

DESENVOLVIMENTO DA NODULAÇÃO E FIXAÇÃO SIMBIÓTICA DE NITROGÊNIO EM VARIEDADES DE SOJA, EM DIFERENTES ESTÁDIOS DO DESENVOLVIMENTO DA PLANTA¹

ALAIDES PUPPIN RUSCHEL² e HERBERT W. REUSZER³

SINOPSE.— Um estudo da nodulação e capacidade de fixação simbiótica de nitrogênio em sete variedades de soja foi conduzido em dependências e laboratórios da Universidade de Purdue, West Lafayette, Indiana, Estados Unidos. As variedades estudadas foram Rampage, Corsoy, Amsoy 71, Beeson, Wayne, Calland e Bonus. O material de cada variedade foi colhido em duas localidades dentro da Fazenda Experimental da Universidade. Foram feitas quatro determinações em diferentes estádios do desenvolvimento da planta, isto é, aos 50, 65, 80 e 95 dias após o plantio. Os resultados da nodulação são expressos em peso de nódulos por planta e número de nódulos por grama. A quantidade de acetileno reduzido por grama de nódulos indica a atividade da nitrogenase, enzima responsável pela fixação de nitrogênio, e conseqüentemente avalia os efeitos da simbiose *Rhizobium*-leguminosa.

Houve diferença na nodulação nas quatro épocas estudadas. Maior peso de nódulos foi observado em plantas com 80 e 95 dias de idade enquanto que nódulos maiores foram encontrados na última colheita, 95 dias após o plantio. Variedades precoces e tardias apresentaram aumentos no peso de nódulos por planta até a última colheita de material.

Houve uma variação significativa na quantidade de etileno produzido por grama de nódulos nos diferentes estádios de desenvolvimento das plantas estudadas e também em relação às variedades dentro de cada época. Nas variedades precoces, nódulos com maior produção de etileno foram observados em plantas com 65 dias de idade, enquanto que nas tardias isto ocorreu somente 15 dias após. Tudo indica que a fixação de nitrogênio segue o desenvolvimento da planta e diminui com a maturidade da mesma.

A correlação negativa observada entre peso de nódulos por planta e número de nódulos por grama demonstrou que plantas com maior massa nodular possuíam nódulos maiores.

As variações encontradas nas correlações entre o peso de nódulos por planta e o etileno produzido pelo nódulo sendo negativa em plantas jovens e positiva em planta mais velhas, indicaram que a fixação de nitrogênio é uma função do desenvolvimento da planta. As variedades tardias não apresentaram correlação significativa entre o acetileno reduzido e as outras variáveis, exceto em plantas jovens (50 dias de idade), onde a correlação entre o etileno produzido e o peso de nódulos por planta foi negativa.

O presente trabalho sugere que pesquisas mais detalhadas devam ser feitas no intuito de estudar-se melhor o efeito da longevidade dos nódulos, bem como do tamanho dos mesmos, na avaliação da atividade da nitrogenase pelo método da redução do acetileno.

INTRODUÇÃO

O efeito benéfico da fixação simbiótica do nitrogênio na soja é fato conhecido; no entanto, fixação de nitrogênio e nodulação podem ser influenciados de diferentes formas. Williams e Lynch (1954) demonstraram a importância do genótipo da planta na fixação, estudando a

herança do caráter da nodulação em soja e notando ser o mesmo controlado por um simples gene recessivo da hospedeira. Sem dúvida, a estirpe de *Rhizobium* também tem sua influência marcante, não só através de sua eficiência como também através da interação com a planta. Sloger (1969) notou um efeito da interação planta-estirpe na fixação simbiótica de nitrogênio na soja em estudos feitos usando redução do acetileno como medida da atividade da nitrogenase no nódulo. Seus estudos indicam que maiores proveitos da inoculação poderiam ser obtidos selecionando-se eficientes associações planta-estirpe de *Rhizobium*.

