

# RESPOSTA DE ACESSOS NATIVOS DE *STYLOSANTHES GUIANENSIS* À INOCULAÇÃO COM RIZÓBIO<sup>1</sup>

DEISE FERREIRA XAVIER<sup>2</sup>, SEBASTIÃO MANHÃES SOUTO,<sup>3</sup>  
MARGARIDA MESQUITA CARVALHO<sup>4</sup> e AVÍLIO ANTONIO FRANCO<sup>3</sup>

RESUMO - Delineou-se um experimento em condições controladas, com a finalidade de verificar as exigências de rizóbio para acesso de *Stylosanthes guianensis*. Em vasos contendo latossolo vermelho-amarelo foram testados os seguintes tratamentos: a) Cinco acessos de *S. guianensis*: IPF 392/75, IPF 394/75, BAG 24, IPF 386/77, IPF 388/75; b) Duas estirpes de *Bradyrhizobium* sp: CB 756 e CIAT 527; testemunha; com e sem nitrogênio; c) Dois níveis de adubação: (I) 25 mg de P e 30 mg de K/kg de solo; (II) 50 mg de P e 60 mg de K/kg de solo, e 3 t de calcário/ha e micronutrientes. Os resultados de nodulação de N-total e da matéria seca da parte aérea das plantas indicaram que a população de rizóbio desse solo foi eficiente para os cinco acessos de *S. guianensis* e que o nível mais alto de adubação teve um efeito positivo sobre o desenvolvimento desses acessos.

Termos para indexação: *Bradyrhizobium*, estirpes nativas.

## RESPONSE OF NATIVE ACCESSIONS OF *STYLOSANTHES GUIANENSIS* TO INOCULATION WITH RHIZOBIA

ABSTRACT - A pot trial was carried out in a glasshouse to verify *Bradyrhizobium* requirements for native accessions of *Stylosanthes guianensis* using an oxisol, with the following treatments; a) Five *S. guianensis* accessions: IPF 392/75, IPF 394/75, BAG 24, IPF 386/77; IPF 388/75; b) Two *Bradyrhizobium* sp strains: CB 756 and CIAT 527; a control either with or without nitrogen; c) Two fertility levels: (I) 25 mg P.kg<sup>-1</sup> of soil and 30 mg K.kg<sup>-1</sup> of soil; (II) 50 mg P. kg<sup>-1</sup> of soil and 60 mg K.kg<sup>-1</sup> of soil, and 3 ton. of lime . ha<sup>-1</sup> and micronutrients. The results indicated that the native strains of *Bradyrhizobium* were effective in increasing nodulation, total N and dry weight of tops of the five *S. guianensis* accessions. In addition, the higher level of fertilizer application had a positive effect on growth of the *S. guianensis* accessions.

Index terms: *Bradyrhizobium*, native strains.

## INTRODUÇÃO

O *Stylosanthes guianensis* tem-se caracterizado por sua boa adaptação a solos ácidos e de baixa fertilidade e ainda possui um cresci-

mento vigoroso, elevada produção de matéria seca e boa resistência à seca (Schultze-Kraft & Giacometti 1982, Edye & Cameron 1984). Entretanto, a persistência desta espécie no campo, muitas vezes, tem sido comprometida pela incidência de Antracnose (*Colletotrichum gloesporioides*). A busca de novos ecotipos que apresentem resistência à Antracnose, entre outras características, é imprescindível para um melhor aproveitamento do potencial forrageiro desta leguminosa. Além disso, se faz necessário o conhecimento da capacidade de nodular e fixar nitrogênio de ecotipos promissores.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 24 de abril de 1990.

<sup>2</sup> Lic. em Ciências Agrárias, M.Sc., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite (CNPGL), Rodovia MG 133, Km 42, CEP 36155, Coronel Pacheco, MG. Bolsista do CNPq.

<sup>3</sup> Eng.-Agr., Ph.D., EMBRAPA/CNPBS, Km 47, CEP 23460, Seropédica, RJ.

