

TEOR DE UREÍDOS, TIPO DE NÓDULO E ATIVIDADE DA NITROGENASE DE LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS, FLORESTAIS E DE GRÃO¹

SILVIA REGINA GOI² e MARIA CRISTINA PRATA NEVES³

RESUMO - Foi feito um levantamento entre leguminosas forrageiras, florestais e de grão, onde foi analisado o conteúdo de ureídos, tipo de nódulos e atividade da nitrogenase. Foram estudadas 36 espécies de leguminosas representando sete tribos da subfamília *Papilionoideae* e duas tribos da subfamília *Mimosoideae* e *Caesalpinioideae*. Foram encontrados ureídos em quase todas as espécies estudadas, mas muitas espécies possuíam concentração de ureídos muito baixa. Foram encontradas altas concentrações de ureídos em nódulos, raízes e caule de espécies pertencentes à tribo *Phaseoleae* subfamília *Papilionoideae*. Essas plantas são encontradas em regiões tropicais, possuem nódulos do tipo determinado e provavelmente desenvolveram uma forma de transporte de nitrogênio adaptada a ambientes quentes. As concentrações elevadas de ureídos nessas plantas foram relacionadas com alta atividade da nitrogenase nos nódulos, o que reflete a origem dos ureídos a partir da fixação de nitrogênio.

Termos para indexação: *Papilionoideae*, *Mimosoideae*, *Caesalpinioideae*, fixação de nitrogênio, tipo de nódulo, ureído.

UREIDE CONTENT, NODULE TYPE AND NITROGENASE ACTIVITY OF GRAIN, FORAGE AND FOREST TREE LEGUME SPECIES

ABSTRACT - Grain, forage and tree legumes were surveyed for ureide content, type of nodules and nitrogenase activity. Thirty-six legume species were studied representing seven tribes of the subfamily *Papilionoideae* and two tribes of the subfamily *Mimosoideae* and *Caesalpinioideae*. Ureides were found in almost all the plant species studied but for many species in very low concentrations. High ureide content was found in nodules, root and stem of legume species belonging to tribe *Phaseolus*, subfamily *Papilionoideae*. Those plants are common in tropical regions, have determinant type of nodules and probably evolved towards a form of transport of nitrogen adapted to warm environments. The high ureide contents of these plants were related to high nitrogenase activities of nodules and reflected the origin of ureides from biological nitrogen fixation.

Index terms: *Papilionoideae*, *Mimosoideae*, *Caesalpinioideae*, nitrogen fixation, nodule type, ureide.

INTRODUÇÃO

A forma sob a qual o nitrogênio fixado biologicamente é transportado do nódulo e fica disponível para a parte aérea das leguminosas varia consideravelmente entre as diferentes espécies. Aminoácidos, amidas e ureídos (alantoína e alantoato) têm sido indicados como os principais compostos

nitrogenados presentes no exsudato do xilema (Bollard 1959, Mothes 1961, Pate 1962, Reinbothe & Mothes 1962, Pate 1962, 1971).

Para algumas leguminosas como *Glycine max* e *Vigna unguiculata*, os ureídos representam cerca de 60-80% do nitrogênio transportado por plantas noduladas (Tajima & Yamamoto 1975, Matsumoto et al. 1977, Herridge et al. 1978, Minchin et al. 1980), enquanto outras, como *Lupinus*, transportam principalmente asparagina (Pate 1962, Pate & Herridge 1978).

A vantagem da utilização de ureídos no transporte do nitrogênio fixado está não apenas na economia considerável em termos de carbono (relação C:N = 1 nos ureídos), mas também no menor gasto de ATP na síntese de ureídos, 1-4 ATP (Minchin et al. 1981), em comparação com os cinco e sete ATP gastos na produção de glutamato e asparagina, respectivamente.

Têm sido feitas tentativas de correlacionar pa-

- ¹ Aceito para publicação em 8 de setembro de 1981. Contribuição do Programa Fixação Biológica de Nitrogênio, convênio EMBRAPA/SNLCS - CNPq e da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Apresentado na X Reunião Latinoamericana de *Rhizobium*, Maracay, Venezuela, 15 a 19 de setembro de 1980.
- ² Biol., bolsista da CAPES, Dept^o de Ciências Ambientais, Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, CEP 23460 - Seropédica, RJ.
- ³ Biol., Ph.D., bolsista do CNPq, Dept^o de Solos, Instituto de Agronomia da UFRRJ, CEP 23460 - Seropédica, RJ.

râmetros tais como produtos translocados no xilema, tipo de nódulo e a origem evolucionária das tribos (Sprent 1980).

