

INFLUÊNCIA DO NITROGÊNIO MINERAL E ORGÂNICO NA FIXAÇÃO SIMBIÓTICA DE NITROGÊNIO EM SOJA¹

ALAIDES PUPPIN RUSCHEL², RENATO RUSCHEL³, DEJAIR LOPES DE ALMEIDA⁴ e ALLERT ROSA SUHET⁵

SINOPSE.— Num experimento realizado em Itaguaí, RJ, em casa de vegetação foram estudados, em duas cultivares de soja (IAC 70-25 e Mineira), os efeitos da inoculação e adição ao solo de diferentes fertilizantes nitrogenados (nitrato de sódio, sulfato de amônio, nitrato de amônio e uréia), sendo observada a nodulação, a atividade da nitrogenase, o desenvolvimento e o teor de nitrogênio das plantas com 35 dias de idade.

As plantas que foram inoculadas e não receberam nitrogênio tiveram desenvolvimento reduzido, comparável à testemunha sem inoculação, porém, foram as que apresentaram nodulação mais abundante e maior atividade da nitrogenase, levando-se em consideração a massa nodular, o que provocou um aumento no nitrogênio total das plantas no tratamento com inoculação. Dentre os tratamentos com nitrogênio, a nodulação foi maior na presença de uréia e conseqüentemente a atividade da nitrogenase foi mais elevada. As plantas que receberam nitrato de amônio e uréia destacaram-se no etileno evoluído pelos nódulos e na quantidade de nitrogênio total, ambos mais elevados, embora não significativos estatisticamente, sugerindo uma sinergia entre a absorção do nitrogênio do solo e a fixação do nitrogênio atmosférico.

Palavras chaves adicionais para índice: Nodulação em soja, nitrogenase, inoculação com *Rhizobium*.

INTRODUÇÃO

A fixação simbiótica de nitrogênio pelas leguminosas cresce proporcionalmente ao crescimento total da planta e à quantidade de nitrogênio absorvido pela mesma e diminui com o aumento do nitrogênio absorvido proveniente de fertilizantes quando aplicados em altas doses (Allos & Bartholomew 1955). Efeitos deletérios da adição de nitrogênio ao solo foram também observados por McAuliffe *et al.* (1958), Vincent (1965), Kralova *et al.* (1966) e Harper e Cooper (1971).

A nodulação também pode ser influenciada de maneira variada pela aplicação de nitrogênio. A presença de nitrogênio em doses elevadas diminui o número (Thornton 1947, 1965, Beard & Hoover 1971) e o peso dos nódulos (Weber 1966, Harper & Cooper 1971). No entanto a nodulação poderá ser estimulada com aplicações de doses diminutas desse elemento (Orcutt & Wilson 1935, Allos & Bartholomew 1959).

Os efeitos acima mencionados poderão ser diferentes de acordo com a forma de nitrogênio presente. Allos e Bartholomew (1955) notaram que o sulfato de amônio diminuiu a fixação simbiótica de nitrogênio, porém, nunca a inibiu totalmente. Mouchova e Aptaner (1971) noticiaram a diminuição no volume de nódulos quando este sulfato foi aplicado em doses crescentes. Em trabalho conduzido por Beard e Hoover (1971), foi notada uma diminuição do número de nódulos quando o sulfato de amônio foi adicionado antes da floração, não sendo observado nenhum efeito se aplicado naquele período.

Cartwright (1967) constatou um efeito depressivo do nitrato na nodulação, porém, Harper e Cooper (1971) mostraram que a influência desta forma varia com o modo de aplicação do adubo, o qual, sendo colocado a uma maior profundidade, não se torna tão nocivo. Os referidos autores sugerem que grandes teores de nitrato nas raízes e parte aérea modificam a nodulação diminuindo o peso da massa nodular. Tendo em vista os efeitos negativos dos nitratos na preservação da eficiência da inoculação, seria necessário selecionarem-se plantas ou cultivares com grande atividade de nitrato redutase (Liu & Hadley 1971, Harper *et al.* 1972), as quais teriam maior capacidade de reduzir aquela forma oxidada de nitrogênio e conseqüentemente proporcionar melhores condições ambientes para o desenvolvimento da nodulação. Virtanen *et al.* (1947), usando técnicas de raízes separadas, demonstraram que a nodulação foi inibida nas raízes expostas ao nitrato, mas não foi prejudicada na parte do sistema radicular desenvolvida em meio sem nitrogênio. Posteriormente, Tanner e Anderson (1963) propuseram um mecanismo de ação de nitrato absorvido nas raízes o qual impedia o desenvolvimento externo dos nódulos.