<sup>4</sup> Enga.-Agrá. Ph.D., EMBRAPA/CNPGL. Bolsista do CNPq.

Norris (1965), classificou a espécie *S. guianensis* no grupo de inoculação cruzada. Num trabalho posterior, Norris (1967) recomenda um inoculante específico para a cultivar de *S. guianensis* denominada "Oxley - fine - stem - stylo". Manneje (1969) também indica uma estirpe específica para *S. guianensis* cv Oxley e distribui seis acessos de *S. guianensis* em quatro grupos baseando-se na morfologia e nas suas necessidades de inoculação com rizóbio.

O potencial das estirpes nativas em *S. guianensis* tem sido realçado em vários trabalhos (Adegbola & Onayinka 1966. Döbereiner 1971, Chandapillai 1972, Souto et al. 1972). Em condições de cerrado, a população nativa de rizóbio foi eficiente na nodulação de *S. bracteata* e *S. capitata* (Vargas & Suhret 1981). Recentemente, o CPAC – EMBRAPA recomendou a eliminação de inoculação e do adubo nitrogenado para o gênero *Stylosanthes*, considerando que a população nativa de rizóbio nos cerrados é numerosa e forma associações eficientes com as espécies desse gênero (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 1984).

Também em condições de cerrado, Sá (1983) evidenciou grande variabilidade na eficiência das estirpes de rizóbio nativas, isoladas de *S. guianensis* e *S. grandifolia*. Enfatizou, ainda, a necessidade de trabalhos de seleção, a partir da população nativa do solo, visando à obtenção de estirpes mais eficientes. Anteriormente, Souto (1976) também havia ressaltado a importância de trabalhos de seleção de estirpes nativas para *S. guianensis* em solo podzólico vermelho-amarelo.

Além da compatibilidade entre a planta hospedeira e a estirpe de rizóbio, o sucesso da simbiose está também relacionado a fatores nutricionais que afetam a persistência e crescimento da bactéria no solo, o crescimento da leguminosa e a formação e funcionamento dos nódulos (Edwards 1977, Danso 1977, Munns 1980).

Com a finalidade de verificar as exigências de rizóbio de acessos nativos de *S. guianensis*, delimitou-se um experimento em condições

controladas, utilizando-se um latossolo vermelho-amarelo representativo das áreas de pastagens da Zona da Mata de Minas Gerais.

## MATERIAL E MÉTODOS

Conduziu-se um experimento em condições de casa de vegetação em vasos com 3 kg de solo classificado como latossolo vermelho-amarelo. O solo foi coletado a 15 cm de profundidade, em Coronel Pacheco, MG, e passado através de peneira com malha de 2 mm de diâmetro.

A análise química do solo apresentou as seguintes características químicas: pH em água (1: 2,5) = 4,70; Al = 1,22meq/100g TFSA; Ca = 0,15meq/100g TFSA; Mg = 0,21meq/100g TFSA; P = 1,8ppm; K = 32,5ppm; M.O. = 3,15%.

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, num esquema fatorial 5 x 4 x 2, com 3 repetições e os seguintes tratamentos:

a) Cinco acessos de *Stylosanthes guianensis* provenientes do Banco Ativo de Germoplasma do CNP-Galo de Leite: 1) IPF 392/75; 2) IPF 394/75; 3) BAG 24; 4) IPF 386/77; 5) IPF 388/75.

b) Duas estirpes de *Bradyrhizobium* sp: CB 756 – proveniente da Austrália e utilizada para leguminosas tropicais, e CIAT 527 – isolada de *S. guianensis* em condições de solo ácido e fornecida pelo CIAT – Colômbia; adubação nitrogenada e controle (sem nitrogênio e sem inoculação).

c) Dois níveis de fertilidade: I – 25 mg de fósforo e 30 mg de K por quilograma de solo, na forma de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; II – 50 mg de P e 60 mg de K por kg de solo, na forma de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{CaCO}_3$  +  $\text{MgCO}_3$ , na relação Ca: Mg = 4:1 em equivalentes, correspondendo ao valor de neutralização (VN) de 1.000 kg/ha de  $\text{CaCO}_3$  (Siqueira et al. 1980) em quantidades equivalentes a 3 t de calcário/ha e os seguintes nutrientes por kg de solo: 150 mg de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 15,8 mg de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; 8,91 mg de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,30 mg de  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ; 0,50 mg de  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 20,00 mg de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

O  $\text{CaCO}_3$  +  $\text{MgCO}_3$  foi colocado 90 dias antes do plantio, elevando o pH de 4,7 para 5,5. Neste período foi plantado sorgo em todos os tratamentos com a finalidade de diminuir a disponibilidade de N do solo.

