

## Seleção de Estirpes de *Rhizobium* para o Feijoeiro. II. Senescência Tardia dos Nódulos<sup>1</sup>

L.H. Boddey\*, M. Hungria\*\*

### ABSTRACT

One of the main limitations of biological nitrogen fixation in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) is the early senescence of nodules, which begins just after flowering. Consequently, we have tried to identify, in three experiments performed under glasshouse conditions, some *Rhizobium* strains with delayed nodule senescence which maintain nitrogenase activity through a longer period during reproductive plant growth. Harvests were performed at 35, 45 and 55 days after emergence (DAE). Twenty-four *Rhizobium* strains were investigated, and in five of them (H-20, H-41, CNPAF 119, CNPAF 233 and CNPAF 234) rates of acetylene reduction activity doubled between 35 DAE (flowering) and 45 DAE (beginning of pod filling). These strains showed not only good nodulation, with a high nodule dry weight, but also a higher percentage of active pink nodules during the reproductive period. However, after 45 days, there was a drastic drop in all parameters related to N<sub>2</sub> fixation although in the five best strains the drop in nitrogenase activity and the grade of nodule senescence was less drastic. The best strains accumulated in shoots, at 55 DAE (mid-pod fill stage) between 229 and 290 mg of N per plant. Results showed that it is possible to select *Rhizobium* strains for beans that show late nodule senescence.

### INTRODUÇÃO

O processo de fixação biológica do nitrogênio em leguminosas apresenta uma demanda energética elevada, dependendo diretamente do fornecimento de fotossintatos pela planta hospedeira. Existe, então, uma interação entre a fotossíntese e a fixação biológica do nitrogênio: a planta fornece fontes de C para os nódulos, que passam a enviar de N para a leguminosa hospedeira. Consequentemente, a variação estacional da fixação do N<sub>2</sub> sempre foi vista como um problema de nutrição de C para os nódulos (16, 17).

<sup>1</sup> Recebido para publicação em 14 de abril 1988

Ao Eng. Agrônomo Carlos Antônio A. Barradas, pelo auxílio na condução dos experimentos. Ao CNPq, pela bolsa concedida à Lucia H. Boddey e à FINEP, pelo financiamento parcial desta pesquisa. Gostaríamos de agradecer também à Srta. Miriam pela datilografia do trabalho e ao Sr. Jair pelas ilustrações.

\* Bióloga, Bolsista do CNPq

\*\* Enga. Agra., Dra., EMBRAPA, Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Biologia do Solo (UAPNPBS), Km 47, Cep. 23851, Rio de Janeiro.

### RESUMO

A fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) tem, como uma de suas principais limitações, a senescência precoce dos nódulos, que inicia logo após o florescimento. Por isso, procurou-se identificar, em três experimentos conduzidos sob condições de casa-de-vegetação, algumas estirpes de *Rhizobium* que apresentassem senescência tardia dos nódulos, mantendo a atividade da nitrogenase por um período mais longo no ciclo reprodutivo. As coletas foram realizadas aos 35, 45 e 55 dias após a emergência (DAE). Das 24 estirpes de *Rhizobium* investigadas, em cinco delas (H-20, H-41, CNPAF 119, CNPAF 233 e CNPAF 234) as taxas de redução do acetileno chegaram a dobrar entre os 35 DAE (florescimento) e os 45 DAE (período inicial de enchimento dos grãos). Essas estirpes não só apresentaram uma boa nodulação, com um peso seco de nódulos alto, como também apresentaram maior porcentagem de nódulos ativos, com coloração interna rósea, durante todo o período reprodutivo. Após os 45 dias, porém, houve um declínio acentuado em todos os parâmetros de fixação do N<sub>2</sub> avaliados, embora nas 5 estirpes que se destacaram o declínio na atividade da nitrogenase e no grau de senescência dos nódulos tenha sido menos acentuado. As melhores estirpes acumularam, aos 55 DAE (período médio de enchimento dos grãos), entre 229 e 290 mg de N por planta na parte aérea. Os resultados obtidos mostram que é possível selecionar estirpes de *Rhizobium* para o feijoeiro que apresentem senescência tardia dos nódulos.

