M.; MESSIAEN, C.M. & SALSCAG, L. Nitrate reductase and nitrogenase activities of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) from different geographic locations. *Plant and Soil*, Hague, 63:427-38, 1981.

23. FRANCO, A.A. & DOBEREINER, J. Especificidade hospedeira na simbiose com *Rhizobium*-feijão e influência de diferentes nutrientes. *Pesq. Agropec. Bras.*, 2:467-74, 1967.
24. FRANCO, A.A. & DOBEREINER, J. Interferência do cálcio e nitrogênio na fixação simbiótica do nitrogênio por duas variedades de *Phaseolus vulgaris* L. *Pesq. Agropec. Bras.*, 3:323-7, 1968.
25. FRANCO, A.A.; PERES, J.R.R. & NERY, M. The use of *Azotobacter paspali* N₂-ase (C₂H₂ reduction activity) to measure molybdenum deficiency in soils. *Plant and Soil*, 50:1-11, 1978.
26. FRANCO, A.A. Micronutrients requirements of legume *Rhizobium* symbiosis in the tropics. In: DOBEREINER, J. et alii. *Limitations and potentials for biological nitrogen fixation in tropics*. London, Plenum, 1978. p.161-71.
27. FRANCO, A.A.; PEREIRA, J.C. & NEYRA, C.A. Seasonal patterns of nitrate reductase and nitrogenase activities in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Physiology*, 63:421-4, 1979.
28. FRANCO, A.A. & DAY, J.M. Effects of lime and molybdenum on nodulation and nitrogen fixation of *Phaseolus vulgaris* L. in soil of Brasil. *Turrialba*, 30(1):99-105, 1980.
29. FRANCO, A.A. & MUNNS, D.N. Response of *Phaseolus vulgaris* L. to molybdenum under acid conditions. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 45:1144-8, 1981.
30. FRANCO, A.A. & MUNNS, D.N. Acidity and aluminum restraints on nodulation, nitrogen fixation, and growth of *Phaseolus vulgaris* L. in solution culture. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 46:296-301, 1982.
31. GOEPFERT, C.F. & FREIRE, J.R.J. Influência da aeração e da calagem sobre o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em três solos ácidos do Rio Grande do Sul. *Agronomia Sulriograndense*, 9(2):143-9, 1973.
32. GRAHAM, P.H. & ROSAS, J.C. Growth and development of indeterminate bush and climbing cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. inoculated with *Rhizobium*. *J. Agric. Sci.*, 88:503-8, 1977.
33. GUPTA, U.C. & LIPSETT, J. Molybdenum in soil, plants, and animals. *Advances in Agronomy*, 34:73-115, 1981.
34. GUSS, A. & DOBEREINER, J. Efeito da adubação nitrogenada e da temperatura do solo na fixação do nitrogênio em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Pesq. Agropec. Bras.*, 7:87-92, 1972.
35. HAAG, H.P.; MALAVOLTA, E.; GARGANTINI, H. & GARCIA BLANCO, H. Absorção de nutrientes pela cultura do feijoeiro. *Bragantia*, Campinas, 26(30):381-93, 1967.
36. HUNGRIA, M; NEVES; M.C.P. & VICTORIA, R.L. Assimilação do nitrogênio pelo feijoeiro; I - atividade da nitrogenase, da reductase do nitrato e transporte do nitrogênio na seiva do xilema. *R. Bras. Ci. do Solo*, 9:193-200, 1985a.
37. HUNGRIA, M; NEVES, M.C.P. & VITÓRIA, R.L. Assimilação do nitrogênio pelo feijoeiro; II - absorção e translocação do N mineral e do N₂ fixado. *R. Bras. Ci. do Solo*, 9:201-9, 1985 b.
38. HUNGRIA, M. & NEVES, M.C.P. Cultivar and *Rhizobium* strain effect

- on nitrogen fixation and transport in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant and Soil*, 103:11-21, 1987.
39. JACOB NETO. *Variação estacional, concentração nas sementes e níveis críticos de Mo nos nódulos de feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.)*. Itaguaí, UFRRJ, 1985.141 p.(Tese Mestrado).
 40. JACOB-NETO, J.; DIDONET, A.D. & DUQUE, F.F. Comparação preliminar de cultivares de caupi (*Vigna unguiculata*) e de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) quanto à capacidade de nodulação em condições de campo. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 1, Goiânia, 1982. *Anais...* Goiânia, CNPAF, 1982. p. 309-11.