Weber (1966) observou que o nitrogênio obtido através da fixação simbiótica por uma linhagem de soja capaz de nodular suplementou nitrogênio ao solo. Seus estudos demonstraram que a relação do peso seco da planta com a produção de semente nas linhagens de

¹ Aceito para publicação em 13 mar. 1973. Trabalho realizado como parte da tese de M.Sc. do primeiro autor, na Universidade de Purdue, Indiana, E.U.A., em janeiro de 1972.

² Eng.º Agrônomo, M.Sc., Chefe da Seção de Solos do Instituto de Pesquisa Agropecuária do Centro-Sul (IPEACS), Km 47, Rio de Janeiro, GB, ZC-26, e Pesquisador B, bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

³ Professor, Ph.D., do Departamento de Agronomia da Universidade de Purdue, West Lafayette, Indiana, E.U.A.

fácil nodulação era menor do que nas linhagens incapazes de nodular. Isto vem a indicar que a fixação de nitrogênio é um meio biologicamente ideal para a produção de sementes, melhor que a incorporação de nitrogênio ao solo. O mesmo autor ainda observou que o número e tamanho dos nódulos estavam diretamente relacionados com os aumentos do nitrogênio fixado, e indiretamente correlacionados com o aumento de nitrogênio aplicado ao solo. Outras pesquisas têm demonstrado que variedades capazes de nodular produzem sementes com maior teor de proteína do que aquelas incapazes de nodular, quando cultivadas em solo com baixo teor de nitrogênio (Carter & Hartwig 1963). Hanway e Weber (1971) notaram que a adição de nitrogênio somente aumentou a produção em variedades incapazes de nodular, quando comparadas com aquelas que nodulavam normalmente.

O presente trabalho, teve por finalidade estudar o desenvolvimento da nodulação e fixação simbiótica de nitrogênio em sete variedades de soja, em diferentes estádios do desenvolvimento da planta, e determinar os fatores que pudessem estar influenciando a fixação simbiótica de nitrogênio.

MATERIAL E MÉTODOS

O material planta usado neste trabalho proveio de duas coleções de variedades de soja da Universidade de Purdue, Indiana, Estados Unidos, plantadas em 17 e 19.5.1971 em duas localidades (A e B) de sua Fazenda Experimental, em solos com características similares de fertilidade, estrutura e textura, tendo ambas recebido adubação prévia de fósforo e potássio.

As variedades utilizadas foram Rampage, Corsoy, Amsoy 71, Beeson, Wayne, Calland e Bonus.

Foram feitas quatro colheitas de material com 15 dias de intervalo, a partir de 7 de julho, quando as plantas atingiram 50 dias de idade. Cada época de colheita foi considerada separadamente como um experimento, os quais foram identificados como Experimento 1, 2, 3 e 4. As colheitas das plantas foram efetuadas respectivamente para os diferentes experimentos aos 50, 65, 80 e 95 dias após o plantio.

As raízes das plantas foram colhidas durante três dias consecutivos, das 8 às 8,30 h, uma repetição cada dia. No campo, a parte aérea da planta foi cortada e um bloco de solo envolvendo o sistema radicular foi retirado e transportado para o laboratório. Cada bloco continha 4 a 10 plantas.

No laboratório foi feito o destorroamento cuidadoso e foram lavadas as raízes e retirados os nódulos, determinando-se o peso total dos mesmos por bloco e calculando-se o peso de nódulos por planta. A atividade da nitrogenase, enzima responsável pela fixação de nitrogênio no nódulo, foi medida pelo método da redução do acetileno, através da cromatografia de gás (Koch & Evans 1966, Hardy *et al.* 1968 e Schwinghamer *et al.* 1970). Para tal determinação, 1 grama de nódulos vivos foi colocado em um tubo de ensaio com volume conhecido. Após a injeção do acetileno no tubo, amostras foram analisadas no cromatógrafo de gás e medida a quantidade de etileno formada através de comparação com curvas padrões previamente preparadas. Também foi determinado o número de nódulos por grama.