Assim, logo após o florescimento, pode ter início um declínio acentuado na atividade da nitrogenase, que ocorre devido a uma aceleração no processo de senescência dos nódulos, o que já foi constatado, sob condições de campo, para o feijoeiro (3, 5), e que tem sido atribuído à competição por C entre os nódulos e os órgãos reprodutivos em desenvolvimento (13, 14) ou a algum "fator fisiológico", provavelmente de origem hormonal, que seria transmitido aos nódulos e resultaria na perda de sua eficiência (20). A senescência precoce dos nódulos é limitante à otimização da fixação do N<sub>2</sub> em leguminosas, afetando diretamente a produtividade, particularmente no caso de culturas de ciclo curto, como o feijoeiro.

Não há dúvidas de que os fatores ambientais são muito importantes no controle da senescência dos nódulos (21) e, sob condições tropicais, as temperaturas elevadas e deficiências hídricas devem representar um papel relevante nesse processo. Contudo, a senescência precoce pode ocorrer mesmo sob condições ambien-

tais controladas de casa-de-vegetação (8) Muito embora os efeitos das estirpes de *Rhizobium* na longevidade dos nódulos não tenham sido adequadamente caracterizados, há indicações de que diferentes estirpes inoculadas na mesma planta hospedeira podem diferir na taxa de senescência dos nódulos em trevo (18) e feijoeiro (7)

Nesse contexto, este trabalho procurou estudar alguns parâmetros relacionados com a senescência dos nódulos de feijoeiro inoculado com 8 diferentes estirpes de *Rhizobium*.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos três experimentos, sob condições de casa-de-vegetação, com feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Negro Angel O delineamento experimental, crescimento das estirpes, inoculação, semeadura, desbaste e fornecimento de solução nutritiva foram descritos na primeira parte deste trabalho (1). As estirpes, escolhidas entre material já seleccionado e promissor foram: experimento 1 (estirpes provenientes da EMBRAPA-CPAC): H-20, H-24, H-37, H-39, H-40, H-41 e V-23; experimento 2 (provenientes da EMBRAPA-CNPAF): CNPAF 100, 109, 111, 112, 125, 126, 192 e 512; experimento 3 (provenientes da EMBRAPA-CPAC e CNPAF): H-3, H-4, CNPAF 103, 105, 107, 119, 233 e 234 As coletas foram realizadas aos 35, 45 e 55 dias após a emergência (DAE).

A atividade da nitrogenase foi avaliada usando-se raízes destacadas noduladas, conforme descrito na primeira parte deste trabalho (1).

Após a determinação da atividade da nitrogenase as raízes foram lavadas, secas em papel absorvente e

os nódulos foram destacados. Os nódulos foram então cortados para o exame da coloração interna, sendo classificados em um dos seguintes grupos: róseos (nódulos ativos), em senescência (início da senescência, com mudança de coloração de rósea para esverdeada), completamente senescidos e nódulos brancos (ineficientes). Após a classificação os nódulos foram colocados para secar em estufa a 50-60°C até atingirem peso constante determinando-se, então, o peso de matéria seca A parte aérea também foi colocada para secagem em estufa, determinando-se o peso de matéria seca e o N total (1).

#### RESULTADOS

No primeiro experimento houve um incremento na atividade da nitrogenase logo após o florescimento, aos 35 dias após a emergência (DAE), atingindo o pico de atividade no período médio de enchimento de grãos, aos 45 DAE (Tabela 1). Em alguns casos como o das estirpes H-20, H-39 e H-41, a atividade da nitrogenase duplicou nesse período de início de estabelecimento e enchimento das vagens (Tabela 1), o que pode ter também ocorrido devido ao grande aumento no peso seco de nódulos (Tabela 2) Nos 10 dias que se seguiram aos 45 DAE, porém, teve início uma queda drástica na atividade da nitrogenase e somente as plantas inoculadas com a estirpe H-41 ainda mantiveram uma taxa razoável de redução do acetileno. De um modo geral, as estirpes H-20 e H-41, seguidas pelas H-24 e H-38, foram as que apresentaram maior atividade da nitrogenase durante o ciclo reprodutivo (Tabela 1), apresentando também uma excelente nodulação (Tabela 2).

