

Sebastião da Silva Júnior

**BRADYRIZOBIUM E BIOFERTILIZANTES DE ROCHAS COM
ACIDITHIOBACILLUS E GESSO NO FEIJÃO CAUPI EM SOLOS SALINOS
SÓDICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia–Ciências do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências do solo.

Orientadora

Dr^a Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos

Co-orientadores

Prof. Newton Pereira Stamford, Dr.

Prof. Abelardo Antônion de Assunção Montenegro, PhD.

RECIFE

Março - 2008

FICHA CATALOGRÁFICA

S586b Silva Júnior, Sebastião da
Bradyrizobium e biofertilizantes de rochas com acidithiobacillus e gesso no feijão caupi em solos salinos-sódicos / Sebastião da Silva Júnior. -- 2008.
62 f. : il.

Orientadora : Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos
Dissertação (Mestrado em Agronomia - Ciências do Solo) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Agronomia.

Inclui bibliografia.

CDD 631.42

1. *Vigna unguiculata*
2. Absorção
3. Oxidação
4. Enxofre
5. Interação
6. Gesso

I. Santos, Carolina Etienne de Rosália e Silva

II. Título

**BRADYRIZOBIUM E BIOFERTILIZANTES DE ROCHAS COM
ACIDITHIOBACILLUS E GESSO NO FEIJÃO CAUPI EM SOLOS SALINOS
SÓDICOS**

SEBASTIÃO DA SILVA JÚNIOR

Dissertação defendida e aprovada em 28 de março de 2008 pela banca examinadora:

ORIENTADOR:

Dr^a Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos

EXAMINADORES:

Dr. José Pires Dantas

Dr^a Márcia Figueiredo Barreto do Vale

Dr^a Maria de Fátima Cavalcanti Barros

Ao meu pai, Sebastião da Silva (*in memoriam*) e à minha mãe, Helena Marques da Silva pelo confiança, amor e dedicação cedidos ao longo da minha vida. Aos meus familiares que sempre apoiaram as minhas decisões.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre me abriu janelas quando as portas se fechavam, por me mostrar a luz nos momentos difíceis da minha vida e por colocar no meu caminho pessoas maravilhosas.

Aos meus estimados pais Sebastião da Silva e Helena Marques da Silva, pelos magníficos conselhos e apoio em meus projetos de vida.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – Ciência do Solo pela oportunidade de realização do curso de mestrado e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

À Pesquisadora e prof.^a da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Dr.^a Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos, minha orientadora, pela orientação decidida, pelos conselhos, nas horas certas, e pelo carinho.

Ao Prof. Newton Pereira Stanford, pela co-orientação, amizade, paciência e apoio incondicional nos momentos de decisões marcantes da realização do nosso trabalho de dissertação.

Ao meu braço direito nos trabalhos em casa de vegetação e no laboratório, Wanderson José de Oliveira pela paciência inesgotável.

Aos meus amigos e amigas de Laboratório de Microbiologia do Solo: Ana Dolores, Adriana, Diego, Gleysiana Elizabete, Fátima, Fernando, Juliane, Iraci, Camila, Mariana Monaliza e Tatiana, pelo enorme carinho e apoio prestado. Em especial ao meu amigo Rosemberg pelo apoio técnico e troca de conhecimento.

Aos brilhantes Pesquisadores do IPA: Dr^o. Helio Burity, D^o. José de Paula, Dr.^a Márcia Figueiredo, Dr^o. Aldrin Martin Pérez, D^a. Sonia Formiga de Albuquerque pelos excelentes conselhos científicos.

Aos Pesquisadores da UFRPE que nos ajudaram na realização deste trabalho, pela disponibilidade e empenho dedicado.

Aos funcionários e estagiários dos laboratórios de Microbiologia do solo, química do solo e de Fertilidade do solo, pelo apoio e calorosa convivência.

Aos Professores do Programa, em especial a professora Maria de Fátima Cavalcanti Barros, pelos conhecimentos transmitidos durante nosso estágio didático pela Capes.

Aos funcionários da UFRPE Maria do Socorro, Eliane, Noca, Anacleto, Josué, Josias e Narciso, pela atenção e ajuda indispensável.

A minha querida namorada e companheira Ana Paula pela dedicação e compreensão nas atividades do dia a dia.

Aos amigos do curso e companheiros, pela grande torcida e convívio que tornou esta etapa de minha vida muito mais alegre.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente, tenham contribuído para realização deste trabalho.

LISTA DE TABELAS

Table 1. Chemical properties of soil.....	13
Table 2. Soil pH and exchangeable cations in a saline sodic soil of the Brazilian semiarid region amended with sulfur inoculated with <i>Acidithiobacillus</i> (S*) and gypsum (G) in different rates and mixed proportions (S*: G) before biofertilizer application (-PK), and after biofertilizer application (+PK).	17
Table 3. Cowpea shoot dry biomass and total sodium uptake in a semiarid sodic soil amended with sulfur inoculated with <i>Acidithiobacillus</i> (S*) and gypsum (G), applied in different rates and mixed proportions (S*: G) after biofertilizer application (+PK).	19
Table 4. Total P and total K in shoot dry biomass of cowpea grown in a semiarid sodic soil after amendment with sulfur inoculated with <i>Acidithiobacillus</i> (S*) and gypsum (G) applied in different rates and mixed proportions (S*: G) after biofertilizer application (+PK).	20
Table 5. Available P and available K in soil in a sodic soil after amendment with sulfur inoculated with <i>Acidithiobacillus</i> (S*) and gypsum (G) applied in different rates and mixed proportions (S*:G) after biofertilizer application (+PK).	21
Tabela 1. Característica química e física da amostra de solo.	32
Tabela 2. Biomassa seca de nódulos e da parte aérea do caupi inoculado com rizóbios, cultivado em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com <i>Acidithiobacillus</i> - S* + gesso - G) e biofertilizante de rochas com P e K. ⁽¹⁾	38
Tabela 3. Acumulação de N total na parte aérea do caupi inoculado com rizóbios, cultivado em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com <i>Acidithiobacillus</i> - S* + gesso - G) e biofertilizante de rochas com P e K. ⁽¹⁾	41
Tabela 4. P total acumulado na parte aérea do caupi inoculado com rizóbios, cultivado em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com <i>Acidithiobacillus</i> - S* + gesso - G) e biofertilizante de rochas com P e K.(1)	42
Tabela 5. K total acumulado na parte aérea do caupi inoculado com rizóbios, cultivado em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com <i>Acidithiobacillus</i> - S* + gesso - G) e biofertilizante de rochas com P e K. ⁽¹⁾	42
Tabela 6. Condutividade elétrica do solo após cultivo do caupi inoculado com rizóbios em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com <i>Acidithiobacillus</i> - S* + gesso - G) e biofertilizante de rochas com P e K. ⁽¹⁾	43
Tabela 7. pH do solo após cultivo do caupi inoculado com rizóbios em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com <i>Acidithiobacillus</i> - S* + gesso - G) e biofertilizante de rochas com P e K. ⁽¹⁾	44
Tabela 8. P e K disponível após cultivo do caupi com biofertilizante de rochas com P e K e inoculação com rizóbios em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com <i>Acidithiobacillus</i> - S* + gesso - G). ⁽¹⁾	45

Tabela 9. Na trocável no solo após cultivo do caupi inoculado com rizóbios em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com <i>Acidithiobacillus</i> – S* + gesso – G) e biofertilizante de rochas com P e K. ⁽¹⁾	48
Tabela 10. Ca trocável no solo após cultivo do caupi inoculado com rizóbios em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com <i>Acidithiobacillus</i> – S* + gesso – G) e biofertilizante de rochas com P e K. ⁽¹⁾	49
Tabela 11. N total e Sulfato no solo após cultivo do feijão caupi inoculado com rizóbios em solo salino-sódico da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com <i>Acidithiobacillus</i> - S* + gesso - G); biofertilizante de rochas com P e K e fertilizante mineral solúvel (superfosfato simples + cloreto de potássio).	50

SUMÁRIO

<u>INTRODUÇÃO GERAL.....</u>	<u>1</u>
<u>REFERÊNCIAS</u>	<u>6</u>
<u>CAPÍTULO 1.....</u>	<u>8</u>
<u>RESPONSE OF COWPEA TO PK ROCK BIOFERTILIZERS IN A SODIC SOIL AMENDED WITH RATES AND MIXTURES OF SULFUR WITH <i>ACIDITHIOBACILLUS</i> AND GYPSUM.....</u>	<u>8</u>
RESUMO	9
ABSTRACT	10
INTRODUCTION.....	11
MATERIAL AND METHODS	13
RESULTS AND DISCUSSION.....	14
CONCLUSIONS	22
REFERENCES	22
<u>CAPÍTULO 2.....</u>	<u>25</u>
<u><i>BRADYRHIZOBIUM SP.</i> E BIOFERTILIZANTES DE ROCHAS COM <i>ACIDITHIOBACILLUS</i> E GESSO NO CAUPI EM UM ARGISSOLO AMARELO.....</u>	<u>25</u>
<u><i>BRADYRHIZOBIUM SP.</i> E BIOFERTILIZANTES DE ROCHAS COM <i>ACIDITHIOBACILLUS</i> E GESSO NO CAUPI EM UM ARGISSOLO AMARELO.....</u>	<u>26</u>
<u>RESUMO</u>	<u>26</u>
<u>ABSTRACT</u>	<u>27</u>
<u>INTRODUÇÃO.....</u>	<u>28</u>
<u>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</u>	<u>37</u>
<u>CONCLUSÕES</u>	<u>50</u>
<u>REFERÊNCIAS</u>	<u>51</u>

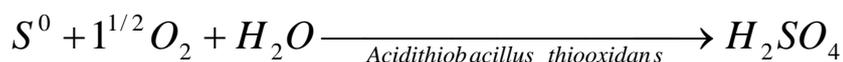
INTRODUÇÃO GERAL

A salinidade do solo é um dos fatores que contribuem para o uso sustentável de solos na região semi-árida e afeta pequenos, médios e grandes produtores, resultando em prejuízos econômicos e sociais. Considerando a redução da disponibilidade de áreas produtivas na região semi-árida decorrente da contínua salinização do solo, há uma demanda por ações que possibilitem a exploração desses solos e o resgate de sua vocação produtiva (STAMFORD, 2002 e 2003).

Até o final da década de noventa, a adição de gesso era a técnica mais utilizada para recuperação de solos salinos/sódicos, entretanto verifica-se que a adição desse produto não promove redução no pH do solo, e, portanto, reduz sua contribuição para reverter os processos de salinização. Por outro lado, o gesso é um insumo de baixo custo, todavia para que sua adição possa promover efeito benéfico na salinidade do solo são necessárias aplicações de grandes quantidades, o que onera o transporte e aplicação desse condicionante (STAMFORD et al., 2007).

A adoção de processos biotecnológicos tem mostrado resultados satisfatórios para implantação de uma agricultura auto-sustentável e promissora para o meio ambiente. Neste sentido as bactérias oxidantes do enxofre (*Acidithiobacillus*) que são capazes de produzir H_2SO_4 contribuindo para a redução do pH do solo, amenizando as condições adversas que ocorrem em solos com valores de pH mais elevados. Experimentalmente, foi demonstrado que este grupo de bactérias é promissor para a recuperação de áreas degradadas por processos de salinização/sodificação (STAMFORD et al., 2002 e 2003). Além da recuperação do solo a inoculação com *Acidithiobacillus* permite o uso de água salina na irrigação com controle da salinidade, o que torna possível o cultivo das plantas mesmo com o uso de água imprópria para a irrigação (STAMFORD, 2003).

Portanto, o enxofre elementar pode ser também utilizado na correção da sodicidade de solos sódicos, e sua efetividade depende da oxidação biológica realizada por microrganismos presentes no solo, sendo mais comum a ação promovida por bactérias do gênero *Acidithiobacillus* (GARCIA JÚNIOR, 1992), conforme a seguinte equação:



Assim, a aplicação de S elementar ao solo tem grande significado agrônomico; primeiro, pela presença de SO_4^{2-} , que é requerido em grandes quantidades pelas plantas, e segundo, pela ação direta e indireta do H_2SO_4 sobre o pH do solo. A redução do pH pode ser necessária para o cultivo em solos alcalinos e pode também atuar na redução do sódio trocável.

A agricultura moderna exige o uso de fertilizantes e corretivos a fim de proporcionar um aumento da produção de alimentos, de modo a satisfazer os critérios econômicos e, ao mesmo tempo, conservar a fertilidade do solo (RAIJ, 1986). A necessidade da aplicação de fertilizantes com potássio é amplamente reconhecida e sua importância é de caráter fundamental para o Brasil, tendo em vista que é um insumo produzido por empresas estrangeiras, principalmente Canadá, Alemanha e Rússia, e cerca de 90% da necessidade atual brasileira é obtido por importação (ROBERTS, 2004).

Como matérias-primas básicas para a produção de fertilizantes de rochas potássicas pouco solúveis são usadas, entre outras fontes: biotitas, muscovitas, micas, micaxistos, feldspatos, ortoclásios. Com relação à produção de fertilizantes fosfatados são utilizadas principalmente as rochas fosfáticas (apatitas e fosforitas) (FASSBENDER & BORNEMISZA, 1987). Os minerais como as biotitas, entre outros, após os processos de moagem e peneiramento, são de emprego limitado pela sua baixa eficiência agrônômica, em função do baixo teor de potássio solúvel (BALLESTERO et al., 1996). Para o fósforo

as rochas fosfáticas mais usadas são as apatitas, que em geral, também apresentam baixo teor de fósforo na forma disponível para as plantas (NAHAS, 1999).

