

## SELEÇÃO DE *BRADYRHIZOBIUM* PARA CAUPI CULTIVADO EM SOLO ÁCIDO (LVA) DO SEMI-ÁRIDO DO BRASIL<sup>1</sup>

NEWTON PEREIRA STAMFORD<sup>2</sup>, IRACI MARIA DE MENDONÇA BASTOS VIEIRA<sup>3</sup>,  
DIÉRCULES RODRIGUES DOS SANTOS<sup>4</sup> e CAROLINA ETIENNE DE ROSÁLIA E SILVA SANTOS<sup>5</sup>

**RESUMO** - Em experimento conduzido em casa de vegetação procurou-se avaliar a adaptação e a seleção de estirpes de *Bradyrhizobium* spp, de comprovada eficiência, em testes prévios com vasos de Leonard em condições de temperatura elevada. Foram usadas duas cultivares de caupi (IPA 202 e Pitiúba) e um solo ácido (LVA) textura argilo-arenosa, coletado na Serra do Araripe, região semi-árida de Pernambuco. Adicionou-se calcário nos níveis equivalentes a 0,2 e 4 t/ha, e fez-se a inoculação com as estirpes NFB 09, NFB 36, NFB 91 e CB 756, isoladamente, com uma adubação básica fosfatada. A dose de 2 t/ha de CaCO<sub>3</sub> aumentou a nodulação, a produção de matéria seca e a quantidade de N total da parte aérea, observando-se decréscimo nestes parâmetros quando aplicada a dose de 4 t/ha de calcário. Houve boa correlação entre a quantidade de N total acumulado na parte aérea e o peso de nódulos nos diferentes níveis de calcário e com as estirpes inoculadas. A inoculação teve efeito positivo na nodulação, na acumulação de N total e no peso de matéria seca, com a estirpe NFB 09 mostrando os melhores resultados.

Termos para indexação: *Vigna unguiculata*, calagem, *Rhizobium*, inoculação.

### SELECTION OF *BRADYRHIZOBIUM* STRAINS FOR COWPEA GROWING IN AN ACID SOIL (LVA) OF THE SEMIARID REGION OF BRAZIL

**ABSTRACT** - To evaluate the efficient dinitrogen-fixing ability of *Bradyrhizobium* spp strains for cowpea, selected in previous assays using Leonard jars at high temperature regime, a greenhouse experiment was carried out with two cowpea cultivars (IPA 202 and Pitiúba) growing in an acid LVA sandy-loam texturized soil, located in "Chapada do Araripe", in the semiarid zone of Brazil. Three lime treatments (0, 2 and 4 CaCO<sub>3</sub> t/ha) were applied, and seeds were inoculated with NFB 09, NFB 36, NFB 91 and CB 756 strains, with a basal fertilization of phosphorus. The results showed that lime addition (2 t/ha) increased nodulation, total N accumulated and plant dry matter, and 4 t/ha rate decrease all the parameters. Correlation between total N and nodules weight at the various lime rates and with the different strains was observed. Inoculation affected positively nodulation, total N and dry matter yield with NFB 09 showing the best results.

Index terms: *Vigna unguiculata*, liming, *Rhizobium*, inoculation.

## INTRODUÇÃO

O feijão é uma das mais importantes fontes de proteína para a população brasileira e, em especial, a de baixa renda. O feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L) Walp) possui elevado valor nutritivo e adapta-se bem ao clima da região semi-árida; o Nordeste é responsável por quase toda a produção nacional. Entretanto, a produtividade do feijoeiro em Pernambuco situa-se, nos últimos anos, entre as

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 11 de abril de 1989.

Extraído do trabalho apresentado pelo segundo autor na tese de Mestrado em Ciência do solo-UFRPE, realizado com financiamento do PDCT/NE.

<sup>2</sup> Eng.-Agr., MSc., Dr. Prof. Adj. da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Dep. de Agron., CEP 52071, Recife, PE, bolsista do CNPq.

<sup>3</sup> Química, MSc., Núcleo de fixação Biol. do N<sub>2</sub> nos Trópicos-UFRPE.