As sementes foram escarificadas com  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado durante cinco minutos e desinfetadas com álcool etílico por 1/2 minuto, colocadas, em seguida, em solução de bicloreto de mercúrio a 0,1%

v/v, por um minuto, sendo lavadas posteriormente, por cinco vezes, com água esterilizada.

Para o crescimento das culturas de rizóbio foi adotada a metodologia de Vincent (1970). Após o plantio, foi colocada uma gota de inoculante com aproximadamente  $10^8$  células/ml em cada semente. Cada vaso recebeu seis sementes pré-germinadas em placas-de-petri, com 1,5% de ágar, deixando-se após o desbaste, duas plantas por vaso.

O tratamento com adubação nitrogenada recebeu 5 mg de N por vaso, sete dias após a germinação, e 20 mg de N por vaso, quinzenalmente, até a colheita, na forma de  $NH_4NO_3$ .

A colheita foi feita 78 dias após o plantio, determinando-se o número e o peso seco dos nódulos a  $65^\circ C$ , por 72 horas, a matéria seca da parte aérea e o seu teor de N (Bremner 1965).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação de P, K e micronutrientes juntamente com a correção do pH através da ca-

lagem, proporcionou aumentos expressivos na matéria seca, no N-total da parte aérea e na nodulação dos cinco acessos de *S. guianensis* (Tabela 1). O mesmo não foi verificado para o N percentual, onde o nível I de adubação foi superior ao nível II (Tabela 1), indicando assim um efeito de diluição.

Oliveira et al. (1985), trabalhando com o mesmo solo, verificaram que na ausência da calagem, a aplicação de K reduziu o peso das raízes, e, na presença da calagem, o K aumentou a nodulação de *Centrosema pubescens*. Os mesmos autores concluíram também que a aplicação de molibdênio aumentou a concentração de N na parte aérea e o peso de nódulos da planta estudada.

Os cinco acessos de *S. guianensis* tiveram comportamento semelhante em relação aos níveis de adubação. Tal fato pode ser atribuído à pouca variação entre os acessos, já que estes foram selecionados sob as mesmas condições.

TABELA 1. Efeito de dois níveis de adubação no desenvolvimento e nodulação em *S. guianensis* sob diferentes tratamentos de inoculação (média de 5 acessos).

Tratamentos	Níveis de Adubação	Parte aérea			Nodulação	
		Peso <sup>1</sup> (g/planta)	N-Total <sup>1</sup> (mg/planta)	N% <sup>2</sup>	Número <sup>3</sup> (por planta)	Peso seco <sup>3</sup> (mg/planta)
CB 576	Nível I*	1,44	19,29	1,34	48,43 ab	1,80 ab
CIAT 527		1,26	17,73	1,40	38,90 ab	1,71 ab
Nitrogênio		1,34	18,76	1,40	23,57 b	1,05 b
Controle		1,65	21,76	1,32	50,26 a	2,77 a
CB 756	Nível II**	2,02	23,62	1,17	81,76 ab	5,21 ab
CIAT 527		2,11	25,31	1,20	84,74 ab	7,01 ab
Nitrogênio		2,19	25,41	1,16	74,87 b	5,81 b
Controle		2,20	26,57	1,19	101,72 a	7,49 a

\* Nível I – 25 mg de P e 60 mg de K por kg de solo como  $KH_2PO_4$ .