 41. JOHNSON, C.M.; PEASON, G.A. & STOUT, P.R. Molybdenum nutrition of crop plants; II - plant and soil factors concerned with molybdenum deficiencies in crop plants. *Plant and Soil*, 4:178-196, 1952,
 42. JOHNSON, C.M. Molybdenum. In: CHAPMAN, H.D. *Diagnostic criteria for plants and soil*. Riverside, University of California, 1966. p. 286-301.
 43. JONES, J.B. Interpretation of Plant analysis for several agronomic crops. In: *Soil Testing and Plant Analysis*, II - plant analysis. Madison, Soil Sci. Soc. Amerc. Inc., 1967. p.49-58.
 44. JUNQUEIRA NETTO, A.; SANTOS, O.S.; AIDAR, J. & VIEIRA, C. Ensaios preliminares sobre a aplicação de Mo e Co na cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Ceres*, 24(136):628-33, 1977.
 45. KARIMAN, N. & COX, F.R. Molybdenum availability as predicted from selected soil chemical properties. *Agronomy Journal*, 71:63-5, 1979.
 46. KORNELIUS, E. & FREIRE, J.R.J. Aeração e umidade do solo como fatores limitantes da nodulação em *Phaseolus vulgaris* L. *Agronomia Sulriograndense*, 10(2):247-60, 1974.
 47. KORNELIUS, E.; SOBRAL, L.F.; GOMES, J.C. & RODRIGUES, E.M. Efeito de doses e épocas de aplicação de nitrogênio na produção de feijão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, XV., Campinas, *Anais ...* Campinas, SBCS, 1976. p. 225-8
 48. KOCH, B.; EVANS, H.J. & RUSSELL, S. Reduction of acetylene and nitrogen gas by breis and cell free extracts of soybean root nodules. *Plant Physiol.*, 42:466-7, 1967.
 49. LEHNINGER, A.L. *Bioquímica*. 3.ed. São Paulo. Edgard Blucher. v. 3., p. 439-576. 1982.
 50. LIBARDI, P.L. & REICHARDT, K. Destino da uréia aplicada a um solo tropical. *R. Bras. Ci. do Solo.*, 2:40-4, 1978.
 51. LOVATO, P.E. *Sobrevivência e competição de estirpes de Rhizobium phaseoli em solo e na rizosfera de feijão*. Porto Alegre, UFRGS, 1984. 104p. (Tese Mestrado).
 52. MACHADO, J.S. *Efeitos de fósforo, molibdênio e cobalto sobre o feijoeiro-comum (Phaseolus vulgaris L.) cultivado em oxissolos*. Lavras, ESAL, 1977. 53p. (Tese Mestrado)
 53. MEAGHER, W.R.; JOHNSON, C.M. & STOUT, P.R. Molybdenum requirement of leguminous plants supplied with fixed nitrogen. *Plant Physiology*, 27(2):223-30, 1952.

54. MEIRELLES, N.M.F.; LIBARDI, P.L. & REICHARDT, K. Absorção e lixiviação de nitrogênio em cultura de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). R. Bras. Ci. do Solo, 4:83-8, 1980.
55. MENGEL, K. & KIRKBY, E.A. *Principles of plant nutrition*. 2. ed. Berne, Internacional Potash Institute. 573p. 1979.
56. MURPHY, L.S. & WALSH, L.M. Correction of micronutrient deficiencies with fertilizers. In: MORTVEDT, J.J.; GIORDANO, P.M. & LINDSAY, W.L. *Micronutrientes in agriculture*. Madison, Soil Science Society of America. cap.15, p.347-87. 1977.
57. NEPTUNE; A.M.L. & MURAOKA, T. Aplicação de uréia - N em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Carioca. R. Bras. Ci. do Solo, 2:51-5, 1978.
58. NICOLOSO, F.T. & SANTOS, O.S. Efeitos do nitrogênio mineral, molibdênio e inoculação com *Rhizobium* no feijoeiro comum. Rev. Centro Ciências Rurais, 20(1-2):23-35, 1990.
59. NICOLOSO, F.T.; SANTOS, O.S. & CAMARGO, R.P. Absorção de Molibdênio pelo feijoeiro comum. Rev. Centro Ciências Rurais, 20(1-2):37-49, 1990.
60. OSORIO, C.A.S. Experimento sobre os efeitos do nitrogênio mineral na simbiose *Phaseolus vulgaris* L. *Rhizobium phaseoli*. Porto Alegre, UFRGS; 1978. 84p. (Tese Mestrado).