¹ Aceito para publicação em 12 de novembro de 1973.

Realizado com apoio financeiro do Projeto IX-3/13 — Instituto de Pesquisas Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS) do PL 480 e apresentado na IV Conferência Internacional de Impactos Globais da Microbiologia Aplicada, 23 a 28 de julho de 1973, São Paulo, SP.

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

³ Eng.º Agrônomo, Ph.D., da Seção de Fitotecnia do IPEACS e Pesquisador A, bolsista, do CNPq.

⁴ Eng.º Agrônomo da Seção de Solos do IPEACS e Pesquisador Assistente A, bolsista, do CNPq.

⁵ Eng.º Agrônomo da Seção de Solos do IPEACS e Pesquisador Assistente B, bolsista, do CNPq.

Pouco se tem estudado sobre os efeitos do nitrogênio orgânico na fixação simbiótica. De acordo com Cartwright (1967), a uréia diminui o número de nódulos em meio sais minerais ou mesmo ágar.

No presente trabalho, realizado na Seção de Solos do Instituto de Pesquisas Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS), em Itaguaí, RJ, foram estudados, em soja, os efeitos de diferentes formas de nitrogênio na nodulação e fixação simbiótica, medidos através da atividade da nitrogenase (redução do acetileno) e das formas convencionais.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com duas cultivares de soja (IAC 70-25 e Mineira). O solo usado pertence à Série Itaguaí (Mendes *et al.* 1954), classificado como Podzólico Vermelho-amarelo por Barros *et al.* (1958). Sua análise química revelou os seguintes resultados: O ppm de P; 54 ppm de K; 4,1 mE de $Ca^{++} + Mg^{++}/100\text{ cm}^3$ de solo; O mE de $Al^{+++}/100\text{ cm}^3$ de solo e pH 5,8.

Foram utilizados vasos com capacidade para 1,5 kg de solo. Foi feita uma calagem à razão de 1 g de carbono de cálcio por kg de solo e uma adubação básica com 200 ppm de fósforo, 50 ppm de potássio, nas formas de superfosfato simples e cloreto de potássio respectivamente, magnésio e os micronutrientes B, Cu, Fe, Mn, Mo e Zn.

Os tratamentos estudados foram seis: um testemunha sem inoculação; um testemunha com inoculação e quatro outros que além de inoculação receberam uma das seguintes fontes de nitrogênio: nitrato de sódio, sulfato de amônio, nitrato de amônio e uréia.

Foi estabelecido um experimento fatorial 2x6 com delineamento em blocos ao acaso, com três repetições. As cultivares foram consideradas como fator variável e os níveis de nitrogênio como fator fixo.

Nos tratamentos que receberam nitrogênio, este foi adicionado à razão de 150 ppm, aplicadas em três vezes espaçadas de dez dias. A primeira adição foi feita oito dias após o plantio. Após o desbaste ficaram três plantas em cada vaso.

As plantas foram colhidas 35 dias após o plantio. Imediatamente após a colheita, foi retirada uma amostra de nódulos de cada tratamento e colocada em vidros de 58,5 ml hermeticamente fechados. Foi adicionado acetileno a estas amostras, que foram deixadas incubando por 1 hora. Após este período, foi medido o etileno formado, em cromatógrafo de gás Perkin Elmer F11, coluna de 0,003 x 2 m, com Poropak R a 90°C, usando chama de ionização de hidrogênio e o gás nitrogênio como transportador de gases. Estes nódulos foram posteriormente secados a 60°C e pesados, permitindo desta forma a uniformização dos dados, ou seja, calcular a quantidade de etileno formado por grama de nódulo.

As plantas, juntamente com os nódulos, foram secadas a 60°C. Após a secagem, foram determinados o número dos nódulos e os pesos da parte aérea, das raízes e dos nódulos, e calculado o peso médio de 100 nódulos. Foi feita a análise da parte aérea da planta, sendo determinado o nitrogênio percentual pelo processo de semimicro Kjeldahl (Bremner 1960, modificado), isto é, digestão em ácido sulfúrico seguida de destilação, sendo

o destilado recebido em ácido bórico e titulado com ácido clorídrico.