<sup>4</sup> Eng.-Agr., MSc., Secretaria de Agricultura do Estado de Pernambuco à disposição do NFBNT-UFRPE.

<sup>5</sup> Zoot., MSc., Núcleo de Fixação Biol. do N<sub>2</sub> nos Trópicos-UFRPE.

mais baixas, ficando, em 1981, em torno de 179 kg/ha (Moura 1982).

O Nordeste inclui em seu território vastas extensões de terras agrícolas onde predomina a aridez, incluindo o chamado polígono das secas, com cerca de 1.000.000 km<sup>2</sup>, onde as condições adversas são fatores limitantes do desenvolvimento econômico regional. Entre estas áreas encontram-se os solos da Chapada do Araripe, que abrange em Pernambuco os municípios de Araripina, Exú, Serrita, Manisobal e Salgueiro. Segundo Vasconcelos Sobrinho (1949), "O Araripe parece constituir o eixo da distribuição das chuvas sertanejas no início de cada inverno". Seus solos possuem boas condições físicas, reação ácida e, dada a presença de solos mais profundos, melhor capacidade de retenção de água.

Para uma boa produtividade, a cultura do feijão exige, além da disponibilidade de água, elevadas quantidades de N fornecido à planta através da fertilização nitrogenada ou por eficiente fixação simbiótica.

O pH do solo, como fator limitante da fixação simbiótica do N<sub>2</sub> pelas leguminosas, pode atuar diretamente sobre a sobrevivência da bactéria, ou influir na disponibilidade de nutrientes e na presença de elementos tóxicos. Scholles et al. (1981), trabalhando com leguminosas forrageiras tropicais em solos ácidos, concluíram que a calagem foi fundamental para o crescimento e eficiente simbiose em siratro, desmódio e soja perene, mas não para *Lotononis*; ela é indicada como espécie adaptada a solos ácidos. Stamford & Neptune (1981), em experimento com caupi em dois solos (PVA e LVm) com adição de P, S e cálcio, observaram que a calagem aumentou a absorção de N, P e Ca no LVm e apenas a de Ca no PVA.

No Brasil, o plantio de feijão é feito com frequência em solos ácidos com níveis elevados de Al e baixos teores de Ca, Mg e P (Pereira 1982), tornando-se indispensáveis a calagem e a fertilização do solo, para a maioria das culturas (Mascarenhas et al. 1969; Jones & Freitas 1970 e Pessanha & Penteadó 1982). A toxidez causada pela presença de Al e Mn

em solos tropicais, e a deficiência de P constituem importantes fatores restritivos ao cultivo de leguminosas (Vidor et al. 1983).

Para que a fixação simbiótica possa suprir convenientemente as necessidades da planta, é necessário inocular nela estirpes de comprovada eficiência; contudo, no solo nem sempre ocorrem estirpes eficientes, e em geral a população nativa é altamente competitiva e ineficiente (Vidor et al. 1983). Comprovando tal fato, Joe & Allen (1980) mostraram que a inoculação de *Rhizobium* específico no caupi afetou o crescimento, a nodulação e a produção da leguminosa.

Neste trabalho, estudou-se além da necessidade de calagem, a adaptação da associação caupi-*Bradyrhizobium* spp em solo com reação ácida, com a finalidade de possibilitar uma eficiente fixação de N<sub>2</sub> por bactérias selecionadas em condições predominantes na região semi-árida.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, utilizando vasos de barro com capacidade para 2,5 kg de solo, impermeabilizados internamente com neutrex. O solo usado foi um Latossolo Vermelho-Amarelo (Brasil 1972), localizado no município de Araripina, região semi-árida de Pernambuco, e coletado na profundidade de 0 a 20 cm; suas características físicas e químicas são as seguintes: Areia grossa, 59%; areia fina, 19%; silte, 1%; e argila, 21% (textura argilo-arenosa); pH-4,2; P-1, 9 ppm; K-25 ppm, Ca-1,05 ppm; Mg-0,40 ppm; Al-0,90 ppm, C-0,70% e N-0,08%.