Algumas espécies de bactérias do gênero *Thiobacillus* promovem a oxidação de formas reduzidas de enxofre a ácido sulfúrico, e são utilizadas especialmente para a solubilização e lixiviação de metais (GARCIA JÚNIOR, 1992). Devido à variabilidade das características fisiológicas e filogenéticas entre suas espécies, as bactérias do gênero *Thiobacillus*, foram recentemente reclassificadas como *Acidithiobacillus* (KELLY e WOOD, 2000), e o gênero *Acidithiobacillus* inclui, entre outras, as espécies: *A. thiooxidans*, *A. ferrooxidans*, *A. thioparus*, *A. denitrificans* e *A. albertensis*. Este gênero caracteriza-se por ser obrigatoriamente aeróbio e acidofílico, com pH ótimo abaixo de 4, 0, e temperatura ótima entre 30 e 35°C (KELLY & WOOD, 2000).

O emprego de microrganismos objetivando a solubilização de minerais (rochas em pó) foi pela primeira vez realizada no Nordeste do Brasil, ano de 1965, usando micaxisto com a inoculação com o fungo *Aspergillus niger* para a disponibilização de fósforo e potássio (IMUFPE, 1966). Um método econômico e prático que pode ser utilizado para melhorar a eficiência das rochas é a acidificação biológica para produção de biofertilizantes com potássio e fósforo solúvel. A eficiência da bactéria oxidante do enxofre (*Acidithiobacillus*), que é capaz de produzir ácido sulfúrico a partir do enxofre elementar, já foi demonstrada na produção de biofertilizante fosfatado utilizando apatita (STAMFORD et al., 2005).

Um fato bastante importante a considerar é que a solubilização biológica de rochas, com adição de enxofre inoculado com *Acidithiobacillus* não necessita o uso de energia industrial e poderá contribuir para a redução dos custos, com economia bastante satisfatória (STAMFORD et al., 2004). Além dos objetivos econômicos, também poderão ser obtidos resultados sociais, tendo em vista que os biofertilizantes podem ser produzidos,

sem uso de temperaturas elevadas e de produtos tóxicos e corrosivos, como ácido sulfúrico, ácido fosfórico e ácido nítrico (STAMFORD et al., 2005), e, portanto, poderão ser produzidos por pequenos, médios e grandes agricultores e bem como por grandes empresas ligadas à produção de fertilizantes.

A cultura utilizada nos experimentos foi à leguminosa feijão caupi bastante conhecida como feijão verde (*Vigna unguiculata* L. Walp), que tem características muito interessantes para a região Nordeste do Brasil, principalmente em função dos grãos que é utilizado primordialmente na culinária nordestina, e também em função de realizar eficientemente o processo da fixação biológica do N₂, o que confere uma economia satisfatória do nitrogênio que seria usado como fertilizante mineral, o que pode promover poluição ambiental, principalmente dos lençóis freáticos.

A eficiência da fixação do nitrogênio é na maioria das vezes prejudicada ou reduzida pela salinização do solo, e também por ocorrência de deficiência de nutrientes, notadamente o fósforo, e o sucesso no estabelecimento da nodulação e fixação de N₂ das leguminosas forrageiras depende de uma adequada nutrição com potássio e fósforo (BURITY et al., 2000). Como as rochas fosfáticas são de baixa solubilidade em água, o seu emprego na agricultura, torna-se bastante limitado, sendo utilizadas principalmente pelo seu efeito lento e residual (BALLESTERO et al., 1996), um método que pode ser utilizado para melhorar a eficiência das rochas é a sua acidificação biológica para produção de biofertilizantes.

Na região do Nordeste brasileiro a adoção de modelos agrícolas preconizados pela Revolução Verde, aliada às características naturais da região que apresenta uma grande extensão de área semi-árida resultou em exclusão social para a maior parte da população nordestina. Frente a este quadro, o desenvolvimento de alternativas sustentáveis que

permitam a conservação dos recursos naturais e, que promovam uma melhoria na qualidade de vida da população de baixa renda é urgente.

O objetivo principal foi de avaliar os efeitos da aplicação de enxofre inoculado com *Acidithiobacillus* + gesso; usando diferentes doses e proporções S:G, em atributos químicos do solo (pH, cátions trocáveis, condutividade elétrica), antes e após a adição dos tratamentos; verificar os níveis mais adequados de enxofre com *Acidithiobacillus* + gesso para maior redução sodicidade no pH do solo; analisar qual a melhor proporção e dose de enxofre com *Acidithiobacillus* + gesso para desenvolvimento do caupi, após a atuação dos condicionadores da sodicidade do solo; observar o efeito dos tratamentos na absorção de nutrientes (K e P total acumulado).

REFERÊNCIAS

BALLESTERO, S. D.; JORGE, J. A. & NICOLINO, C. A. C. Efeito da compostagem na solubilização de rochas fosfatadas e potássicas. **Biociência**, v.2 p.15-22, 1996.

BURITY H. A.; LYRA, M. C. C. P.; SOUZA, E. S. Efetividade da inoculação com rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares em mudas de sabiá submetidas a diferentes níveis de fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 8, p. 801-807, 2000.

FASSBENDER, H. W. & BORNEMISZA. **Química de Suelos con Énfasis en Suelos de América Latina** - San José: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 1987, p. 409.

GARCIA JUNIOR, O. O enxofre e suas transformações microbianas. In: Cardoso E., Saito, M.T. & Neves, M.C.P. **Microbiologia do solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas pp.243-255. 1992.

IMUFPE - Instituto de microbiologia da Universidade Federal de Pernambuco – **Relatório técnico da Sudene**, 1966. 289p.

KELLY, D. P. & WOOD, A. P. Reclassification of some species of Thiobacillus to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov., **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. V. 50. 2000, 511-516 p.

NAHAS, E. Solubilização microbiana de fosfatos e de outros elementos. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAGUIEN, U.; FURTINI NETO, A.E. & CARVALHO, J.G. (Ed.). **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Viçosa: SBCS, 1999. p. 467-486

RAIJ, B. V. Condições mínimas de eficiência para fosfatos alternativos ao superfosfato. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.10, p.235-239, 1986.

ROBERTS, T. **Reservas de minerais potássicos e a produção de fertilizantes potássicos do mundo**. Potafos: Informações agronômicas. n. 107, p.2-3. 2004.

STAMFORD, N. P.; RIBEIRO, M. R. & FREITAS, A. D. S. Effectiveness of sulfur with *Acidithiobacillus* and gypsum in chemical attributes of a Brazilian sodic soil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. v.3, p.1433 - 1439, 2007.

STAMFORD, N.P.; SANTOS, C. E. R. S.; SANTOS, P.R.; SANTOS, K. S.; MONTENEGRO, A. A. A. Effects of rock phosphate, sulfur with and without *Acidithiobacillus* and organic by-products on mimosa (*Mimosa cassalpinifolia*) grown in a Brazilian tableland soil. **Tropical Grasslands** ,v.39, p.54-61,2005.

STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. R. S.; STAMFORD, J. W. P.; DIAS, S. H. L. Biofertilizantes de rocha fosfatada com *Acidithiobacillus* como adubação alternativa de

feijão caupi em solo com baixo P disponível. **Revista Analytica** (São Paulo), São Paulo, v. 3, n. 9, p. 48-53, 2004.

STAMFORD, N. P.; FREITAS, A. D. S.; FERRAZ, A. M.; SANTOS, C. E. R. S. Nitrogen fixation and growth of cowpea (*Vigna unguiculata*) and yam bean (*Pachyrhizus erosus*) in a sodic soil affected by gypsum and sulphur inoculated with *Thiobacillus* and rhizobial inoculation. **Tropical Grasslands**, Brisbane, 38:11-17. 2003.

STAMFORD, N. P.; FREITAS, A. D. S.; FERRAZ, D. S.; SANTOS, C. E. R. S. Effect of sulphur inoculated with *Thiobacillus* on saline soils amendment and growth of cowpea and yam bean legumes. **Journal of Agricultural Science**, United Kingdom, v. 139, p. 275-281, 2002.

CAPÍTULO 1

Response of cowpea to PK rock biofertilizers in a sodic soil amended with rates and mixtures of sulfur with *Acidithiobacillus* and gypsum

Newton Pereira Stamford, Ph.D, Mateus Rosa Ribeiro Ph.D, Sebastião da Silva Júnior, MSc; Karina Patrícia Vieira da Cunha, MSc; Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos Ph.D

Resposta do feijão caupi a biofertilizante de rochas com PK em um solo sodico com diferentes níveis e misturas de enxofre com *Acidithiobacillus* e gesso

RESUMO

Um experimento em casa-de-vegetação foi realizado visando avaliar os efeitos de biofertilizantes de rochas fosfatada e potássica, no desenvolvimento e absorção de nutrientes por feijão caupi em um solo salino-sodico, após a adição de enxofre inoculado com *Acidithiobacillus* (S^*) e gesso (G) em diferentes doses (0,0; 0,8; 1,6; 2,4 and 3,2 t ha⁻¹) e proporções relativas de S^* : G (100:0; 75:25; 50:50; 25:75 e 100:0). Foi adicionado o tratamento controle sem adição de gesso e enxofre. Dois meses após a adição dos tratamentos foram analisados atributos químicos do solo e semeado o feijão caupi (cv. IPA 206) com inoculação de mistura de rizóbios (NFB 516 e NFB 700) com rizóbio. Em todos os tratamentos foi aplicado biofertilizante PK com rochas fosfatada e potássica. As plantas foram coletadas 45 dias após o plantio e determinou-se: Biomassa seca da parte aérea (BSPA), P, K e Na total, pH do solo, P e K disponível e sódio trocável. O enxofre com *Acidithiobacillus* reduziu o pH do solo, especialmente quando usados níveis mais elevados sem adição de gesso. A aplicação de biofertilizante PK de rochas com *Acidithiobacillus* reduziu ainda mais o pH do solo, especialmente quando usados os tratamentos com (S^* :G) nas proporções 25:75) e 50:50. Para os tratamentos com condicionadores a adição de biofertilizantes de rochas PK incrementou a biomassa seca da parte aérea do feijão caupi (BSPA), P, K e Na total. Os melhores resultados foram obtidos com as proporções S^* :G equivalentes a 25:75 e 50:50. P e K disponível foram mais elevados quando aplicados os biofertilizantes de rochas com PK. Os resultados mostram que os biofertilizantes de rochas podem ser alternativos a fertilizantes solúveis, especialmente em solos sódicos.

Palavras chaves: *Vigna unguiculata*, absorção de nutrientes, interação enxofre-gesso, oxidação do enxofre, solo Neossolo Flúvico salino sódico.

Response of cowpea to PK rock biofertilizers in a sodic soil amended with different rates and mixtures of sulfur with *Acidithiobacillus* and gypsum

ABSTRACT

A greenhouse experiment was carried out aiming to evaluate the effects of PK biofertilizers from phosphate and potash rocks on the development and nutrients uptake by cowpea grown in a sodic saline soil after the application of sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* (S*) and gypsum (G) in different rates (0.8; 1.6; 2.4 and 3.2 t ha⁻¹) and S*: G proportions (100:0; 75:25; 50:50; 25:75 and 100:0). A control treatment, without gypsum and sulfur, was added. Two months after application of the different treatments, were analyzed soil chemical attributes and then cowpea (cv. IPA 206) was grown with All plants were inoculated with rhizobia (strains NFB 516 + NFB 700). Plants of all treatments were fertilized with P and K biofertilizer produced from phosphate and potash rocks. After forty five days plants were harvest and determined in shoots: dry matter (DM), total P, total K and total Na, and in soil samples were analyzed pH, available P, available K and exchangeable Na. Sulfur with *Acidithiobacillus* reduced soil pH, especially when applied in the highest rates without gypsum. Furthermore, the application of the PK biofertilizer from rocks inoculated with *Acidithiobacillus*, promoted greater reduction in soil pH. Soil exchangeable Na was reduced, especially when applied the treatments S*: G equivalent to 25:75 and 50:50. In all amendment treatments PK rock biofertilizers increased cowpea shoot DM, total P, total K and total Na, and best results were observed in treatments S*: G equivalent to 25:75 and 50:50. Soil available P and K was higher when applied PK rock

biofertilizer. The results showed that the rock biofertilizer is an alternative to soluble fertilizers, especially in sodic soils.

Keys words: *Vigna unguiculata*, nutrient uptake, Sodic Saline Neossolo Flúvico, sulfur-gypsum interaction, sulfur oxidation.

INTRODUCTION

The increasing world population and its demands for agricultural products are responsible for rapid changes in land patterns, including intensive use of new techniques and inputs to maximize productivity of field crops, especially in arid and semiarid regions where animal production is limited by widespread deficiency of protein. The use of legume species is of great importance because it may provide nitrogen to the system and to supply protein without application of nitrogen fertilizers (Cruz et al., 1997).

Soil salinity and sodicity are the most important aspects that claimed to solution in semiarid regions, especially by their high content of sodium carbonate which negatively affects the nutrient availability and high pH values (Gupta and Abrol, 1990). Several studies have been carried in semiarid regions and they agree that reduction on soil productivity is due to salinity and sodicity problems and that is absolutely necessary the salinity control to improve productivity and quality of crop yields (Ayars *et al.*, 1993; Gheyi et al., 1995; Stamford et al., 2003).

Gypsum has been frequently used in the amendment of sodic soil, particularly due to its low cost. Indeed in most cases is required application of large amounts of this material, and the effect in soil pH is almost insignificant (Gheyi et al., 1995; Stamford et al., 2002). On the other hand, sulfur inoculated with oxidative bacteria of the genus *Acidithiobacillus*, which produces sulfuric acid (Garcia Junior, 1992) contribute decisively reduce soil pH

and improve the physical conditions frequently achieved in alkaline soils (Myiamoto and Enriquez, 1990).

Studies carried out in soils of the Brazilian Northeast semiarid region reported that sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* can be considered a promising material in the reclamation of saline sodic soils, due to the effect in reduction of soil pH (Stamford *et al.*, 2002 and 2003).