Para as observações referentes ao peso de planta e nitrogênio da planta, houve uma parcela perdida no tratamento testemunha sem inoculação da cultivar IAC 70-25. Nas observações referentes à nodulação e produção de etileno, o tratamento testemunha sem inoculação, onde não houve nodulação, não foi considerado para fins de análise estatística, passando o experimento a contar com apenas 10 tratamentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando-se o peso das plantas (Quadro 1) verifica-se que os tratamentos que receberam nitrogênio apresentaram maiores pesos. Foram observadas diferenças entre os tratamentos que receberam nitrogênio no solo, somente com relação ao nitrato de sódio, o qual apresentou plantas com raízes e parte aérea menores, sendo comparável ao tratamento com inoculação ao considerar-se o peso das raízes e das plantas. Os maiores pesos de plantas foram observados nos tratamentos em que o nitrogênio foi aplicado sob forma orgânica ou amoniacal, o mesmo acontecendo quando apenas a parte aérea foi considerada, destacando-se o tratamento que recebeu nitrogênio sob forma de uréia. Resultados da análise estatística mostram diferenças entre cultivares para o peso das raízes, destacando-se a cultivar IAC 70-25 com maior peso (Quadro 1).

Como era de se esperar, o tratamento que recebeu inoculação na ausência de adubação nitrogenada apresentou maior número e peso de nódulos do que os demais (Quadro 2). Entre os tratamentos que receberam as diferentes fontes de nitrogênio destacou-se aquele com uréia, com maior número e peso de nódulos. Por conseguinte, a uréia não teve grande poder inibidor na formação e desenvolvimento dos nódulos. As plantas do tratamento com nitrato de sódio apresentaram número de nódulos e massa nodular inferiores aos demais, sendo esta última diferença significativa estatisticamente. Quando são observados os pesos médios dos nódulos, nota-se que os maiores nódulos são encontrados nos tratamentos com sulfato de amônio. Maior peso médio de nódulos foi observado, de forma generalizada, na cultivar IAC 70-25 (Quadro 2).

Analisando-se a capacidade de fixação de nitrogênio medida pelo etileno formado por grama de nódulo (Quadro 3), não foram encontradas diferenças significativas entre as médias calculadas para os vários tratamentos. Porém, na análise do etileno total formado por tratamento, variável que levou em consideração a massa nodular, observou-se a mesma ordem de colocação dos tratamentos relatada para número e peso de nódulos, isto é, maior evolução de etileno no tratamento que foi apenas inoculado, seguindo-se o tratamento que recebeu uréia, e colocando-se em último lugar o tratamento com nitrogênio em forma de nitrato de sódio.

O exame da fixação simbiótica de nitrogênio, medida através da capacidade do tecido nodular de reduzir o acetileno (atividade da nitrogenase), não nos possibilita afirmar que existe um efeito inibidor desta capacidade, ou a ela favorável, na presença de nitrogênio adicionado ao solo. No entanto, a análise das médias sugere que os nódulos das plantas dos tratamentos que receberam uréia e nitrato de amônio reduziram quantidades de eti-

Quadro 1. *Peso (g/caso) da parte aérea, das raízes e das plantas inteiras de soja, colhidas 35 dias após o plantio (média de três repetições)*

Tratamentos	Peso da parte aérea		Peso das raízes		Peso total das plantas	
	IAC 70-25	Mineira	IAC 70-25	Mineira	IAC 70-25	Mineira
Testemunha	4,80	4,70	1,56	1,03	6,53	5,73
T + Inoculação	4,83	5,30	1,43	1,44	6,26	6,85
I + Na NO ₃	6,80	6,43	1,46	1,90	8,26	7,90
I + (NH ₄) ₂ SO ₄	8,70	7,33	2,46	1,86	11,16	9,20
I + NH ₄ NO ₃	6,63	7,96	2,66	2,30	11,10	9,90
I + Uréia	8,36	8,36	3,30	1,90	10,56	10,42
Médias	6,69	6,68	1,97	1,55	8,99	8,34

* As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade.

Quadro 2. *Número e peso dos nódulos por caso e peso médio de 100 nódulos (médias de três repetições)*

Tratamentos	Número de nódulos p/vaso		Peso dos nódulos (mg/vaso)		Peso médio de 100 nódulos (mg)	
	IAC 70-25	Mineira	IAC 70-25	Mineira	IAC 70-25	Mineira
T + Inoculação	51,7	66,6	551,6	457,3	997	716
I + Na NO ₃	2,7	4,0	24,0	42,6	877	922
I + (NH ₄) ₂ SO ₄	5,0	7,0	134,6	92,0	2.942	2.068
I + NH ₄ NO ₃	17,6	15,2	188,6	104,3	1.149	928
I + Uréia	23,3	49,0	317,0	303,3	1.503	659
Médias	20,1	28,5	243,7	200,1	1.494	846

* As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade.