A correção do pH foi feita com os tratamentos equivalentes a 0, 2 e 4 t/ha de CaCO<sub>3</sub> (PA), homogeneizado com o solo usando-se um misturador rotativo, e efetuada a incubação por 15 dias. Foi feita fertilização básica com 100 ppm de P na forma de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, e micronutrientes aplicando-se por kg de solo, 1 ml de uma solução contendo por litro: 15,8 g de CuSO<sub>4</sub>; 20,0 g de FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 8,9 g de ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 1,0 g de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 0,79 g de NaMoO<sub>4</sub>, e 20,0 g de ácido cítrico.

A inoculação foi feita colocando-se 2 ml de cultura líquida por vaso, utilizando-se individualmente as estirpes NFB 09, NFB 36, NFB 91 e CB 756, se-

leccionadas previamente, em vasos-de-Leonard mantidos em condições de temperatura elevada (35-42°C), pelo Núcleo de Fixação Biológica do N<sub>2</sub> nos Trópicos-UFRPE. As sementes das cultivares IPA 202 e Pitiúba foram esterilizadas com álcool e HgCl<sub>2</sub> (1:500) e lavadas em água fervida. No plantio foram utilizadas seis sementes por vaso, e após a germinação realizou-se o desbaste, deixando-se quatro plantas por vaso.

A colheita foi realizada aos trinta e sete dias após o plantio, fazendo-se, de imediato, a determinação da atividade da nitrogenase por cromatografia gasosa, de acordo com o método de Hardy et al. (1968). Posteriormente, os nódulos foram destacados, contatos e conduzidos, com o material da parte aérea, para secagem em estufa a vácuo a 65°C. Após a secagem, foi feita a pesagem dos nódulos e da parte aérea das plantas e a determinação do N total na parte aérea, pelo método de Kjeldhal semimicro, de acordo com Bremner (1965).

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, no esquema fatorial (4x2x3), com três repetições, considerando-se os seguintes fatores: Inoculação x cultivares x níveis de calagem. Foram incluídos tratamentos complementares, sem inocula-

ção, não incluídos na análise estatística, e que consistiram de dois níveis de calagem (2 e 4 t/ha), fertilização nitrogenada (50 ppm de N) na forma de uréia, e duas cultivares de caupi (IPA 202 e Pitiúba).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que a nodulação foi diretamente afetada pela inoculação com *Bradyrhizobium*, tanto no número como no peso de nódulos (Tabelas 1 e 2). Entre cultivares houve diferença significativa apenas com relação ao peso de nódulos, notando-se que a cultivar IPA 202 teve melhor desempenho, apresentando maior massa nodular principalmente nos tratamentos que receberam calagem. Por outro lado, sem aplicação de calcário não ocorreu diferença significativa entre cultivares, mostrando que estas não apresentaram grande resistência a pH baixo ou a toxidez de alumínio. As estirpes que formaram maior massa nodular foram NFB 09 e CB 756, com valores muito

TABELA 1. Número de nódulos por vaso, em duas cultivares de caupi que receberam inóculo de estirpes de *Bradyrhizobium* spp, em função dos níveis de calagem.

Estirpes	Calagem t/ha								
	0		2		4				
	IPA 202	Pitiúba	IPA 202	Pitiúba	IPA 202	Pitiúba			
C/Inoculação			Média		Média		Média		
NFB - 09	81	71	76 b	144	130	137 a	218	176	197 a
NFB - 36	76	54	65 b	82	96	89 b	75	88	82 c
NFB - 91	55	90	73 b	138	160	149 a	75	59	67 c
CB - 756	103	120	112 a	140	151	146 a	135	130	132 b
Média	79	84		126	134		126	113	
Média geral	82 b			130 a			120 a		
S/Inoculação <sup>1/</sup>									
(+) Nitrogênio (50 ppm)	22	22	22	56	37	47	10	11	11
Testemunha (-N)	41	32	36						

C.V. - 13,43%

As médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5%.

<sup>1/</sup> Não foram usados na análise estatística.