Sulfur oxidizing bacteria have a significant ecological impact in nature due to its role in promoting the availability of elemental sulfur that is oxidized to sulfate and in the solubilization of soil unavailable phosphorus (El-Tarabily *et al.*, 2006). Sulfur oxidizing bacteria occurs naturally in soils and the most important species are included in the genus *Acidithiobacillus* (Kelly and Wood, 2000). However, they are not so abundant in agricultural soils and to obtain satisfactory effect in sodic soil reclamation the sulfur oxidizing bacteria need to be introduced.

Stamford *et al.* (2007) evaluate the effects of the combined effects of sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* and gypsum applied in different rates and proportions but in the specific literature of sodic soil reclamation, there is no information on plant growth. In the same way, there are no references about the effects of rock biofertilizers application in alkaline soils.

The overall aim of the work was to evaluate the effects of sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* and gypsum applied in different rates and mixing proportions on biomass yield and nutrients uptake of cowpea. The effects of phosphorus and potash rock biofertilizers in a saline sodic soil of the Brazilian semiarid region was also studied.

MATERIAL AND METHODS

An alluvial soil classified as Sodic Saline Neossolo Flúvico medium textured (Embrapa, 1999) was used. The soil (0-30cm layer) was collected in a small farm area in the District of Pesqueira, semi-arid region of Pernambuco state, Northeast Brazil, at 7° 59' 0", of south latitude, 38° 19' 16" of west longitude and altitude of 500 m. The soil was air dried, sieved (5 cm sieve), mixed, analyzed according to Embrapa (1997) and kept in pots (10 kg capacity). The soil chemical analysis showed (Table 1).

Table 1. Chemical properties of soil

Attributes	Results
pH em água (1: 2,5)	10,5
Na ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	3,55
K ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,87
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	8,79
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	1,96
CE ⁽¹⁾ (dS m ⁻¹)	22,7
PST ⁽²⁾ (%)	23,40

⁽¹⁾ condutividade elétrica do extrato da pasta saturada ⁽²⁾ Percentagem do sódio trocável

Soil sodicity was amended using sulfur inoculated with the oxidizing bacteria *Acidithiobacillus thiooxidans* (S*) and gypsum (G), applied in different rates (0,8; 1,6; 2,4 e 3,2 t ha⁻¹) and mixing proportions (S*:G) equivalent to 100:0; 75:25; 50:50; 25:75 and 0:100 (w/w). There was a control treatment with no S and G applied. For best results in bacterial oxidation, the soil was incubated for 45 days and irrigated daily using slightly saline water (0.2 dS m⁻¹). During the incubation period (45 days), enough water (2 liters pot⁻¹) was applied, at 15, 30 and 45 days, to improve salt leaching, particularly sodium. The experiment was carried out according to details described by Stamford et al. (2007) with the aim to evaluated the effects of rates and mixture of S*:G in soil chemical attributes.

The P and K biofertilizers were produced from phosphate rock (apatite) and potash rock (biotite) plus sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* following Stamford *et al.* (2006). In all pots, prior to sowing, the rock biofertilizers were mixed and applied in rates recommended for cowpea (IPA, 1998). Seeds of cowpea (cv. IPA 206) were surface-sterilized in 70% ethyl alcohol for 1 min, followed by immersion in HgCl₂ (1:500) for 0.5 min, and washed six times with sterile water. Seeds (4 pot⁻¹) were sown at a depth of 3 cm, and when emergence was completed (5 DAE) the seedlings were thinned to one per pot. All plants were inoculated with rhizobia (strains NFB 516 + NFB 700), selected for salinity conditions in previous experiment (Stamford *et al.* 2005), applying 2 mL pot⁻¹, of inoculant liquid containing more than 10⁸ C.f.u. mL⁻¹.

During the experimental period soil moisture was maintained near field capacity, by daily application of water with the following chemical attributes: E.C. = 0.2 dS m⁻¹; cations (cmol_c dm³) Na⁺=2.4, K⁺= 0.3, Ca⁺²=1.1, Mg⁺²=1.0. Plants of cowpea were harvested 45 days after sowing and determined: dry matter (DM), total Na, total P and total K in shoots according to Malavolta *et al.* (1989) methodology. Soil samples were analyzed in relation to pH, available P, K and exchangeable Na, following Embrapa (1997).

The experiment was conducted in a completely randomized factorial design (4x5+1), being 4 rates of amendments, five proportions (S*:G), with four replicates. A treatment with no gypsum and sulfur application was used for comparative purposes. The statistical analysis was carried out using the SAS software (SAS Institute, 1999) and the averages were compared by the Tukey test at probability P≤0.05

RESULTS AND DISCUSSION

Effects on soil attributes before and after biofertilizers application

The data obtained for soil pH, exchangeable cations (Na^+ , Ca^{2+} and Mg^{2+}) prior to amendment application (45 days), and after cowpea growth following fertilization with PK rock biofertilizers are presented in Table 2.

The soil pH was affected by amendment application and a reduction in the soil pH was observed when sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* was applied, especially in the highest rates. The effect of sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* was evident and gypsum had no sensible effect on soil pH. Before application of PK biofertilizers the lowest value of soil pH (6.9) was obtained when the amendment was used the highest rate of 3.2 kg ha^{-1} and in mixing proportion (S*: G) equivalent to 100:0 proportion.

Stamford et al. (2002, 2003 and 2007) working with Brazilian soils from the semi-arid region obtained similar results using sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* and comparing with gypsum in different rates. These authors observed great effect of the sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* in the decrease of soil pH. Similar results were obtained by Myiamoto *et al.* (1986) and Bajwa *et al.* (1993), in clay and silt-clay soils of the African semiarid region. According to NAaidu and Rengasamy (1993), soils with alkaline pH affect plant growth with nutritional disequilibrium on nutrient availability, especially magnesium, iron and manganese, and also affecting calcium - magnesium relationships.

The soil chemical results after harvesting showed that soil pH was drastically reduced by the PK biofertilizers application, showing values lower than 5.0, probably due to the effect of *Acidithiobacillus*, which react in soil producing sulfuric acid. Stamford et al., (2003, 2004, 2005 and 2006) described the acidifying effect of biofertilizers produced from phosphate rock plus sulfur inoculated with *Acidithiobacillus*, working with acid soils of the low coastal plateaus of Northeast Brazil (Pernambuco state) grown with cowpea (*Vigna unguiculata*), yam bean (*Pachyrhizus erosus*) and mimosa (*Mimosa caesalpinifolia*).

The results of exchangeable sodium in the soil showed the effects of the amendments, especially when applied in higher rates, promoting decrease in soil sodium, with significant differences ($P \leq 0.05$) between proportions (S*:G). The lowest values of exchangeable sodium were obtained applying sulfur and gypsum in the rates 25:75 and 50:50, resulting in better conditions to plant growth. In general the best results of exchangeable sodium after 45 days of amendment application are below the rate $4.0 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ (Richard, 1954), and do not promote injurious effects on plant growth (Table 2).

Table 2. Soil pH and exchangeable cations in a saline sodic soil of the Brazilian semiarid region amended with sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* (S*) and gypsum (G) in different rates and mixed proportions (S*: G) before biofertilizer application (-PK), and after biofertilizer application (+PK).

Rates and Proportions (S*:G)	Soil pH		Na ⁺		Ca ⁺²		Mg ⁺²	
	- PK	+ PK	- PK	+ PK	-PK	+PK	-PK	+ PK
	H ₂ O (1:2.5)		cmol _c dm ⁻³					
0.8 t ha⁻¹	8.5b	5.5c	15.3b	6.5b	2.2b	3.1b	0.95b	0.22a
1.00: 0.00	8.3b	5.4b	15.1a	7.9a	2.3a	3.2a	0.99a	0.20a
0.75:0.25	8.3b	5.2b	15.4a	5.8c	2.4a	2.2b	0.96a	0.24a
0.50:0.50	8.4b	5.3b	15.5a	7.4a	1.9b	3.9a	0.84a	0.19a
0.25:0.75	8.7a	5.6b	15.6a	4.6c	2.0a	3.1a	0.93a	0.20a
0.00:1.00	8.8a	5.9a	15.1a	6.6ab	2.2a	3.3a	0.95a	0.17a
1,6 t ha⁻¹	8.4b	5.8b	13.4b	5.7c	2.4b	2.9b	0.92b	0.27a
1.00: 0.00	8.0b	4.8c	16.0a	7.5a	2.4a	3.7a	1.05a	0.23c
0.75: 0.25	8.4b	5.5b	14.0a	6.1b	2.7a	3.7a	1.00a	0.44a
0.50:0.50	8.4b	5.7b	16.4a	4.5c	1.6b	3.0ab	0.73b	0.32b
0.25: 0.75	8.5b	6.3a	10.2b	2.7d	2.6a	2.9ab	1.01a	0.19c
0.00: 1.00	8.6a	6.9a	10.6b	7.8a	2.5a	3.3a	0.83b	0.21c
2,4 t ha⁻¹	8.0b	6.0b	9.9c	4.2d	1.6c	3.4ab	0.84c	0.23a
1.00:0.00	7.1c	5.6b	12.6a	6.8a	2.5a	3.4a	1.02a	0.20b
0.75:0.25	7.8b	5.5b	9.4b	3.6b	2.5a	3.5a	0.85b	0.34a
0.50:0.50	8.1ab	5.9ab	9.6b	2.8b	1.5b	3.4a	0.66d	0.28ab
0.25:0.75	8.3a	6.4a	9.0d	2.4c	0.9c	2.5b	0.93ab	0.16b
0.00:1.00	8.5a	6.6a	8.9bc	5.6ab	0.8c	3.0ab	0.74c	0.17b
3,2 t ha⁻¹	7.7c	6.0b	10.4c	5.4c	2.1b	2.9b	0.94b	0.23a
1.00: 0.00	6.9c	5.1b	10.9a	5.0b	1.5b	3.9b	0.78b	0.20a
0.75: 0.25	7.8b	5.3b	10.5a	5.1b	1.7b	5.0a	0.98ab	0.29a
0.50: 0.50	7.6b	6.3a	10.4a	3.9c	1.9b	1.2c	0.85b	0.24a
0.25: 0.75	7.8b	6.4a	10.2a	5.8b	2.5a	1.8c	1.00a	0.24a
0.00: 1.00	8.4a	6.7a	10.2a	7.1a	2.7a	2.5bc	1.10a	0.20a
Control 0:0	9.7a	9.5a	23.0a	10.0a	3.5a	3.8a	0.13d	0.14b

¹ Means followed by different letters are significantly different at $p \leq 0.05$ by Tukey test. C.V. (%) = pH (-PK) 10.9; (+PK) 9.8; Na (-PK) 12.9; (+PK) 18.3; Ca (-PK) 15.3; (+PK) 18.9; Mg (-PK) 9.0; (+PK) 13.7.

In reference to exchangeable sodium the application of PK biofertilizers showed significant effect ($P \leq 0.05$) between treatments with sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* and gypsum applied in the same proportion, especially in the higher rates. The marked reduction in exchangeable sodium in the soil complex, in the presence of gypsum supports the findings of Holanda et al. (2000) and Armstrong and Tanton (1992) who reported significant reduction in exchangeable sodium after the application of gypsum. Gheyi et al. (1995) obtained similar results with gypsum and sulfuric acid applications.

The effect of amendment in exchangeable calcium and magnesium are the same observed to sodium. Sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* and gypsum applied in 2.4 t ha⁻¹ rate and in the proportions (25:75 and 50:50) resulted in the lowest amounts of calcium and magnesium (8,1 cmol_c dm⁻³ and 6,6 cmol_c kg⁻¹), respectively. The data showed significant differences to the others treatments, specially to the control with 34, 8 e 13, 4 cmol_c dm⁻³, respectively. The higher values of calcium were observed with the application of gypsum due to the contribution of calcium sulfate. Moolman (1989) observed the effect of gypsum applied in sodic soils of semiarid regions and reported the increase on soil exchangeable calcium. After PK biofertilizers application the same behavior observed in the exchangeable sodium amounts was verified to calcium and magnesium, with best values when higher amounts of sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* and gypsum (2,4 and 3,2 t ha⁻¹) were applied, and especially with application of sulfur and gypsum in proportions 25:75 and 50:50.

Effects of P K biofertilizers on plant

The results of P and K biofertilizers on cowpea shoot dry biomass, after soil amendment, are presented in Table 3.

Table 3. Cowpea shoot dry biomass and total sodium uptake in a semiarid sodic soil amended with sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* (S*) and gypsum (G), applied in different rates and mixed proportions (S*: G) after biofertilizer application (+PK).

Amendment proportions (S*:G)	Rate of amendment applied (t ha ⁻¹)				Means
	0,8	1,6	2,4	3,2	
Cowpea shoot dry biomass (g plant ⁻¹)					
100: 0	0.92bA	0.88bA	0.62dA	0,88Ca	0.82c
75: 25	1.60aA	1.33abB	1.19bC	1.11bC	1.31b
50: 50	1.65aB	1.17bC	2.54aA	1.55bB	1.63a
25: 75	1.32bC	1.99aA	1.63bB	1.94aA	1.72a
0: 100	0.98bB	0.89bB	1.32cA	0.82cB	1.00c
Total sodium uptake in cowpea dry shoot biomass (mg plant ⁻¹)					
100: 0	24,9bA	24,8bA	20,8cB	26,0bA	24,1c
75: 25	27,5bB	38,0aA	22,6cB	26,6bB	28,7ab
50: 50	37,1aA	20,8bB	37,3aA	31,7aAB	31,7a
25: 75	30,6abA	32,6aA	29,8bA	30,4aA	30,8a
0: 100	16,7cB	24,4bA	26,4bA	18,4cB	21,4c

¹ G correspond to gypsum and S* is sulfur inoculated with *Acidithiobacillus*. Means followed by different letters are significantly different at $p \leq 0.05$ by Tukey test. C.V. (%) cowpea dry biomass = 8.2; Total sodium uptake = 15.8

It was observed that the effect of PK fertilization on cowpea growth was dependent upon the amendment treatment. In the control treatment (soil with no S* and G applied) and with no biofertilizer application, seeds germination was not observed, and when pre-germinated seedlings were transplanted no growth was observed. The best response of cowpea growth was observed when the amendments were applied in the rate of 2.4 t ha⁻¹ and in proportion S*: G equivalent to (50:50), especially in rate 3,2 t ha⁻¹ with S*:G proportion (25:75). In general, it was observed that small growth was obtained when only sulfur or gypsum was applied.