\*\* Nível II – 50 mg de P e 120 mg de K por kg de solo como  $KH_2PO_4$ ,  $CaCO_3$  +  $MgCO_3$  equivalentes a 3 t de calcário/ha e os seguintes nutrientes por kg de solo: 150 mg de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 15,8 mg de  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ; 8,91 mg de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 0,30 mg de  $H_3BO_3$ ; 0,50 mg de  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ ; 20,00 mg de  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ .

<sup>1</sup> Nível II superior ao nível I ( $P < 0,01$ ). Houve interação entre os tratamentos de inoculação e os acessos.

<sup>2</sup> Nível I superior ao nível II ( $P < 0,01$ ).

<sup>3</sup> Nível II superior ao nível I ( $P < 0,01$ ). As médias colocadas nas colunas seguidas por letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey (5%) dentro de cada nível.

Com relação ao parâmetro nodulação (Tabela 1), observou-se que o tratamento com adubação nitrogenada mostrou-se semelhante aos tratamentos inoculados, mas com valores inferiores ao controle.

O efeito dos tratamentos inoculados na produção de matéria seca (Tabela 2) e no N-total (Tabela 3), se deu exclusivamente no acesso IPF 388/75, onde o tratamento inoculado com a estirpe CIAT 527 foi inferior aos demais.

Assim, o tratamento controle quando não foi superior, igualou-se aos demais tratamentos de inoculação em todos os parâmetros analisados, indicando que a população nativa de rizóbio neste solo é capaz de nodular e fixar nitrogênio satisfatoriamente nos cinco

acessos de *S. guianensis*. É importante salientar que em nenhum acesso, o desenvolvimento das plantas que receberam N foi superior aos das noduladas com a população nativa (Tabela 1). O potencial da população nativa tem sido evidenciado por vários autores. Souto (1976) constatou que as estirpes nativas de um solo podzólico vermelho-amarelo nodularam eficientemente o *S. guianensis* cv IRI 1022. Vargas & Suhet (1981) também relataram a eficiência da simbiose com as estirpes nativas no suprimento de todo N necessário a *S. capitata* e *S. bracteata*, em condições de cerrado.

Scholles et al. (1981), trabalhando com *S. guianensis*, em solos laterítico e podzólico,

**TABELA 2. Interação entre tratamentos de inoculação e acessos de *S. guianensis* em relação à matéria seca da parte aérea. (Médias de 2 níveis de adubação).**

Tratamentos	Matéria seca da parte aérea (g/planta)				
	IPF 392/75	IPF 394/75	Acessos BAG 24	IPF 386/77	IPF 388/75
CB 756	1,78 a	1,66 a	1,67 a	1,78 a	1,66 ab
CIAT 527	1,42 a	1,91 a	1,96 a	1,81 a	1,27 b
Nitrogênio	1,51 a	1,71 a	1,77 a	1,96 a	1,87 a
Controle	1,77 a	2,06 a	2,04 a	2,05 a	1,78 a

- As médias nas colunas seguidas por letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey (5%) dentro do mesmo acesso.

**TABELA 3. Interação entre tratamentos de inoculação e acessos de *S. guianensis* em relação ao N total da parte aérea. (Médias de 2 níveis de adubação).**

Tratamentos	N-total da parte aérea (mg/planta)				
	IPF 392/75	IPF 394/75	Acessos BAG 24	IPF 386/77	IPF 388/75
CB 756	22,62 a	20,87 a	21,62 a	23,70 a	20,87 a
CIAT 527	17,87 a	23,55 a	26,50 a	23,12 a	15,45 b
Nitrogênio	19,20 a	20,95 a	22,32 a	24,07 a	24,30 a
Controle	23,00 a	24,57 a	25,67 a	24,87 a	21,37 a

- As médias colocadas nas colunas seguidas por letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey (5%) dentro do mesmo acesso.

ambos distróficos, mostraram a ocorrência de uma população autóctone tão eficiente quanto as estirpes usadas no inoculante. Estes resultados concordam com os obtidos no presente experimento.