Quadro 3. *Etileno evoluído por grama de nódulos e por peso total de nódulos, percentagem de nitrogênio e nitrogênio total da parte aérea das plantas (médias de três repetições)*

Tratamentos	Etileno evoluído		μl de etileno/peso total de nódulos		Percentagem de nitrogênio		Nitrogênio total (mg)	
	IAC 70-25	Mineira	IAC 70-25	Mineira	IAC 70-25	Mineira	IAC 70-25	Mineira
Testemunha ^b	97,3	133,4	115,3	53,14	61,67	57,42	1,38	59,45
T + Inoculação	156,6	32,6	94,6	3,52	2,09	2,81	2,78	135,86
I + Na NO ₃	74,7	75,1	169,1	9,01	10,06	8,59	3,07	189,74
I + (NH ₄) ₂ SO ₄	144,3	169,1	156,6	22,16	19,18	20,67	2,03	242,16
I + NH ₄ NO ₃	116,8	130,4	123,0	37,07	37,56	37,31	2,72	234,18
I + Uréia	108,1	108,1	24,98	26,11	2,51	2,70	2,70	225,95
Médias	117,9	108,1	24,98	26,11	2,51	2,35	2,35	179,85

* Os valores seguidos pela mesma letra, não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade.

b O tratamento testemunha não foi considerado nas análises referentes a etileno por não haver nódulos em suas plantas.

leno na mesma magnitude do etileno reduzido pelos nódulos no tratamento que foi apenas inoculado, o que evidencia a alta atividade da enzima naqueles nódulos (Quadro 3).

Observando-se os resultados sobre a fixação de nitrogênio por tratamento, levando-se em conta a massa nodular, pode-se sugerir que mesmo na presença de nitrogênio adicionado ao solo, quando este é feito na forma de uréia ou nitrato de amônio, é possível que a planta se beneficie com o nitrogênio proveniente da simbiose *Rhizobium* - soja (Fig. 1).

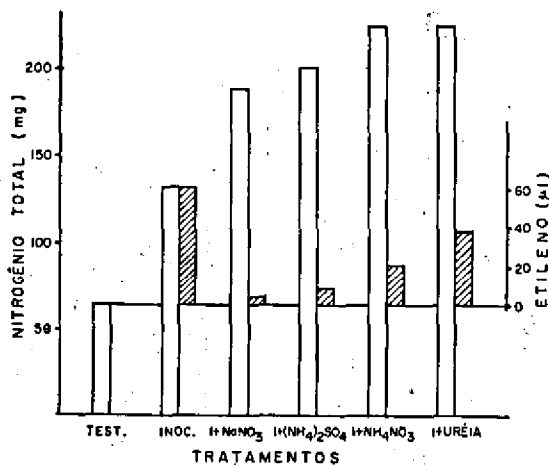


FIG. 1. Efeito dos tratamentos no nitrogênio total das plantas e na evolução do acetileno pelo peso total dos nódulos.

O nitrogênio percentual da planta foi a única variável que apresentou interação de fontes de nitrogênio x cultivares estatisticamente significativa (Quadro 3). Pela análise das médias, as plantas do tratamento testemunha apresentaram os menores teores de nitrogênio, o que era esperado. O comportamento dos tratamentos dentro da cultivar IAC 70-25 foi bastante uniforme, excetuando-se a testemunha, indicando que percentualmente o teor de nitrogênio é da mesma magnitude nas plantas que foram apenas inoculadas assim como nas plantas que além desta receberam outra fonte nitrogenada. Porém, na soja Mineira, destacam-se com maior concentração de nitrogênio as plantas que receberam nitrogênio em forma de nitrato ou orgânica (uréia).

A interação fontes de nitrogênio x cultivares encontrada para a variável teor de nitrogênio na planta sugere uma ação diferencial, com possíveis implicações genéticas, para a resposta da planta quanto ao aproveitamento simultâneo do nitrogênio proveniente da ação simbiótica e do nitrogênio adicionado ao solo. Para conclusões mais seguras sobre o comportamento desta variável, faz-se necessário um estudo mais amplo com a inclusão de uma gama maior de genótipos.