Interaction between sulfur and gypsum on salinity reclamation and nutrient uptake were observed in Table 4.

Table 4. Total P and total K in shoot dry biomass of cowpea grown in a semiarid sodic soil after amendment with sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* (S*) and gypsum (G) applied in different rates and mixed proportions (S*: G) after biofertilizer application (+PK).

Amendment proportions (S*:G)	Rate of amendment applied (t ha ⁻¹)				Means
	0,8	1,6	2,4	3,2	
Total P uptake in cowpea shoot dry biomass (mg plant ⁻¹)					
100: 0	6.6bB	6.5bB	5.0bB	11.1aA	7.3b
75: 25	13.2aA	12.0aA	9.5bB	9.3aB	11.0a
50: 50	12.0aB	11.8aB	18.9aA	11.3aB	12.0a
25: 75	9.4abB	14.7aA	11.8bAB	14.3aA	12.6a
0: 100	7.1bA	7.0bA	9.4bA	8.7bA	8.1b
Total K uptake in cowpea shoot dry biomass (mg plant ⁻¹)					
100: 0	30.1bA	32.4bA	16.8dB	24.6cAB	26.0c
75: 25	58.6aA	38.7bB	37.7cB	41.9bB	44.2b
50: 50	48.9aC	24.8cD	84.6aA	52.2bB	52.7a
25: 75	40.0abC	58.1aB	54.0bB	72.6aA	56.2a
0: 100	37.1bAB	29.2bB	43.0cA	28.3cB	34.4c

¹G correspond to gypsum and S* is sulfur inoculated with *Acidithiobacillus*. Means followed by different letters are significantly different at $p \leq 0.05$ by Tukey test. C.V. (%) Total P uptake = 13.4; Total K uptake = 12.6

The best results for total P and total K accumulation in shoot dry matter were obtained when S*:G were applied in the proportions 25: 75 and 50:50. In a general way, the nutrient up take was greater in the treatments related with higher plant growth. On the other hand soil available P and K increased also in the treatments with higher P and K uptake measured by the cowpea shoot dry matter (Table 5), probably because in the treatments with higher amounts of sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* the acid production increase available P and K in soil.

Table 5. Available P and available K in soil in a sodic soil after amendment with sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* (S*) and gypsum (G) applied in different rates and mixed proportions (S*:G) after biofertilizer application (+PK).

Amendment treatments (S*:G)	Rate of amendment applied (t ha ⁻¹)				Means
	0,8	1,6	2,4	3,2	
Available P in soil (mg dm ⁻³)					
100: 0	71aB	73aB	79aA	82aA	76a
75: 25	79aA	77aA	70aB	76bA	76a
50: 50	42bC	76aB	76aB	85aA	70a
25: 75	65abB	65bB	52bC	82aA	66b
0: 100	52bC	72aB	72aB	82aA	69ab
Available K in soil (mg dm ⁻³)					
100: 0	214aA	234aA	221aA	221aA	222a
75: 25	234aA	208aA	227aA	214aA	221a
50: 50	195abA	221aA	149bB	208aA	193ab
25: 75	182bA	182bA	175bB	201aA	185b
0: 100	155cB	182bA	149bB	188bA	169b

¹G correspond to gypsum and S* is sulfur inoculated with *Acidithiobacillus*. Means followed by different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey test. C.V. (%) Available P = 15.3; Available K = 11.0.

The use of sulfur inoculated with oxidative bacteria is a very important subject of research regarding the effect of the application of this product on the availability of nutrients contained in the minerals, especially in the production of P and K biofertilizers from rocks. El Tarabily et al. (2006) observed the effect of sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* using different oxidative bacteria in solubilization of nutrients when applied to calcareous soils. These results are in accordance with Stamford et al. (2007) evaluating different rates and mixed proportions of sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* and gypsum.

Application of sulfur with *Acidithiobacillus* needs to be well evaluated, due to the effect of sulfuric acid promoting soil acidification and, in some cases, particularly in acid

soils, may result in displacement of exchangeable Al^{+3} that is harmful to plant growth, depending on soil and fertilizers applied (Stamford et al. 2002, 2005 and 2006).

The results suggested that studies are necessary to evaluate the effect of amendments in different soils, due to the effect on soil pH. Reduction of pH in sodic soils to values around 6.0-6.5 may improve plant growth, especially in tropical crops.

CONCLUSIONS

Gypsum or sulfur applied individually is not efficient in the reclamation of sodic soils. Sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* oxidative bacteria was more efficient than gypsum in decreasing soil pH. Interaction with sulfur and gypsum was observed, and the best results on soil reclamation, cowpea plant growth and nutrient uptake were obtained with sulfur and gypsum applied in proportion 50:50 and 25:75. The application of PK rock biofertilizers also contributed to a sharp soil pH decrease.

Acknowledgements

This work was supported by CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil) and FACEPE (Fundação de Apoio a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco, Brasil), and also we would like to acknowledge CNPq to the fellowships.

REFERENCES

ARMSTRONG, A. S. B., TANTON, T. W., 1992. Gypsum applications to aggregated saline-sodic clay topsoils. *J. Soil Sci.* 43, 249-260.

- AYARS, J. G., HUTMACHER, R. B., SCHONEMAN, R. A., VAIT, S. S., PFLAUM, T. 1993. Long term use of saline water for irrigation. *Irrig. Sci.* 14, 27-34.
- BAJWA, M. S., JOSAN, A. S., CHOODHARY, O. P., 1993. Effect of frequency of sodic and saline-sodic irrigations and gypsum on the build-up of sodium in soil and crop yields. *Irrig. Sci.* 14, 21-26.
- CRUZ, G. N., STAMFORD, N. P., SILVA, J. A. A., CHAMBER, P. M., 1997. Effects of inoculation with *Bradyrhizobium* and urea application on nitrogen fixation and growth of yam bean (*Pachyrhizus erosus*) as affected by phosphorus fertilizers in an acid soil. *Trop. Grass.* 31, 538-542.
- EL TARABILY, K. A., SOAUD, A. A., SALEH, M. E., MATSUMOTO, S., 2006. Isolation and characterization of sulfur-oxidizing bacteria, including strains of *Rhizobium* from calcareous sandy soils and their effects on nutrient uptake and growth of maize (*Zea mays* L.). *Austr. J. Agric. Res.* 57, 101-111.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1997. Manual de Métodos de Análises de Solos. Rio de Janeiro. 212p.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2006. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Rio de Janeiro. 412p.
- GARCIA JUNIOR, O. O enxofre e suas transformações microbianas. In: Cardoso E., Saito, M.T. & Neves, M.C.P. **Microbiologia do solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas pp.243-255. 1992.
- GHEYI, H. R., AZEVEDO, N. C., BATISTA, M. A., SANTOS, J. G. R., 1995. Comparação de métodos na recuperação de arroz em solo sódico. *Rev. Bras. Ci. Solo.* 19, 173-178.
- GUPTA, R. K., ABROL I.P., 1990. Salt-affected soil: then reclamation and management for crop production. *Adv. Soil Sci.* 11, 223-228.
- HOLANDA, J. S., VITTI, G. C., SALVIANO, A. A. C., MEDEIROS, J. D. F., AMORIM, J. R. A., 2000. Alterações nas propriedades de um solo aluvial salino-sódico decorrentes da subsolagem e do uso de condicionadores. *Rev. Bras. Ci. Solo.* 22, 387-394.
- IPA. 1998. Recomendações de adubação para o estado de Pernambuco. 2ª ed. Recife. Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária. 198p.
- KELLY, D.P., WOOD, A. P., 2000. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. *Intern. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50, 511 – 516.
- MALAVOLTA, E., VITTI, G. C., OLIVEIRA, S. A. 1989. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba, Potafos. 201p.

- MYIAMOTO, S., ENRIQUEZ, C., 1990. Comparative effects of chemical amendments on salt and Na leaching. *Irrig. Sci.* 11, 83-92.
- MIYAMOTO, S., RILEY, T., GOBRAN, G., Peticlew, J., 1986. Effects of saline water irrigation on soil salinity, pecan tree growth and nut production. *Irrig. Sci.* 7, 83-95.
- MOOLMAN, J. H., 1989. The effect of a change in irrigation water quality on the salt load of the deep percolate of a saline sodic soil- A computer simulation study. *Irrig. Sci.* 6, 19-28.
- NAIDU, R.; REGASAMY, P. 1993. Ion interactions and constraints to plant nutrition in Australian sodic soils. *Aust. J. Soil Res.*, 31, 801-819.
- RICHARDS, L. A., 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. U.S. Department of Agriculture Handbook 60. (U.S. Government Printing Office: Washington).
- SAS Institute., 1999. The SAS System for Windows. CD – ROM for Windows 32 – bits.
- STAMFORD, N. P., FREITAS, A. D. S., FERRAZ, D. S., SANTOS, C. E. R. S., 2002. Effect of sulfur inoculated with *Thiobacillus* on saline soils amendment and growth of cowpea and yam bean legumes. *J. Agric. Sci.* 139, 275-281.
- STAMFORD, N. P., FREITAS, A. D. S., FERRAZ, D. S., MONTENEGRO, A., SANTOS, C.E.R.S., 2003 Nitrogen fixation and growth of cowpea and yam bean legumes in a sodic soil as affected by gypsum and sulfur inoculated with *Thiobacillus* and rhizobial inoculation. *Trop. Grassl.* 38, 1-7.
- STAMFORD, N. P., MOURA, A. M. M. F., SANTOS, K. S. R., SANTOS, P. R., 2004. Atuação de *Acidithiobacillus* na solubilização de fosfato natural em solo de tabuleiro cultivado com jactupé (*Pachyrhizus erosus*), *Rev. Bras. Ci. Solo.* 28, 75-83.
- STAMFORD, N. P., SANTOS, C. E. R. S., SANTOS, P. R., SANTOS, K. S., MONTENEGRO, A., 2005. Effects of rock phosphate, sulfur with and without *Acidithiobacillus* and organic by-products on mimosa (*Mimosa caesalpinifolia*) grown in a Brazilian tableland soil. *Trop. Grassl.* 39, 54-61.
- STAMFORD, N. P., Lima, R. A., SANTOS, C. E. R. S., DIAS, S. H. L., 2006. Rock biofertilizers with *Acidithiobacillus* on sugarcane yield and nutrient uptake in a Brazilian soil. *Geomicrob. J.* 23, 261-265.
- STAMFORD, N. P., RIBEIRO, M. R., CUNHA, K. P. V., FREITAS, A. D. S., SANTOS, C. E. R. S., DIAS, S. H. L., 2007. Effectiveness of sulfur with *Acidithiobacillus* and gypsum in chemical attributes of a Brazilian sodic soil. *World J. Microbiol. Biotechnol.* , 23, 1433 – 1439.

CAPÍTULO 2

***Bradyrhizobium sp.* e biofertilizantes de rochas com *Acidithiobacillus* e gesso no caupi em um solo Neossolo Flúvico salino-sódico**

***Bradyrhizobium sp.* e biofertilizantes de rochas com *Acidithiobacillus* e gesso no caupi em um solo Neossolo Flúvico salino-sódico**

Sebastião da Silva Júnior, MSc, Newton Pereira Stamford, Ph.D; Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos Ph.D ; Maria de Fátima Cavalcanti Barros, Ph.D

RESUMO - Com o objetivo de avaliar os efeitos da aplicação de corretivos em um solo salino-sódico aplicou-se enxofre com *Acidithiobacillus* e gesso, em mistura com diferentes proporções e na dose equivalente a $1,0 \text{ t ha}^{-1}$. Trinta dias após a adição dos corretivos adicionou-se uma lâmina de lixiviação ($2,0 \text{ L vaso}^{-1}$), e em seguida foi cultivado o feijão caupi (cv. IPA 206), com os tratamentos nitrogenados: N mineral (50 kg ha^{-1}); inoculação com as estirpes de rizóbios NFB 700, SEMIA 6156 e BR 3267, e o controle sem N. O solo foi utilizado sem processo de esterilização (solo natural). Na fertilização com P e K foram usadas as fontes: (a) biofertilizante de rocha fosfatada e potássica (BP+BK) e (b) fertilizantes minerais - super fosfato simples (SFS) e cloreto de potássio (KCl), nas doses: (P1K1) - recomendada pela análise do solo; (P_{1,5} K_{1,5}) - 1,5 vez a recomendação; e (P₂K₂) - o dobro da recomendação, mais o controle, sem adição de P+K. Nas plantas determinou-se: biomassa seca da parte aérea; biomassa seca de nódulos; N, P e K total na biomassa seca da parte aérea, e no solo: pH, condutividade elétrica (C.E.), S-SO₄⁻², P e K disponível e cátions trocáveis (Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺ e Na⁺). A aplicação de enxofre com *Acidithiobacillus* mais gesso (1 t ha^{-1}), na proporção percentual 50:50 mostrou-se efetiva no melhoramento do solo, possibilitando o desenvolvimento normal das plantas e boa nodulação. Por outro lado, no solo sem aplicação dos condicionadores as plantas não germinaram. As estirpes de rizóbios utilizadas foram eficientes e comparadas com a fertilização com N mineral. O biofertilizante de rochas com *Acidithiobacillus* pode ser usado como alternativa em

substituição a fertilizantes solúveis (SFS+KCl) em solo salino, após atuação dos condicionadores.

Termos para indexação: *Vigna unguiculata*, atributos químicos do solo, bactéria oxidante do enxofre, fertilização com N, P e K.