**TABELA 2.** Peso de nódulos por vaso, em duas cultivares de caupi que receberam inóculo de quatro estirpes de *Bradyrhizobium* spp, em função dos níveis de calagem.

Estirpes	Calagem								
	t/ha								
	0		2		4				
IPA 202	Pitiúba	IPA 202	Pitiúba	IPA 202	Pitiúba	IPA 202	Pitiúba		
	g/vaso								
		Média		Média		Média		Média	
C/Inoculação									
NFB - 09	0,48	0,56	<b>0,52 a</b>	0,43	0,38	<b>0,40 a</b>	0,63	0,48	<b>0,56 a</b>
NFB - 36	0,28	0,26	<b>0,27 b</b>	0,35	0,32	<b>0,34 a</b>	0,31	0,34	<b>0,32 c</b>
NFB - 91	0,47	0,47	<b>0,47 a</b>	0,52	0,41	<b>0,46 a</b>	0,61	0,44	<b>0,52 ab</b>
CB - 756	0,42	0,40	<b>0,41 a</b>	0,45	0,39	<b>0,42 a</b>	0,46	0,39	<b>0,42 bc</b>
Média	<b>0,41</b>	<b>0,42</b>		<b>0,44</b>	<b>0,38</b>		<b>0,50</b>	<b>0,41</b>	
Média geral	<b>0,42 b</b>			<b>0,41 b</b>			<b>0,46 a</b>		
S/Inoculação <sup>1/</sup>									
(+) Nitrogênio (50 ppm)	0,16	0,15	<b>0,16</b>	0,31	0,18	<b>0,25</b>	0,06	0,03	<b>0,05</b>
Testemunha (-N)	0,26	0,32	<b>0,29</b>						

C.V. - 19,27%

As médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5%.

<sup>1/</sup> Não foram usados na análise estatística.

superiores em número e peso de nódulos quando comparadas com o tratamento sem inoculação e não adubado com N mineral. Possivelmente a nodulação foi inibida na presença de fertilizante nitrogenado (Stamford et al. 1980).

Com relação aos níveis de calagem, observou-se, em todas as estirpes com inóculo, maior número de nódulos com a adição de 2 t/ha de CaCO<sub>3</sub>, com exceção de NFB 09, que apresentou maior formação de nódulos e maior massa nodular em nível mais elevado de calagem (4 t/ha). O efeito favorável da calagem na nodulação também foi evidenciado por Almeida et al. (1973) em *Phaseolus vulgaris*.

A atividade da nitrogenase mostrou efeito da inoculação das diferentes estirpes, com NFB 91 apresentando maior atividade enzimática por ocasião da colheita da parte aérea. Parece provável que as estirpes NFB 09 e CB 756, que mostraram maior eficiência fixadora, já haviam ultrapassado o período de máxima

fixação. Os resultados obtidos (Tabela 3) estão de acordo com os encontrados por Brose et al. (1979), tendo estes pesquisadores concluído que a redução na atividade da nitrogenase pode dever-se à competição entre os bacteróides por carboidratos, e que o aumento no número e peso de nódulos pode induzir a uma diminuição na atividade específica da nitrogenase, com conseqüente redução na atividade da nitrogenase total.

A interação entre calagem e inoculação foi altamente significativa para a atividade da nitrogenase. Observou-se que todas as estirpes inoculadas sofreram o efeito depressivo da calagem, com exceção da estirpe NFB 36, na qual a correção do pH do solo teve efeito favorável até o nível de 4 t/ha de CaCO<sub>3</sub>. Esta estirpe, em pesquisa conduzida por Santos & Stamford (1986), mostrou ser influenciada positivamente pela elevação do pH, em solo ácido com adição de composto urbano.

TABELA 3. Atividade de nitrogenase em duas cultivares de caupi que receberam inóculo de quatro estirpes de *Bradyrhizobium* spp, em função dos níveis de calagem.