A análise da variável nitrogênio total da planta (Quadro 3) indica que existe mais nitrogênio, em peso total, nas plantas que receberam nitrogênio adicional, o que

era de se esperar devido em parte ao maior peso dessas plantas ou a uma concentração maior de nitrogênio, como foi o caso do tratamento que recebeu nitrato de sódio. Apesar de não ter havido diferenças significativas entre os quatro tratamentos que receberam nitrogênio, destacam-se entre estes os que levaram nitrogênio em forma de uréia e nitrato de amônio.

Em suma, os resultados obtidos na redução do acetileno, por tratamento, evidenciam maior atividade da nitrogenase nos tratamentos com uréia e nitrato de amônio, quando são considerados apenas aqueles que receberam nitrogênio. Isto sugere a existência, naqueles dois tratamentos, de um efeito sinérgico entre a absorção do nitrogênio adicionado ao solo e o aproveitamento do nitrogênio atmosférico através da simbiose da planta. Pela Fig. 1 é possível observar que os tratamentos com uréia e nitrato de amônio, além de apresentarem boa atividade da nitrogenase, acumularam quantidade maior de nitrogênio nas plantas (diferenças não significativas estatisticamente).

Os resultados deste trabalho poderão abrir novos caminhos ao estudo da fixação simbiótica quando forem consideradas a nodulação e eficiência da associação *Rhizobium*-soja, em solos que não respondam à adulação nitrogenada, ou a nodulação em solos ricos em nitrogênio, buscando-se desta forma conhecer de maneira mais clara o papel da simbiose *Rhizobium*-planta e tirar o máximo proveito desta atividade.

CONCLUSÕES

Os resultados evidenciam as seguintes principais conclusões:

- 1) as plantas dos tratamentos que receberam adubação nitrogenada em forma de sulfato de amônio, nitrato de amônio e uréia, desenvolveram-se mais que as dos demais tratamentos;
- 2) todos os fertilizantes prejudicaram a nodulação, porém, não inibiram completamente a função da nitrogenase nos nódulos desenvolvidos; as plantas cultivadas no solo que recebeu nitrogênio sob forma de uréia tiveram menor inibição da nodulação, tendo o nitrato de sódio prejudicado em maior escala a nodulação;
- 3) em média, os nódulos das plantas cultivadas no solo que recebeu sulfato de amônio foram maiores;
- 4) a atividade da enzima nitrogenase nos nódulos das plantas que receberam nitrato de amônio e uréia foi semelhante à observada nos nódulos das plantas do tratamento testemunha com inoculação; considerando-se a massa nodular, o tratamento que levou uréia destacou-se dentre os que receberam nitrogênio adicional;
- 5) as plantas que receberam nitrogênio como fertilizante tiveram aumentado o nitrogênio total em relação às que não receberam, destacando-se de forma não significativa aquelas que receberam uréia e nitrato de amônio; os resultados sugerem uma sinergia entre a fixação do nitrogênio atmosférico e a absorção de nitrogênio quando aplicado sob forma orgânica (uréia) ou sob forma de nitrato de amônio.