Estudos sobre nodulação e fixação de nitrogênio em leguminosas produtoras de grãos, forrageiras (Lopes et al. 1976, Franco et al. 1973, Nutman 1971, Vincent 1974) e florestais (Norris 1969, Allen & Allen 1961, Corby 1971) de um modo geral não citam as formas em que o nitrogênio fixado é transportado e distribuído na planta, e apenas algumas espécies como *Glycine max*, *Vigna unguiculata*, *Lupinus albus*, *Pisum sativum*, *P. arvense*, *Vicia faba* e *Phaseolus vulgaris* já foram examinadas a este respeito (Sprent 1980).

Este trabalho examina a ocorrência de ureídos, os tipos de nódulos e a capacidade de fixação de nitrogênio em 36 espécies pertencentes à subfamília *Papilionoideae* (sete tribos), subfamília *Mimosoideae* (duas tribos) e subfamília *Caesalpinoideae*.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o levantamento, algumas espécies foram examinadas no seu hábitat natural, enquanto outras foram crescidas em casa de vegetação, em potes de plástico contendo uma mistura de areia, e vermiculita como substrato. Estas espécies foram inoculadas com estirpes específicas de *Rhizobium* (Tabela 1). As plantas examinadas no campo foram coletadas sempre no mesmo horário, em mais de um local, com objetivo de se eliminarem interferências, respectivamente, de variações diurnas, tipo de solo, ou população nativa de *Rhizobium*, nos resultados finais.

A atividade da nitrogenase foi determinada pelo método de redução do acetileno. Coletaram-se as raízes, que foram colocadas em frascos de 300 ml, fechados hermeticamente com tampa de "suba-seal", e dos quais, 13% v/v do ar foi substituído por acetileno (C_2H_2). Os frascos foram incubados por um período de uma hora, na mesma temperatura a que as plantas estavam sujeitas. Após a incubação, amostras de 0,5 ml foram tiradas e analisadas por cromatografia de gás para determinação do etileno (C_2H_4), formado da redução do acetileno pela nitrogenase (Dart et al. 1972).

Em algumas plantas foram feitas análises de ureídos nos nódulos, raízes e caule (secção de 3 cm, acima dos cotilédones), enquanto que para outras, apenas o caule foi utilizado, o que permitia análise do teor de ureídos e da atividade da nitrogenase na mesma planta. Além disso, o teor de ureído do caule reflete o teor de ureído transportado na seiva, já que experimentos anteriores (Goi⁴) confirmaram a existência de correlações estreitas

entre a concentração de ureídos no caule e na seiva, tanto para soja como para feijão.

Para análise de concentração de ureídos nas plantas, o material foi coletado e mantido a 0°C até o momento da análise. Porções do material vegetal foram pesadas, trituradas com NaOH 0,02 N de modo a dar diluição adequada, centrifugadas, e o sobrenadante foi utilizado para determinação colorimétrica de ureídos (Young & Conway 1942).

Os nódulos foram classificados de acordo com o seu tipo morfológico e comparados, quando possível, com os descritos por Corby (1971) e Pate (1978).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi recentemente proposto que o transporte de ureídos por leguminosas está relacionado com o tipo de nódulo e a origem geográfica das espécies. A baixa solubilidade dos ureídos implica a necessidade do transporte de um volume grande de água, 2,6 vezes mais água que a necessária para transportar quantidades equivalentes de nitrogênio na forma de asparagina (Sprent 1980).

O sistema vascular dos nódulos determinados, que é um sistema fechado, difere dos nódulos indeterminados. Experimentos com água radiativa têm mostrado um fluxo facilitado de água, das raízes para os nódulos determinados, o mesmo não acontecendo com nódulos indeterminados, pois a água, para passar de um feixe para o outro, encontra a resistência oferecida pelo meristema, uma vez que os feixes condutores formam um sistema aberto neste tipo de nódulo (Sprent 1972).

Além disso, baixas temperaturas (15-20°C) diminuem a solubilidade da alantoína e do alantoto, dificultando seu transporte para a parte aérea. O transporte de nitrogênio via ureídos não seria, portanto, conveniente, nem para plantas de nódulos indeterminados, nem para plantas de clima temperado. Deste modo, a produção, transporte e metabolismo de ureídos seriam aspectos fisiológicos característicos que se desenvolveram entre plantas originadas em regiões tropicais/subtropicais (Sprent 1980).

