



**NODULAÇÃO E PRODUTIVIDADE DE *Vigna*
unguiculata (L.) Walp. POR ESTIRPES SELECIONADAS
DE RIZÓBIO**

ADÃO MARCELINO LACERDA

2002



54231

MFN046397

ADÃO MARCELINO LACERDA

NODULAÇÃO E PRODUTIVIDADE DE *Vigna unguiculata* (L.) Walp. POR
ESTIRPES SELECIONADAS DE RIZÓBIO

Dissertação apresentada à Universidade Federal
de Lavras como parte das exigências do Curso de
Mestrado em Agronomia, área de concentração
em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do
título de "Mestre".

Orientador

Profª. Fátima M. S. Moreira

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2002

CDD-631.64
-289.92

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Lacerda, Adão Macelino

Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Com
estirpes selecionadas de rizóbio / Adão Marcelino Lacerda. -- Lavras :
UFLA, 2002.

44 p. : il.

Orientador: Fátima M. S. Moreira.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Fixação biológica de nitrogênio. 2. Nitrogênio. 3. Caupi. 4. Simbiose.
5. Inoculação de sementes. 6. *Bradyrhizobium*. I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

CDD-631.64

-589.95

ADÃO MARCELINO LACERDA

NODULAÇÃO E PRODUTIVIDADE DE *Vigna unguiculata* (L.) Walp. POR
ESTIRPES SELECIONADAS DE RIZÓBIO

Dissertação apresentada à Universidade Federal
de Lavras como parte das exigências do Curso de
Mestrado em Agronomia, área de concentração
em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do
título de “Mestre”.

APROVADA em 19 de agosto de 2002

Prof. José Oswaldo Siqueira

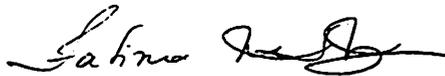
UFLA

Profa. Siu Mui Tsai

CENA/USP

Prof. Messias J. Bastos de Andrade

UFLA



Profª. Fátima M. S. Moreira

UFLA

(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

A Deus, que me permitiu mais uma realização,

OFEREÇO

**Aos meus pais, José Maria e Luzia; à minha esposa, Sandra
e nossa querida Marcelle, pelo amor,
incentivo e companheirismo.**

AGRADEÇO E DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Departamento de Ciência do Solo, pela oportunidade de realização do curso.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

À professora Fátima M. S. Moreira, pela orientação, dedicação, conhecimentos transmitidos e amizade.

Ao professor Messias José Bastos de Andrade, pela co-orientação e valioso subsídio no ensaio de campo.

Aos professores José O. Siqueira e Mui Siu Tsai, pelas contribuições ao trabalho.

A todos os funcionários do DCS, em especial ao Manoel, Marlene e Adriana, pelo auxílio prestados no decorrer do curso.

Aos meus amigos Júlio e Rafaela, Lamartine, Ricardo e Josiane, Silvânio, Sandro, Vandeir e Oscar pelos bons momentos.

Aos colegas microbiologistas Alexandre, Adriana, Juliano, André, José Geraldo, Henrique e Isabel.

Aos colegas do curso de pós graduação em Solos e Nutrição de Plantas, pela amizade e convivência.

Aos meus irmãos Cidinha, Marcelo, Silvio, Rose e Júlio, por acreditarem, darem apoio e incentivo durante minha formação.

Finalmente, a todos que, direta ou indiretamente, prestaram o seu apoio e incentivo para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Fixação biológica de nitrogênio em caupi.....	3
2.2 Fatores que afetam a fixação biológica de nitrogênio no feijão caupi	4
2.3 Seleção de isolados quanto à eficiência simbiótica.....	7
3. MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1 Primeiro ensaio em casa de vegetação	11
3.2 Segundo ensaio em casa de vegetação	15
3.3 Ensaio de campo	16
3.4 Análises estatísticas.....	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1 Primeiro ensaio em casa de vegetação	20
4.2 Segundo ensaio em casa de vegetação	25
4.3 Ensaio de campo	29
5. CONCLUSÕES.....	35
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

RESUMO

LACERDA, Adão Marcelino. **Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. por estirpes selecionadas de rizóbio.** Lavras: UFLA, 2002, 44p. (Dissertação-Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas)*

Com o objetivo de avaliar estirpes de rizóbios previamente selecionadas em condições axênicas, na simbiose com feijão caupi, três ensaios foram conduzidos: dois em casa de vegetação em vasos com solo e outro de campo no município de Perdões, MG. No primeiro ensaio, foram testadas sete estirpes selecionadas mais a estirpe BR2001, recomendada como inoculante para a cultura, em duas cultivares (BR14 Mulato e BR08 Caldeirão). No segundo ensaio, foram testadas quatro estirpes do primeiro ensaio mais uma quinta estirpe isolada de área de mineração de bauxita reabilitada com bracinga, na cultivar BR14. O ensaio de campo foi conduzido em um Argissolo Vermelho Amarelo, testando quatro estirpes selecionadas nos ensaios anteriores de casa de vegetação, sobre a cultivar BR14. Todos os ensaios contaram ainda com duas testemunhas, uma com adição de nitrogênio mineral e outra sem nitrogênio mineral e sem inoculação. A maioria das estirpes da Região da Amazônia foi mais eficiente que a estirpe BR2001. A inoculação com estirpes amazônicas contribuiu de forma significativa, de 23,7 a 31,2%, para aumento no rendimento de grãos pelo caupi, em relação às plantas não inoculadas e sem N mineral, podendo ser recomendadas para testes de eficiência agrônômica em outras regiões e posterior emprego na produção de inoculantes comerciais.

*Comitê Orientador: Fátima Maria de Souza Moreira - UFLA (orientadora) e Messias José Bastos de Andrade - UFLA (Co-orientador).

ABSTRACT

LACERDA, Adão Marcelino. **Yield and nodulation of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. inoculated with selected rhizobia strains**. Lavras: UFLA, 2002, 44p. (Dissertation – Master of Science in Soil and Plant Nutrition)

Aiming to evaluate rhizobia strains, previously selected under axenic conditions, in symbiosis with cowpea, three experiments were carried out: two at greenhouse (plastic pots with soil) and another one in field conditions at Municipality of Perdões-MG. At the first experiment seven strains were assayed along with strain BR2001, recommended as inoculant to cowpea, in two cultivars (BR14 Mulato and BR08 Caldeirão). The second experiment tested four strains, already tested in the first experiment and a fifth strain isolated from a bauxite mining area rehabilitated with *Mimosa scabrella*, in the cultivar BR14. Field experiment was conducted in an Argissolo Vermelho Amarelo with four strains, selected in the previous pot experiments, inoculating cultivar BR14. All assays comprised two controls, with and without mineral nitrogen, both without inoculation. Most strains isolated from Amazon region were more efficient than strain BR2001. Inoculation with amazonian strains contributed significantly to cowpea yields: from 23,7 to 31,2% in relation to control plants without mineral nitrogen addition. Thus, these strains can be recommended to agronomic efficiency tests in other regions and further to the production of commercial inoculants.

Guidance Committee: Fátima Maria de Souza Moreira - UFLA (Major Professor) and Messias José Bastos de Andrade - UFLA.

1 INTRODUÇÃO

O feijão caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] é nativo da África (Elhassan & Focht, 1986) e bastante cultivado nas regiões tropicais dos continentes africano, asiático e americano, constituindo a principal fonte de proteína, principalmente para populações de baixa renda. Seu cultivo predomina como agricultura de subsistência, caracterizada por baixo uso de tecnologia e por solos marginais deficientes em nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo, fatores que contribuem para baixa produtividade de grãos, que, no Brasil, situa-se em torno de 400 a 500 kg/ha (Freire Filho et al., 1998). A possibilidade da interação simbiótica desta espécie com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico, vulgarmente denominadas rizóbios, pode permitir o aumento de rendimento da cultura. Pode também facilitar seu manejo e diminuir o custo de produção, além de economizar combustíveis fósseis utilizados para a produção industrial de fertilizantes nitrogenados.

A seleção de estirpes que combinem habilidade na fixação de N₂, adaptação a condições edáficas e climáticas e alta competição por sítios de infecção nodulares é importante para a produção de inoculantes. No processo de seleção de estirpes é fundamental que se tenha variabilidade do microssimbionte para que se aumente a probabilidade de sucesso da simbiose hospedeiro-rizóbio. Assim, a grande diversidade, inclusive de leguminosas, encontrada nos vários sistemas de uso da terra (capoeira, pastagem tradicional, sistema agroflorestal, floresta e monocultura) na região da Amazônia, pode abrigar também uma grande variabilidade de rizóbios (Moreira et al., 1993; Pereira, 2000), adaptados a condições de baixos valores de pH e temperaturas elevadas (predominantes nos solos brasileiros), além de incluir estirpes de alta eficiência simbiótica. A maior parte de inoculantes produzidos e importados no Brasil são para a cultura da soja (cerca de 99%). O restante (1%) é destinado a outras espécies de

leguminosas, incluindo o caupi (Brasil..., 1999). A pequena produção de inoculante comercial para esta cultura é, muito provavelmente, devida ao caráter de subsistência e baixa tecnologia empregada na mesma. Esse fato evidencia a necessidade de difusão desta tecnologia de baixo custo entre os pequenos agricultores.