As variedades, para algumas análises estatísticas, foram separadas em precoces (Rampage, Corsoy, Amsoy 71 e Beeson) e tardias (Wayne, Calland e Bonus) de acordo com Wilcox⁴.

Na época de colheita do Experimento 1, as plantas estavam com os primórdios da floração; no Experimento 2, a floração estava terminando e a frutificação iniciava-se; no Experimento 3, a floração estava completa e a frutificação encontrava-se em pleno desenvolvimento, sendo que as variedades Rampage e Corsoy apresentavam frutos já amadurecidos; no Experimento 4, as mesmas variedades, Rampage e Corsoy, apresentavam folhas quase que totalmente amarelecidas, e frutos maduros apareciam em todas as demais variedades.

Análises de variância foram feitas para todos os experimentos para as variáveis: peso dos nódulos, número de nódulos por grama e etileno produzido por grama de nódulos.

Para cada experimento, os fatores variedade de soja e dia de colheita foram considerados fixos e localidade considerada ao acaso. A interação variedade x localidade foi usada para o teste de "F" entre variedades.

Uma análise de variância conjunta foi feita para os quatro experimentos. Nesta análise, a época de colheita foi considerada como variável fixa e o dia da colheita foi considerado como dentro dos demais fatores de variação. O erro usado no teste "F" para época de colheita foi o quadrado médio da interação época x localidade.

As equações de regressão foram calculadas considerando-se as diferentes épocas de colheita. Equações do segundo grau foram encontradas em todos os casos, exceto num, no qual a regressão foi linear. Coeficientes de correlação foram determinados entre as diferentes variáveis estudadas.

RESULTADOS, DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O peso vivo dos nódulos por planta das diferentes variedades em diferentes épocas de desenvolvimento da planta (Experimento 1, 2, 3 e 4) pode ser observado nos Quadros 1, 2 e 3. Diferenças significativas foram observadas entre as variedades testadas, exceto para o Experimento 2, o qual apresentou elevado coeficiente de variação (Quadro 1). A variedade Wayne apresentou maior peso de nódulos por planta, enquanto que nas demais variedades não foi observada nenhuma diferença para esta variável (Quadro 3).

As variedades tardias sempre apresentaram maior peso de nódulos por planta durante todo o ciclo de desenvolvimento das mesmas, conforme pode ser observado na Fig. 1. Os resultados obtidos indicam que o peso dos nódulos por planta aumentou com o desenvolvimento das mesmas (Fig. 1, Quadro 2). Plantas com 80 e 95 dias de idade apresentaram maior peso de nódulos. O aumento do peso dos nódulos nas variedades precoces e tardias seguiram o mesmo padrão de curva (Fig. 1), porém, foi mais acentuado nas variedades tardias em todas as épocas de colheita, com exceção da primeira, o que demonstra um efeito do desenvolvimento vegetativo da planta na nodulação.

⁴ Comunicação pessoal fornecida aos autores pelo Prof. James Wilcox, do Departamento de Agronomia da Universidade de Purdue.

QUADRO 1. *Peso vivo dos nódulos por planta (g) em diferentes variedades de soja, em 4 épocas de desenvolvimento da planta (médias de 3 repetições)*

Variedades	Experimento 1 (pl. com 50 dias)			Experimento 2 (pl. com 65 dias)			Experimento 3 (pl. com 80 dias)			Experimento 4 (pl. com 95 dias)		
	Localidades		Médias	Localidades		Médias	Localidades		Médias	Localidades		Médias
	A	B		A	B		A	B		A	B	
Rampage	0,30	0,49	0,39 ab	0,90	1,05	1,01	1,43	1,99	1,67 b	1,17	1,20	1,18 b
Corsoy	0,21	0,27	0,24 b	1,02	1,35	1,19	1,58	1,25	1,42 b	1,52	1,18	1,35 b
Amsoy 71	0,31	0,28	0,30 ab	1,01	1,22	1,12	0,75	2,00	1,38 b	2,28	1,64	1,96 b
Beeson	0,21	0,44	0,32 ab	0,90	1,01	0,96	1,66	0,91	1,29 b	2,05	1,46	1,76 b
Wayne	0,34	0,73	0,73 a	0,89	2,97	1,93	1,88	3,79	2,84 a	3,60	4,81	4,20 a
Calland	0,24	0,48	0,36 ab	2,14	1,29	1,72	2,08	3,01	2,55 a	1,36	2,00	1,68 b
Bonus	0,30	0,59	0,45 ab	1,88	2,00	1,94	1,17	4,20	2,69 a	1,43	4,10	2,76 ab