De fato, as espécies que apresentaram maior teor de ureídos (Tabela 1) estão enquadradas na subfamília *Papilionoideae*, tribo *Phaseoleae*, que teve origem nos trópicos (Polhill⁵). Dentro desta

⁴ Goi, dados não publicados.

⁵ Polhill, dados não publicados.

TABELA 1. Teor de ureídeos no nódulo, raiz e caule, tipo de nódulo e atividade da nitrogenase de plantas de família Leguminosae.

Espécie examinada	Estirpe de <i>Rhizobium</i>	Estágio de crescimento ^a	Nº de plantas examinadas	Tipo de nódulo ^b	nódulo	Ureídos ^c raiz	caule	Atividade da nitrogenase ^d
<i>Papilionoideae</i> h								
Tribo <i>Indigoferae</i>								
1. <i>Indigofera hirsuta</i>	nativo	PM	1	D-globoso			0,13	0,74
2. <i>I. hirsuta</i>	"	"	3	"			0,03	13,96
3. <i>I. campestris</i>	"	"	3	"			0,06	0,77
4. <i>Cyamopsis tetragonoloba</i> (L.) Taub ^g	"	"	1	"			0,35	N.D. ^e
Tribo <i>Aeschynomeneae</i>								
5. <i>Aeschynomene</i> sp	"	"	3	"			0,13	9,57
6. <i>Aeschynomene</i> sp	"	"	2	"			0,03	11,18
7. <i>Aeschynomene</i> sp	"	"	3	"			0,11	2,15
8. <i>Stylosanthes guyanensis</i> ^g (cv. Schofield)	Br23a, Br1	"	2	"	0,45	0,17	0,15	1,00
9. <i>Arachis hypogaea</i> ^g (cv. Tatu)	SMS2, SMS176	"	2	D-semi globoso	1,12	0,91	0,71	6,40
10. <i>A. diogeni</i>	nativo	"	2	"	0	0,08	0,10	0,40
Tribo <i>Desmodieae</i>								
11. <i>Desmodium triflorum</i> DC	"	"	2	D-globoso			0,03	2,58
12. <i>D. triflorum</i> DC	"	"	1	"			0,13	0,28
13. <i>Alysicarpus vaginalis</i> (L.)	"	"	3	"			0,09	0,58
Tribo <i>Phaseoleae</i>								
S.T. <i>Erythrinae</i>								
14. <i>Stylosobium aterrimum</i>	nativo	PM	1	l-elongado			0,06	14,51
S.T. <i>Diocleinae</i>								
15. <i>Canavalia obtusifolia</i> (Lam.)	"	"	3	"			0,07	14,32
16. <i>Galactia jussiaena</i> H.B.K.	"	PJ	3	D-globoso			0,05	2,29
17. <i>Calopogonium mucunoides</i> (Desv.)	"	PM	2	"			0,35	0,05
S.T. <i>Glycininae</i>								
18. <i>Glycine max</i> ^g (cv. Sta Rosa)	R54a, CB1809	"	2	"	2,76	4,67	9,75	17,50
19. <i>Clitoria racemosa</i> Benth	não nodulada	PJ	2	"			0,13	0