REFERÊNCIAS

- Allos, H.F. & Bartholomew, W.V. 1955. Effect of available nitrogen on symbiotic fixation. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 19: 182-184.
- Allos, H.F. & Bartholomew, W.V. 1959. Replacement of symbiotic fixation by available nitrogen. *Soil Sci.* 87:61-66.
- Barros, H.C., Drummond, J.L. & Camargo, M.N. et al. 1958. Levantamento de reconhecimento dos solos do Estado do Rio de Janeiro e Distrito Federal, Bolm 11, Serv. Nac. Pesq. Agronômicas, Min. Agricultura, Rio de Janeiro.
- Beard, B.H. & Hoover, R.M. 1971. Effect of nitrogen on nodulation and yield irrigation soybeans. *Agron. J.* 63:815-816.
- Bremner, J.M. 1960. Determination of nitrogen in soil by the Kjeldahl method. *J. agric. Sci.* 55:1-23. (Citado por Bremner 1965)
- Bremner, J.M. 1965. Total nitrogen, p. 1149-1178. In Black, C. A. (ed.) *Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy Monograph 9*, Am. Soc. Agronomy, Madison, Wisconsin.
- Cartwright, P.M. 1967. The effect of combined nitrogen on the growth and nodulation of excised roots of *Phaseolus vulgaris* L. *Ann. Bot.* 31:309-322.
- Harper, J.E. & Cooper, R.L. 1971. Nodulation responses of soybeans (*Glycine max* L. Merrill) to application rate and placement of combined nitrogen. *Crop. Sci.* 11:438-440.
- Harper, J.E., Nicholas, J.C. & Hageman, R.H. 1972. Seasonal and canopy variation in nitrate reductase activity of soybean (*Glycine max* L. Merr.) varieties. *Crop. Sci.* 12:283-286.
- Kralova, M., Mouchova, H. & Janousek, J. 1966. Study of nitrogen metabolism in Leguminosae with the aid of ^{15}N . *Isotopenpraxis* 2:435-436.
- Liu, M.C. & Hadley, H.H. 1971. Relationship of nitrate reductase activity to protein content in related nodulating and nonnodulating soybeans. *Crop. Sci.* 11:467-471.
- McAuliffe, C., Chamblee, D.S., Uribe-Arange, H. & Woodhouse Jr., W.W. 1958. Influence of organic nitrogen fixation by legumes as revealed by ^{15}N . *Agron. J.* 50:334-337.
- Mendes, W., Lemos, P.O.C., Lemos, R.C., Carvalho, L.G.O. & Rosenberg, R.J. 1954. Contribuição ao mapeamento em série dos solos do município de Itaguaí. Bolm n.º 12, Inst. Ecol. Exp. Agrícolas, Min. Agricultura, Rio de Janeiro.
- Mouchova, H. & Aptaner, J. 1971. Factors influencing the nodulation and yield of *Vicia faba* L. *Folia microbiol.* 18: 516.
- Orcutt, F.S. & Wilson, P.W. 1935. The effects of nitrate-nitrogen on the carbohydrate metabolism of inoculated soybeans. *Soil Sci.* 39:289-296.
- Tanner, J.W. & Anderson, T.C. 1963. An external effect of inorganic nitrogen in root nodulation, *Nature, Lond.*, 198: 303-304.
- Thornton, G.D. 1947. Greenhouse studies on nitrogen fertilization of soybeans and Lespedeza using isotopic nitrogen. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 11:249-251.
- Thornton, G.D. 1956. The effect of fertilizer nitrogen on nodulation, growth and nitrogen content of several legumes grown in sandy soils. *Soil Crop Sci. Soc. Fla. Proc.* 16:146-151.
- Vincent, J.M. 1965. Environmental factors in the fixation of nitrogen by the legume, p. 384-435. In Bartholomew, W.V. & Clark, F.E. (eds) *Soil nitrogen*. Am. Soc. Agronomy, Madison, Wisconsin.
- Virtanen, A.I., Jorma, J., Lincoba, H. & Linnasalmi, A. 1947. On the relation between nitrogen fixation and leghaemoglobin content of leguminous root nodules. *Acta chem. scand.* 1:90-111.
- Weber, C.R. 1966. Nodulating and nonnodulating soybean isolines. II. Response to applied nitrogen and modified soil conditions. *Agron. J.* 58:46-49.

ABSTRACT.- Ruschel, A.P.; Ruschel, R.; Almeida, D.L.; Suhel, A.R. [*Influence of mineral and organic nitrogen on symbiotic fixation of nitrogen by soybeans*]. Influência do nitrogênio mineral e orgânico na fixação simbiótica de nitrogênio em soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Série Agronomia* (1974) 9, 125-129 [Pt. en] IPEACS, Km 47, Rio de Janeiro, GB, ZC-26, Brazil.

In a greenhouse experiment the effects of *Rhizobium* inoculation and nitrogen fertilization (Sodium nitrate, ammonium sulphate, ammonium nitrate, and urea) were studied for two soybean varieties (IAC 70-25 and Mineira). Nodulation, nitrogenase activity by acetylene reduction, amount of nitrogen in plants, and weight of plants were observed.

The inoculated plants grown in soil free of nitrogen added did not develop too much, and were comparable in weight with that ones not inoculated; however, they presented the greatest number and weight of nodules, and nitrogenase activity when the mass of nodules was taken in account.

Among treatments which received different sources of nitrogen, the nodulation was heavier in presence of urea and consequently the nitrogenase activity was bigger in that particular treatment. Plants from ammonium nitrate and urea treatments presented higher, however not significant, ethylene evolution and total nitrogen in plants, suggesting a sinergetic effect between the nitrogen taked from the soil and the nitrogen fixed from the atmosphere by the *Rhizobium*.