Estirpes	Calagem								
	0		2		4				
	IPA 202	Pitiúba	IPA 202	Pitiúba	IPA 202	Pitiúba			
	$\mu$ . moles $C_2H_4$ $h^{-1}$ /vaso								
		Média		Média		Média			
NFB - 09	115	59	87 d	70	56	63 c	84	35	60 b
NFB - 36	134	68	101 c	195	195	180 a	91	106	99 b
NFB - 91	251	274	263 a	136	116	126 b	182	119	151 a
CB - 756	146	88	167 b	123	135	129 b	60	89	75 b
Média	162	122		131	126		104	87	
Média geral	142 a			129 a			96 a		

C.V. - 42,71%

As médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5%. Nos tratamentos com e sem N mineral os valores foram nulos (sem atividade).

Na produção de matéria seca e no N total acumulado na parte aérea foi evidenciada a influência da calagem na dose equivalente a 2 t/ha, observando-se decréscimo quando aplicado  $CaCO_3$  no nível de 4 t/ha (Tabelas 4 e 5). Este efeito pode ter sido consequência da elevação do pH do solo, diminuindo a disponibilidade de micronutrientes, como observado por Stamford & Neptune (1981) trabalhando com caupi em solos ácidos. Estes resultados são divergentes dos encontrados por Joe & Allen (1980), que observaram valores máximos destes parâmetros em caupi no pH entre 6,6 e 7,6. Andrew & Norris (1961) comprovaram serem as leguminosas tropicais mais adaptadas a solos ácidos, sendo sua exigência maior em Mg do que em Ca, o que também foi observado por Stamford & Costa (1985) trabalhando com caupi e usando calcários com diferentes relações Ca:Mg.

A quantidade de N total acumulada e o peso de matéria seca da parte aérea também foram influenciadas pela inoculação. A estirpe NFB 09 apresentou os melhores resultados em todos os níveis de calcário aplicados, com

valores máximos na dose equivalente a 2 t/ha (Tabelas 4 e 5).

Apesar de não ter sido significativa a interação cultivares/calagem, observou-se que nos tratamentos sem calagem a cultivar IPA 202 apresentou maior produção de matéria seca, o que mostra maior tolerância desta cultivar às condições de acidez do solo. Verificou-se, também, que para as estirpes usadas o conteúdo de N total ultrapassou o dos tratamentos comparativos com adubação nitrogenada (50 ppm de N), em todos os níveis de calagem. Franco & Döbereiner (1968) não obtiveram resultados semelhantes com feijão, enquanto Scholles et al. (1981), trabalhando com diversas leguminosas forrageiras, concluíram que o N cedido pela fixação simbiótica foi suficiente para o rendimento máximo das leguminosas usadas, também com efeito favorável da calagem em siratro, desmódio e soja perene.

Observou-se boa correlação entre a quantidade de N total acumulada na parte aérea e o peso de matéria seca dos nódulos, com inoculação das diferentes estirpes e níveis de calcário (Tabela 6). Verificou-se que o melhor índice de correlação foi obtido sem adição de

**TABELA 4.** Quantidade de N total acumulada na parte aérea de duas cultivares de caupi que receberam inóculo de quatro estirpes de *Bradyrhizobium* spp, em função dos níveis de calagem.

Estirpes	Calagem t/ha								
	0		2		4				
	IPA 202	Pitiúba	IPA 202	Pitiúba	IPA 202	Pitiúba	IPA 202	Pitiúba	
	mg/vaso								
			Média		Média				Média
C/Inoculação									
NFB - 09	414	396	405 a	554	614	584 a	465	420	442 a
NFB - 36	172	160	166 a	329	321	325 b	258	286	272 b
NFB - 91	304	234	269 ab	466	382	424 ab	308	395	352 ab
CB - 756	373	345	359 a	429	496	463 ab	376	342	359 ab
Média	316	284		445	453		352	361	
Média geral	300 c			449 a			356 b		
S/Inoculação									
(+) Nitrogênio	95	130	112	196	212	204	134	161	148
Testemunha (-N)	27	37	32						

C.V. - 22,12%

As médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5%.

**TABELA 5.** Rendimento de matéria seca da parte aérea de duas cultivares de caupi que receberam inóculo de quatro estirpes de *Bradyrhizobium* spp, em função dos níveis de calagem.