TABELA I. Continuação

Espécie examinada	Estirpe de <i>Rhizobium</i>	Estágio de crescimento ^a	Nº de plantas examinadas	Tipo de nóculo ^b	nóculo	Ureídos ^c raiz	caule	Atividade da nitrogenase ^d
<i>Papilionoideae</i> h								
20. <i>Centrosema pubescens</i> Benth ^g	C101a, C102	PM	2	D-globoso	0,68	0,67	0,69	9,60
21. <i>Psophocarpus tragacantholobus</i>	nativo	"	2	D-semi globoso	0,26	0,12	0,14	N.D. ^e
22. <i>Vigna unguiculata</i> ^g (cv. Seridó)	I1a, Cj1	"	2	D-globoso	1,01	0,69	1,60	22,00
23. <i>Vigna</i> sp	nativo	"	1	"	"	"	0,44	0,44
24. <i>Macroptilium atropurpureum</i> ^g (cv. Siratro)	L1a, Cj1	"	2	"	0,69	0,86	0,90	12,00
25. <i>M. lathyroides</i>	nativo	"	3	"	"	"	1,99	3,30
26. <i>M. lathyroides</i>	"	"	3	"	"	"	0,44	13,96
27. <i>Phaseolus vulgaris</i> ^g (cv. Rico 23)	F-413	"	2	"	0,40	0,72	1,25	10,30
Tribo Viciae								
28. <i>Pisum sativum</i> ^g (cv. Gigante)	AR, AT	PM	1	I-elongado	0	0	0	N.D.
29. <i>P. sativum</i> ^g (cv. Paulista)	AR, AT	"	1	"	0	0	0	N.D.
Tribo Crotalariae								
30. <i>Lotononis bainesii</i> ^g	L1, L12	"	2	D-globoso	0,71	0,61	0,83	36,00
31. <i>Crotalaria striata</i>	nativo	"	3	I-forma de leque	"	"	0,05	6,36
32. <i>Crotalaria</i> sp	"	"	1	I-forma de leque	"	"	0,06	0
Tribo Genisteae								
33. <i>Lupinus luteus</i> ^g	921	PJ	1	D-forma de colar	0,14	0,07	0,08	0,76
<i>Caesalpinioideae</i>								
34. <i>Cassia fistula</i> L.	não nodulada	PJ	2	—	0,32	"	0,32	0
35. <i>Cassia</i> sp	nativo	"	3	I-elongado	"	"	0,10	0,201
36. <i>Bauhinia</i> sp	não nodulada	"	2	—	"	"	0,20	0

TABELA 1. Continuação

Espécie examinada	Estirpe de <i>Rhizobium</i>	Estágio de crescimento ^a	N.º de plantas examinadas	Tipo de nódulo ^b	nódulo	Ureídos ^c raiz	caule	Atividade da nitrogenase ^d
<i>Mimosoideae</i>								
Tribo <i>Mimoseae</i>								
37. <i>Mimosa caesalpinifolia</i>	não-nodulado	"	2	-		0,35		0
38. <i>M. pudica</i> L.	"	PM	1	l-elongado ^f		0,13		0
39. <i>Leucaena leucocephala</i> ^g	NGR-8	"	2	"		0,42		4,20
Tribo <i>Ingeae</i>								
40. <i>Inga</i> sp	não nodulada	PJ	2	D-globoso		0,38		0
41. <i>Pithecolobium saman</i>	nativo	"	2	"		0,13		0,34

^a PJ - planta jovem; PM - planta madura; D - determinado; l - indeterminado; ^c mmol/g peso fresco; ^d $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ planta}^{-1}$; e N.D. - não determinado, um exemplar disponível; ^f citado por Lim & NG (1977); ^g plantas crescidas em casa de vegetação. As demais foram coletadas no campo; ^h classificação segundo Hutchinson (1967). As outras subfamílias foram classificadas segundo Poihill (dados não publicados).

tribo, as espécies que apresentaram maior teor de ureídos foram as que possuem nódulos do tipo determinado (Tabela 1). *Canavalia obtusifolia* e *Stylosobium aterrimum*, que também pertencem à tribo *Phaseoleae* mas possuem nódulos indeterminados, apresentaram teores baixos de ureídos. *Canavalia*, *Stylosobium* e *Cajanus* são citados em alguns trabalhos como tendo nódulos indeterminados, (Arora 1956), e em outros, como possuindo nódulos semiglobosos (Lim & Ng 1977) e constituem exceções dentro da tribo *Phaseoleae*, pelo menos entre as espécies investigadas até o momento.

Das plantas examinadas, as que possuíam nódulos indeterminados apresentaram teores baixos de ureídos nos nódulos, raízes e caules e é provável que transportem o nitrogênio fixado via asparagina e glutamina, como ocorre com *Pisum* (Pate 1968) e com *Lupinus* (Atkins et al. 1979). Com exceção de *Pisum sativum*, todas as espécies apresentaram pelo menos traços de ureídos. Nesta espécie, foi analisada também a seiva (Goi⁶) sem ser, contudo, detectada a presença dos ureídos. Entretanto, Pate (1968) encontrou pequenas quantidades de ureídos na seiva de *P. arvense* e Minchin & Pate (1973) encontraram traços de ureídos em *P. sativum* cv. Meteor. Plantas de clima temperado (Acer, por exemplo) podem, entretanto, estocar ureídos durante o inverno e os transportar na primavera para as partes da planta em brotamento, conseguindo, com isso, a translocação de um máximo de nitrogênio para a produção de folhas, com o uso de um mínimo de carbono, que nesta fase estaria bastante escasso (Mothes 1961). A estocagem de ureídos em épocas nas quais as temperaturas fossem baixas e a água disponível no solo fosse pequena seria uma opção para as leguminosas bianuais e perenes, como, por exemplo, *Leucaena*, *Centrosema*.