Este trabalho teve por objetivo selecionar, entre estirpes de rizóbio que mostraram boa eficiência em condições axênicas em vasos Leonard, aquelas eficientes em fixar nitrogênio quando em simbiose com caupi no solo em casa de vegetação e no campo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fixação biológica de nitrogênio em caupi

O uso de pouca tecnologia na maior parte dos cultivos de feijão no país, explica a baixa produtividade. Assim, a aplicação adequada de nutrientes, notadamente nitrogênio e fósforo, contribuiriam decisivamente para elevar o rendimento da cultura (Araújo, 1994). No caso do feijão caupi, por se tratar de uma leguminosa nodulífera, que obtém grande parte de suas necessidades de nitrogênio a partir da atmosfera pela fixação de N_2 , a elevação da produção iria depender da eficiência da simbiose. Oliveira e Dantas (1988) demonstraram que esta cultura depende do nitrogênio da semente e do solo, até 20 dias após a germinação. Após essa etapa, havendo condições para uma boa nodulação, a adubação mineral com nitrogênio pode ser dispensada, já que, a partir dos 25, dias toda a necessidade de nitrogênio da cultura é suprida pela fixação biológica, culminado com um pico na floração, dependendo do tipo de crescimento do cultivar, determinado ou indeterminado.

Ryle et al. (1979) constataram que os nódulos em caupi já são visíveis no eixo da raiz principal, no quarto dia após a emergência. Constataram ainda que a maioria dos nódulos desenvolve leghemoglobina a partir do décimo primeiro dia após o aparecimento das folhas primárias, quando, então, estão aptas a fixar o nitrogênio atmosférico. Senanayake et al. (1987), procurando obter estirpes de elevada eficiência simbiótica na cultura do caupi, observaram que inicialmente o peso fresco de nódulos aumentou com a idade da planta e se estabilizou em 20 a 30 dias após o plantio, coincidindo com o pico da FBN.

Nos solos tropicais, onde existe uma população nativa de rizóbios, o caupi pode estabelecer simbiose espontânea quando cultivado. No entanto, pode responder à inoculação em áreas recém desmatadas (Martinazzo, 1989). Apesar

de se tratar de uma leguminosa promíscua, ou seja, capaz de estabelecer infecção e formação de nódulos com vários gêneros de rizóbio (Lewin et al., 1987), a estirpe atualmente recomendada como inoculante para o caupi, é a BR 2001. Essa estirpe pertence ao gênero *Bradyrhizobium* e foi isolada na EMBRAPA Agrobiologia em 1967, a partir de nódulos trazidos da Libéria, na África. Ela apresenta como características morfológicas no meio YMA: crescimento lento, reação alcalina ao meio de cultivo, pouco muco e colônias puntiformes, típicas do gênero *Bradyrhizobium*.

Muitos estudos têm sido feitos no intuito de estabelecer a contribuição da FBN no caupi. Awonaike et al. (1990) e Giller e Wilson (1991) mencionam uma fixação de nitrogênio pelo caupi de 66 a 120 kg N ha⁻¹. Contudo, dados da FAO (1987) estimam que, em condições de campo, a fixação de nitrogênio pelo feijão caupi pode ser da ordem 73 a 354 kg N ha⁻¹ e que este grande intervalo pode variar com o cultivar, eficiência da estirpe utilizada, condições de solo e de clima e metodologia usada na determinação da fixação.

Experimentos realizados por Huxley (1980) possibilitaram estimar, pelo método de diluição isotópica, que cerca de 88% do nitrogênio total da semente do caupi é conseguido pela fixação biológica. Além disso cerca de 40 a 50% do nitrogênio armazenado na estruturas vegetais foram translocados para a semente durante seu desenvolvimento. Já Eaglesham et al. (1977), cultivando caupi cultivar K2809 em casa de vegetação, estimaram que a fixação biológica supriu mais de 80% do nitrogênio total da planta durante seu crescimento e contribuiu significativamente para o nitrogênio das vagens.

2.2 Fatores que afetam a fixação biológica de nitrogênio no feijão caupi

A fixação biológica de nitrogênio é fundamental para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas nos solos tropicais, freqüentemente deficientes em

nitrogênio. Porém, uma série de fatores pode afetar a simbiose sendo que, na maioria dos casos, o efeito é mais drástico no microssimbionte, ou seja, nas bactérias, do que nas plantas hospedeiras (Hungria e Vargas, 2000). Grande atenção tem sido dada a estas causas da baixa eficiência simbiótica na cultura do caupi, buscando estirpes e cultivares que assegurem uma perfeita combinação para superar principalmente os fatores edafoclimáticos, desfavoráveis à fixação biológica do nitrogênio. De acordo com Martinazzo (1989), temperaturas elevadas, como 37 e 40°C, provocam, respectivamente, reduções de 50 a 78% no acúmulo de N pelo caupi em ambiente controlado, quando comparado à temperatura ambiente. O autor também observou que alguns isolados da Amazônia se destacaram pela menor redução no acúmulo de N em altas temperaturas, demonstrando estarem mais adaptados a este estresse.

O genótipo do hospedeiro é considerado como fator capaz de responder diferencialmente à inoculação por rizóbios. Minchin et al. (1978), estudando a eficiência simbiótica de quatro cultivares de caupi, de porte semi-ereto com estirpes de rizóbios, observaram diferenças significativas entre e dentro das cultivares e nenhuma estirpe foi claramente superior para todas as cultivares testados, sendo que os isolados de solos tropicais tenham-se mostrados superiores às estirpes exóticas quanto à produção de sementes. No caso do feijão comum, estudos com estirpes de *Rhizobium tropici* e *Rhizobium leguminosarum* *bv. phaseoli* têm apontado maior estabilidade de estirpes de *Rhizobium tropici* com relação a temperaturas mais elevadas, sem que ocorram mudanças de características genéticas (Pinto et al., 1998). Este problema é mais pronunciado no início da cultura, quando o solo ainda encontra-se descoberto, afetando o estágio mais sensível, que é o da infecção das raízes pelo rizóbio (Hungria et al., 1997).

A acidez do solo tem sido considerada como um dos principais fatores limitantes à fixação biológica de nitrogênio, afetando o rizóbio, a planta e o

processo simbiótico, desde a sobrevivência e multiplicação do rizóbio no solo até a infecção e eficiência de fixação do nitrogênio. O problema é particularmente importante, tendo em vista a existência de extensas áreas de solos tropicais com pH menor que 5,5. Nesses casos, uma das práticas agrícolas com elevado impacto positivo no potencial de nodulação e fixação de nitrogênio é a correção do solo por meio da calagem que, além de elevar o pH, aumenta a disponibilidade de fósforo (Cassini & Franco, 1998) e também de molibdênio, um constituinte da enzima nitrogenase. Martinazzo (1989), tentando selecionar estirpes de elevada eficiência simbiótica em solos ácidos, em vasos, mostrou que a calagem aumentou o peso da parte aérea, o peso de raiz e o N-total de grãos do caupi. No caso do número de nódulos, esse aumento foi da ordem de até 120%, sendo que isolados da Amazônia foram os que melhor se estabeleceram nesses solos.

Teor elevado de nitrogênio mineral no solo é tido como inibidor da FBN, mas, uma dose de arranque em solos altamente deficientes em N tem mostrado efeito benéfico. Resultados obtidos por Fullin (1999) com feijoeiro comum sugerem que, em solos com alta população nativa de rizóbio, a aplicação de nitrogênio mineral (0 a 10 kg N.ha⁻¹ no plantio e 0 a 40 kg N.ha⁻¹ em cobertura) e/ou molibdênio (0 a 20 g de Mo.ha⁻¹ na semente peletizada e 0 a 20 g Mo.ha⁻¹ foliar) não afetou o número de nódulos, peso da matéria seca de nódulos e acúmulo de nitrogênio na planta em floração. Contudo, Graham e Scott (1984), estudando os efeitos de doses de nitrogênio (0, 30, 60, 90, e 120 kg.ha⁻¹) em feijão caupi, verificaram que a adubação proporcionou aumento da produção de vagens reduzindo, porém, a nodulação. Semelhantemente, Agbenin et al. (1991) verificaram que o feijão caupi cultivar Sampea 7 respondeu positivamente à aplicação de até 30 kg de N.ha⁻¹. Por outro lado, Summerfield et al. (1977) estimaram que 25 kg.ha⁻¹ de nitrogênio aplicados durante o enchimento de vagens de caupi, em casa de vegetação, seriam suficientes para causar a

senescência dos nódulos em cinco dias. Dart e Wildon (1970), trabalhando com caupi, mostraram que diferentes fontes de nitrogênio resultaram em diferentes decréscimos na nodulação com incrementos nas doses de N, na seguinte ordem: nitrato de potássio < uréia < nitrato de amônio < sulfato de amônio. Para Senanayake et al. (1987), a inibição da fixação na cultura do caupi deve ser determinada por parâmetros como época de aplicação do nitrogênio, cultivar e estirpe de rizóbio usada na inoculação.