É necessário ressaltar que nos tratamentos inoculados, as estirpes de rizóbio usadas não foram marcadas ou identificadas. Portanto, os resultados obtidos nestes tratamentos podem ter ocorrido, em parte, por causa das estirpes nativas, que, naturalmente, são mais adaptadas ao solo testado. Há indícios de que a introdução de estirpes de rizóbio torna-se mais difícil em solos que apresentam alta população nativa (Herridge & Roughley 1975, Brockwell et al. 1982, Oliveira & Vidor 1984). Herridge & Roughley (1975) observaram que a estirpe CB 756 foi menos competitiva na nodulação de *Lablab purpureus* do que outras estirpes de rizóbio isoladas da população nativa.

### CONCLUSÕES

1. Os tratamentos inoculados com as estirpes CB 756 e CIAT 527 compararam-se com o tratamento controle, quanto à nodulação, desenvolvimento e teor de N-total dos acessos de *S. guianensis*, exceto para IPF 388/75, onde a CIAT 572 foi inferior aos tratamentos sem inoculação.

2. A população autóctone de rizóbio do latossolo vermelho-amarelo, representante das pastagens da região da Zona da Mata, MG, foi eficiente para nodular e permitir o desenvolvimento de cinco acessos de *S. guianensis*, quando comparada com duas estirpes selecionadas, provenientes de outras regiões.

3. A adubação nitrogenada diminuiu a nodulação nos dois níveis de correção da fertilidade do solo, e não aumentou a produção de matéria seca da parte aérea em relação ao tratamento controle.

4. A correção da fertilidade foi mais importante que a inoculação para o aumento da produção destes acessos de *S. guianensis* no solo estudado.

### REFERÊNCIAS

- ADEGBOLA, A.A. & ONAYINKA, B. Some observations on the responses of *Stylosanthes gracilis* to seed inoculation. **Niger. Agric. J.**, 3:35-88, 1966.
- BREMNER, J.M. Total nitrogen. In: BLACK, C.A.; EVANS, D.D.; WHITE, J.L.; ENSMINGER, L.E.; CLARK, F.E., eds. **Methods of soil analysis: Chemical and microbiological properties**. Madison, American Society of Agronomy, 1965. pt. 2, p.1148-78.
- BROCKWELL, J.; GAULT, R.R.; ZORIN, M.; ROBERTS, M.J. Effects of environmental variables on the competition between inoculum strains and naturalized populations of *Rhizobium trifolii* for nodulation of *Trifolium subterraneum* L. and on rhizobia persistence in the soil. **Aust. J. Agric. Res.**, 33:803-15, 1982.
- CHANDAPILLAI, M.M. Studies on the nodulation of *Stylosanthes guianensis*. Aubl. I. Effect of added organic matter in four types of malaysian soils. **Trop. Agric.**, Trinidad, 49(3): 205-13, 1972.
- DANSO, S.K.A. The ecology of *Rhizobium* and recent advances in the study of *Rhizobium*. In: AYANABA, A. & DART, P.J., eds. **Biological nitrogen fixation in farming systems of the tropics**. New York, John Wiley & Sons, 1977. p.115-25.
- DÖBEREINER, J. Inoculação cruzada e eficiência de simbiose de leguminosas tropicais. In: DÖBEREINER, J.; EIRA, P.A. da; FRANCO, A.A.; CAMPELO, A.B. eds. **As leguminosas na agricultura tropical** s.l., s. ed., 1971. p.181-95. Trabalho apresentado no Seminário sobre Metodologia e Planejamento de Pesquisa com Leguminosas Tropicais, IPACS, 1970.
- EDWARDS, D.G. Nutritional factors limiting nitrogen by rhizobia. In: AYANABA, A. & DART, P.J., eds. **Biological nitrogen fixation in farming systems of the tropics**. New York, John Wiley & Sons, 1977. p.189-209.
- EDYE, L.A. & CAMERON, D.G. Prospects for *Stylosanthes* improvement and utilization. In: STACE, S.M. & EDYE, L.A., eds. **The biology and agronomy of *Stylosanthes***. Sidney, Academic Press, 1984. p.571-87.