A distribuição percentual das classes de nódulos durante o período reprodutivo mostrou também que as estirpes H-20, H-24 e H-41 foram as que conseguiram

Tabela 1. Efeito de 8 estirpes de *Rhizobium*, provenientes da EMBRAPA-CPAC, na atividade da nitrogenase, avaliada pelo método da redução do acetileno ( $\mu\text{moles C}_2\text{H}_4 \cdot \text{pl}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ), de feijão cv. Negro Argel aos 35, 45 e 55 dias após a emergência (DAE). Médias de 3 repetições. Valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan ( $P = 0.05$ ).

Estirpe de <i>Rhizobium</i>	Atividade da nitrogenase		
	35	45	55
H-20	21.80 bcdef	58.01 a	3.68 ef
H-24	21.30 bcdef	36.80 abc	1.80 f
H-37	17.85 bcdef	33.10 bcd	1.03 f
H-38	24.43 bcdef	31.03 bcde	3.70 ef
H-39	12.88 cdef	28.40 bcdef	3.35 ef
H-40	5.98 def	5.80 def	9.80 cdef
H-41	17.73 bcdef	40.63 a	15.05 bcdef
V-23	5.50 ef	6.18 def	3.78 ef
CV (%)	81.59		

Tabela 2. Efeito de 8 estirpes de *Rhizobium*, provenientes da EMBRAPA-CPAC, no peso seco de nódulos ( $\text{mg} \cdot \text{pl}^{-1}$ ) e N total ( $\text{mg} \cdot \text{pl}^{-1}$ ) da parte aérea de feijão, cv. Negro Argel, durante o período reprodutivo. Médias de 3 repetições. Valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan ( $P = 0.05$ ).

Estirpe de <i>Rhizobium</i>	Peso Seco de Nódulos			N total	
	35 DAE*	45 DAE	55 DAE	35 DAE	55 DAE
H-20	340 abc	570 ab	590 a	124.60 a	236.27 a
H-24	440 a	640 a	640 a	153.50 a	194.90 ab
H-37	290 abcd	490 ab	400 a	121.00 ab	129.87 b
H-38	390 ab	690 a	400 a	132.83 a	159.00 ab
H-39	240 bcd	400 ab	390 a	78.27 bc	115.87 b
H-40	140 d	280 b	400 a	58.50 c	168.53 ab
H-41	280 abcd	520 ab	670 a	108.50 ab	229.33 a
V-23	160 cd	410 ab	410 a	55.80 c	141.17 ab
CV (%)	68.80	51.10	43.28	22.83	28.96

\* DAE = dias após a emergência

ram manter maior porcentagem de seus nódulos ativos, com coloração interna rósea (Fig 1). Logo após os 45 DAE, houve uma aceleração no processo senescência dos nódulos, mas que foi mais acentuada em algumas estirpes como a V-23, H-37, H-39 e H-40. As plantas inoculadas com a estirpe H-40 também apresentaram maior porcentagem de nódulos brancos ineficientes.

A maior porcentagem de nódulos róseos e ativos, que resultaram em maior atividade da nitrogenase. Levou ao maior acúmulo de N total na parte aérea (Tabela 2). Entre os 35 e os 55 DAE, as taxas de fixação de  $\text{N}_2$  proporcionadas por algumas estirpes foram bastante elevadas, como de  $5.58 \text{ mg N pl}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  nas plantas inoculadas com a estirpe H-20 e de  $6.04 \text{ mg N pl}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  nas plantas inoculadas com H-41 (Tabela 2). Essas duas estirpes foram as mais promissoras desse primeiro experimento, mantendo a fixação de  $\text{N}_2$  por mais tempo.

As estirpes empregadas no segundo experimento, apesar de já terem passado por testes de seleção na EMBRAPA-CNPAF, apresentaram o perfil típico de queda na atividade da nitrogenase que ocorre em feijoeiro, caindo acentuadamente logo após o florescimento (Tabela 3). Essa queda chegou a ser linear e foi ainda mais acentuada para as estirpes CNPAF 112, 125, 126 e 512, o que fica evidente ao se analisar o coeficiente "b" de regressão linear para a atividade da nitrogenase (Tabela 4). Ao contrário do primeiro experimento, porém, o peso seco de nódulos praticamente não aumentou após o florescimento (Tabela 5). A classificação dos nódulos foi realizada somente para a coleta aos 55 DAE (Fig. 2) e refletiu diretamente os dados de atividade da nitrogenase nessa coleta (Tabela 3). Assim, as estirpes CNPAF 100, 109 e 125, que mantiveram maior % de nódulos róseos ativos no período de encimento dos grãos, foram também as que apresentaram maior atividade da ni-