2.3 Seleção de isolados quanto à eficiência simbiótica

A procura por organismos eficientes, capazes de fornecer ou disponibilizar às plantas os nutrientes necessários ao seu desenvolvimento, é um passo importante que antecede a sua introdução como inoculantes para uma determinada cultura (Ferreira et al., 1998). Martinazzo (1989), Lacerda & Moreira (2000), Zilli et al. (2001), Martins et al (1997) e Motta (2002), mostraram a existência de estirpes de melhor eficiência simbiótica quando comparada a estirpe recomendada pela RELARE (BR2001) para inoculação do caupi. Dessa forma, torna-se necessária a seleção de estirpes com alta eficiência simbiótica em campo, que possam competir com as populações nativas, garantindo, assim, aumento no rendimento da cultura com a possível substituição da estirpe recomendada.

A seleção de estirpes eficientes para maximizar a fixação de nitrogênio em espécies vegetais de importância econômica tem sido um dos principais alvos da pesquisa. Além da eficiência, estas estirpes devem apresentar também outras características, como boa competição por sítios de infecção em relação às estirpes nativas e boa sobrevivência e adaptação às condições edafoclimáticas.

O processo de seleção de estirpes para determinada espécie vegetal envolve, de modo geral, quatro estádios. O primeiro ocorre em câmara de

crescimento (condições ótimas e controladas de temperatura, umidade e luminosidade), onde é testada a capacidade de nodular e fixar nitrogênio de um elevado número de estirpes, separadamente em tubos ou sacos plásticos com solução nutritiva livre de nitrogênio mineral, com ou sem ágar, em condições estéreis. Nestas condições, como todos os fatores ambientais são ótimos e, principalmente devido à ausência de competidores por sítios de infecção, o microssimbionte pode expressar seu potencial de nodular e fixar nitrogênio. No segundo estágio, estirpes selecionadas no primeiro são testadas em mistura de areia e vermiculita esterilizadas e solução nutritiva livre de nitrogênio mineral, geralmente em vasos de Leonard, em casa de vegetação. Nesse estágio, as condições ambientais já não são tão ideais para FBN como no anterior, aumentando a pressão de seleção dos isolados. Porém, como os vasos são maiores, o potencial de FBN será mais expressado. Nos estádios seguintes, as estirpes selecionadas no segundo estágio são testadas em vasos com solo em casa de vegetação e, posteriormente, no campo. Nestes dois últimos estádios, as condições de cultivo não são estéreis e os isolados são, portanto, submetidos à competição com rizóbios nativos, além de outras adversidades do ambiente. Estirpes que não tenham boa performance quanto à capacidade de fixar nitrogênio atmosférico nos estádios iniciais de seleção são eliminadas, pois, se não forem capazes de estabelecer simbiose eficiente em condições nutricionais e ambientais ótimas, também não o farão nas condições mais estressantes do solo (Moreira & Siqueira, 2002).

Danso e Owiredo (1988), determinaram a habilidade relativa de três estirpes na formação de nódulos em caupi, competindo mutualmente e com populações nativas de *Bradyrhizobium*. Esses autores observaram que a adição de cerca 10^5 células.g⁻¹ de solo de cada estirpe ou suas combinações aumentou o número de nódulos, N total e peso seco da parte aérea nos três solos estudados,

em comparação à testemunha não inoculada e que esta resposta foi influenciada pelos tipos de solo.

Resultados de pesquisa evidenciam a importância da continuidade dos trabalhos de seleção de estirpes com maior eficiência fixadora de nitrogênio. Enfatizam também a importância da avaliação da resposta das diferentes cultivares de feijão, à inoculação e adubação nitrogenada, antes do seu lançamento para utilização pelos agricultores, principalmente quando o potencial de fixação de N_2 não é considerado ao longo do processo de melhoramento da espécie vegetal. Também é de grande importância, no processo de seleção, que se utilize a estirpe comercial recomendada como inoculante para cultura para avaliar o ganho da FBN da nova estirpe selecionada em relação a esta.

Martins et al. (1997), avaliaram a eficiência simbiótica de rizóbios isolados no nordeste brasileiro, em vasos. Encontraram alguns grupos que mostraram efetividade de fixação de nitrogênio mais alta quando comparados com a estirpe BR2001 de *Bradyrhizobium* spp., usada como inoculante comercial para caupi no Brasil. Fening e Danso (2002), avaliando a eficiência simbiótica de 100 isolados de solo do Gana na África, constataram que 6% da população nativa de rizóbios apresentaram alta eficiência simbiótica. Alguns deles eram capazes de serem comparados com a estirpe TAL 169 de *Bradyrhizobium* e testemunha com 70kg de $N.ha^{-1}$.

Apesar do caupi ser uma cultura de grande expressão no nordeste brasileiro e ser beneficiada pela FBN, a produção de inoculante comercial adequado ainda é muito pequena, muito provavelmente devido ao caráter de subsistência e baixa tecnologia. Quase a totalidade do inoculante produzido e importado no Brasil diz respeito à cultura da soja (cerca de 99%) restando apenas 1% para outras espécies leguminosas, inclusive o caupi (Brasil..., 1999). Isso evidencia a necessidade de difusão desta tecnologia de baixo custo entre os pequenos agricultores.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos três ensaios: dois em casa de vegetação e outro em campo. Algumas características agronômicas e botânicas das cultivares de caupi utilizadas nos ensaios encontram-se na Tabela 1. Segundo Cardoso et al. (1990), a cultivar BR14 Mulato é ainda portadora de imunidade ao vírus do mosaico severo do caupi, do grupo Comovirus, e altamente resistente ao vírus do grupo Potyvirus e a sarna (*Sphaceloma* sp.) (Cardoso et al.,1990). As sementes foram fornecidas pelo Centro Nacional de Pesquisa Agropecuária do Meio Norte (CNPAMN) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), localizado em Teresina-PI.

TABELA 1. Características agronômicas e botânicas das cultivares de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) utilizadas nos ensaios.

Caráter	Característica	
	BR14 Mulato	BR08 Caldeirão
Hábito de crescimento	Indeterminado	Indeterminado
Tipo de porte	Enramador	Enramador
Floração média (DAE)*	45 a 55	45-50
Comprimento médio de vagem (cm)	20	20
Número médio de semente por vagem	17	17
Cor das sementes	Marrom	Marrom
Peso de 100 sementes (g)	16	17
Ciclo (dias)	65 a 75	65-70

*DAE: dias após emergência

Fonte: Cardoso et al. (1990)

A origem e identificação dos rizóbios e suas características culturais encontram-se na Tabela 2. A maioria apresenta características culturais típicas do gênero *Bradyrhizobium* (crescimento lento e alcalinização do meio).

TABELA 2. Origem e características culturais das estirpes de rizóbios usadas nos ensaios.

Identificação	Origem/Estado	Características culturais em placa				
		ACI ¹	D ²	pH ³	A I ⁴	COR
UFLA03-128	Pastagem/ AC	8	1-2	Alcalino	Não	Amarela
UFLA03-39	Capoeira/RO	5	1-2	Alcalino	Não	Branca
UFLA03-25	Monocultura/RO	5	1-2	Alcalino	Não	Branca
UFLA03-35	Capoeira/RO	5	1-2	Alcalino	Não	Branca
UFLA03-129	Pastagem/ AC	7	1-2	Neutro	Não	Amarela
UFLA03-36	Capoeira/RO	4	1-2	Neutro	Não	Branca
UFLA03-84	Pastagem/RO	6	1-2	Alcalino	Não	Branca
UFLA03-170	Mineração/MG ⁵	10	2	Alcalino	Sim	Branca
INPA03-11B	Terra firme/AM	7	1	Alcalino	Não	Branca
BR 2001	Libéria/África	8	1-2	Alcalino	Não	Branca

¹tempo em dias para aparecimento de colônias isoladas, ²diâmetro da colônia, ³reação do meio de cultivo após crescimento de colônias, ⁴absorção de indicador do meio de cultivo e ⁵área reabilitada com bracatinga após mineração de bauxita na ALCOA (Poços de Caldas, MG).

3.1 Primeiro ensaio em casa de vegetação

O experimento foi conduzido em novembro/dezembro de 2001. Foram utilizados vasos plásticos com capacidade de 1,5 dm³, no Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras. Utilizou-se um Latossolo

Vermelho Amarelo distrófico típico (Embrapa, 2000), coletado no município de Itumirim, MG (Tabela 3).

TABELA 3. Resultados da análise química de amostra do solo (anterior à adubação e correção da acidez) utilizado no primeiro ensaio de casa de vegetação.

Característica	Unidades	Valores
pH em H ₂ O (1:2,5)		5,5 AcM
P (Fósforo Mehlich I)	mg.dm ⁻³	1,0 Mba
K (Potássio Mehlich I)	mg.dm ⁻³	8,0 Mba
Ca	cmol _c .dm ⁻³	0,4 Mba
Mg	cmol _c .dm ⁻³	0,1 Mba
Al	cmol _c .dm ⁻³	0,2 Mba
H + Al	cmol _c .dm ⁻³	2,3 Ba
S.B.	cmol _c .dm ⁻³	0,5 Mba
t	cmol _c .dm ⁻³	0,7 Mba
T	cmol _c .dm ⁻³	2,8 Ba
m	%	27,8 Ba
V	%	18,5 Mba
Matéria orgânica	Dag.kg ⁻¹	0,4 Mba

Análises realizadas pelos Laboratórios do Departamento de Ciência do Solo da UFLA e interpretação de acordo com Ribeiro, Guimarães e Alvarez V. (1999). AcM=acidez média, Ba=teor baixo, Mba=teor muito baixo.