Response of cowpea to rock biofertilizers and rhizobia in a saline sodic soil after application of sulfur inoculated with *Acidithiobacillus* and sulfur

ABSTRACT - To evaluate the effects of sulfur with *Acidithiobacillus* and gypsum mixed in different proportions and applied in a rate equivalent to 1,0 t ha⁻¹ in reclamation of a saline sodic soil. Thirty days after amendment was applied a lixiate layer (2,0 L pot⁻¹) and following was grown cowpea (cv. IPA 206), with N treatments: N mineral (50 kg ha⁻¹); rhizobia strains: NFB 700; SEMIA 6156 and BR 3267 and a control without N. Two sources of P were used: (a) biofertilizer from phosphate and potash rocks (BP+BK) and (b) P and K mineral fertilizers - simple superphosphate plus potassium chloride (SSP+KCl), in rates: ((P₁K₁) – rate recommended by soil analyses; (P_{1,5} K_{1,5}) - 1,5 times recommendation; and (P₂K₂) – two times recommendation. A control treatment with no P and K applied was used. In plants were determined: shoot dry matter, nodules dry matter, total N, P and K in shoot dry matter; and in soil analyzed: Soil pH, electrical conductivity (E.C.), total N, S-SO₄⁻², available P and K, and exchangeable cations (Na⁺, K⁺, Ca²⁺ and Mg²⁺). Sulfur with *Acidithiobacillus* plus gypsum (1 t ha⁻¹) applied in proportional mixture 50:50 was effective in sodic soil reclamation, and promoted plant development and effective cowpea nodulation with rhizobia. In soil without amendment application seeds have not germinated. The applied strains were as effective as N mineral fertilization and the PK rock biofertilizers with *Acidithiobacillus* may be used as alternative to soluble fertilizers (SSP+KCl) in saline soil after reclamation.

Index terms: *Vigna unguiculata*, N, P and K fertilization, soil chemical attributes, sulfur oxidizing bacteria

INTRODUÇÃO

A salinidade e, em especial, a sodicidade do solo é um dos principais obstáculos para o uso sustentável de solos na região semi-árida e afeta pequenos, médios e grandes produtores, resultando em prejuízos econômicos e sociais. Considerando a redução da disponibilidade de áreas produtivas na região semi-árida decorrente da continua salinização do solo, há uma demanda por ações que possibilitem a exploração desses solos e o resgate de sua vocação produtiva (Stamford, 2002 e 2003).

Apartir da década de noventa, o gesso começou a ser utilizado para recuperação de solos salinos / sódicos, entretanto esse produto não promove redução no pH do solo, e, portanto, reduz sua contribuição para reverter o processo de sodificação. O uso de processos biotecnológicos vem mostrando resultados satisfatórios, e as bactérias oxidantes do enxofre (*Acidithiobacillus*) que são capazes de produzir H_2SO_4 (Garcia Junior, 1992), poderão contribuir para a redução do pH do solo, amenizando as condições adversas que ocorre em solos com pH elevado.

Por outro lado, a correção de um solo salino-sódico requer que o excesso de sódio trocável seja substituído por cátions trocáveis como cálcio e magnésio, e que o elemento seja removido da zona das raízes, contribuindo para proporcionar condições para o desenvolvimento normal das culturas.

O biofertilizante produzido com enxofre elementar inoculado com *Acidithiobacillus* vem demonstrando que pode ser utilizado tanto no condicionamento da sodicidade do solo como também na adição de P disponível para as plantas (Stamford et al. 2003 e 2005 e

2007a). A sua efetividade depende da oxidação biológica realizada por microrganismos presentes no biofertilizante ou nativos do solo, sendo mais comum a atuação de bactérias oxidantes do enxofre do gênero *Acidithiobacillus* (Garcia Junior, 1992, El Tarabily et al. 2006), conforme a seguinte equação:



Assim, a aplicação de S elementar usado na produção do biofertilizante poderá ter grande significado agrônômico. Primeiro, pela presença de SO_4^{2-} , produzido pela oxidação biológica do S, que é requerido em grandes quantidades pelas plantas e, segundo, pela ação direta e indireta do H_2SO_4 sobre o pH do solo. A redução do pH pode ser extremamente necessária para o desenvolvimento das plantas em solos com elevado pH.

A cultura do feijão caupi (*Vigna unguiculata*) pode se desenvolver satisfatoriamente em solos com baixa fertilidade natural e baixa precipitação, além de ser capaz de tolerar altas temperaturas e estresse salino. A leguminosa possui alto valor nutritivo e é considerada a principal cultura de subsistência no semi-árido nordestino, como também constitui proteína básica da alimentação humana em diversos países (Embrapa, 2005). A otimização da Fixação Biológica de Nitrogênio - FBN com a seleção conjunta do macrossimbionte (feijão caupi) e do microssimbionte (rizóbio) contribui para aumento da produtividade de grãos com considerável economia no custo de produção.

A eficiência da fixação do nitrogênio é, na maioria das vezes, prejudicada pela salinidade do solo e pela ocorrência de deficiência de nutrientes, notadamente o fósforo, e o sucesso no estabelecimento da nodulação e a eficiência da fixação de N_2 das leguminosas dependem de uma adequada nutrição fosfatada (Burity et al., 2000).

O presente trabalho tem como objetivos: avaliar a atuação da melhor dose e proporção S*:G em atributos químicos do solo, observar o desenvolvimento do caupi (nodulação, biomassa seca da parte aérea e absorção de nutrientes), após aplicação dos condicionadores

do solo, verificar a viabilidade do uso de biofertilizante de rocha fosfatada e potássica (BP+BK) na redução do pH e na disponibilidade de P e K no solo e averiguar o efeito da inoculação com diferentes estirpes de rizóbios no caupi, após aplicação dos condicionadores (S:G).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado com um solo de uma área localizada no município de Serra Talhada no Estado de Pernambuco com clima Bsw'h' de acordo com a classificação de Köppen, adaptada no Brasil, muito quente e semi-árido, meso-região do Sertão do Alto Pajeú, tendo o solo sido classificado como solo Neossolo Flúvico salino-sódico textura média (DNOCS, 1999). Amostras do solo foram coletadas na camada de 0 a 20 cm, secas ao ar, destorroadas e peneiradas (peneira de 2 mm), (Figura 1).



Figura 1. Fotos da coleta do solo (município Serra Talhada - PE).

Características físicas e químicas da amostra de solo

Após coletadas, as amostras foram secas ao ar destorroadas e passadas em peneiras de 2 mm de malha. A pasta saturada foi preparada seguindo a metodologia descrita por RICHARDS (1954). No extrato da pasta saturada foram determinados a condutividade elétrica (CE), o cálcio, e o magnésio por espectrofotometria de chama. O sulfato foi

determinado por colorimetria com precipitação com cromato de bário, seguindo a metodologia da EMBRAPA (1997).

Aplicando a metodologia da RICHARDS (1954), foram determinados: a capacidade de troca de cátions (CTC) pelo método do acetato de sódio. Os cátions trocáveis foram extraídos com uma solução de acetato de amônio 1mol/L a pH = 7,0. Após a extração o sódio e potássio foram determinados por fotometria de chama e cálcio e o magnésio por espectrofotometria de absorção atômica (Figura 2). A percentagem de sódio trocável (PST) foi obtida a partir dos dados da CTC e do sódio trocável, pela equação:

$$PST = \frac{NA^+}{CTC} \times 100$$

A composição granulométrica foi determinada pelo método de BOYOUCOS (1962), após lavagem com etanol a 60% até a eliminação total de cloretos. Utilizando a metodologia descrita pela EMBRAPA (1954) foram determinados: a densidade das partículas, pelo método do balão volumétrico, a densidade densidade do solo pelo método do torrão parafinado.



Figura 2. Espectrofotômetro de absorção atômica (aparelho utilizado para leitura dos cátions trocáveis).

Após a realização das análises química e física do solo, obtiveram-se os seguintes resultados (Tabela 1).

Tabela 1. Característica química e física da amostra de solo.

Atributos	Resultados
pH em água (1:2,5)	9,40
P(mg dm ⁻³)	48,20
Na ⁺ (cmol _c .dm ⁻³)	3,10
K ⁺ (cmol _c .dm ⁻³)	0,32
Ca ²⁺ (mg dm ⁻³)	6,00
Mg ²⁺ (mg dm ⁻³)	4,30
Al ³⁺ (mg dm ⁻³)	0,00
CE ⁽¹⁾ a 25 ^o C (dS.m ⁻¹)	6,20
PST ⁽²⁾ (%)	24,23
S-SO ₄ ⁻² (mg dm ⁻³)	893
N total (g kg ⁻¹)	0,41
C org. (g kg ⁻¹)	9,77
Areia (g.Kg ⁻¹)	461,00
Silte (g.Kg ⁻¹)	268,00
Argila (g.Kg ⁻¹)	271,00
Relação Silte/Argila (%)	0,92
Argila dispersa em água (g.Kg ⁻¹)	17,80
K ₀ ⁽³⁾ (cm h ⁻¹)	0,00
Densidade Solo (g.cm ⁻³)	1,26
Densidade Partícula (g.cm ⁻³)	2,67

⁽¹⁾ Condutividade elétrica no extrato saturado ⁽²⁾ Percentagem de sódio trocável ⁽³⁾ Condutividade hidráulica

O potássio e o sódio foram determinados por fotometria de chama; o cálcio e o magnésio por espectrofotometria de absorção atômica; e o enxofre por espectrofotometria usando o espectrofotometro (Spectroquant Merck – Modelo Nova 400).

O experimento foi realizado em casa de vegetação da Universidade Federal de Pernambuco, utilizando-se vasos de plástico com capacidade para 8 litros, sendo adicionados por vaso 06 kg de solo (Figuras 3 e 4).



Figura 3. Visualização detalhada dos vasos utilizados no experimento.



Figura 4. Adição de 6 kg de solo por vaso.

Antes do plantio o feijão caupi foi adicionado enxofre elementar inoculado com *Acidithiobacillus* mais gesso, na dose equivalente a 1000 kg ha^{-1} de cada condicionador, visando o controle da sodicidade do solo (Figura 5), com base na metodologia descrita por Stamford et al. (2007b).



Figura 5. Aplicação de enxofre, gesso e inoculação da bactéria (*Acidithiobacillus*).

Após a atuação dos condicionadores no solo por um período de 30 dias, foi aplicada uma lâmina de lixiviação (2 L vaso^{-1}) e determinados: pH, S-SO_4^{-2} , P e K disponível, e cátions trocáveis (Na, Ca, Mg), de acordo com a metodologia da Embrapa (1997). Na pasta saturada determinou-se o pH e a condutividade elétrica do solo, seguindo a metodologia da Embrapa (1997).

As sementes de feijão caupi (cv. IPA 206), resultado de cruzamento entre os genótipos 371 e CNCx 11-2E (IPA, 2002), foram cedidas pelo Laboratório de sementes da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária - IPA. Para evitar a contaminação com rizóbios, possivelmente presentes nas sementes, foi realizada a desinfecção com álcool 70% e em hipoclorito de sódio (1:1000), seguindo-se seis lavagens em água de torneira fervida, com a finalidade de retirar o excesso de hipoclorito. Após a desinfecção realizou-se o plantio, de acordo com os tratamentos previstos no trabalho.

Os inoculantes com as estirpes de rizóbios foram produzidos no Laboratório de Biologia do Solo da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, em meio líquido contendo extrato de levedura e manitol (YM) na fase log (após cinco dias de crescimento), sendo considerada uma concentração mínima de 10^8 ufc mL⁻¹ meio, seguindo a metodologia de Vincent (1970). Foram usadas as estirpes NFB 700, SEMIA 6156 e BR 3267, aplicadas isoladamente (Figura 6).



Figura 6. Plantio do feijão caupi e inoculação da estirpe *bradyrhizobium* BR 3267.

A estirpe NFB 700 foi selecionada para feijão caupi, pelo Núcleo de Fixação Biológica do N₂ nos Trópicos (NFBNT/UFRPE), em ensaios prévios de resistência a alta temperatura e salinidade, em ensaios de laboratório e em experimentos de campo; a SEMIA 6156 foi selecionada pelo MIRCEN (RS) e a BR 3267 foi cedida pelo Centro de Agrobiologia da Embrapa (RJ), e é indicada pela RELARE para inoculação do feijão caupi no Brasil. Esta estirpe foi isolada de solo da região Nordeste do Brasil (Neves et al. 1998).

Para os tratamentos com fósforo e potássio foram usadas as fontes: biofertilizante de rocha fosfatada mais biofertilizante potássico, com enxofre elementar inoculado com *Acidithiobacillus* (BP+BK); e os fertilizantes minerais solúveis superfosfato simples mais cloreto de potássio (SFS+KCl). As duas fontes foram aplicadas nas doses: (P₁K₁) - dose recomendada pela análise do solo; (P_{1,5}K_{1,5}) - 1,5 vez a recomendação; e (P₂K₂) - o dobro da recomendação para feijão caupi no Estado de Pernambuco (IPA, 1998). As quantidades, aplicadas por vaso, foram calculadas para o fertilizante mineral solúvel superfosfato simples (20 % de P₂O₅) e cloreto de potássio (60 % de K₂O). As mesmas quantidades calculadas para os fertilizantes solúveis foram usadas como biofertilizante de rocha com P e K. Foi adicionado o tratamento controle sem adição de P e K (P₀K₀).

O plantio foi realizado no dia 25 de julho de 2007, ou seja, no início do período de estiagem, com temperatura elevada e baixa umidade do ar. Durante o período experimental foi feita monitoração da umidade e temperatura do ambiente, através de termohigrógrafo. A semeadura foi realizada usando bastão de madeira com controle de profundidade, para garantir a colocação da semente de forma homogênea com cerca de 2-3 cm da superfície. Em seguida ao plantio foi realizada a inoculação líquida, com meio de cultivo preparado para cada estirpe, com adição isoladamente, de acordo com o tratamento, aplicando-se 2 mL de inoculante por vaso.