QUADRO 2. *Efeito do estágio de desenvolvimento da planta no peso vivo de nódulos por planta, número de nódulos por grama e etileno produzido por grama de nódulos (média de todos os tratamentos dos Experimentos 1 a 4)*

Idade da planta	Peso de nódulos/planta (g)	Número de nódulos/g	Etileno produzido (µl/g de nódulos)
50 dias	0,37 c	82,3 a	25,75
65 dias	1,41 b	59,2 b	23,94
80 dias	1,98 a	49,3 c	21,71
95 dias	2,13 a	39,1 d	15,38

QUADRO 3. *Efeito da variedade de soja no peso vivo de nódulos por planta, número de nódulos por grama e etileno produzido por grama de nódulos (médias das quatro épocas)*

Variedades	Peso vivo dos nódulos/pl. (g)	Número de nódulos/g	Etileno produzido (µl/g de nódulos)
Rampage	1,06 b	52,3 ab	17,75
Corsoy	1,05 b	71,3 ab	22,31
Amsoy 71	1,19 b	81,1 a	25,24
Beeson	1,08 b	48,8 ab	23,37
Wayne	2,38 a	41,8 b	20,93
Calland	1,58 b	44,0 b	22,84
Bonus	1,90 ab	57,7 ab	19,64

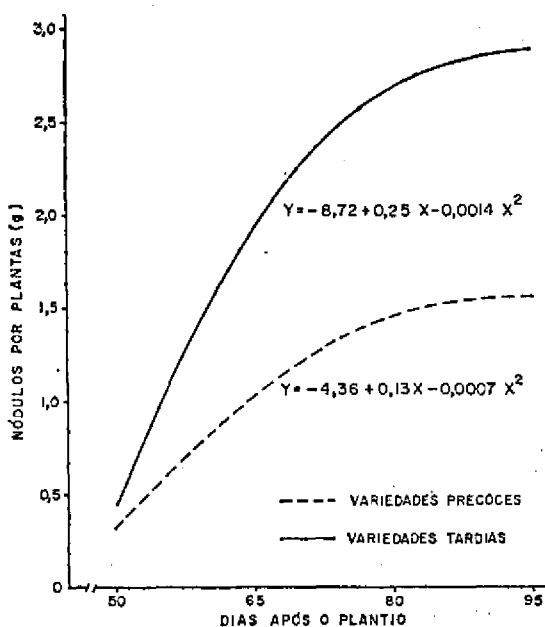


FIG. 1. *Efeito da idade da planta sobre o peso de nódulos por planta em variedades precoces e tardias.*

QUADRO 4. *Número de nódulos por grama em diferentes variedades em 4 épocas do desenvolvimento da planta (médias de 3 repetições)*

Variedades	Experimento 1 (pl. com 50 dias)			Experimento 2 (pl. com 65 dias)			Experimento 3 (pl. com 80 dias)			Experimento 4 (pl. com 95 dias)		
	Localidades		Médias	Localidades		Médias	Localidades		Médias	Localidades		Médias
	A	B		A	B		A	B		A	B	
Rampage	72,6	81,0	76,8 b	58,6	49,3	54,0 b	50,0	31,3	40,6 c	44,3	30,6	37,5 ab
Corsoy	107,6	100,3	104,0 a	78,6	55,6	67,2 a	64,3	53,3	58,8 b	62,6	48,0	55,3 a
Amsoy 71	65,0	178,6	121,8 a	84,3	71,3	77,8 a	78,3	61,3	69,8 a	62,6	47,3	55,0 a
Beeson	95,6	56,0	75,8 b	50,6	41,0	45,8 b	38,0	45,3	41,6 c	27,3	37,0	32,1 ab
Wayne	55,3	45,0	50,1 b	57,6	35,3	46,5 b	50,3	33,3	41,8 c	29,6	27,6	28,6 b
Calland	89,3	47,3	68,3 b	41,3	55,0	48,2 b	30,3	31,0	30,6 d	30,3	27,0	28,6 b
Bonus	85,6	72,6	79,2 b	102,0	48,0	75,0 a	50,6	30,0	40,3 c	40,0	28,6	36,3 ab