O solo foi coletado na camada arável (0 a 20 cm), seco ao ar, destorroado, homogeneizado e passado em peneira de 4 mm de abertura. O cálculo da calagem foi realizado segundo método de elevação da saturação por bases (Raij, 1981), de modo a elevar a saturação por base para 60% ($V_2=60\%$).

O ensaio foi montado em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições em esquema fatorial 10x2, envolvendo dez formas de fornecimento de nitrogênio e duas cultivares de caupi. As dez formas de fornecimento de nitrogênio foram representadas pela inoculação com sete isolados de rizóbio da Amazônia (UFLA03-128, UFLA03-129, UFLA03-36, UFLA03-25, UFLA03-39, UFLA03-35 e INPA03-11B) e com a estirpe BR2001 (Tabela 2), mais duas testemunhas, uma com adição de nitrogênio mineral (300 mg de $N-NH_4NO_3 \cdot vaso^{-1}$) e outra sem nitrogênio mineral e sem inoculação. A estirpe BR 2001 foi usada como estirpe referência, por ser recomendada pela Reunião da Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbiológicos de Interesse Agrícola (RELARE) para inoculação do caupi. As sete estirpes foram obtidas de diferentes ecossistemas, ou seja, diferentes sistemas de uso da terra da região Amazônica e já haviam sido previamente selecionadas quanto a FBN em vasos Leonard (Lacerda & Moreira, 2000). As cultivares foram o BR14 Mulato e BR08 Caldeirão (Tabela1).

Antes da semeadura (cinco sementes por vaso), as sementes sofreram desinfestação superficial com etanol 95% por 5 minutos e hipoclorito de sódio 1% por 3 minutos e foram posteriormente lavadas com água destilada esterilizada por seis vezes. Em seguida, foi feita a inoculação das sementes com rizóbios crescidos em meio YMA (Vincent, 1970) semi-sólido, por cinco dias a 28°C, contendo cerca 1×10^8 células por ml, na base de 1 ml de inoculante por vaso. Cinco dias após a emergência fez-se o desbaste, deixando uma planta por vaso até plena floração, quando, então, foi colhida para avaliação. A adição de nitrogênio da testemunha com nitrogênio mineral foi parcelada em duas parcelas de 135 mg de $N \cdot vaso^{-1}$, uma no plantio e outra 15 após a emergência, completando os 300mg $N \cdot vasos^{-1}$. A todos os tratamentos foram adicionados macro e micronutrientes, conforme Tabela 4.

TABELA 4. Quantidade de macro e micronutrientes adicionados por vaso de 1,5 dm³.

Nutrientes	mg.vaso ⁻¹	Fonte
Zinco	7,5	ZnSO ₄ .7H ₂ O
Ferro	6,0	Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ .6H ₂ O
Manganês	5,25	MnSO ₄ .H ₂ O
Cobre	2,25	CuSO ₄ .5 H ₂ O
Boro	1,2	H ₃ BO ₃
Molibdênio	0,225	NH ₄ Mo ₇ O ₂₄ .4 H ₂ O
Fósforo	300,0	Super Triplo e KH ₂ PO ₄
Potássio	150,0	K ₂ SO ₄ e KH ₂ PO ₄
Enxofre	60,0	K ₂ SO ₄ e (NH ₄) ₂ SO ₄
	30,0 para todos vasos	(NH ₄) ₂ SO ₄
Nitrogênio	mais 270 para testemunha com N	NH ₄ NO ₃

Na floração, foram determinados a matéria seca parte aérea (MSPA), a eficiência relativa (Efr) de cada isolado, número (NN) e matéria seca de nódulos (MSN).

Após o destacamento manual dos nódulos nas raízes, foi feita a contagem. Posteriormente foram acondicionados em sacos de papel e levados junto a parte aérea, para estufa de ar forçado (65 a 70°C) até peso constante, para determinação do peso da matéria seca. A eficiência relativa de cada tratamento foi calculada segundo a fórmula (Bergensen et al., 1971):

$$Efr = \frac{\text{peso matéria seca planta inoculada}}{\text{peso matéria seca planta com N}} \times 100$$

3.2 Segundo ensaio de casa de vegetação

O ensaio foi conduzido no Departamento de Ciência do Solo da UFLA, no período de abril a junho de 2002. Utilizou-se a cultivar BR14 Mulato (Tabela 1) em vasos de 1,5dm³ (Figura 1), utilizando um Argissolo Vermelho Amarelo distrófico típico (Embrapa, 2000), o qual foi coletado na camada arável (0 a 20 cm) no município de Perdões, MG (Tabela 5).



FIGURA 1. Visão geral do segundo ensaio de Casa de Vegetação.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições e sete tratamentos. Os tratamentos foram constituídos por cinco estirpes de rizóbios da coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo do DCS-UFLA, (INPA0311B, UFLA03-129, UFLA03-84, UFLA03-36 e UFLA03-170, conforme Tabela 2, mais duas testemunhas. A primeira sem

inoculação e com N mineral (300mg/vaso) e a segunda sem N e sem inoculação. A estirpe UFLA03-170 foi obtida de área reabilitada com bracatinga após a mineração da bauxita e mostrou alta eficiência simbiótica sendo superior a BR 2001 em vasos de Leonard (Motta, 2002).

Os demais detalhes sobre instalação, condução e avaliação foram os mesmos do primeiro ensaio.

3.3 Ensaio de campo

O ensaio foi conduzido em área experimental do Município de Perdões, Minas Gerais, entre dezembro de 2001 a fevereiro de 2002, em um Argissolo Vermelho Amarelo distrófico típico (Embrapa, 2000) da Fazenda Escola Vito Crincoli. As características químicas deste solo encontram-se descritas na Tabela 5.

TABELA 5. Resultados das análises químicas de amostra (0 a 20 cm de profundidade) antes da adubação do solo utilizado no segundo ensaio de casa de vegetação e no ensaio de campo.

Característica	Unidade	Valores
pH em H ₂ O (1:2,5)		5,9 AcM
P (Fósforo Mehlich I)	mg.dm ⁻³	42,3 Bo
K (Potássio Mehlich I)	mg.dm ⁻³	105,0 Bo
Ca	cmol _c .dm ⁻³	4,6 Mbo
Mg	cmol _c .dm ⁻³	1,1 Bo
Al	cmol _c .dm ⁻³	0,6 M
H + Al	cmol _c .dm ⁻³	2,1 Ba
S.B.	cmol _c .dm ⁻³	6,0 Bo
t	cmol _c .dm ⁻³	6,6 Bo
T	cmol _c .dm ⁻³	8,1 M
m	%	9,0 Mba
V	%	74 Bo
Matéria Orgânica	Dag.kg ⁻¹	1,8 Ba

Análises realizadas pelos Laboratórios do Departamento de Ciência do Solo da UFLA e interpretação de acordo com Ribeiro, Guimarães e Alvarez V. (1999). AcM=acidez média, Bo=teor bom, M=teor médio, Ba=teor baixo, Mba=teor muito baixo e Mbo=teor muito bom.

Utilizou-se a cultivar BR14 Mulato de espécie *Vigna unguiculata* (L.)Walp.), conforme Tabela 1.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com quatro repetições e seis tratamentos (quatro estirpes selecionadas em ensaios anteriores de casa de vegetação (UFLA03-84, UFLA03-36, UFLA03-129 e

INPA0311B) mais duas testemunhas, uma nitrogenada (70 kg de N.ha⁻¹, usando uréia como fonte) e outra sem inoculação e sem nitrogênio mineral.

Os inóculos foram feitos a partir de estirpes de diferentes sistemas de uso da terra da região amazônica, que mostraram boa eficiência quanto a FBN em vasos Leonard, segundo Lacerda e Moreira (2000), além da estirpe INPA0311B também isolada da Amazônia (Tabela 2) e eficiente para caupi (Magalhães, 1984) e soja (Miguel & Moreira, 2001).

O solo foi preparado com uma aração e uma gradagem. A demarcação e sulcamento manual foram feitos antes da semeadura, e esta realizada após a inoculação de rizóbios em turfa, numa densidade de 10 sementes por metro de sulco.

O inoculante foi preparado com turfa esterilizada em autoclave, na proporção de 3:1 de turfa e culturas em meio YMA semi-sólido na fase log (após 5 dias de crescimento), inoculando-se 500g do inoculante para cada 20kg de sementes. Todos os tratamentos, inclusive as testemunhas, receberam adubações fosfatada e potássica à base de 70 kg.ha⁻¹ de P₂O₅ e 40 kg.ha⁻¹ de K₂O, usando como fontes o superfosfato simples e cloreto de potássio, respectivamente, incorporados a 6 cm de profundidade. Além desta adubação, a testemunha nitrogenada recebeu 70 kg de N.ha⁻¹, parcelada em duas vezes, sendo 35 kg de N.ha⁻¹ no plantio e 35 kg de N.ha⁻¹, 20 dias após a emergência.

Foi adotado o espaçamento de 1,0 m entre fileiras e a densidade de 10 sementes por metro. As parcelas foram constituídas por quatro linhas de 5m de comprimento, totalizando 20 m² de área total e 10m² de área útil (as duas linhas centrais).

Durante a condução do ensaio não ocorreu ataque de pragas e também nenhuma doença foi observada. O ensaio foi mantido livre de invasoras por meio de capinas manuais.