61. PACOVSKY, R.C.; BAYNE, H.G. & BETHGLENFALVAY, G.Y. Symbiotic interactions between strain of *Rhizobium phaseoli* and cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. *Crop Science*, 24:101-5, 1984,
62. PEREIRA, P.A.A.; ARAUJO, R.S.; ROCHA, R.E.M. & STEINMETZ, S. Capacidade de genótipos de feijoeiro de fixar N₂ atmosférico. *Pesq. Agropec. Bras.*, 19(7):811-5, 1984.
63. PESSANHA, G.F.; FRANCO, A.A.; DOBEREINER, J.; GROSZMANN, A. & BRITO, D.P.P.S. Correlação negativa da nodulação com a produção de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em solos onde o nitrogênio não é fator limitante. *Pesq. Agropec. Bras.*, 7:49-56, 1972.
64. PIHA, M.I. & MUNNS, D.N. Nitrogen fixation potencial of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) compared with other grain legumes under controlled conditions. *Plant and Soil*, 98:169-82, 1987.
65. PIHA, M.I. & MUNNS, D.N. Sensitivity of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) symbiosis to high soil temperature. *Plant and Soil*, 98:183-194, 1987.
66. PITARD, R.M.; BODDEY, R.M. & DOBEREINER, J. Efeito de actinocetos e de estreptomocina na nodulação de *Phaseolus vulgaris* L. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJOÃO, 1., Goiânia. *Anais...* Goiânia, CNPAF, 1982. p. 313-5.
67. PRICE, C.A.; CLARK, H.E. & FUNKHOUSER, E.A. Funções de Micronutrientes in Plants. In: MORTVEDT; J.J.; GIORDANO, P.M. & LINDSAY, W.L. *Micronutrientes in agriculture*. 3.ed. Wisconsin, Soil Science Soc. of America. cap.10, p.231-42, 1977.
68. REIS, M.S.; VIEIRA, C. & BRAGA, J.M. Efeitos de fontes, doses e épocas de aplicação de adubos nitrogenados sobre a cultura do feijão. *Revista Ceres*, 19(101):25-42, 1972.
69. REISENAUER, H.M.; TABIKH, A.A. & STOUT, P.R. Molybdenum reactions

- with soils and the hydrous oxides of iron, aluminum and titanium. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 26:23-7, 1962.
70. REISENAUER, H.M. ; WALSH, L.M. & HOFF, R.G. Testing soils for sulfur, boron, molybdenum, and chlorine. In: WALSH, L.M. & BEATON, J.D. *Soil Testing and Plant analysis*. Wisconsin, Soil Sci. Soc. of Am. p.173-200, 1973.
 71. RENNIE, R.J. & KEMP, G.A. Dinitrogen fixation in pea beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by growth stage and temperature regime. *Can. J. Bot.*, 59:1181-88, 1981.
 72. RENNIE, R.J.; DUBETZ, S.; BOLE, J.B. & MUNDEL, H.H. Dinitrogen fixation measured by N isotope dilution in two Canadian soybean cultivars. *Agronomy Journal*, 74:725-30, 1982.
 73. RENNIE, R.J. & KEMP, G.A. N₂-fixation in field beans quantified by N isotope dilution; I - effect of strains of *Rhizobium phaseoli*. *Agronomy Journal*, 75:640-4. 1983a.
 74. RENNIE, R.J. & KEMP, G.A. N₂-fixation in field beans quantified by N isotope dilution; II - effect of cultivars of beans. *Agronomy Journal*, 75:645-9, 1983b.
 75. ROBITAILE, H.A. Effect of foliar molybdenum sprays on nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L. *Ann. Rept. Bean Improvement Cooperative*, 18: 65, 1975.
 76. RUSCHEL, A.P.; BRITO, D.P.P.S. & DOBEREINER, J. Fixação simbiótica de nitrogênio atmosférico em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.); II - influência do magnésio, do boro, do molibdênio e da calagem. *Pesq. Agropec. Bras.*, 1:141-5, 1966.
 77. RUSCHEL, A.P. & EIRA, P.A. Fixação simbiótica do nitrogênio na soja (*Glycine max.* L. Merrill); influência da adição de cálcio ao solo e molibdênio ao revestimento da semente. *Pesq. Agropec. Bras.*, 4:103-7, 1969.