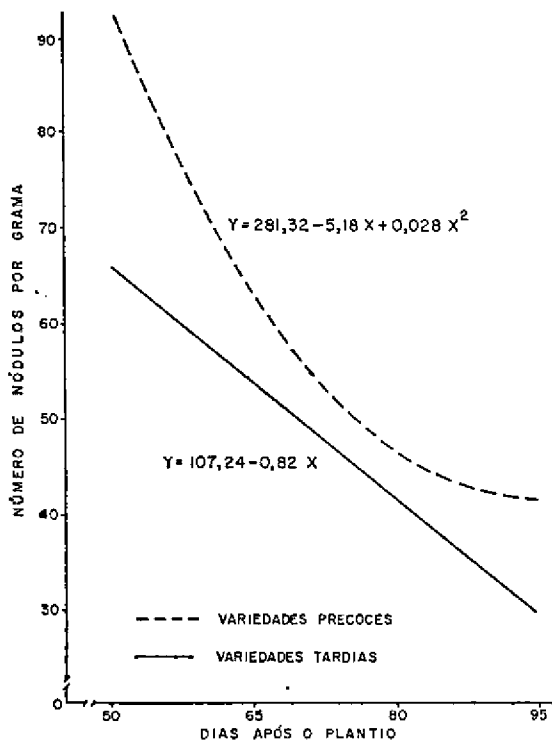


Fig. 2. Efeito da idade da planta sobre o número de nódulos por grama (tamanho dos nódulos) em variedades precoces e tardias.

O número de nódulos por grama (tamanho de nódulo) foi diferente entre as variedades estudadas (Quadro 4). Os menores nódulos (maior número de nódulos por grama) foram observados nas variedades Corsoy e Amsoy 71 em todas as épocas estudadas, exceto para a variedade Corsoy no Experimento 3. No Quadro 3 pode-se notar que as variedades Wayne e Calland apresentaram nódulos maiores do que Amsoy 71. Os maiores nódulos foram observados em plantas com 95 dias de idade (Quadro 2), indicando que os nódulos de soja são capazes de aumentar seu tamanho até o desenvolvimento vegetativo máximo da planta, mesmo na fase de frutificação.

Uma equação do 1.º grau relacionou o número de nódulos por grama com o desenvolvimento vegetativo das variedades tardias, enquanto que as variedades precoces apresentaram curva do segundo grau, o que vem mais uma vez mostrar que o desenvolvimento somático do nódulo pode dar-se até depois da floração (Fig. 2).

As variações encontradas nas variedades precoces e tardias para tamanho de nódulos e peso de nódulos por planta confirmam resultados de Bower (1959), o qual, estudando nodulação e nódulo senescência de *Centrosema pubescens* notou serem estes dois fatores governados pelo desenvolvimento vegetativo da planta. Pate (1958) notou que o tamanho e a eficiência dos nódulos de ervilha aumentaram à medida que a planta crescia, com alguma evidência da eliminação progressiva dos nódulos pequenos.