Por ocasião do florescimento foram coletadas cinco plantas de cada parcela, nas duas linhas centrais, para avaliação da nodulação (contagem e matéria seca) e parte aérea (matéria seca, teor e acúmulo de N e eficiência relativa), com os mesmos procedimentos já descritos para estas determinações. Na colheita foram avaliados o rendimento de grãos e teor de nitrogênio nos grãos. O nitrogênio total foi calculado pelo método semi-microkjedahl, de acordo com Sarruge & Haag (1979), determinando-se a percentagem de N na matéria seca da parte aérea e nos grãos. O N acumulado na parte aérea foi calculado multiplicando-se o peso da matéria seca (g) da parte aérea pela percentagem de N, dividindo por 100.

3.4 Análises estatísticas

Todos os dados (três ensaios) foram submetidos à análise de variância empregando-se o sistema de análise estatística **SISVAR**, versão 3.01 (Ferreira, 2000). Os efeitos dos tratamentos foram comparados pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Primeiro ensaio de casa de vegetação

Um resumo da análise de variância (soma de quadrados) encontra-se na Tabela 6. Observa-se que houve significância dos efeitos principais (exceto de cultivar sobre a eficiência relativa e matéria seca de nódulos) e da interação cultivar x formas de fornecimento de N sobre a MSPA. Os coeficientes de variação deste ensaio estão entre aqueles encontrados por Raposo (1989) e Melotto (1993), indicando, portanto, boa precisão do ensaio.

TABELA 6. Resumo da análise de variância (quadrados médios) dos dados relacionados à MSPA, eficiência relativa (Efr) e nodulação. Primeiro ensaio de casa de vegetação.

Fonte de variação	GL	Quadrados médios			
		Nnodulos	MSN	MSPA	Efr
cultivar	1	5200,31 **	0,0012	22,22 **	88,11
fornecimento de N	9	3004,61 **	0,0581 **	7,26 **	7250,48 *
cultivar*fornec. N	9	1178,92	0,0046	1,63 *	2623,92
erro	60	625,28	0,0080	0,82	18904,20
CV %		28,23	20,26	12,62	21,18

* significativo, pelo teste de F a 5% de significância

** significativo pelo teste de F a 1% de significância

Na Tabela 7, um resumo da análise de variância (quadrados médios) mostra o desdobramento da interação cultivar x formas de fornecimento de N. Observa-se, que dentro de cinco das dez formas de fornecimento de N, houve comportamento diferente para os cultivares quanto à produção de MSPA. Da mesma forma, houve significância da forma de fornecimento de N dentro de cultivares.

TABELA 7. Resumo da análise de variância (quadrados médios) da interação formas de fornecimento de N x cultivar. Primeiro ensaio de casa de vegetação.

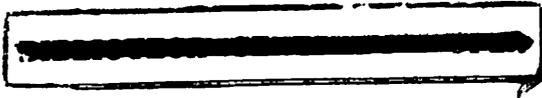
Fonte de variação	GL	QM
Cultivar x 0311 B	1	0,762
Cultivar x BR2001	1	6,160 **
Cultivar x UFLA 03-128	1	6,975 **
Cultivar x UFLA 03-129	1	5,395 *
Cultivar x UFLA 03-25	1	0,332
Cultivar x UFLA 03-35	1	4,234 *
Cultivar x UFLA 03-36	1	0,165
Cultivar x UFLA 03-39	1	1,834
Cultivar x Test. c/ N	1	0,480
Cultivar x Test. s/ N	1	10,534**
Fonte de N x Caldeirão	9	2,999 **
Fonte de N x Mulato	9	5,884 **
Resíduo	60	0,829

* significativo pelo teste de F a 5% de significância

** significativo pelo teste de F a 1% de significância

Apesar da cultivar BR08 Caldeirão ter estabelecido maior número de nódulos por planta, a cultivar BR14 apresentou grande número de nódulos (Tabela 9). Os valores de número e peso de nódulos estão entre aqueles encontrados para outras variedades cultivadas em casa de vegetação, num solo que também apresentava textura média (Coelho e Nascimento, 1999). Contudo, foram superiores aos encontrados por Stamford et al. (1990) em solo aluvial argiloso e podzólico arenoso.

Quanto às formas de fornecimento de N, a estirpe INPA0311B se destacou, por produzir maior número de nódulos e maior MSN (Tabela 3). Na testemunha com N, a dose de 300mg N-NH₄NO₃/vaso foi suficiente para mostrar o efeito inibidor do N mineral sobre o número de nódulos, reduzindo para 67% em relação à testemunha sem N. As estirpes UFLA03-25 e UFLA03-36 apresentaram NN e MSN intermediários, enquanto a UFLA03-129 e



UFLA03-39 não tiveram o mesmo comportamento, pois, apesar de terem produzido NN intermediário, tiveram os menores pesos de MSN, semelhantes às testemunhas. A estirpe UFLA03-35 teve o menor NN. O número elevado de nódulos da testemunha sem N mostra que o solo possuía uma população nativa de rizóbios significativa, capaz de nodular o caupi.

A cultivar, a forma de fornecimento de N e a interação influenciaram a MSPA. As estirpes UFLA03-35, UFLA03-36 e UFLA03-129 foram as mais eficientes para o cultivar BR08 Caldeirão, não diferindo da testemunha que recebeu N mineral. Na cultivar BR14 Mulato, a estirpe UFLA03-36 foi superior a todos os tratamentos inoculados, não diferindo da testemunha com N e mostrando maior compatibilidade com esta cultivar. Na ausência de inoculação e adubação nitrogenada, a cultivar BR08 Caldeirão produziu cerca de 84% de MSPA do melhor tratamento de inoculação (UFLA03-129), enquanto a cultivar BR14 Mulato produziu 63% em relação ao melhor tratamento inoculado (UFLA03-36). Isto indica que a nodulação espontânea com rizóbios nativos da cultivar BR08 resulta em maior eficiência da FBN, o que também é corroborado pelo fato das cultivares não diferirem quanto ao peso de MSPA com a adição de nitrogênio mineral.

O isolado INPA 0311B, que se destacou quanto ao número e MSN, não teve o mesmo comportamento para MSPA, equiparando-se à testemunha sem N, no caso da cultivar BR08 Caldeirão, mostrando-se intermediário na BR14 Mulato (Tabela 8). A estirpe BR2001, usada como referência, foi ineficiente nas duas cultivares avaliadas, não diferindo da testemunha sem N. Resultados semelhantes foram encontrados por Pereira (2000) e Motta (2002) em vasos Leonard. No campo, Zilli et al. (2001) encontraram cinco isolados superiores à BR2001 quanto à ocupação nodular em área de cerrado do meio norte do país. Entretanto, não foram mencionados dados de MSPA e nem de rendimento de grãos. As estirpes que apresentaram comportamento diferenciado em relação às

cultivares foram a BR2001, UFLA03-128, UFLA03-35 e UFLA 03-129. Destas, apenas as duas últimas apresentaram maior produção de MSPA no cultivar BR08. Quanto à Efr, as estirpes UFLA 03-25, UFLA 03-35, UFLA 03-129, UFLA 03-36 compararam-se à testemunha com N, produzindo de 86,1 a 95,5% da MSPA em relação a esta (Tabela 8).

TABELA 8. Número (NN) e matéria seca de nódulos (MSN), matéria seca da parte aérea (MSPA) e eficiência relativa (Efr) dos tratamentos. Primeiro ensaio em casa de vegetação.

Formas de fornecimento de N	NN por planta	MSN mg.planta ⁻¹	BR08Caldeirão		BR14 Mulato		Efr %
			MSPA g.planta ⁻¹		MSPA g.planta ⁻¹		
BR 2001	89,0 b	374 c	6,73 bA		4,97 cB		68,1 b
Test. s/ N	84,8 b	394 c	7,27 bA		4,98 cB		72,8 b
UFLA 03-128	95,3 b	373 c	7,70 bA		5,83 cB		78,7 b
INPA 0311-B	127,2 a	628 a	6,48 bA		7,10 bA		78,0 b
UFLA 03-39	82,5 b	369 c	7,37 bA		6,41 bA		80,2 b
UFLA 03-25	98,5 b	493 b	7,51 bA		7,10 bA		86,0 a
UFLA 03-35	64,5 c	463 c	8,18 aA		6,73 bB		87,5 a
UFLA 03-129	93,6 b	418 c	8,63 aA		6,98 bB		91,1 a
UFLA 03-36	94,1 b	525 b	8,19 aA		7,90 aA		95,4 a
Test. c/ N 300mg/vaso	56,1 c	385 c	9,34 aA		8,85 aA		100,0 a

Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

TABELA 9. Número de nódulos (NN) e matéria seca (MSN) nas duas cultivares avaliadas. Primeiro ensaio de casa de vegetação.

Cultivar	NN por planta	MSN g.planta ⁻¹
BR 14 Mulato	80,5 b	0,446
BR 08Caldeirão	96,7 a	0,438

Médias seguidas por diferentes letras na colunas diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

4.2 Segundo ensaio de casa de vegetação

Um resumo da análise de variância (soma de quadrados médios) encontra-se na Tabela 10. Pode-se observar que todas as características avaliadas foram significativamente influenciadas pelos tratamentos e que este ensaio teve uma boa precisão, apresentando mais baixos coeficientes de variação, quando comparado com trabalho realizado por Raposo (1989) e Melotto (1993) em vasos de Leonard.