Plantas que apresentaram altos teores de ureído no caule tiveram também uma atividade da nitrogenase considerável (Fig. 1). Entretanto, algumas espécies, como *Indigofera* e *Aeschynomene* apresentaram alta atividade da nitrogenase, mas baixos teores de ureídos, apesar de possuírem nódulos

⁶ Goi, dados não publicados.

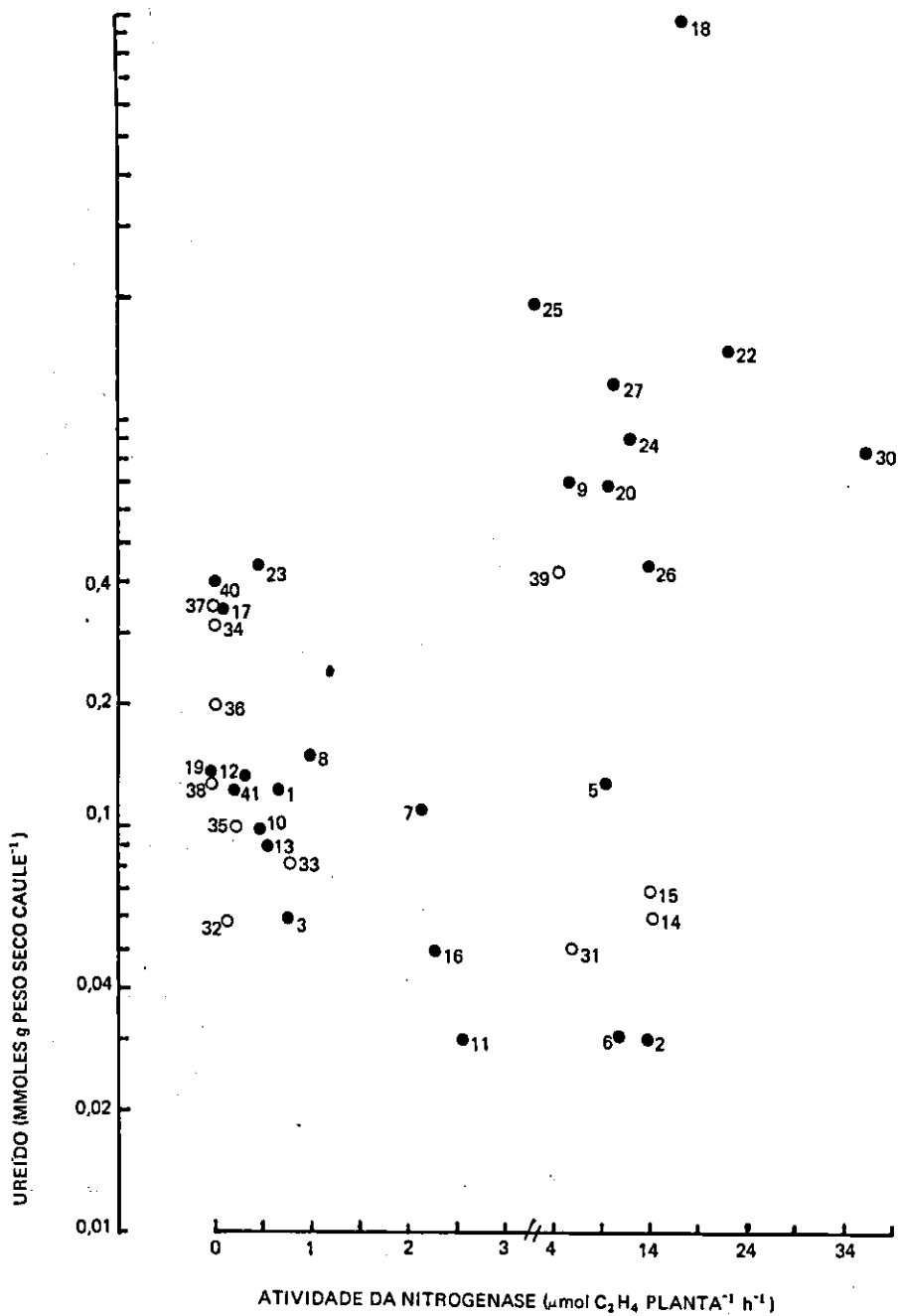


FIG. 1. Relação entre os teores de ureído no caule e as atividades da nitrogenase de leguminosas forrageiras, florestais e de grão; ● - nódulos determinados; ○ - nódulos indetermiados; os números se referem às espécies listadas na Tabela 1.