A produção de etileno por grama de nódulos, tomada como uma medida relativa da fixação de nitrogênio, foi modificada pela variedade dentro das diferentes épocas de colheita, com exceção do Experimento 3, época em que as plantas tinham 80 dias de idade (Quadro 5). No Experimento 1, de modo geral, os nódulos da variedade Corsoy produziram mais etileno, não havendo diferença notável entre esta variedade e as demais, exceto em relação à Wayne, cujos nódulos produziram menos etileno, sendo esta diferença estatisticamente significativa. No Experimento 2, as variedades Corsoy e Amsoy 71 apresentaram maior redução de acetileno que as demais; já no Experimento 4, somente nódulos das variedades Rampage e Corsoy diminuíram sua capacidade de reduzir o acetileno em virtude de apresentarem nódulos deteriorados, e terem folhas completamente amareladas.

Algumas diferenças foram observadas nas curvas apresentadas para a medida da atividade enzimática em nódulos de variedades precoces e tardias (Fig. 3). As precoces apresentaram o máximo de produção de etileno por grama de nódulos 15 dias antes que as tardias, o que vem a demonstrar que a fixação de nitrogênio segue o desenvolvimento da planta, diminuindo à medida que a função clorofiliana vai cessando.

Não é possível fazer-se a avaliação do nitrogênio total fixado durante todo o período de desenvolvimento da planta, usando-se o método da redução do acetileno, uma vez que o mesmo somente mede a atividade da nitrogenase em um determinado tempo. Nota-se que as variedades precoces inicialmente possuíam nódulos com

QUADRO 5. Etileno produzido por grama de nódulos (ul) após 50 minutos de exposição ao acetileno, em diferentes épocas de desenvolvimento da planta (média de 3 repetições)

Variedades	Experimento 1 (pl. com 50 dias)			Experimento 2 (pl. com 65 dias)			Experimento 3 (pl. com 80 dias)			Experimento 4 (pl. com 95 dias)		
	Localidades		Médias	Localidades		Médias	Localidades		Médias	Localidades		Médias
	A	B		A	B		A	B		A	B	
Rampage	24,57	17,66	21,11 ab	28,41	21,29	24,85 c	21,26	24,68	22,95	3,78	0,42	2,10 b
Corsoy	31,47	24,21	27,84 a	38,86	27,03	32,95 ab	25,23	15,86	20,54	11,53	4,26	7,90 b
Amsoy 71	24,08	25,75	24,91 ab	36,76	32,02	34,39 a	21,20	25,89	23,55	27,57	7,09	17,33 a
Beeson	23,98	19,46	21,72 ab	27,48	26,46	26,96 bc	23,12	21,02	20,07	29,73	15,67	22,71 a
Wayne	20,18	13,21	16,70 b	18,29	20,63	19,46 c	25,49	30,93	28,02	23,67	15,08	19,37 a
Calland	22,75	21,26	22,01 ab	25,65	17,07	21,36 c	21,63	32,26	26,94	21,32	20,78	21,05 a
Bonus	18,87	16,46	17,66 ab	22,92	17,81	20,26 c	19,28	27,33	23,31	16,88	17,24	17,24 a

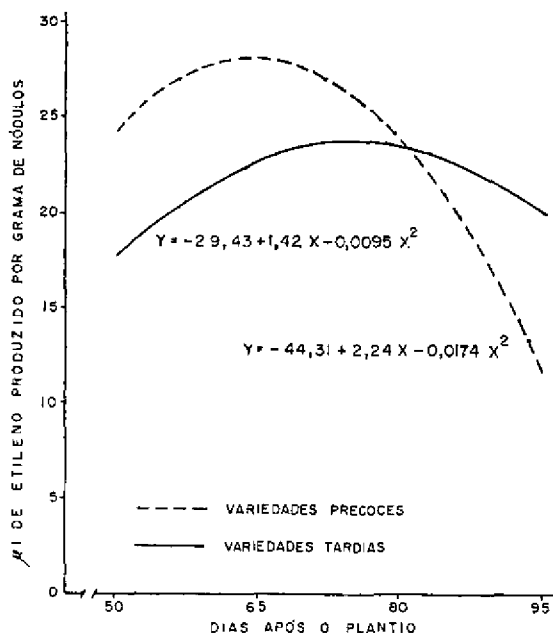


FIG 3. Efeito da idade da planta sobre a produção de etileno por grama de nódulos em variedades precoces e tardias.

maior capacidade de reduzir o acetileno que as variedades tardias (Fig. 3). Esta maior atividade talvez seja devida ao maior número de nódulos que as variedades precoces tinham por grama (Fig. 2), o que provavelmente influenciou no método de redução do acetileno, vindo a sugerir possíveis estudos do efeito da superfície do nódulo no referido método.