TABELA 10. Resumo da análise de variância (quadrados médios) dos dados relacionados a MSPA, NNódulos, MSN e eficiência relativa. Segundo ensaio de casa de vegetação.

Fonte de variação	GL	Quadrados médios			
		NNódulos	MSN	MSPA	Efr
Tratamentos	6	54395,9 **	0,1393 **	4,143 **	528,8 **
erro	21	18420,8	0,0079	0,414	84,1
CV %		34,8	21,03	9,79	12,02

** significativo, pelo teste de F, a 1% de significância

Neste ensaio nenhuma estirpe se destacou em estabelecer maior número de nódulos. Elas mostraram-se semelhantes entre si e superiores às testemunhas com e sem N mineral (Tabela 11). Com relação à matéria seca de nódulos, a

testemunha sem N, apesar de não ter produzido elevado número de nódulos, não diferiu dos tratamentos inoculados e todos os tratamentos foram superiores ao tratamento com N mineral (Tabela 11). Neste solo, a população nativa indicada pelo número de nódulos na testemunha sem N foi menor que a do solo do experimento anterior (33,8 contra 84,9 nódulos por planta). Porém, aparentemente, tiveram eficiência semelhante, já que se mostraram equivalentes quanto ao peso seco de nódulos (394 contra 385 mg.planta⁻¹) e MSPA (5,6 e 4,9 g.planta⁻¹).

Quanto ao número de nódulos, a dose de 300 mg/vaso causou maior inibição da nodulação que a ocorrida no solo do experimento anterior, reduzindo para 36% os nódulos da testemunha com N em relação à testemunha sem N (Tabela 11). Isto deve ter ocorrido em virtude do maior conteúdo de matéria orgânica do solo deste ensaio que o anterior (1,8 contra 0,4 dag.kg⁻¹), incrementando o efeito inibitório. Este fato também foi observado em outro experimento de campo, em que a cultivar BR14 não nodulou em solo com teor de matéria orgânica em torno de 3,5 dag.kg⁻¹ (Lacerda et al., dados não publicados).

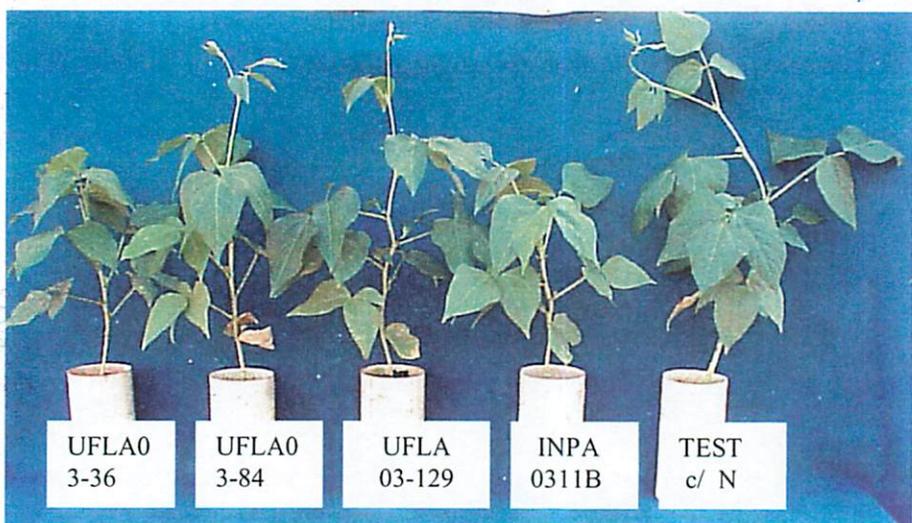
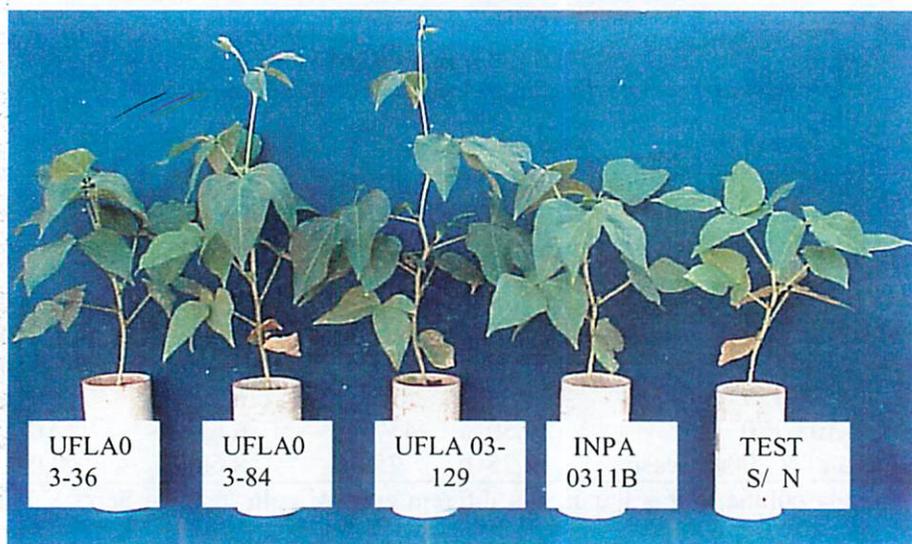
Todas as estirpes testadas tiveram produção de MSPA intermediária entre as testemunhas com e sem N mineral, com exceção da UFLA03-36, que não diferiu da testemunha sem N (Tabela 5). Quanto à eficiência relativa, todos os tratamentos foram inferiores à testemunha com N mineral, o que pode ter ocorrido devido ao efeito inibidor do N, conforme já discutido.

TABELA 11. Número (NN) e matéria seca de nódulos (MSN), matéria seca da parte aérea (MSPA) e eficiência relativa (Efr) em função dos tratamentos. Segundo ensaio em casa de vegetação.

Formas de fornecimento de N	NN por planta	MSN mg.planta ⁻¹	MSPA g.planta ⁻¹	Efr %
Test. S/N	33,75 b	385 a	5,587 c	64,84 b
UFLA03-36	149,75 a	482 a	5,705 c	66,70 b
UFLA03-84	87,00 a	582 a	6,380 b	73,92 b
INPA0311B	107,75 a	530 a	6,485 b	75,39 b
UFLA03-129	115,75 a	510 a	6,537 b	75,84 b
UFLA03-170	89,50 a	457 a	6,632 b	77,50 b
Test. c/N 300mg/vaso	12,25 b	25 b	8,680 a	100,0 a

Em cada coluna, letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Nas Figuras 2 e 3 tem-se uma noção do crescimento da parte aérea do caupi nos tratamentos inoculados e testemunhas.



FIGURAS 2 e 3. Crescimento da parte aérea de *Vigna unguiculata* (L.) Walp., cultivar BR 14 Mulato, inoculada com diferentes estirpes de rizóbio e testemunhas.

4.3 Ensaio de campo

Na figura 4, é fornecida uma vista geral do experimento na etapa de maturação, já com vagens apresentando a coloração característica do final de ciclo. Um resumo da análise de variância das características avaliadas no ensaio encontra-se na Tabela 12. Pode-se observar que a fonte de variação e formas de fornecimento de N (inoculação e testemunhas) afetaram todas as características avaliadas de forma significativa, exceto o número de nódulos. Esta característica apresentou o maior coeficiente de variação e, portanto, menor precisão na sua estimativa.



FIGURA 4. Visão geral do ensaio de caupi cultivar BR14 Mulato, em campo no município de Perdões, MG.

Neste ensaio o número de nódulos foi bem menor que os obtidos nos ensaios anteriores em vasos. Martinazzo (1989) obteve cerca de 8 a 12 nódulos por planta em Latossolo Vermelho Amarelo argiloso na Amazônia, com calagem, após cinco anos de pousio para testemunhas sem nitrogênio e com 80kg de N.ha⁻¹, respectivamente. No caso de tratamentos com inoculação, este valor chegou até cerca de 118 nódulos/planta. No presente ensaio de campo, a dose de N de 70 kg.ha⁻¹ (testemunha com N) não foi suficiente para inibir a nodulação por rizóbios nativos, já que não houve diferenças na MSN e no NN em relação ao tratamento testemunha sem N. Apesar de números de nódulos relativamente baixos, a MSN foi bastante superior à da maioria dos tratamentos testados por Martinazzo (1989) cujos pesos seco de nódulos variaram de cerca de 10 mg até 125 g.planta⁻¹, com exceção de uma estirpe (a 53) que apresentou 440 mg.planta⁻¹. Neste estudo, a estirpe UFLA 03-84 apresentou maior MSN e também maior MSPA e foi a única que não diferiu da testemunha nitrogenada. Quanto à eficiência relativa, as estirpes UFLA03-129, UFLA03-36 e INPA0311-B não diferiram e tiveram eficiência relativa intermediária entre as testemunhas sem N e com N (Tabela 13). A estirpe UFLA03-84, por sua vez, produziu 88,4% da matéria seca do tratamento nitrogenado e não diferiu deste. Com relação ao acúmulo de nitrogênio na parte aérea, a testemunha sem N foi a que apresentou menor acúmulo, diferindo dos demais tratamentos. A estirpe UFLA03-84 mais uma vez se destacou das demais, sendo a única que não diferiu da testemunha nitrogenada (Tabela 13). As demais estirpes testadas apresentaram acúmulo intermediário entre as testemunhas com e sem N.