 78. RUSCHEL, A.P.; ROCHA, A.C.M. & PENTEADO, A.F. Efeito do boro e do molibdênio aplicados a diferentes revestimentos da semente de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) *Pesq. Agropec. Bras.*, 5:49-52, 1970.
 79. RUSCHEL, A.P. & REUSZER, H.W. Fatores que afetam a simbiose *Rhizobium phaseoli* - *Phaseolus vulgaris*. *Pesq. Agropec. Bras.*, 8:287-92, 1973.
 80. RUSCHEL, A.P. & RUSCHEL, R. Avaliação da fixação simbiótica de nitrogênio em feijão. *Pesq. Agropec. Bras.*, 10:11-7, 1975.
 81. RUSCHEL, A.P. & RUSCHEL, R. Sinergia da absorção do nitrogênio do solo e da fixação simbiótica de nitrogênio atmosférico dirigida para o aumento do nitrogênio total da soja. *Pesq. Agropec. Bras.* 10(11):37-40, 1975.
 82. RUSCHEL, A.P.; SAITO, S.M.T. Efeito da inoculação de *Rhizobium*, nitrogênio e matéria orgânica na fixação simbiótica de nitrogênio em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *R. Bras. Ci. do Solo*, 1:21-4, 1977.
 83. RUSCHEL, A.P. ; SAITO, S.M.T. & TULMANN NETTO, A. Eficácia da inoculação de *Rhizobium* em *Phaseolus vulgaris* L.; a - efeito de fonte de N e cultivares. *R. Bras. Ci. do Solo*, 3:13-7, 1979.
 84. RUSCHEL, A.P.; VOSE, P.B.; MATSUI, E.; VICTORIA, R.L. & SAITO, S. M.T. Field evaluation of N₂-fixation and N-utilization by *Phaseolus* bean varieties determined by

- N isotope dilution. *Plant and Soil*, 65:397-407, 1982.
85. SAITO, S.M.T.; OLIVEIRA, J.A.; FREITAS, J.R. & CASTILHO, I.T. Inoculação de *Rhizobium phaseoli* no campo; I - estudos de competição e sobrevivência. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 17, Manaus, 1970. *Anais...* SBCS, 1970. p. 97.
 86. SAITO, S.M.T. Avaliação em campo da capacidade de fixação simbiótica de estirpes de *Rhizobium phaseoli*. *Pesq. Agropec. Bras.*, 17(7):999-1006, 1982.
 87. SAITO, S.M.T.; BONETTI, R.; CABALLERO, U.S. & VICTORIA, R.L. Nodulação e utilização de nitrogênio e fósforo em duas variedades de *Phaseolus vulgaris* L. Sob déficit de água. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 1, Goiânia. *Anais...* Goiânia, CNPAF, 1982. p.316.
 88. SANTOS, A.B.; VIEIRA, C.; LOURES, E.G.; BRAGA, J.M. & THIEBAUT, J.T.L. Resposta do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) ao molibdênio e ao cobalto em solos de Viçosa e Paula Cândido, Minas Gerais. *Revista Ceres*, 26(143): 92-101, 1979.
 89. SENARATNE, R.; AMORNPIPOL, C & HARDARSON, G. Effect of combined nitrogen on nitrogen fixation of soybean (*Glycine max* L. Merril) as affected by cultivar and rhizobial strain. *Plant and Soil*, 103:45-50, 1987.
 90. SIQUEIRA, C. & VELOSO, A.C. Adsorção de molibdato em solos sob vegetação de cerrado. *R. Bras. Ci. do Solo*, 2:24-8, 1978.
 91. VEIGA, C.L. Potencial de utilização de nitrogênio na forma iônica e molecular de cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Piracicaba, ESALQ, 1980. 118p. (Tese Doutorado).
 92. VOSS, M.; FREIRE, J.R.J. & SELBACH, P.A. Potencial de fixação de N₂ de estirpes de *Rhizobium phaseoli* de regiões produtoras de feijão do Estado do Rio Grande do Sul. *R. Bras. Ci. do Solo*, 7:203-7., 1983.
 93. WESTERMANN, D.T. & KOLAR, J.J. Symbiotic N₂ (C₂H₂) fixation by bean. *Crop Science*, 18:986-90, 1978.
 94. WESTERMANN, D.T.; KLEINKOPF, G.E.; PORTER, L.K. & LEGGETT, G.E. Nitrogen sources for bean seed production. *Agronomy Journal*, 75:660-4, 1981.