Estirpes	Calagem t/ha								
	0		2		4				
	IPA 202	Pitiúba	IPA 202	Pitiúba	IPA 202	Pitiúba	IPA 202	Pitiúba	
	g/vaso								
			Média		Média				Média
C/Inoculação									
NFB - 09	10,69	9,61	10,15 a	12,81	14,22	13,52 a	14,11	12,80	13,46 a
NFB - 36	6,49	6,23	6,36 b	8,49	9,91	9,20 b	8,57	9,29	8,93 b
NFB - 91	8,98	8,08	8,53 b	10,52	10,07	10,30 b	9,69	9,99	9,84 b
CB - 756	10,01	8,37	9,19 a	11,95	13,19	12,57 a	9,61	10,32	9,96 a
Média	9,04	8,07		10,94	11,85		10,50	10,60	
Média geral	8,56 b			11,40 a			10,50 a		
S/Inoculação									
(+) Nitrogênio (50 ppm)	4,10	3,76	3,93	5,59	5,32	5,46	4,58	5,80	5,19
Testemunha (-N)	1,32	1,85	1,58						

C.V. - 14,23%

As médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5%.

TABELA 6. Equações de regressão entre quantidade de N total acumulada na parte aérea e peso de matéria seca dos nódulos.

Parâmetros	Equação de regressão	r
Estirpes	$Y_N = 67,13 + 0,79 X_{pn}$	0,69**
Sem calagem	$Y_N = 10,42 + 0,73 X_{pn}$	0,77**
Calagem (2 t/ha)	$Y_N = 208,08 + 0,59 X_{pn}$	0,58*
Calagem (4 t/ha)	$Y_N = 181,36 + 0,38 X_{pn}$	0,63**

\*, \*\* Significativo a 1% e 5% respectivamente.

calcário, com  $b = 0,73$ , o que indica maior eficiência na fixação do  $N_2$  pelas estirpes inoculadas, e menor resposta à inoculação com adição de 4 t/ha de  $CaCO_3$  ( $b = 0,38$ ). Quando a regressão foi feita para cada estirpe isoladamente, e dentro dos diversos níveis de calagem, não foram obtidas boas correlações, especialmente com adição de 2 t/ha de  $CaCO_3$ .

### CONCLUSÕES

1. As estirpes de *Bradyrhizobium* selecionadas para temperatura elevada (35 a 42°C) mostraram-se eficientes em caupi cultivado em solo ácido, sendo mais promissoras as estirpes NFB-09 e CB 756.

2. A inoculação de estirpes eficientes mostrou efeito positivo na fixação do  $N_2$  e na produção de matéria seca.

3. A calagem influenciou a nodulação, a fixação do  $N_2$  e a produção de matéria seca, sendo mais recomendada a adição de 2 t/ha de calcário.

4. As cultivares usadas não foram diferentes na capacidade de fixação do  $N_2$  e na produção de matéria seca, com a cultivar IPA 202 apresentando-se superior a Pitiúba, o que sugere maior tolerância a pH mais baixo.

### REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, D.L.; PESSANHA, G.G.; PENTEADO, A.F. Efeito da calagem e da adubação fosfatada e nitrogenada na nodulação e produção do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Pesq. agropec. bras.**, 8:127-30, 1973.
- ANDREW, C.S. & NORRIS, D.O. Comparative responses to calcium of five tropical and four temperate legumes. **Aust. J. Agric. Res.**, Victoria, 12:40-50, 1961.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Divisão de Pesquisa Pedológica. **Levantamento exploratório**; reconhecimento de solos do Estado de Pernambuco. Recife, 1972, v.1. (Boletim técnico, 26; Série Pedologia, 24).
- BREMNER, J.M. Total nitrogen. In: BLACK, C.A. **Methods of soil analysis**. Madison, American Society of Agronomy, 1965. p.1149-76. pII.
- BROSE, E.; JARDIM FREIRE, J.R.; MIELNICZUK, J. Efeito da umidade e luminosidade sobre a atividade da nitrogenase nos nódulos de soja (*Glycine max* (L) Merrill). **Agron. sulriog.**, Porto Alegre, 15(2):239-50, 1979.
- FRANCO, A.A. & DÖBEREINER, J. Interferência do Ca e N na fixação simbiótica do nitrogênio por duas variedades de *Phaseolus vulgaris* L. **Pesq. agropec. bras.**, 3:223-27, 1968.
- HARDY, R.W.F.; HOLSTEN, R.D.; JACKSON, E.K.; BURNS, R.C. The acetylene ethylene assay for  $N_2$  fixation: Laboratory and field evaluation. **Plant. Physiol.**, Bethesda, 43: 1185-207, 1968.
- JOE, W.H.E. & ALLEN, J.R. Effect of soil pH on plant growth and nodulation of cowpea. **Commun. Soil. Sci. Plant Anal.**, 11(11): 1077-85, 1980.