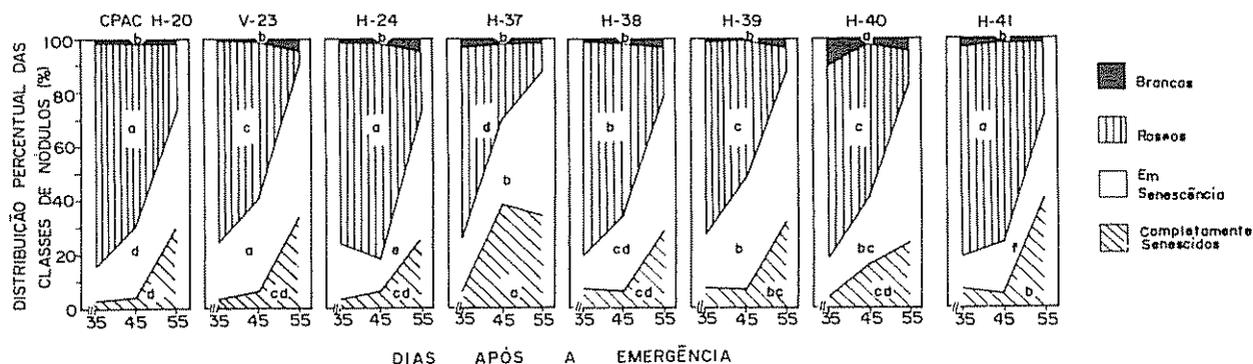


Fig. 1. Efeito de oito estirpes de *Rhizobium*, da EMBRAPA-CPAC na distribuição percentual das classes de nódulos segundo seu grau de senescência. Coletas realizadas após o florescimento e os valores representam médias de três repetições. Letras iguais indicam que os valores não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan ( $P = 0.05$ ) para cada classe.