O rendimento de grãos variou de 1021 a 1403 kg.ha⁻¹ e pode ter sido negativamente influenciado pela elevada precipitação ocorrida no período, que foi de 399, 132 e 368 mm, respectivamente nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro (dados fornecidos pelo setor de Agrometeorologia do Departamento de Engenharia da UFLA). Cardoso et al. (1990) relataram, para a cultivar BR14, em

nove locais com solos de baixa a média fertilidade sem adubação, uma produtividade de 883 e 1967 kg.ha⁻¹, em condições de sequeiro e irrigado, respectivamente. No entanto, Cardoso et al. (1997) obtiveram em condições de irrigação, em solo Aluvial eutrófico, produtividade de grãos até 2476 kg.ha⁻¹ com a cultivar BR14.

A inoculação, com qualquer das estirpes, proporcionou bom rendimento de grãos em relação à testemunha com nitrogênio e o isolado UFLA 03-84, embora tenha se destacado quanto à MSPA e MSN, não diferiu dos demais isolados quanto ao rendimento de grãos. Döbereiner et al. (1970) e Saito (1982) mencionam que nem sempre o peso de nódulos é bom indicador da eficiência de uma estirpe. Estes resultados estão de acordo com Fening & Danso (2002) que encontraram que apenas 9% dos 33 isolados de solo de Gana na África, que apresentaram alta nodulação, foram eficientes. A testemunha sem nitrogênio, apesar de não diferir dos isolados quanto ao número e peso de nódulos (exceto para a estirpe UFLA03-84), foi a que menos produziu grãos. Assim, pode-se deduzir que a FBN por rizóbios nativos deste solo é menos eficiente que a aplicação de 70 kg.ha⁻¹ de Ne do que a inoculação (Tabela 13). Com relação ao teor de nitrogênio nos grãos, não houve diferença entre a estirpe UFLA03-129 e testemunha sem N, enquanto os demais tratamentos inoculados não diferiram da testemunha com N mineral. Por outro lado, em relação ao acúmulo de N nos grãos, todas as estirpes tiveram acúmulo semelhante à testemunha nitrogenada e 43% superior ao tratamento sem N.

Os resultados deste e de outros trabalhos (Martins et al., 1997; Pereira, 2000 e Motta, 2002) indicam baixa eficiência da BR2001 e melhor eficiência simbiótica de outras estirpes de rizóbio. Como esta é uma estirpe recomendada como inoculante comercial e, portanto, importante, procurou-se verificar a possibilidade de contaminação e ou troca da verdadeira cepa em nossa coleção. Assim foram solicitadas novas cepas das coleções do IPAGRO/RS e da

Embrapa-Agrobiologia, que foram crescidas em meio YMA, juntamente com a cepa da Coleção da UFLA oriunda da Embrapa-Agrobiologia. Todas as procedências apresentaram as mesmas características culturais em YMA (alcalinização do meio, crescimento lento e pouca produção de goma) (Figura 5). Lima e Moreira (dados não publicados) verificaram que os perfis eletroforéticos de proteína total também foram semelhantes, indicando que não houve troca ou contaminação da estirpe.

Embora a BR2001 esteja registrada na RELARE desde 1985, como selecionada em experimentos de campo, não foram encontrados resultados que corroborem este fato.

TABELA 12. Resumo da análise de variância (quadrados médios) dos dados relacionados à MSPA, número e peso de nódulos, rendimento de grãos e relacionados ao nitrogênio.

Fonte de Var.	G L	NN	MSN	MSPA	Eficiência relativa	Acúmulo de N na PA	Rendimento	Teor de N nos grãos	Acúmulo de N Grãos
Formas de N	5	44,65	0,25 *	87,82 *	889,67 *	171042,58 **	71898,8 *	0,1609 *	193,5 *
Bloco	3	2,65	0,07	48,49	625,33	53569,63	53450,8	0,0037	89,9
Erro	15	35,54	0,05	21,62	226,85	24229,49	24849,4	0,0574	53,5
CV %		36,34	25,71	19,94	19,35	24,84	12,39	6,49	15,52

*Teste de F, a 5% de significância

TABELA 13. Produção de número (NN) e matéria seca de nódulos (MSN), matéria seca da parte aérea (MSPA), eficiência relativa (Efr), acúmulo de N na parte aérea (acúmulo de N na PA), rendimento de grãos, teor e acúmulo de N nos grãos em Argissolo Vermelho Amarelo distrófico em função das fontes de N. Experimento conduzido em campo no município de Perdões, MG.

Fontes de N	NN por planta	MSN mg.planta ⁻¹	MSPA g.planta ⁻¹	eficiência relativa %	acúmulo de N na PA mg.planta ⁻¹	rendimento kg.ha ⁻¹	teor de N grãos %	N nos grãos kg.ha ⁻¹
Test. s/N	15,5 a	168,7 b	16,6 b	56,3 c	326 c	1021 b	3,34 b	34,18 b
INPA03-11B	17,0 a	200,2 b	20,9 b	71,6 b	568 b	1340 a	3,78 a	50,51 a
UFLA03-36	15,6 a	181,0 b	22,2 b	74,1 b	556 b	1263 a	3,79 a	47,11 a
UFLA03-129	18,2 a	187,0 b	23,3 b	76,7 b	626 b	1320 a	3,57 b	47,18 a
UFLA03-84	21,0 a	275,2 a	26,6 a	88,4 a	734 a	1272 a	3,81 a	48,89 a
Test. c/N	11,0 a	122,2 b	30,2 a	100 a	949 a	1413 a	3,88 a	54,85 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.



FIGURA 5. Crescimento das cepas da BR2001/SEMIA6145 e UFLA de diferentes origens em meio YMA

5 CONCLUSÕES

1. Algumas estirpes testadas foram mais eficientes que a estirpe BR2001, utilizada como referência.

2. A inoculação com estirpes de rizóbio isoladas da região Amazônica, contribuiu de forma significativa para aumento (23,7 a 31,2%) no rendimento de grãos do caupi em relação às plantas não inoculadas e não adubadas com N mineral.

3. As estirpes INPA 0311-B, UFLA03-36, UFLA03-129 e, principalmente, UFLA03-84 podem ser recomendadas para testes de eficiência agrônômica em outras regiões.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGBENIN, J.O; LOMBIN, G.; OWONUBI, J. J. Direct and interactive effect of boron and nitrogen on selected agronomic parameters and nutrient uptake by cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) under glasshouse condions. **Tropical Agriculture**, Surrey, v.68, n.4, p. 356-362, Oct.1991.

ARAÚJO, R.S. Fixação biológica de nitrogênio em feijão. In: ARAUJO , R.S., HUNGRIA, M, (Eds). **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: EMBRAPA, 1994. p.91-120.

AWONAIKE, K. O; KUMARSINGHE, K.S.; DANSO, S. K. A. Nitrogen fixation and yield of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) as influenced by cultivar and *Bradyrhizobium* strain. **Field Crops Research.**, v.24, n. 2/3, p. 163-171, Oct. 1990.

BERGENSEN, F.J.; BROCKWELL, J.; GIBSON, A. H.; SCHWINGHAMER, E.A. Studies of natural populations and mutants os *Rhizobium* in the improvement of legume inoculants. **Plant and Soil**, Hangué, p.3-16. 1971. Suplemento 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Estatísticas**. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br> > acessado em: 1999.

CARDOSO, M.J.; FREIRE FILHO, F. R.; SOBRINHO, C.A. **BR14 Mulato**: Nova cultivar de feijão macassar para o estado do Piauí. EMBRAPA/UEPAI, 1990. 4p. (EMBRAPA-UEPAI. Comunicado Técnico, 48).

CARDOSO, M.J.; MELO, F.B.; ANDRADE JUNIOR, A.S. Densidade de plantas de caupi em regime irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n4, p.399-405, 1997.

COELHO, K.J.F.; NASCIMENTO, R. Nodulação de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) submetido a déficit hídrico crescente no solo. **Agropecuária Técnica**, Areia, v.20, n2, p.58-67, dez. 1999.

CASSINI, S.T.A; FRANCO, M.C. Fixação biológica de nitrogênio. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T.J.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas Gerais**. Viçosa: UFV, 1998. p.153-180.

DANSO, S.K.A.; OWIREDU, J.D. Competitiveness of introduced and indigenous cowpea *Bradyrhizobium* strains for nodule formation on cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) in three soils. **Soil Biology Biochemistry**, Oxford, v.20, n.3, p.305-310, 1988.

DART, P.J.; WILDON, D.C. Nodulation and nitrogen fixation by *Vigna simensis* and *Vicia atropurpurea*: The influence of concentration, form, and site of application of combined nitrogen. **Australian Journal Agricultural Research**, Melbourne, v.21, n.1, p.45-46, 1970.

DOBEREINER, J.; FRANCO, A. A.; GUZMÁN, I. Estirpes de *Rhizobium japonicum* de excepcional eficiência. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.5, p.155-161, 1970.

EAGLESHAM, A.R.J.; MINCHIM, F.R.; SUMMERFIELD, R.J.; DART, P.J.; HULEX, P.A.; DAY, J.M. Nitrogen nutrition of cowpea (*Vigna unguiculata*) III.

Distribution of nitrogen within effectively nodulated plants. **Experimental Agriculture**, London, v.13, n.4, p.369-380, Oct. 1977.