- JONES, J.B. & FREITAS, L.M.M. de. Respostas de quatro leguminosas tropicais a fósforo, potássio e calcário num Latossolo Vermelho Amarelo de campo cerrado. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, 5:91-9, 1970.
- MASCARENHAS, A.A.; D'ARTAGNAN ALMEIDA, L.; MIYASAKA, S.; FREIRE, E.S.; CIONE, J.; HIROCE, R.; PIO NERY, J. Adução mineral do feijoeiro. XII. Efeitos da calagem, do nitrogênio e do fósforo em solo Latossolo Vermelho Amarelo do Vale do Ribeira. **Bragantia**, 28(7):71-83, 1969.
- MOURA, P.A.M. Aspectos econômicos da cultura do feijão. **Inf. Agropec.**, Belo Horizonte, 8(90):3-6, 1982.
- PEREIRA, P.A.A. Fixação biológica de nitrogênio no feijoeiro. **Inf. agropec.**, Belo Horizonte, 8(90):41-6, 1982.
- PESSANHA, G.G. & PENTEADO, A.F. Efeito de NP e calagem sobre a cultura do feijão. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, 17(3):375-9, 1982.
- SANTOS, C.E.R.S. & STAMFORD, N.P. **Fixação do N<sub>2</sub> e desenvolvimento de caupi em solo ácido (LVA), com diferentes vesículos do inoculante.** Recife, UFRPe, 1986, mimeografado.
- SCHOLLES, D.; KOLLING, J., FREIRE, J.R.J. Necessidade de inoculação e de aplicação de calcário em leguminosas forrageiras tropicais em solos ácidos. **Rev. bras. Ci. Solo**, Campinas, 5(2):97-102, 1981.
- STAMFORD, N.P. & COSTA, J.P.V. da. Efeito de níveis e granulometrias de calcários na fixação do N<sub>2</sub>, e na produção de matéria seca de caupi. **Agron. sulriog.**, Porto Alegre, 21(1):123-34, 1985.
- STAMFORD, N.P. & NEPTUNE, A.M.L. Efeito da fertilização com <sup>32</sup>P e <sup>35</sup>S e da calagem, no crescimento, na absorção de nutrientes e no aproveitamento do fertilizante por caupi (*Vigna unguiculata* (L) Walp) em dois solos da Zona da Mata de Pernambuco. **An. Univ. Fed. Rural Pernambuco**, Recife, 6:15-34, 1981.
- STAMFORD, N.P.; NEPTUNE, A.M.L.; SILVA, I.P. Efeito do potássio em presença de N mineral, na nodulação, crescimento e absorção de nutrientes por *Vigna unguiculata* (L) Walp. **Rev. bras. Ci. Solo**, Campinas, 4(2):38-42, 1980.
- VASCONCELOS SOBRINHO, J. **As regiões naturais de Pernambuco, o meio e a civilização.** Rio de Janeiro, Freitas Bastos, 1949. 219p.
- VIDOR, C.; KOLLING, J.; JARDIM FREIRE, J.R.; SCHOLLES, D.; BROSE, E.; PEDROSO, M.H.T. **Fixação biológica do nitrogênio pela simbiose entre Rhizobium e leguminosas.** Porto Alegre, Inst. Pesq. Agron., 1983. 52p. (Boletim técnico, 11).