O Quadro 6 mostra as diversas correlações obtidas entre as diferentes variáveis estudadas nos diferentes experimentos (épocas de colheita). A correlação negativa encontrada entre o peso de nódulos por planta e o número de nódulos por grama indica que nódulos maiores estavam presentes quando a planta apresentava maior peso de nódulos. Comparando o etileno produzido com o número de nódulos por grama nota-se correlação positiva nas plantas mais jovens e negativa nas plantas mais velhas. Isto pode indicar que nódulos menores nas plantas jovens reduziram mais acetileno, e vice-versa nas plantas mais velhas. Provavelmente nódulos das plantas jovens tenham tido maior atividade expressa por unidade ou nódulo área do que os nódulos das plantas mais velhas. Esta hipótese é mais uma vez corroborada através da correlação negativa observada entre peso de nódulos por planta e etileno produzido em nódulos de planta com 50 e 65 dias de idade, e da correlação positiva entre estas variáveis em planta com 80 e 95 dias, as quais vêm a indicar, mais uma vez, que nódulos de plantas jovens fixaram mais etileno que aqueles de plantas mais velhas.

QUADRO 6. Coeficientes de correlação encontrados nos Experimentos 1, 2, 3 e 4 entre: peso de nódulos por planta, número de nódulos por grama e etileno produzido por grama de nódulos

Experimentos	Variáveis	Número de nódulos/g	Etileno/g de nódulos
Exp. 1 (pl. com 50 dias)	Peso de nódulos/planta	-0,818**	-0,538**
	Número de nódulos/g		0,335*
Exp. 2 (pl. com 65 dias)	Peso de nódulos/planta	-0,154	-0,332*
	Número de nódulos/g		0,156
Exp. 3 (pl. com 80 dias)	Peso de nódulos/planta	-0,619**	0,459**
	Número de nódulos/g		-0,308
Exp. 4 (pl. com 95 dias)	Peso de nódulos/planta	-0,365	0,384*
	Número de nódulos/g		-0,146

QUADRO 7. Coeficientes de correlação encontrados nos Experimentos 1, 2, 3 e 4 entre os diferentes fatores estudados na nodulação e etileno produzido em variedades precoces e tardias

Experimentos	Variáveis	Variedades precoces		Variedades tardias	
		Número de nódulos/g	Etileno/g de nódulos	Número de nódulos/g	Etileno/g de nódulos
Exp. 1 (pl. com 50 dias)	Peso de nódulos/planta	-0,422**	-0,569**	-0,654**	-0,399*
	Número de nódulos/g		0,268		0,052
Exp. 2 (pl. com 65 dias)	Peso de nódulos/planta	0,016	-0,139	-0,161	-0,301
	Número de nódulos/g		0,259		0,038
Exp. 3 (pl. com 80 dias)	Peso de nódulos/planta	-0,488*	0,678**	-0,627	0,234
	Número de nódulos/g		-0,261		-0,188
Exp. 4 (pl. com 95 dias)	Peso de nódulos/planta	0,135	0,636**	-0,528*	0,127
	Número de nódulos/g		0,094		-0,255

Estudando-se estas mesmas correlações em variedades precoces e tardias (Quadro 7), nota-se que maiores variações em relação ao etileno produzido são observadas nas variedades precoces, nas quais as conclusões gerais mais se assemelham às já obtidas na análise conjunta de todas as variedades, o que já foi discutido anteriormente. As variedades tardias somente apresentaram correlação significativa entre etileno produzido e peso de nódulos por planta na primeira época de colheita.