ELHASSAN, G.A.; FOCHT, D.D. Comparison of inoculant and indigenous rhizobial dinitrogen fixation in cowpeas by direct nitrogen-15 analyses. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.50, n. 4, p.923-927, Jul./Aug. 1986.

EMPRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa, 2000. 412p.

FAO, Legume inoculants and their use. Niftol Project, USA x FAO fertilizer and Plant Nutrition Science. Rome, 63p. 1987.

FENING, J.O. ; DANSO, S.K.A. Variation in symbiotic effectiveness of cowpea bradyrhizobia indigenous to Ghanaian soils. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.2, p.23-29, Jul./Aug. 2002.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos SP. **Programa e Resumos ...São Carlos: UFSCar, 2000. p.235.**

FERREIRA, E. P. B.; ZILLI, J. E.; NEVES, M. C. P.; RUNJANEK, N. G. Avaliação da Eficiência de Isolados de Rizóbio de Crescimento Rápido que Nodulam Caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) Obtidos a partir de Solos do Sistema Integrado de Produção Agroecológica. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23.; REUNIÃO

BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 7.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5., 1998, Caxambu, MG. **Fert bio – Resumos...** Lavras: UFLA/SBCS/SBM, 1998.

FREIRE FILHO, F.R.; RIBEIRO, V.Q.; BARRETO, P.D.; SANTOS, C.A. Melhoramento genético do caupi (*vigna unguiculata* (L.) Walp.) na região do Nordeste. In: WORKSHOP, 1998. [S.l.]: Embrapa Semi-Árido, 1998.

FULLIN, E.A. Nitrogênio e molibdênio na adubação do feijoeiro irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.7, p.1145-1146, Jul. 1999.

GILLER, K. E.; WILSON, K J. Nitrogen fixation cropping systems. C.A.B. International, u.k. 1991. 313p.

GRAHAM, R.A .; SCOTT, T. W. Response of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) to nitrogen and inoculaion in trinidad. **Tropical Agriculture**, v.61, n.1, p. 56-58, Jan. 1984.

HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. ; VARGAS, M. A. T. Fixação biológica de N₂ na cultura do feijoeiro. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Eds). **Biologia dos Solos de Cerrados**. Planaltina: EMBRAPA/CPAC, 1997. p.187-294.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N-2 fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, Amsterdam, n. 2/3, p.151-164, Mar. 2000.

HUXLEY, P. A. A. Nitrogen nutrition of cowpea (*vigna unguiculata*). IV. Uptake and distribution of a single dose of early applied nitrogen. **Tropical Agriculture**, Trinidad, v.57, n.3, p.193-202, Jul. 1980.

LACERDA, A. M.; MOREIRA, F.M.S. Eficiência e seleção de isolados de rizóbios em *Vigna unguiculata*. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS, 13.; SEMINÁRIO DE AVALIAÇÃO DO PIBIC/CNPq, 8.; SEMINÁRIO DE AVALIAÇÃO DO PIBIC/FAPEMIG, 3.; 2000, Lavras. **Resumos...** Lavras: UFLA, 2000. p.146.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, London, v.227, n.5259, p.6 80-685, Aug. 1970.

LEWIN, A.; ROSENBERG, C.; MEYER, H. Z. A.; WONG, C. H.; NELSON, L.; MANEN, J. F.; STANLEY, J.; DOWLING, D. N.; DÉNARIE, J.; BROUGHTON, W. J. Multiple host-specificity loci of the broad host-range *Rhizobium* sp. NGR234 selected using the widely compatible legume *Vigna unguiculata*. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 8, n. 6, p. 447-459, 1987.

MAGALHÃES, F.M.M. O estado atual do conhecimento sobre fixação biológica de nitrogênio na Amazônia. SIMPÓSIO DO TRÓPICO ÚMIDO, 1., 1984, Belém. **Anais...** Belém, 1986. p.499-512.

MARTINAZZO, A. F. **Potencial de fixação em N₂ em *Vigna unguiculata* Walp. em diferentes condições ambientais.** 1989. 154p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

MARTINS, L. M. V.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Growth characteristics and symbiotic efficiency of rhizobia isolated from cowpea nodules of the north-east region of Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.29, n. 5/6, p.1005-1110, May/June 1997.

MELOTTO, M. **Eficiência simbiótica na fixação de nitrogênio em soja e caupi inoculados com as estirpes SR e Semia-587 de *Bradyrhizobium japonicum***. 1993, 111p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agronomia Luis de Queiroz, Piracicaba.

MIGUEL, D.L.; MOREIRA, F.M.S. Influência do pH do Meio de Cultivo e da turfa no Comportamento de estirpes de *Bradyrhizobium*. **Revista Brasileira Ciências do Solo**, v.25, n.4, p.873-883, out./dez. 2001.

MINCHIN, F.R. ; SUMMERFIELD, R. J. ; EAGLESHAM, A.R.J. Plant genotype x *Rhizobium* strain interactions in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Tropical Agriculture**, Trinidad, v.55, n.2, p.107-115, Apr. 1978.

MOREIRA, F. S. M.; GILLIS, M.; POT, B.; KERSTERS, K.; FRANCO, A. A. Characterization of rhizobia isolated from different divergence groups of tropical leguminosae by comparative polyacrylamide gel electrophoresis of their total proteins. **Systematic and Applied Microbiology**, New York, v.16, n.1, p. 135-146, Apr. 1993.

MOREIRA, F. S. M.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2002. 620p.

MOTTA, J. S. **Diversidade fenotípica e eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* sp. isoladas de áreas de mineração de bauxita reabilitadas.** 2002, 43p. Dissertação (Mestrado EM Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras. Lavras.

NEVES, M.C.P. ; RUMJANEK, N.G. Diversity and adaptability of soyben and cowpea rhizobia in tropical soils. **Soil Biology and Bichemistry**, Oxford, v.29, n.5/6, p.889-895, May/June 1997.

NEVES, M.C.P. **Energy cost of biological nitrogen fixation, biological nitrogen fixation for tropical agriculture.** Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1982. p.77-92.

OLIVEIRA, I.P.; DANTAS, J.P. Nutrição mineral do caupi. In: ARAÚJO, P. P. A. ; WATT, E. E. (Org.) **O caupi no Brasil.** Brasília: EMBRAPA, 1988. 722p.

PEREIRA, E.G. **Diversidade de rizóbios isolados de diferentes sistemas de uso da terra na Amazônia.** 2000, 93p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PINTO, P.P.; RAPOSEIRAS, R.; MACEDO, A. M; SELDIN, L; PAIVA, E. S. A. Effects of high temperature on survival, symbiotic performance and genomic modifications of bean nodulating Rhizobium strains **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.29, n.4, p.295-300, Out./Dez. 1998.

RAIJ, B. van. **Avaliação da fertilidade do solo.** Piracicaba: Instituto Internacional da Potassa, Piracicaba, 1981. 142p.

RAPOSO, R.W.C. **Inoculação de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares e *Bradyrhizobium* ssp. em caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)**. 1989, 84p.

Dissertação(Mestre) – Escola Superior de Agronomia Luis de Queiroz, Piracicaba.

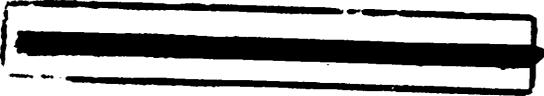
RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.; ALVAREZ V, V.H. Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais Recomendação para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais. 5ª Aproximação. Viçosa, MG, 1999. 359p.

RYLE, G.J.A.; POWELL, C.E.; GORDON, A. J. The respiratory costs of nitrogen fixation in soybean, cowpea and white clover. I. Nitrogen fixation and the respiration of nodulated root. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.30, n.114, p.135-144, Feb. 1979.

SAITO, S.M.T. Avaliação em campo de capacidade de fixação simbiótica de estirpes de *Rhizobium phaseoli*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.17, n.17, p. 999-1006, Jul. 1982.

SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1979. 27p.

SENANAYAKE, L.; KNIEVEL, D. P.; STEVENS JR. , S. E. Nodulation and symbiotic nitrogen fixation of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Plant and soil**, Hague, v.99, n.2/3, p.435-439, 1987.



STAMFORD, N.P.; SANTOS, D.R.; SILVA, V.M.; SANTOS, C.E.R.S.;
MONTEIRO, M.C. Fixação do N₂ e matéria seca do caupi em dois solos do
semi-árido brasileiro submetidos à deficiência hídrica. **Revista Brasileira
Ciências do Solo**, Campinas, v.14, p.283-290, 1990.

SUMMERERFIELD, R.J.; HUXLEY, P.A.; DART, P.J.; HUGHES, A.P.
Some effects of environmental stress on seed on yield of cowpea (*Vigna
unguiculata* (L.)Walp.) cv. Prima. **Plant and Soil**, The Hague, v.44, n.3, p.527-
546, 1976.

VINCENT, J. M. A. **Manual for the Pratical Study of root-nodule bacteria.**
Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1970.

ZILLI, J.E.; RUMJANEK, N.G.; FREIRE FILHO, F.R.; NEVES, M.C.P.
Seleção de estirpes de rizóbios para inoculação de caupi (*Vigna unguiculata*) em
áreas de cerrado. IN: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CAUPI. 5.,
2001, Teresina-PI. **Anais...** Teresina: [s.n.], 2001. p.257-262.