O controle de formigas, e tratamentos fitossanitários não foi necessário, tendo em vista que não ocorreram problemas com doenças e insetos, como mostram as Figuras 7 e 8 respectivamente.



Figura 7. Desenvolvimento do feijão caupi após três semanas do plantio.



Figura 8. Desenvolvimento do feijão caupi após quatro semanas do plantio.

O controle de umidade foi realizado com uso de sistema de drenagem com mangueira, para o recolhimento de água em excesso, através de garrafas de plástico adaptadas no fundo de cada vaso. Quando as plantas iniciaram a fase de floração (45 dias após a semeadura), foi realizada a colheita (Figura 9), da parte aérea e das raízes com nódulos.



Figura 9. Foto geral antes da colheita.

As plantas foram colhidas após 45 dias após o plantio (início do florescimento) para determinação da nodulação (presença ou ausência), produção da biomassa seca da parte

aérea. O N total foi determinado pelo método de Kjeldhal semi-micro, por digestão sulfúrica, P total, K total, Ca e Mg da parte aérea por digestão nitroperclórica, conforme Malavolta et al. (1989). A acumulação de nutrientes na parte aérea foi calculada, em função do teor do nutriente e da matéria seca da parte aérea.

O experimento foi conduzido no esquema fatorial 2x3x5, usando o delineamento em blocos ao acaso, com três repetições (Figura 10).



Figura 10. Disposições das unidades experimentais em bloco ao acaso

A análise estatística foi procedida com o Programa Sisvar (versão 4.0, 2000), e para a comparação de médias foi usado o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parâmetros da planta

Biomassa de nódulos

Os dados obtidos para a biomassa seca de nódulos em feijão caupi no solo salino após adição de mistura enxofre com *Acidithiobacillus* (S*) e gesso (G) na proporção percentual 50:50 e na dose de 1 t ha⁻¹, e com aplicação dos tratamentos com fontes de N, fontes e doses de PK, encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Biomassa seca de nódulos e da parte aérea do caupi inoculado com rizóbios, cultivado em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com *Acidithiobacillus* - S* + gesso - G) e biofertilizante de rochas com P e K⁽¹⁾

Tratamento com Fontes e nas doses	Tratamentos com adição de nitrogênio (N)				
	Sem rizóbio e N	Sem rizóbio+N	BR 3267	NFB 700	SEMIA 6156
P+K	Biomassa seca de nódulos (mg planta ⁻¹)				
Biofertilizante 1,0	122Ba	4Ab	145Aa	188Ba	176Ba
Biofertilizante 1,5	229Aba	9Ab	221Aa	225ABa	329Aa
Biofertilizante 2,0	303Aa	5Ab	231Aa	311Aa	354Aa
Fertilizante 1,0	162Ab	5Ac	388Aa	213Ab	305Aa
Fertilizante 1,5	182Aab	7Ac	152Bab	221Aa	258Aa
Fertilizante 2,0	250Aa	9Ac	166Bab	284Aa	261Aa
Controle (P ₀ K ₀)	209AB	10Ac	239Aa	207Aa	194Ba
	Biomassa seca da parte aérea (g planta ⁻¹)				
Biofertilizante 1,0	6,45Ab	8,19Aa	6,75Aab	5,68Ab	5,56Ab
Biofertilizante 1,5	6,51Aab	8,21Aa	6,45Aab	5,47Ab	5,85Ab
Biofertilizante 2,0	5,51Ba	6,79Aa	5,61Aa	6,27Aa	5,91Aa
Fertilizante 1,0	5,72ABa	7,07Aa	5,59Aa	6,52Aa	6,38Aa
Fertilizante 1,5	6,71Aa	6,27Aa	5,60Aa	5,37Aa	5,95Aa
Fertilizante 2,0	6,10Aa	6,42Aa	6,55Aa	5,47Aa	5,63Aa
Controle (P ₀ K ₀)	5,33ABa	5,34Ba	5,06Ba	5,90Aa	5,73Aa
C.V. (%)	Biomassa seca de nódulos = 30,18; Biomassa seca da parte aérea = 14,19.				

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey $p \leq 0.05$. Letras maiúsculas comparam médias em colunas (fontes de P e K) e letras minúsculas na linha (tratamentos com N).

Os melhores resultados de biomassa seca dos nódulos foram obtidos com o biofertilizante nas doses 1,5 e 2,0 vezes a recomendação para feijão caupi, quando as plantas foram inoculadas com a estirpe SEMIA 6156, seguindo-se a inoculação com a estirpe NFB 700. No tratamento controle sem fertilização com P e K, houve boa nodulação, provavelmente ao fato de que o solo apresenta um teor satisfatório de P e de K.

Por outro lado verifica-se que houve uma resposta estatisticamente diferenciada em relação aos tratamentos com N, com sensível redução na biomassa seca dos nódulos quando aplicado N mineral (50 kg ha⁻¹). O efeito do N mineral reduzindo a nodulação em feijão caupi foi demonstrado por Stamford et al. (2002), em solo sódico da região semi-árida de Pernambuco. Trabalhos mostrando o efeito do N mineral com redução da biomassa seca de nódulos foram realizados com várias leguminosas, valendo ressaltar que Freitas et al.

(2003) usando a estirpe SEMIA 6156 mostraram que esta estirpe foi bastante eficaz na nodulação do guandu.

Trabalhando com feijão caupi inoculado com diferentes estirpes de rizóbios, em solo do semi-árido da Paraíba, Silva (2006) observou que para a biomassa seca de nódulos com rizóbios nativos foi superior a aplicação de inoculantes com estirpes recomendadas. Em solo sódico do semi-árido de Pernambuco, Stamford et al. (2002, 2003) verificaram que quando compararam os corretivos gesso e enxofre com *Acidithiobacillus* ocorreu satisfatória nodulação do feijão caupi pelas estirpes nativas, embora com valores inferiores aos tratamentos com inoculante. Resultados semelhantes foram obtidos em leucena por Carvalho & Stamford (1999) e em sabiá por Stamford et al. (2005b).

Biomassa seca da parte aérea

O resultados obtidos para a biomassa seca da parte aérea do feijão caupi cultivado em solo salino, após adição de mistura enxofre com *Acidithiobacillus* (S*) e gesso (G) na proporção percentual 50:50 e na dose de 1 t ha⁻¹, e com aplicação dos tratamentos com fontes de N, fontes e doses de PK também estão apresentados na Tabela 2. Deve ser salientado que nas unidades experimentais sem aplicação dos corretivos do solo (S* : gesso) as sementes não germinaram. Este resultado provavelmente é atribuído à presença de altos teores sódio no complexo de troca (PST = 24,23 e K₀ = 0,00), que impediu a absorção de água pela semente. Solos com altos teores de sódio no complexo de troca apresentam condições físicas desfavorável, que decorrem da dispersão dos colóides e da degradação da estrutura. Estes fenômenos reduzem a permeabilidade do solo à água e ao ar (Richard, 1954; Oliveira et al., 1992; Barros, 2001; Qadir et al., 2005). Barros et al. (2006) trabalhando com dois Neossolos flúvicos do Perímetro Irrigado de Cústodia – PE observaram que antes da aplicação de gesso os resultados para a condutividade hidráulica

apresentavam valores nulos para as duas amostras. Depois da aplicação do gesso ocorreram incrementos dos valores desta propriedade física. Os autores relatam que estes resultados são devido à flocculação da argila dispersa pela substituição do sódio pelo cálcio no complexo de troca, refletindo em aumento na permeabilidade do solo.

Observa-se que de uma maneira geral houve efeito significativo da fertilização com P e K, quando comparados os tratamentos com aplicação de biofertilizantes e fertilizantes solúveis com o controle sem adição de P e K. Todavia, quando usados os inoculantes com as estirpes NFB 700 e a SEMIA 6156 não ocorreu diferença significativa.

Os melhores resultados de biomassa seca da parte aérea, embora não estatisticamente significativos, foram obtidos quando aplicado o fertilizante com N mineral, e com biofertilizante PK na dose recomendada e 1,5 vezes a recomendação. Observa-se que o N mineral e o biofertilizante PK na dose mais elevada reduziu a produção de matéria seca. Resultados semelhantes foram descritos em cana-de-açúcar por Stamford et al. (2006 a), em alface (Lima et al., 2007a) e em uva (Andrade, 2007).

Nutrientes na parte aérea

Para o N total acumulado na parte aérea de feijão caupi os dados obtidos encontram-se na Tabela 2. De uma maneira geral observa-se que os resultados obtidos indicaram que a adubação nitrogenada conferiu os maiores conteúdos para N acumulado na biomassa seca da planta. Vieira (2007) obteve resultados semelhantes em feijão caupi (cv. IPA 206) usando inoculação com as estirpes NFB 700, BR 3267 e BR 2001.

Os melhores resultados do N total acumulado foram com aplicação de N mineral mais fertilização PK na dose com o dobro da recomendação. Os tratamentos sem N mineral com o fertilizante solúvel PK na dose o dobro da recomendação, e o biofertilizante PK

(dobro da recomendação), com a estirpe NFB 700 também apresentaram efeito expressivo no N total acumulado na parte aérea de feijão caupi, localizar-se na Tabela 3.

Tabela 3. Acumulação de N total na parte aérea do caupi inoculado com rizóbios, cultivado em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com *Acidithiobacillus* - S* + gesso - G) e biofertilizante de rochas com P e K. ⁽¹⁾

Tratamento com Fontes e nas doses P+K	Tratamentos com adição de nitrogênio (N)				
	Sem rizóbio e N	Sem rizóbio+N	BR 3267	NFB 700	SEMIA 6156
	N total acumulado na parte aérea (mg planta ⁻¹)				
Biofertilizante 1,0	194Aa	254Aa	182Ba	199Ba	208Aba
Biofertilizante 1,5	230Aa	248Aa	248Aa	196Ba	242Aa
Biofertilizante 2,0	197Aa	231Aa	227Aa	250Aa	206Aba
Fertilizante 1,0	180Ab	292Aa	195Bb	212ABab	221Aab
Fertilizante 1,5	214Aa	187Ba	225Aa	192Ba	204Aba
Fertilizante 2,0	211Aa	203Ba	233Aa	263Aa	228Aa
Controle (P ₀ K ₀)	191Ab	197Bb	191Bb	239Aa	191Bb
C.V. (%)	N total na parte aérea = 18,59				

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey $p \leq 0.05$. Letras maiúsculas comparam médias em colunas (fontes de P e K) e letras minúsculas na linha (tratamentos com N).

Todas as estirpes usadas mostraram satisfatório N total acumulado na biomassa seca da na parte aérea em feijão caupi (cv. IPA 206), entretanto é interessante observar que no tratamento controle sem adição de fertilizante PK, a inoculação com a estirpe NFB 700 apresentou resultados significativos em relação aos demais tratamentos com adição de N. Estes resultados sugerem que esta estirpe parece ser bastante efetiva. Também é importante observar que no presente trabalho o solo natural já apresenta teor satisfatório de P e K.

Os resultados de P e K total acumulados na biomassa seca da parte aérea do feijão caupi encontram-se nas Tabelas 4 e 5 respectivamente.

Tabela 4. P total acumulado na parte aérea do caupi inoculado com rizóbios, cultivado em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com *Acidithiobacillus* - S* + gesso - G) e biofertilizante de rochas com P e K.(1)

Tratamento com Fontes e nas doses	Tratamentos com adição de nitrogênio (N)				
	Sem rizóbio e N	Sem rizóbio+N	BR 3267	NFB 700	SEMIA 6156
P+K	P total acumulado na parte aérea (mg planta ⁻¹)				
Biofertilizante 1,0	32,3Aa	41,1Aa	30,3Aa	31,0Aa	34,4Aa
Biofertilizante 1,5	37,2Aa	44,0Aa	31,5Aa	33,5Aa	34,4Aa
Biofertilizante 2,0	36,3Aa	38,2Aa	37,5Aa	27,0Aa	36,4Aa
Fertilizante 1,0	36,8Aa	39,5Aa	32,0Aa	38,3Aa	34,0Aa
Fertilizante 1,5	36,6Aa	34,8Aa	34,7Aa	37,6Aa	40,7Aa
Fertilizante 2,0	35,4Aa	41,0Aa	32,5Aa	32,5Aa	35,9Aa
Controle (P ₀ K ₀)	38,8Aa	31,5Aa	32,7Aa	32,5Aa	35,6Aa
C.V. (%)	P total acumulado = 17,01				

(1) Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey $p \leq 0.05$. Letras maiúsculas comparam médias em colunas (fontes de P e K) e letras minúsculas na linha (tratamentos com N).

Tabela 5. K total acumulado na parte aérea do caupi inoculado com rizóbios, cultivado em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com *Acidithiobacillus* - S* + gesso - G) e biofertilizante de rochas com P e K.(1)

Tratamento com Fontes e nas doses	Tratamentos com adição de nitrogênio (N)				
	Sem rizóbio e N	Sem rizóbio+N	BR 3267	NFB 700	SEMIA 6156
P+K	K total acumulado na parte aérea (mg planta ⁻¹)				
Biofertilizante 1,0	173,6Aa	247,4Aa	181,6Aa	176,7Aa	207,7Aa
Biofertilizante 1,5	217,8Aa	245,7Aa	211,6Aa	181,2Aa	242,3Aa
Biofertilizante 2,0	180,8Aa	228,5Aa	204,6Aa	177,3Aa	216,7Aa
Fertilizante 1,0	193,5Aa	230,1Aa	171,5Aa	170,7Aa	191,8Aa
Fertilizante 1,5	211,9Aa	212,0Aa	173,6Aa	204,7Aa	197,9Aa
Fertilizante 2,0	195,0Aa	200,2Aa	181,0Aa	179,2Aa	193,6Aa
Controle (P ₀ K ₀)	175,5Aa	190,4Aa	171,5Aa	207,3Aa	185,3Aab
C.V. (%)	K total acumulado = 14,40				

(1) Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey $p \leq 0.05$. Letras maiúsculas comparam médias em colunas (fontes de P e K) e letras minúsculas na linha (tratamentos com N).