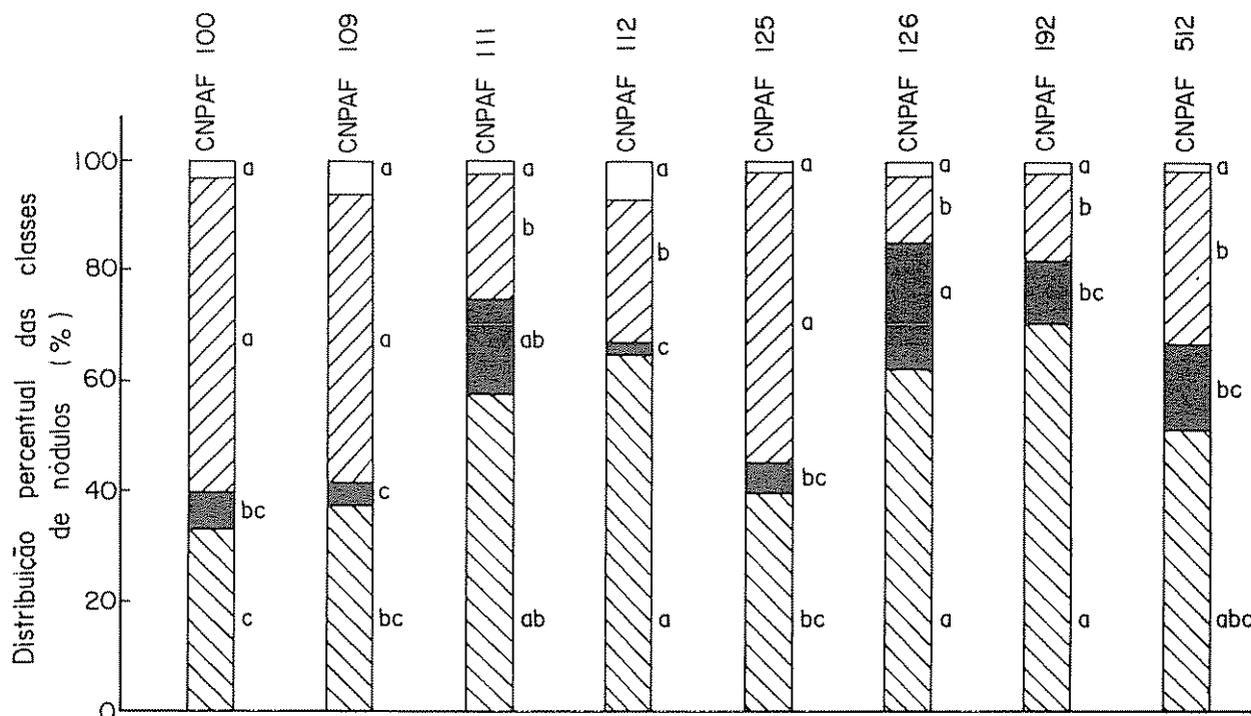


Fig 2 Efeito de oito estirpes de *Rhizobium*, da EMBRAPA - CNPAF, na distribuição percentual das classes de nódulos segundo o grau de senescência dos mesmos. Coleta realizada aos 55 DAE e os valores representam médias de três repetições. Letras iguais indicam que os valores não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan ( $P = 0.05$ ) para cada classe: completamente senescentes; róseos; brancos.

trogenase nessa mesma época. Apesar do declínio precoce na atividade da nitrogenase, apresentando taxas muito baixas de redução do acetileno aos 55 DAE (Tabela 3) as estirpes CNPAF 111 e 112 apresentaram excelente nodulação e acumularam teores elevados de N total na parte aérea aos 55 DAE (Tabela 5).

Os dados relativos ao terceiro experimento podem ser vistos na tabela 6. As estirpes apresentaram exce-

lente nodulação, com exceção das estirpes H-3, H-4 e CNPAF 103. Após o florescimento houve um incremento no peso seco de nódulos para todas as estirpes.

As taxas de redução do acetileno no florescimento foram elevadas nas plantas inoculadas com as estirpes CNPAF 119 e CNPAF 234, provavelmente refletindo a boa nodulação dessas plantas. Após o florescimento, houve um incremento na atividade da nitrogenase, atingindo picos elevados para todas as estirpes,

Tabela 3. Efeito de 8 estirpes de *Rhizobium*, provenientes da EMBRAPA-CNPAF, na atividade da nitrogenase, avaliada pelo método da redução do acetileno ( $\mu\text{moles C}_2\text{H}_4 \cdot \text{pl}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) de feijão, cv. Negro Argel, aos 35, 45 e 55 dias após a emergência (DAE). Médias de 3 repetições. Valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan ( $P = 0.05$ ).

Estirpes de <i>Rhizobium</i>	Atividade da nitrogenase		
	35 DAE	45 DAE	55 DAE
100	16.27 abcdef	14.09 defghi	4.68 hij
109	22.58 abcd	15.00 cdefgh	5.59 ghij
111	19.68 abcde	15.50 bcdefg	1.09 j
112	25.63 ab	13.85 defghi	1.60 j
125	25.24 abc	5.68 ghij	4.09 ij
126	26.08 a	3.53 ij	1.74 j
192	5.35 ghij	2.20 j	1.19 j
512	18.43 abede	6.20 lghij	1.09 j
CV (%)		56.60	

Tabela 4. Efeito de 8 estirpes de *Rhizobium*, provenientes da EMBRAPA-CNPAF, no peso seco de nódulos ( $\text{mg} \cdot \text{pl}^{-1}$ ) e N total ( $\text{mg} \cdot \text{N} \cdot \text{pl}^{-1}$ ) da parte aérea de feijão, cv. Negro Argel, aos 35, 45 e 55 dias após a emergência (DAE). Médias de 3 repetições. Valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan ( $P = 0.05$ ).

Estirpe de <i>Rhizobium</i>	Peso seco de nódulos			N Total	
	35	45	55	35	55
100	430 cde	580 a	520 a	106.47 bc	187.20 b
109	890 a	750 a	430 a	133.63 b	156.40 b
111	740 abc	830 a	320 a	118.43 b	212.86 ab
112	810 ab	870 a	300 a	176.57 a	263.50 a
125	340 de	380 ab	460 a	51.67 de	59.90 c
126	620 abcd	680 a	440 a	120.00 b	164.90 b
192	130 e	170 b	200 a	39.00 e	39.90 c
512	480 bcde	620 a	410 a	77.10 cd	81.57 c
CV (%)	35.62	51.49	51.26	19.07	28.20

exceto H-3, H-4 e CNPAF 103. Na coleta seguinte, porém, realizada apenas após 10 dias, a atividade da nitrogenase caiu drasticamente, chegando a apresentar uma redução de cerca de 30 vezes na estirpe CNPAF 105. Somente as estirpes CNPAF 119, CNPAF 233 e 234 ainda apresentaram alguma atividade aos 55 DAE (Tabela 6)