do tipo determinado e de serem plantas comuns de regiões tropicais, o que indica a utilização de outras formas de compostos nitrogenados no transporte do nitrogênio fixado por estas plantas.

Nas tribos *Indigofera*, *Desmodieae*, *Vicieae*, *Genisteae*, *Mimoseae* e *Ingae* e na subfamília *Caesalpinoideae*, 100% dos espécimes estudados apresentaram valores de concentração de ureído abaixo de 0,5 mmole x (g peso fresco de caule)⁻¹. Teores médios de ureídos (0,5 - 1,0 mmole (g peso fresco de caule)⁻¹ foram encontrados em 17% dos espécimes examinados da tribo *Aeschynomeneae*, 14% da tribo *Phaseoleae* e 33% da tribo *Crotalariae*, sendo que concentrações acima de 1,0 mmole (g peso fresco de caule)⁻¹ só foram encontradas na tribo *Phaseoleae* (29% dos espécimes estudados). A concentração de ureído no caule de soja foi surpreendentemente alta, chegando a ser pelo menos 5 vezes maior que os maiores valores encontrados neste trabalho, e deve contribuir consideravelmente na economia dos nódulos em termos de consumo de carbono, como já foi relatado para caupi (Herridge & Pate 1977, Neves et al. 1981, Minchin et al. 1980). Porém, apesar de a soja ser a leguminosa mais intensivamente investigada, nenhum estudo foi feito até o momento, sobre a economia funcional das raízes noduladas e/ou nódulos de soja em termos de consumo de carbono.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Dra. Janet Sprent (Universidade de Dundee, Escócia) e Dra. Johanna Dobereiner (EMBRAPA/SNLCS), pelas sugestões recebidas; aos Drs. Hélio Ribeiro e Sebastião M. Souto (PESAGRO-RIO) e Ariana L. Peixoto (UFRRJ), pela classificação dos espécimes, e aos alunos do Curso de Agronomia, Srs. José Augusto A. de Lima e Erani M. Bastos, pela colaboração nas coletas.

REFERÊNCIAS

ALLEN, E.K. & ALLEN, D.N. The scope of nodulation of the leguminosae; recent advances in botany, Canadá. Univ. Toronto Press, 1961. v.1.

ARORA, N. Histology of the root nodules of *Cicer arietinum* L. *Phytomorphology*, 6:367-78, 1956.