Para P e K total acumulado na planta não se observou efeito dos tratamentos com P e K, (fontes e doses usadas) e nem das fontes de N usadas (N mineral e rizóbios). Este fato provavelmente ocorreu em função do teor de P disponível no solo natural (48,2 mg dm⁻³ de P e 0,32 cmol_c dm⁻³ de K) já ser suficiente para promover satisfatório o desenvolvimento do feijão caupi. Para o Ca o gesso, utilizado como condicionador da salinidade do solo,

aplicado em todos os tratamentos, foi absorvido em teores que deve ter contribuído para a falta de resposta na acumulação de Ca na planta.

Parâmetros do solo

Condutividade elétrica e pH do solo

Com a aplicação dos condicionadores da sodicidade o pH foi reduzido de 9,4 para uma faixa entre 7,4 a 7,6 e assim, não prejudicou o desenvolvimento do feijão caupi. Vale ressaltar que no solo sem adição dos corretivos não houve germinação.

Para a condutividade elétrica e pH do solo os resultados encontram-se nas Tabelas 6 e 7 respectivamente.

Tabela 6. Condutividade elétrica do solo após cultivo do caupi inoculado com rizóbios em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com *Acidithiobacillus* - S* + gesso - G) e biofertilizante de rochas com P e K.⁽¹⁾

Tratamento com Fontes e nas doses	Tratamentos com adição de nitrogênio (N)				
	Sem rizóbio e N	Sem rizóbio+N	BR 3267	NFB 700	SEMIA 6156
P+K	Condutividade elétrica no solo (dS m ⁻¹)				
Biofertilizante 1,0	4,83Aa	4,77Aa	4,56Aa	4,02Aa	4,93Aa
Biofertilizante 1,5	4,86Aa	4,81Aa	4,60Aa	4,31Aa	4,05Aa
Biofertilizante 2,0	4,71Aa	4,73Aa	4,53Aa	4,60Aa	4,45Aa
Fertilizante 1,0	4,42Aa	4,14Aa	4,64Aa	4,03Aa	4,97Aa
Fertilizante 1,5	4,63Aa	4,90Aa	4,90Aa	4,87Aa	4,76Aa
Fertilizante 2,0	5,14Aa	5,37Aa	5,47Aa	5,32Aa	5,43Aa
Controle (P ₀ K ₀)	4,64Aa	5,07Aa	4,98Aa	4,88Aa	4,91Aa

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey p<0.05. Letras maiúsculas comparam médias em colunas (fontes de P e K) e letras minúsculas na linha (tratamentos com N).

Tabela 7. pH do solo após cultivo do caupi inoculado com rizóbios em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com *Acidithiobacillus* - S* + gesso - G) e biofertilizante de rochas com P e K.⁽¹⁾

Tratamento com		Tratamentos com adição de nitrogênio (N)			
Fontes e nas doses	Sem rizóbio e N	Sem rizóbio+N	BR 3267	NFB 700	SEMIA 6156
P+K		pH do solo (1,0:2,5)			
Biofertilizante 1,0	7,55Aa	7,40Aa	7,53Aa	7,57Aa	7,53Aa
Biofertilizante 1,5	7,52Aa	7,37Aa	7,47Aa	7,60Aa	7,52Aa
Biofertilizante 2,0	7,48Aa	7,33Aa	7,43Aa	7,50Aa	7,48Aa
Fertilizante 1,0	7,63Aa	7,53Aa	7,47Aa	7,50Aa	7,50Aa
Fertilizante 1,5	7,57ABa	7,47Aa	7,53Aa	7,50Aa	7,57Aa
Fertilizante 2,0	7,34Ba	7,40Aa	7,57Aa	7,47Aa	7,40Aa
Controle (P ₀ K ₀)	7,62Aa	7,58Aa	7,60Aa	7,60Aa	7,60Aa
CV (%)	pH = 1,44				

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey $p \leq 0.05$. Letras maiúsculas comparam médias em colunas (fontes de P e K) e letras minúsculas na linha (tratamentos com N).

Verificou-se que não houve efeito significativo da adição da fertilização com PK e dos tratamentos com N (fertilização com N mineral e inoculação com rizóbios). Este fato pode ser também explicado pela aplicação conjunta do gesso e do enxofre inoculado com *Acidithiobacillus* como condicionadores da sodicidade do solo. Embora sem diferença significativa os valores de C.E. foram mais elevados quando aplicadas às doses mais elevadas de fertilizantes com N (sulfato de amônio) e com K (cloreto de potássio), que são formas mais solúveis, e podem influir mais rapidamente na condutividade elétrica e no pH do solo.

Stamford et al. (2006a) cultivando cana de açúcar e Stamford et al. (2007b) com jacatupé, observaram efeito pronunciado na redução do pH em solo de tabuleiro pela aplicação de biofertilizantes com P e K. Por outro lado, Lima et al (2007b) cultivando alface em Latossolo do cariri cearense não verificaram redução no pH do solo pela aplicação de biofertilizantes com P e K, inclusive os autores relatam que a pequena redução não promoveu prejuízo na produtividade da cultura. Moura et al. (2007) cultivando melão e

Andrade (2007) no vale do São Francisco não observaram efeito significativo dos biofertilizantes com P e K na redução do pH do solo. Entretanto, vale ressaltar que nestes trabalhos o biofertilizante PK foi aplicado em conjunto com composto de minhoca, com pH em torno de 7,8.

P e K disponíveis no solo

Os resultados de P e K disponível no solo são apresentados na Tabela 8. Verifica-se que de uma maneira geral houve efeito positivo dos tratamentos de fertilização com P e K em comparação com o controle sem adição destes nutrientes no P e K disponível no solo.

Tabela 8. P e K disponível após cultivo do caupi com biofertilizante de rochas com P e K e inoculação com rizóbios em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com *Acidithiobacillus* - S* + gesso - G).⁽¹⁾

Tratamento com	Tratamentos com adição de nitrogênio (N)				
Fontes e nas doses	Sem rizóbio e N	Sem rizóbio+N	BR 3267	NFB 700	SEMIA6156
P+K	P disponível no solo (mg dm ⁻³)				
Biofertilizante 1,0	75,7Aa	88,5Ba	81,8Aa	72,6Ba	73,6Aa
Biofertilizante 1,5	94,7Aa	70,2Ba	88,9Aa	84,8Ba	90,8Aa
Biofertilizante 2,0	95,6Aa	114,8Aa	90,61Aa	112,1Aa	94,31Aa
Fertilizante 1,0	82,6Aa	74,7Aa	70,5Aa	87,61Aa	85,1Aa
Fertilizante 1,5	88,6Aa	74,3Aa	74,4Aa	74,6Aa	73,3Aa
Fertilizante 2,0	93,0Aa	91,1Aa	87,1Aa	94,4Aa	81,6Aa
Controle (P ₀ K ₀)	64,2Ba	71,7Ba	64,4Ba	60,1Ca	65,2Ba
	K disponível no solo (cmol _c dm ⁻³)				
Biofertilizante 1,0	0,30Aa	0,27Aab	0,30Aa	0,28Aab	0,23Bb
Biofertilizante 1,5	0,29Aa	0,26Aa	0,30Aa	0,30Aa	0,26Aba
Biofertilizante 2,0	0,31Aa	0,30Aa	0,32Aa	0,30Aa	0,30Aa
Fertilizante 1,0	0,29Aa	0,26Aa	0,28Aa	0,30Ba	0,30Aa
Fertilizante 1,5	0,33Aa	0,29Aa	0,29Aa	0,30Ba	0,32Aa
Fertilizante 2,0	0,34Aab	0,29Ab	0,29Ab	0,37Aa	0,34Aab
Controle (P ₀ K ₀)	0,21aB	0,20aB	0,22Ba	0,22Ca	0,20Ca
C.V. (%)	P disponível =	15,41	K disponível =9,13		

(1) Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey p≤0.05. Letras maiúsculas comparam médias em colunas (fontes de P e K) e letras minúsculas na linha (tratamentos com N).

Com relação ao P disponível sempre foram obtidos maiores valores quando usadas doses mais elevadas de biofertilizante PK, chegando a 115 mg dm^{-3} , no tratamento com N mineral e sem rizóbio, e 112 mg dm^{-3} quando as plantas foram inoculadas com a estirpe NFB 700. Vale salientar que o solo inicialmente apresenta P disponível equivalente a 48 mg dm^{-3} , e após a absorção passou a valores mais elevados o que pode possibilitar um satisfatório efeito residual.

Em solo de tabuleiro com aplicação de biofertilizante de rocha fosfatada (apatita de Gafsa) Stamford et al. (2005) observaram efeito no P disponível em solo cultivado com feijão caupi e Stamford et al. (2007b) também relatam aumento no P disponível quando aplicaram biofertilizante produzido com rocha fosfatada em experimento de campo em solo de tabuleiro cultivado com jacatupé.

Resultados da aplicação de biofertilizantes PK promovendo aumentos significativos no P disponível foram obtidos por resultados semelhantes por Stamford et al. (2007a) em solo sódico em região semi-árida do município de Pesqueira – PE e por Andrade (2007) em solo do vale do São Francisco cultivado com uva.

Pode ser observado que houve aumento no P disponível no solo sem adição de fertilização com P e K. A explicação para o aumento no P disponível no tratamento controle (sem adição de P e K) pode ser devido ao efeito da adição de enxofre com *Acidithiobacillus* que atua na liberação de P dos minerais do solo, como observado por El Tarabily et al. (2006), utilizando enxofre inoculado com bactérias oxidantes de S^0 elementar em solo da Arábia Saudita, e por Stamford et al. (2007a) com adição de mistura de gesso e enxofre com *Acidithiobacillus* em solo sódico da região semi-árida de Pernambuco.

Com relação ao K disponível no solo observou-se que houve também efeito significativo dos tratamentos com fertilização PK, quando comparado com o tratamento controle sem adição de P e K, passando de valores em torno de $0,30 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ para cerca

de $0,20 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$, após a colheita no feijão caupi. Resultados semelhantes utilizando biofertilizantes de rochas com P e K foram obtidos por Stamford et al. (2007a) cultivando cana-de-açúcar, por Lima (2007a) em alface cultivada em campo no Cariri do Ceará, e por Andrade (2007) em solo do vale do São Francisco cultivado com uva.

Portanto, ficou evidenciada a possibilidade de uso de biofertilizantes produzidos a partir de rochas fosfáticas e de rochas potássicas com adição de S^* inoculado com *Acidithiobacillus* como alternativa em substituição a fertilizantes convencionais solúveis.

Sódio trocável

Inicialmente pode ser constatado que a aplicação da adição de mistura enxofre com *Acidithiobacillus* (S^*) e gesso (G) na proporção percentual 50:50 e na dose de 1 t ha^{-1} , proporcionou uma redução no sódio trocável, com efeito positivo tendo em vista que houve uma redução média superior a mais de 10 vezes o teor inicial ($3,1 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$), que passou para $0,21 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ (valor médio), após aplicação da mistura. Resultados semelhantes foram obtidos por Stamford et al. (2007a) em solo sódico de Pesqueira - PE.

Os resultados de Na trocável no solo após o cultivo do feijão caupi (Tabela 9) mostram que de uma maneira geral houve efeito positivo dos tratamentos de fertilização com P e K, em comparação com o controle sem fertilização com P e K. Quando adicionados os fertilizantes minerais solúveis nas doses mais elevadas, foram observados os maiores valores de sódio trocável, provavelmente em função da aplicação do sulfato de amônio e cloreto de potássio, especialmente este último.

Tabela 9. Na trocável no solo após cultivo do caupi inoculado com rizóbios em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com *Acidithiobacillus* – S* + gesso – G) e biofertilizante de rochas com P e K.⁽¹⁾

Tratamento com		Tratamentos com adição de nitrogênio (N)			
Fontes e nas doses	Sem rizóbio e N	Sem rizóbio+N	BR 3267	NFB 700	SEMIA 6156
P+K		Na trocável no solo (cmol _c dm ⁻³)			
Biofertilizante _{1,0}	0,17Ba	0,18Ba	0,17Ba	0,17Ba	0,17Ba
Biofertilizante _{1,5}	0,19Ba	0,17Ba	0,18Ba	0,19Ba	0,18Ba
Biofertilizante _{2,0}	0,19Ba	0,19Ba	0,19Ba	0,20Ba	0,18Ba
Fertilizante _{1,0}	0,18Ba	0,17Ba	0,17Ba	0,19Ba	0,18Ba
Fertilizante _{1,5}	0,21ABa	0,20ABa	0,20ABa	0,20Ba	0,22Aa
Fertilizante _{2,0}	0,25Aa	0,23Aa	0,23Aa	0,25Aa	0,25Aa
Controle (P ₀ K ₀)	0,19Ba	0,22Aa	0,19ABa	0,19Ba	0,19Ba
C.V. (%)	Na trocável no solo = 14,33				

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey $p \leq 0.05$. Letras maiúsculas comparam médias em colunas (fontes de P e K) e letras minúsculas na linha (tratamentos com N).

Cálcio trocável

Os resultados de Ca trocável no solo são apresentados na Tabela 10. Verifica-se que de uma maneira geral não houve efeito significativo dos tratamentos de fertilização com P e K. a falta de resposta provavelmente foi devido à aplicação de gesso (CaSO₄) que adicionou Ca em teor bastante elevado para todos os tratamentos (1000 kg ha⁻¹). Entretanto, era esperado que houvesse algum incremento de Ca nos tratamentos com aplicação de superfosfato simples e do biofertilizante de rocha fosfatada (apatita) que também liberam o nutriente para o solo, como constatado por Stamford et al. (2006a) com cana-de-açúcar. Provavelmente o incremento devido a estes insumos não chegou a apresentar diferença significativa entre os tratamentos devido ao elevado acréscimo pela aplicação de gesso.