As estirpes CNPAF 119, 233 e 234 acumularam teores elevados de N total na parte aérea aos 55 DAE, destacando-se como estirpes muito eficientes. Essas três estirpes também foram as que apresentaram maior porcentagem de nódulos róseos ativos durante o ciclo reprodutivo (dados não mostrados)

#### DISCUSSÃO

Durante o florescimento do feijão ocorre um estímulo, provavelmente de origem hormonal, que estimula a fixação do  $\text{N}_2$  (6). Logo após o florescimento, porém, foi constatado, sob condições de campo, que ocorre um declínio acentuado na atividade da nitrogenase (3, 5). Posteriormente, com obtenção de cultivares de feijão e estirpes de *Rhizobium* com maior potencial de fixação de  $\text{N}_2$  foi demonstrado que, pelo menos sob condições de casa-de-vegetação, é possível obter altas taxas de fixação do  $\text{N}_2$  durante o período de enchimento dos grãos (8, 10). Isso também ficou evidente no primeiro e terceiro experimentos deste trabalho, onde algumas estirpes chegaram a dobrar a atividade da nitrogenase logo após o florescimento.

O declínio na atividade da nitrogenase e a aceleração na senescência dos nódulos têm sido geralmente atribuídos a algum fator relacionado com a planta hospedeira. Dentre esses fatores, poderiam ser citados os de menor disponibilidade de fotossintatos para os nódulos, devido à competição com as vagens em crescimento (13, 14). Entretanto, a senescência dos nódulos

Tabela 5. Parâmetros da regressão linear, para 8 estirpes de *Rhizobium*, onde X = dias de coleta (35, 45 e 55 dias após a emergência) e Y = taxa de redução do acetileno. Os dados representam médias de 3 repetições em cada coleta. Valores do coeficiente b seguidos pela mesma letra não diferem pelo teste de Duncan ( $P = 0.05$ ).

Estirpes de <i>Rhizobium</i>	r	a	b
CNPAF 100	-0.941**	37.76	-0.580 c
109	-0.998**	52.62	-0.850 bc
111	-0.953**	53.92	-0.929 ab
112	-1.000**	67.76	-1.202 a
125	-0.899**	59.26	-1.058 ab
126	-0.897**	65.22	-1.217 a
192	-0.959**	12.27	-0.208 d
512	-0.973**	47.59	-0.867 bc

em caupi (19) e feijão (8) pode ocorrer muito antes dos frutos representarem uma fonte importante de competição pelo carbono. A retirada das flores em feijão pode, inclusive, acelerar a senescência dos nódulos (9), provavelmente porque, sem as vagens, diminui a demanda por N. A senescência pode ser então controlada por algum fator fisiológico, provavelmente de origem hormonal, que seria enviado aos nódulos após o florescimento (15, 21). Os resultados mostrados neste trabalho, porém, deixam claro que a estirpe de *Rhizobium* também pode afetar a taxa de senescência dos nódulos. Embora todas as estirpes tivessem sido inoculadas na mesma planta hospedeira, algumas delas conseguiram manter uma maior porcentagem de seus nódulos ativos no período reprodutivo e apresentar um menor declínio na atividade da nitrogenase. Esses dados confirmam, portanto, resultados encontrados em 1940, que mostraram senescência prematura em estirpes inefetivas (2). As estir-

Tabela 6. Efeito de 8 estirpes de *Rhizobium*, provenientes da EMBRAPA-CPAC e CNPAF, no peso de nódulos ( $\text{mg} \cdot \text{pl}^{-1}$ ), na atividade da nitrogenase ( $\mu\text{moles } \text{C}_2\text{H}_4 \cdot \text{pl}^{-1}$ ) e no N total acumulado na parte aérea ( $\text{mg} \cdot \text{pl}^{-1}$ ) de feijão cv. Negro Argel. Médias de 3 repetições e valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo Teste de Duncan ( $P = 0.05$ ).