REFERÊNCIAS

- Bower, G.D. 1959. Field studies on nodulation and growth of *Centrosema pubescens*. Qd J. agric. Sci. 16:253-256.
- Carter, J.L. & Hartwig, E.E. 1963. The management of soybeans. 194 p. In Morman, A.G. (ed.) The soybean. Academic Press, New York.
- Hanway, J.J. & Weber, C.R. 1971. Accumulation of N, P, K by soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) plants. Agron. J. 63:408-408.
- Hardy, E.W.F., Helstein, R.D., Jackson, E.K. & Burns, R.C. 1968. The acetylene - ethylene assays for N₂ fixation; laboratory and field evaluation. Pl. Physiol., Lancaster, 43: 1185-1207.
- Koch, B. & Evan, H.J. 1966. Reduction of acetylene to ethylene by soybean root nodules. Pl. Physiol., Lancaster, 41: 1748-1749.
- Pate, J.S. 1958. Nodulation studies in legumes. The synchronization of host and symbiotic development in the field pea *Pisum arvense* L. Aust. J. biol. Sci. 11:366-381.
- Schwinghamer, E.A., Evans, H.J. & Dawson, M.D. 1970. Evaluation of effectiveness in mutant strains of *Rhizobium* by acetylene reduction relative to other criteria of N₂ fixation. Pl. Soil 33:192-212.
- Sloger, C. 1969. Symbiotic effectiveness and N₂ fixation in nodulated soybean. Pl. Physiol., Lancaster, 44:1666-1668.
- Weber, C.R. 1966. Nodulating and non-nodulating soybean isolines. II. Response to applied nitrogen and modified soil conditions. Agron. J. 58:46-49.
- Williams, L.F. & Lynch, D.L. 1954. Inheritance of non-nodulating character in the soybean. Agron. J. 46:28-29.

ABSTRACT.- Ruschel, A.P.; Reuszer, H.W. [Development of nodulation and symbiotic nitrogen fixation of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) varieties at different phases of plant development.]. Desenvolvimento da nodulação e fixação simbiótica de nitrogênio em variedades de soja, em diferentes estádios do desenvolvimento da planta. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Série Agronomia* (1973) 8, 251-256 [Pt, en] IPEACS, Km 47, Rio de Janeiro, GB, ZC-26, Brazil.

A study on development of nodulation and nitrogen fixation in soybean varieties throughout the growing season was made during summer, of 1971. Results for nodulation are expressed in weight of nodules per plant, and number of nodule per gram. Acetylene reduction per gram of nodules expressed nitrogenase activity and consequent ability of the *Rhizobium*-soybean associations to fix nitrogen in nodulated tissue. Determinations were made at four stages of plant development, respectively for plants 50, 65, 80 and 95 days old, for the following soybean varieties: Rampage, Corsoy, Amsoy 71, Beeson, Wayne, Calland, and Bonus. Plants were harvested from two localities of Purdue University Farm, West Lafayette, Indiana, U.S.A.

In a number of soybean varieties plant age markedly influenced nodulation by increasing size of nodules, weight of nodules per plant, and influencing nitrogenase activity. The variety Wayne produced the largest nodules and had high nodule weight, while Amsoy 71 presented the smallest nodules during the entire season.

Late varieties (Wayne, Calland, and Bonus) had higher weight of nodules per plant and larger nodules than early varieties (Rampage, Corsoy, Amsoy 71, and Besson). At 50 and 65 days after planting, acetylene reduction was greater in nodules of early varieties than in those of late varieties. The maximum amount of ethylene production for early varieties occurred 15 days earlier than for late varieties. It seems that nitrogen fixation follows plant development and is decreased at plant maturity.

The correlations between nodule weight per plant and ethylene produced by nodules in early varieties varied from negative in young plants to positive in old plants showing an effect of aging in these varieties. The lower weight of nodules in younger plants was partially compensated by higher nitrogenase activity of these nodules. Late varieties only presented correlation (negative) between acetylene reduction and weight of nodules per plant.

It appears probable that nodule surface area has some influence on the acetylene reduction assay.