- ATKINS, C.A.; HERRIDGE, D.F. & PATE, J.S. The economy of carbon and nitrogen in nitrogen-fixing annual legumes-experimental observations and theoretical considerations. In: _____ Isotopes in biological dinitrogen fixation. Viena, IAEA. 1979. p.211-42.
- BOLLARD, E.G. Urease, urea and ureides in plants. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 13:304-29, 1959.
- CORBY, H.D.L. The shape of leguminous nodules and the colour of leguminous roots. *Plant Soil, Special Volume*, 304-14, 1971.
- DART, P.J.; DAY, J.M. & HARRIS, D. Assay of nitrogenase activity by acetylene reduction. Viena, FAO-IAEA, 1972. p.85-100. (Technical Report, 149).
- FRANCO, A.A.; SERPA, A. & SOUTO, S.M. Simbiose de estirpes homólogas com linhagens de *Centrosema pubescens*. *Pesq. agropec. bras.*, 8:13-7, 1973.
- HERRIDGE, D.F. & PATE, J.S. Utilization of net photosynthate for nitrogen fixation and protein production in an annual legume. *Plant Physiol.*, 80:759-64, 1977.
- HERRIDGE, D.F.; ATKINS, C.A.; PATE, J.S. REINBIRD, R.M. Allantoin and allantoic acid in the nitrogen economy of the cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Plant Physiol.*, 82:495-8, 1978.
- HUTCHINSON, J. The genera of flowering plants (angiospermae). 2.ed. Oxford, Clarendon-Press, 1967. v.1.
- LIM, G. & NG, H.L. Root nodules of some tropical legumes in Singapore. *Plant Soil*, 46:317-27, 1977.
- LOPES, E.S.; SAVY, A.F.; OLIVEIRA, M.C.C.; GIARDINE, A.R. & POMPEO, A.S. Observação da nodulação natural em cultivares de amendoim. *Bragantia*, Campinas, 35:12-3, 1976.
- MATSUMOTO, T.; YATAZAWA, M. & YAMAMOTO, Y. Distribution and change in the contents of allantoin and allantoic acid in developing nodulating and non-nodulating soybean plants. *Plant Cell Physiol.*, 18:353-9, 1977.
- MINCHIN, F.R. & PATE, J.S. The carbon balance of a legume and the functional economy of its root nodules. *J. Exp. Bot.*, 24:259-71, 1973.
- MINCHIN, F.R.; SUMMERFIELD, R.J. & NEVES, M.C.P. Carbon metabolism, nitrogen assimilation, and seed yield of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) grown in an adverse temperature regime. *J. Exp. Bot.*, 31:1327-45, 1980.
- MINCHIN, F.R.; SUMMERFIELD, R.J.; HADLEY, P.; ROBERTS, E.H. & RAWSTHORNE, S. Carbon and nitrogen nutrition of nodulated roots of grain legumes. *Plant Cell Environ.*, 4:5-26, 1981.
- MOTHES, K. The metabolism of urea and ureides. *Can. J. Bot.*, 39:1785-807, 1961.
- NEVES, M.C.P.; MINCHIN, F.R. & SUMMERFIELD, F.R. Carbon metabolism nitrogen assimilation and seed yield of cowpea (*Vigna unguiculata*) plants dependent on nitrate-nitrogen or on one of two strains of *Rhizobium*. *Trop. Agric.*, 1981.
- NORRIS, D.O. Observations on the nodulation status of rainforest leguminous species in Amazonia and Guyana. *Trop. Agric.*, 46:145-51, 1969.

- NUTMAN, P.S. Perspectives in biological nitrogen fixation. *Sci. Prog.*, Oxford, 59:55-74, 1971.
- PATE, J.S. Movement of nitrogenous solutes in plants. In: Nitrogen 15 in soil-plant studies. Viena, IAEA, 1971. p. 165-87.
- PATE, J.S. Physiological aspects of inorganic and intermediate nitrogen metabolism (with special reference to the legume, *Pisum arvense* L.). In: HEWITT, E. J. & CUTTING, C.V., eds. *Proceedings Long Ashton Symposium*. Londres, Academic Press, 1968. p.219-40.
- PATE, J.S. Root exudation studies on the exchanges of C^{14} -organic substances between the roots and shoot of the nodulated legume. *Plant Soil*, 17:336-56, 1962.
- PATE, J.S. Transport in symbiotic systems fixing nitrogen. In: LUTTGE, U. & PITMAN, M.G., eds. *Transport in plant-II Part B-Tissues and organs*. Berlin. Springer-Verlag, 1976. p.278-303.
- PATE, J.S. & HERRIDGE, D.F. Partitioning and utilization of net photosynthate in a nodulated annual legume. *J. Exp. Bot.*, 29:401-12, 1978.
- REINBOTHE, H. & MOTHES, K. Urea, ureides and guanidines in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 13: 129-50, 1962.
- SPRENT, J.I. Effects of water stress on nitrogen-fixing root nodules. IV-Effects on whole plants of *Vicia faba* and *Glycine max*. *New Phytol.*, 71:603-11, 1972.
- SPRENT, J.I. Root nodule anatomy, type of export product and evolutionary origin in some Leguminosae. *Plant Cell Environ.*, 3:35-42, 1980.
- TAJIMA, S. & YAMAMOTO, Y. Enzymes of purine catabolism in soybean plants. *Plant Cell Physiol.*, 16:271-82, 1975.
- VINCENT, J.M. Root-nodule symbioses with *Rhizobium*. In: QUISPÉL, A. *Biology of nitrogen fixation*. Amsterdam, North Holland Publishing Co., 1974. p.285-341.
- YOUNG, E.G. & CONWAY, C.F. On the estimation of allantoin by the Rimini-Schryver reaction. *J. Biol. Chem.*, 142:839-53, 1942.