Estirpe de <i>Rhizobium</i>	Peso seco de nódulos			Atividade da nitrogenase			N total
	35	45	55	35	45	55	55
H-3	104 c	266 c	270 c	7.21 efg	11.29 defg	0.82 g	84.90 c
H-4	75 c	120 c	75 d	2.28 efg	17.6 cdefg	1.14 fg	111.78 c
CNPAF 103	133 c	190 c	169 cd	10.15 defg	17.40 cdefg	1.86 efg	90.12 c
105	583 ab	704 a	580 b	16.90 cdefg	34.65 abcd	1.16 fg	208.12 b
107	478 ab	510 b	450 b	20.26 cdefg	27.52 bcdef	1.42 fg	198.15 b
119	729 a	807 a	850 a	57.02 a	38.30 abc	4.86 efg	290.15 a
233	416 b	491 b	500 b	28.03 bcde	46.15 ab	4.82 efg	240.05 ab
234	708 a	840 a	880 a	38.48 abc	38.78 abc	4.49 efg	250.12 ab
CV (%)	33.26	27.00	33.97	—	74.72	—	25.20

pes talvez possam influenciar a senescência dos nódulos pela produção de diversas substâncias de crescimento, compostos nitrogenados, polissacarídeos, etc, que seriam transportados para a célula hospedeira (21). Também é possível que as estirpes afetem a senescência alterando a disponibilidade de oxigênio para os nódulos, devido a algum efeito na barreira de oxigênio (20, 22).

Entretanto, algumas estirpes como as H-20 e H-41 (experimento 1), CNPAF 119, CNPAF 233 e CNPAF 234 (experimento 3), que se mostraram precoces em relação à nodulação e fixação do  $\text{N}_2$  (1) também apresentaram senescência tardia dos nódulos devendo, portanto, ser recomendadas, uma vez que apresentam um período ativo de fixação do  $\text{N}_2$  mais prolongado

Todavia, após o período médio de enchimento dos grãos, aos 45 DAE, houve um declínio acentuado na atividade da nitrogenase mesmo com as estirpes mais promissoras para a senescência tardia dos nódulos. Inicialmente, foi demonstrado, em feijoeiro, que o pico da atividade da nitrato redutase ocorria após o declínio na atividade da nitrogenase, sugerindo que a complementação com fertilizante nitrogenado após o florescimento beneficiaria a produtividade (5). A utilização de cultivares e estirpes mais responsivas à fixação do  $\text{N}_2$ , porém, não confirmou, em casa-de-

vegetação, essas curvas de atividade da nitrogenase e da nitrato redutase (10) obtidas para o feijoeiro. Além disso, a aplicação de N mineral nessa época pode implicar no acúmulo de N nos órgãos vegetativos e não nos órgãos reprodutivos. Estudos recentes conduzidos com soja (12) e feijão (4, 11) têm mostrado que o N proveniente da fixação, durante o ciclo reprodutivo, vai diretamente para os grãos, ao contrário do N mineral. Também foi constatado que o N proveniente da fixação acumulado nas folhas e caule é mais facilmente remobilizado para os grãos do que o N mineral (8, 11)

Neste trabalho, pode-se confirmar que as estirpes de *Rhizobium* podem influenciar a senescência dos nódulos. Algumas estirpes promissoras para a senescência tardia, como a H-20, H-41, CNPAF 119, CNPAF 233 e CNPAF 234 já foram identificadas e acumularam na parte aérea, aos 55 DAE, valores superiores a  $220 \text{ mg N planta}^{-1}$ . Visto que o N mineral aplicado após o florescimento pode acelerar a senescência dos nódulos (21) e que a sua aplicação não implica necessariamente em maior teor de N nos grãos, talvez o melhor caminho a ser seguido seja o de continuar a selecionar estirpes de *Rhizobium* que apresentem um maior período ativo de fixação do  $\text{N}_2$  no feijoeiro

#### LITERATURA CITADA

- BARRADAS, C. A. A.; HUNGRIA, M. 1989. Seleção de estirpes de *Rhizobium* para o feijoeiro. I. Precocidade para nodulação e fixação do nitrogênio. Turrialba 39(2):236-242.
- CHEN, H. K.; THORNTON, H. G. 1940. The structure of "ineffective" nodules and its influence on nitrogen fixation. Proceedings of the Royal Society 129:208-229.
- CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE ARROZ E FEIJÃO. 1984. Relatório Científico. p. 313-332.
- DUBOIS, D. B.; BURRIS, R. H. 1986. Comparative study of N uptake and distribution in three lines of com-