- EMBRAPA ANO 11. Destaque dos principais resultados de pesquisa de 1983. Brasília, EMBRAPA-ATA, 1984. p.77.
- HERRIDGE, B.F. & ROUGHLEY, R.J. Nodulation of and nitrogen fixation by *Lablab purpureus* under field conditions. **Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.**, 15(73):264-69, 1975.
- MANNETJE, L. t'. *Rhizobium* affinities and phenetic relationships within the genus *Stylosanthes*. **Aust. J. Bot.**, 17:553-64, 1969.
- MUNNS, D.N. Mineral nutrition and nodulation. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 2, Boulder, 1980. **Proceedings...** Boulder, Westview, 1980. p.47-56.
- NORRIS, D.O. *Rhizobium* relationships in legumes. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE PASTAGENS, 9, São Paulo, 1965. **Anais...** s.l., s. ed., 1965. v.2, p.1087-92.
- NORRIS, D.O. The intelligent use of inoculation and lime pelleting for tropical legumes. **Trop. grassl.**, 1:107-21, 1967.
- OLIVEIRA, F.T.T. de; SARAIVA, O.F.; CARVALHO, M.M.; VERNEQUE, R. da S. Efeito da calagem, potássio, enxofre e micronutrientes sobre o crescimento de *Centrosema pubescens* em solo ácido. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, 20(7):755-9, 1985.
- OLIVEIRA, L.A. & VIDOR, C. Seleção de estirpes de *Rhizobium japonicum* em soja. II. Capacidade comparativa por sítios de nódulos. **R. bras. Ci. Solo**, 8:43-7, 1984.
- SÁ, N.W.H. de. **Resistência a antibióticos e eficiência de estirpes de *Rhizobium* nativas em solos de cerrados associadas a *Stylosanthes***. Belo Horizonte, MG, UFMG, 1983. 116p. Tese Mestrado.
- SCHOLLES, D.; KOLLING, J., FREIRE, J.R.J. Necessidade de inoculação e aplicação de calcário em leguminosas forrageiras tropicais em solos ácidos. **R. bras. Ci. Solo**, 5(2):97-102, 1981.
- SCHULTZ-KRAFT, R. & GIACOMETTI, D.C. Recursos genéticos de leguminosas forrageiras para as savanas de solos ácidos e de baixa fertilidade da América Tropical. In: SANCHEZ, P.A.; TERGAS, L.E.; SERRÃO, E.A.S., eds. **Produção de pastagens em solos ácidos dos trópicos**. Brasília, Editerra Editorial CIAT/EMBRAPA, 1982. p.71-80.
- SIQUEIRA, C.; CARVALHO, M.M.; SARAIVA, O.F.; OLIVEIRA, F.T.T. de. Resposta de três gramíneas forrageiras tropicais à aplicação de calcário e fósforo em um solo ácido. In: CONGRESSO NACIONAL BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 1, Fortaleza, CE, 1980. **Anais...** Fortaleza, SBZ, 1980, p.473.
- SOUTO, S.M. **Competição de estirpes de *Rhizobium* sp. resistentes à estreptomina com as nativas do solo na nodulação e desenvolvimento de *Stylosanthes guianensis***. Auhl. Swartz e a avaliação da fixação de N pela redução de  $C_2H_4$ . Itaguaí, RJ, UFRRJ, 1976. 94p. Tese Mestrado.
- SOUTO, S.M.; CÓSER, A.C., DÖBEREINER, J. Especificidade de uma variedade nativa de "Alfafa do Nordeste" (*Stylosanthes gracilis*) na simbiose com *Rhizobium* sp. **Pesq. agropec. bras.**, Sér. Zootec., 7:1-5, 1972.
- VARGAS, M.A.T. & SUHET, A.R. Eficiência de inoculantes comerciais e de estirpes nativas de *Rhizobium* para seis leguminosas em solos de cerrado. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, 16(3):357-62, 1981.
- VINCENT, J.M. **A manual for the practical study of the root-nodule bacteria**. Blackwell, 1970. 164p.