Tabela 10. Ca trocável no solo após cultivo do caupi inoculado com rizóbios em solo salino da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com *Acidithiobacillus* – S* + gesso – G) e biofertilizante de rochas com P e K.⁽¹⁾

Tratamento com Fontes e nas doses P+K	Tratamentos com adição de nitrogênio (N)				
	Sem rizóbio e N	Sem rizóbio+N	BR 3267	NFB 700	SEMIA 6156
	Ca trocável no solo (cmol _c dm ⁻³)				
Biofertilizante _{1,0}	0,78Aa	0,79Aa	0,80Aa	0,78Aa	0,77Ba
Biofertilizante _{1,5}	0,81Aa	0,76Aa	0,78Aa	0,75Aa	0,76Ba
Biofertilizante _{2,0}	0,83Aa	0,81Aa	0,76Aa	0,78Aa	0,83Aa
Fertilizante _{1,0}	0,80Aa	0,80Aa	0,82Aa	0,84Aa	0,85Aa
Fertilizante _{1,5}	0,83Aa	0,83Aa	0,81Aa	0,82Aa	0,85Aa
Fertilizante _{2,0}	0,83Aa	0,77Aa	0,82Aa	0,81Aa	0,80Aa
Controle (P ₀ K ₀)	0,81Aa	0,78Aa	0,75Aa	0,80Aa	0,83Aa
C.V. (%)	Ca trocável =5,86				

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey $p \leq 0.05$. Letras maiúsculas comparam médias em colunas (fontes de P e K) e letras minúsculas na linha (tratamentos com N).

Nitrogênio total e sulfato solúvel

Os resultados de N total e sulfato solúvel do solo são apresentados na Tabela 11.

De uma maneira geral observa-se que os maiores valores de N total e de S-SO₄⁻² no solo foram obtidos com as doses mais elevadas dos biofertilizantes e dos fertilizantes solúveis (superfosfato simples + cloreto de potássio). Este fato pode ser justificado tendo em vista que o superfosfato simples e o sulfato de amônio adicionam sulfato solúvel ao solo. Por outro lado, também os biofertilizantes de rochas produzidos com enxofre inoculado com *Acidithiobacillus* realizam a oxidação do S elementar produzindo ácido sulfúrico que também fornece sulfato solúvel ao solo.

Tabela 11. N total e Sulfato no solo após cultivo do feijão caupi inoculado com rizóbios em solo salino-sódico da região semi-árida (Serra Talhada – PE), após a aplicação da mistura com corretivos (enxofre com *Acidithiobacillus* - S* + gesso - G); biofertilizante de rochas com P e K e fertilizante mineral solúvel (superfosfato simples + cloreto de potássio).

Tratamento com Fontes e doses	Tratamentos com adição de nitrogênio (N)				
	Sem rizóbio e N	Sem rizóbio+N	BR 3267	NFB 700	SEMIA 6156
P+K	N total no solo (mg kg ⁻¹)				
Biofertilizante 1,0	0,19Aa	0,20Aa	0,23Aa	0,26Ba	0,23Aa
Biofertilizante 1,5	0,21Ab	0,23Cab	0,17Ab	0,30ABa	0,25Aab
Biofertilizante 2,0	0,22Abc	0,20Abc	0,18ABc	0,35Aa	0,27Ab
Fertilizante 1,0	0,12Bc	0,16Bbc	0,19Abc	0,25Aa	0,21Bab
Fertilizante 1,5	0,18ABa	0,11Bb	0,17Aab	0,19Ba	0,20Ba
Fertilizante 2,0	0,20Ab	0,22Ab	0,18Ab	0,29Aa	0,27Aa
Controle (P ₀ K ₀)	0,19Ab	0,21Ab	0,17Ab	0,26ABa	0,18Bb
	S-(SO ₄ ⁻²) no solo (mg dm ⁻³)				
Biofertilizante 1,0	4,13Bb	5,10Ba	4,51Bab	4,29Bb	4,55Bab
Biofertilizante 1,5	4,90ABa	5,37Ba	5,22ABa	4,94Ba	5,34Aa
Biofertilizante 2,0	5,50Aa	6,20Aa	6,03Aa	5,24Aa	5,43Aa
Fertilizante 1,0	5,50Ab	6,18Aa	5,35ABb	4,91Ab	5,29Ab
Fertilizante 1,5	5,08Ab	6,06Aa	5,64Aab	5,10Ab	5,26Ab
Fertilizante 2,0	5,51Aa	6,25Aa	5,52Aa	5,46Aa	5,76Aa
Controle (P ₀ K ₀)	4,42ABb	5,19Ba	5,35Aa	5,21Aa	4,48Bb
C.V. (%)	N total no solo = 13,88		S-SO ₄ ⁻² no solo = 8,78		

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey p≤0.05. Letras maiúsculas comparam médias em colunas (fontes de P e K) e letras minúsculas na linha (tratamentos com N).

CONCLUSÕES

1. A mistura com os condicionadores gesso e enxofre com *Acidithiobacillus* aplicados em proporção percentual (50: 50) na dose 1 t ha⁻¹, atuou na redução do pH do solo e na correção do sódio trocável;
2. A inoculação com as estirpes de rizóbios selecionados para feijão caupi foi efetiva, embora o rizóbio nativo também tenha atuado de forma satisfatória, no solo usado;

3. O biofertilizante de rochas com enxofre e *Acidithiobacillus* pode ser usado como alternativa para substituição de fertilizantes minerais solúveis (superfosfato simples e cloreto de potássio), especialmente em solos sódicos;
4. A aplicação dos condicionadores e a adubação com biofertilizante de rochas fosfatada e potássica aumentaram a produção de matéria seca e a acumulação de N, P e K total na biomassa seca da parte aérea no feijão caupi.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, órgãos financiadores da pesquisa e pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, I. P. **Biofertilizantes de rochas fosfatadas e potássicas com enxofre inoculado com *Acidithiobacillus* na adubação da uva (*Vitis vinifera* L.) em Planossolo do Vale do São Francisco.** 2007 96p. (Dissertação de Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- BARROS, M. F. C. **Recuperação de solos salino-sódicos pelo uso do gesso de jazida e calcário.** 2001. 112f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.
- BARROS, M. F. C.; SANTOS, P. M.; MELO, R. M.; FERRAZ, F. B.. Avaliação de níveis de gesso para correção de sodicidade de solos. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 01, p. 17-21, 2006.
- BOYUCOS, G. Y. Hytrometer method improved for making particle size analysis of soils. **Agron. J.**, v.54:464-5, 1962.

BURITY, H. A.; LYRA, M. C. C. P.; SOUZA, E. S. Efetividade da inoculação com rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares em mudas de sabiá submetidas a diferentes nas doses de fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 35, p.801-807, 2000.

DNOCS. **Perímetro Irrigado de São Gonçalo, Departamento Nacional de Obras Contra as Secas**, Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal, 2º Distrito de Engenharia Rural, 1997 (mimeografado).

EL TARABILY, K. A., SOAUD, A. A., SALEH, M. E., MATSUMOTO, S. Isolation and characterization of sulfur-oxidizing bacteria, including strains of *Rhizobium* from calcareous sandy soils and their effects on nutrient uptake and growth of maize (*Zea mays* L.). **Australian Journal Agricultural Research**. v.57, p. 101-111. 2006.

EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro, 1997. 212p.

EMBRAPA. **Feijão caupi: avanços tecnológicos**. (Embrapa Meio Norte: Brasília). 2005. 519p.

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, São Carlos. Anais... São Carlos: UFSCAR, p.225-258, 2000.

FREITAS, A. D. S.; MEDEIROS, P. C.; SANTOS, C. E. R. S.; STAMFORD, N. P. Fixação do nitrogênio e desenvolvimento do guandu inoculado com rizóbio em um cambissol salinizado do semi-árido. **Revista Agropecuária Técnica**, Campina Grande - PB, v. 24, n. 2, p. 87-95, 2003.

GARCIA JUNIOR, O. O enxofre e suas transformações microbianas. In: Cardoso E., Saito, M.T. & Neves, M.C.P. **Microbiologia do solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas pp.243-255. 1992.

IPA - Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária. **Cultivares recomendadas pelo IPA**. Recife, PE, 2002. 113p.

IPA - Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária. **Recomendação de adubação para o estado de Pernambuco**. Recife, Pe, 1998. 122p.

LIMA, R. C. M.; STAMFORD, N.P.; LIRA JÚNIOR, M.A.; SANTOS, C. E. R. S.; DIAS, S. H. L. Eficiência e efeito residual de biofertilizantes de rochas com PK com *Acidithiobacillus* em alface cultivada no cariri cearense. **Horticultura Brasileira**, v. 25, p. 402-407, 2007a.

LIMA, R. C. M.; STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. R. S.; DIAS, S. H. L. Rendimento da alface e atributos químicos de um Latossolo em função da aplicação de biofertilizantes de rochas com fósforo e potássio. **Horticultura Brasileira**, v. 25, p. 224-229, 2007b.

MALAVOLTA, E.; VITTI G.C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas. In Princípios e aplicação**. Potafos, Associação Brasileira para Pesquisa da potassa e do fosfato. Piracicaba, SP, 1989. 201p.

MOURA, P. M.; STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. R. E. S.; DUENHAS, L. H.; NUNES, G. H. S. Eficiência de biofertilizantes de rochas com *Acidithiobacillus* em melão no vale do São Francisco. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 2, p. 1-7, 2007.

NEVES, M.C.P.; MARTINS, L.M.; XAVIER, G.R.; RUMJANEK, N.G. **Levantamento de estirpes de rizóbio capazes de nodular feijão caupi (*Vigna unguiculata*) em solos do Nordeste do Brasil**. I. Sertão. Seropédica: Embrapa-Agrobiologia, 1998. 10p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 46).

OLIVEIRA, J. B.; JACOMINE, P. K. T.; CAMARGO, M. N. **Classes gerais de solos do Brasil: guia auxiliar para seu reconhecimento**. 2ed. Jaboticabal, FUNEP, 201p. 1992.

QADIR, M.; NOBLE, A. D.; OSTER, J. D.; SCHUBERT, S.; GHAFOR, A. Driving forces for sodium removal during phytoremediation of calcareous sodic and saline-sodic soils: a review. *Soil Use and Management*, Cambridge, v.21, n. 2, p. 173-180, 2005.

RICHARDS, L. A.. **Diagnosis and improvement of saline and alkali soils**. U.S. Department of Agriculture Handbook 60. (U.S. Government Printing Office: Washington). 1954.

SILVA, R. P. **Inoculação com rizóbio em feijão caupi no sertão da Paraíba**. 2006. 30p. (Dissertação de mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

STAMFORD, N. P.; RIBEIRO, M. R.; FREITAS, A. D. S.; CUNHA, K. P. V.; SANTOS, C. E. R. S.; DIAS, S. H. L. Effectiveness of sulfur with *Acidithiobacillus* and gypsum in chemical attributes of a Brazilian sodic soil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 3, p. 1433-1439, 2007a.

STAMFORD, N. P.; SANTOS, P. R.; SANTOS, C. E. R. S.; FREITAS, A. D. S.; DIAS, S. H. L.; LIRA JÚNIOR, M. A. Agronomic effectiveness of biofertilizers with phosphate rock, sulphur and *Acidithiobacillus* in a Brazilian tableland acidic soil grown with yam bean. **Bioresource Technology** United Kingdom, v. 98, n. 2, p. 1311-1318, 2007b.

STAMFORD, N. P.; LIMA, R. A.; SANTOS, C. E. R. S.; DIAS, S. H. L. Rock biofertilizers with *Acidithiobacillus* on sugarcane yield and nutrient uptake in a Brazilian soil. **Geomicrobiology Journal, Elsevier** - United Kingdom, v. 23, n. 5, p. 261-265, 2006a.

STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. R. S.; DIAS, S. H. L. Phosphate rock biofertilisers with *Acidithiobacillus* and rhizobia improves nodulation and yield of cowpea (*Vigna unguiculata*) in greenhouse and field conditions. **Tropical Grasslands**, v. 40, p. 222-230, 2006b.

STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. R. S.; SANTOS, P. R.; SANTOS, K. S. R.; MONTENEGRO, A. A. A. Effects of rock phosphate, sulphur with and without *Acidithiobacillus* and organic by-products on mimosa (*Mimosa caesalpinifolia*) grown in a Brazilian tableland soil. **Tropical Grasslands**, Brisbane, Australia, v. 39, n. 4, p. 54-61, 2005.

STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. R. S.; STAMFORD JÚNIOR, W. P.; DIAS, S. H. L. Biofertilizantes de rocha fosfatada com *Acidithiobacillus* como adubação alternativa de caupi em solo com baixo P disponível. **Analytica**, v. 3, n. 9, p. 48-53, 2004.

STAMFORD, N. P.; FREITAS, A. D. S.; FERRAZ, D. S.; MONTENEGRO, A. A. A.; SANTOS, C. E. R. S. Nitrogen fixation and growth of cowpea and yam bean legumes in a sodic soil as affected by gypsum and sulphur inoculated with *Thiobacillus* and rhizobial inoculation. **Tropical Grasslands**, Brisbane, Australia, v. 38, p. 11-17, 2003.

STAMFORD, N. P.; FREITAS, A. D. S.; FERRAZ, D. S.; SANTOS, C. E. R. S. Effect of sulphur inoculated with *Thiobacillus* on saline soils amendment and growth of cowpea and yam bean legumes. **Journal of Agricultural Science**, United Kingdom, v. 139, p. 275-281, 2002.

VIEIRA, C.L. **Efeitos de Estirpes de Rizóbio em cultivares de caupi do agreste Paraibano**. 2007. 39p. (Dissertação de Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

VINCENT, J. M. **A Manual for the Pratical Study of Root Nodule Bacteria**. Scientific Publications Oxford: Blacwell Scientific, 1970, 164p.