- mon bean (*Phaseolus vulgaris* L.) at early pod filling stage. *Plant and Soil* 93:79-86.
5. FRANCO, A.A.; PEREIRA, J.C.; NEYRA, C.A. 1979. Seasonal patterns of nitrate reductase and nitrogenase activities in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Physiology* 63:421-424.
  6. GRAHAM, P.H.; HALLIDAY, J. 1977. Inoculation and nitrogen fixation in the genus *Phaseolus*. In *Exploiting the legume - Rhizobium symbiosis in tropical agriculture*. Ed by J.M. Vincent. Hawaii, College of Tropical Agriculture. Miscellany Publications 145. p. 313-334.
  7. HUNGRIA, M.; FRANCO, A.A. s.f. Nodule senescence in *Phaseolus vulgaris*. *Tropical Agriculture* (in press).
  8. HUNGRIA, M.; NEVES, M.C.P. 1986. Ontogenia da fixação biológica do nitrogênio em *Phaseolus vulgaris*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 21:715-730.
  9. HUNGRIA, M.; NEVES, M.C.P. 1986. Efeito da manipulação de fotossintatos na fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 21:9-24.
  10. HUNGRIA, M.; NEVES, M.C.P.; VICTORIA, R.L. 1985. Assimilação do nitrogênio em feijoeiro. I Atividade da nitrogenase, da nitrato redutase e transporte de N na seiva do xilema. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 9:193-200.
  11. HUNGRIA, M.; NEVES, M.C.P.; VICTORIA, R.L. 1985. Assimilação do nitrogênio em feijoeiro. II Absorção e translocação do N mineral e do N<sub>2</sub> fixado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 9:201-209.
  12. IMSANDE, J. 1986. Ineffective utilization of nitrate by soybean during pod fill. *Physiologia Plantarum* 68:689-694.
  13. LAWN, R.J.; BRUN, W.A. 1974. Symbiotic nitrogen fixation in soybeans. I Effect of photosynthetic source-sink manipulation. *Crop Science* 14:11-16.
  14. LAWRIE, A.C.; WHEELER, C.T. 1974. The effects of flowering and fruit formation on the supply of photosynthetic assimilates to the nodules of *Pisum sativum* L. *New Phytologist* 73:1119-1127.
  15. MALIK, N.S.A. 1983. Grafting experiments on the nature of the decline in N<sub>2</sub> fixation during fruit development in soybeans. *Physiologia Plantarum* 57:561-564.
  16. MINCHIN, F.R.; SUMMERFIELD, R.J.; HADLEY, P.; ROBERTS, E.H.; RAWSTHORNE, S. 1981. Carbon and nitrogen nutrition of nodulated roots of grain legumes. *Plant, Cell and Environment* 4:5-26.
  17. NEVES, M.C.P.; HUNGRIA, M. 1987. The physiology of nitrogen fixation in tropical grain legumes. *CRC Critical Reviews in Plant Sciences* 6:267-321.
  18. PANKURST, C.E.; GIBSON, A.H. 1973. *Rhizobium* strain influence on disruption of clover nodule development at high root temperature. *Journal of General Microbiology* 74:219-231.
  19. PEOPLES, M.B.; PATE, J.S.; ATKINS, C.A. 1983. Mobilization of nitrogen in fruiting plants of a cultivar of cowpea. *Journal of Experimental Botany* 34:563-578.
  20. SHEEHY, J.E. 1983. Relationships between senescence, photosynthesis, nitrogen fixation and seed filling in soya bean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Annals of Botany* 51:679-682.
  21. SUTTON, W.D. 1983. Nodule development and senescence. In *Nitrogen fixation*. Ed. by W.J. Broughton. Oxford, Clarendon Press. v.3, p. 144-212.
  22. WITTY, J.F.; MINCHIN, F.R.; SHEEHY, J.E.; INES MINGUES, M. s.f. Acetylene-induced changes in the oxygen diffusion resistance and nitrogenase activity of legume root nodules. *Annals of Botany* 53:13-20.