

Ocorrência e eficiência do microssimbionte de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. em função das propriedades do solo

Occurrence and efficiency of *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. microsymbiont in function of the soil properties

Ligiane A. Florentino*, Ana Paula P. Nunes, Adauton V. Rezende, José R. Mantovani, Flávia R. C. Souza e Gustavo A. Junqueira

Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS. Rodovia MG 179, Km 0 - Campus Universitário, Alfenas - MG, 37130-000, Brasil, e-mails: *ligiane.florentino@unifenas.br; Autor para correspondência; anapaulah_aninhah@hotmail.com; adauton.rezende@unifenas.br; mantovanijr@yahoo.com; flavia_romam@hotmail.com; gustavoajunqueira@hotmail.com

<http://dx.doi.org/10.19084/RCA15055>

Recebido/received: 2015.04.17
Aceite/accepted: 2015.07.27

RESUMO

A leguminosa *Sesbania virgata* apresenta grande importância econômica e ecológica, podendo ser utilizada em áreas de recuperação de solos degradados e reflorestamento de matas ciliares. *S. virgata* estabelece simbiose específica e eficiente com rizóbios da espécie *Azorhizobium doebereinae*. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência do pH e saturação por bases (V%) na sobrevivência de *A. doebereinae* no solo e no estabelecimento da simbiose com *S. virgata*. O ensaio foi instalado em estufa em vasos contendo 5,5 dm³ de solo apresentando diferentes valores de V%: 22, 30, 40, 50, 60 e 70%. Observou-se a presença de *A. doebereinae* no solo somente nos tratamentos que apresentaram valores de V% superiores a 50. Em relação à simbiose, foi verificado que a inoculação com *A. doebereinae* em *S. virgata* não é eficiente em solos que apresentam valores de pH e V% inferiores a 5,8 e 50, respectivamente.

Palavras-chave: *Azorhizobium doebereinae*, calagem, especificidade simbiótica, leguminosa.

ABSTRACT

The legume *Sesbania virgata* has a large economic and ecological importance and can be used in the recovery of areas with degraded soils and reforestation of riparian forests. *S. virgata* establishes specific and effective symbiosis with rhizobia species *Azorhizobium doebereinae*. The objective of this study was to determine the influence of pH and base saturation (V%) on the survival of *A. doebereinae* in the soil and in the establishment of the symbiosis with *S. virgata*. The experiment was conducted in a greenhouse in pots containing 5.5 dm³ of soil with different values of V%: 22, 30, 40, 50, 60 and 70%. It was observed that *A. doebereinae* was only present in treatments that showed values of base saturation greater than 50%. In relation to the symbiosis, it has been found that the inoculation of *S. virgata* with *A. doebereinae* is not effective in soils with pH and V (%) values below 5.8 and 50, respectively.

Keywords: *Azorhizobium doebereinae*, liming, symbiotic specificity, legume.

Introdução

Um número considerável de leguminosas arbóreas e arbustivas possui a capacidade de estabelecer simbiose com bactérias que nodulam as leguminosas (BNL), comumente conhecidas por rizóbios. Estudos relacionados com a diversidade de rizóbios presentes em nódulos destas plantas relatam que

uma única espécie pode ser hospedeira de rizóbios que apresentam grande diversidade fenotípica e simbiótica, podendo indicar a presença de vários gêneros e espécies (Sylla *et al.*, 2002; Rincón-Rosales *et al.*, 2009).

A leguminosa *Sesbania virgata* é nativa do Brasil, apresenta porte arbustivo, crescimento rápido,

estabelece simbiose com rizóbios e apresenta potencial de utilização em reflorestamento de matas ciliares, recuperação de solos degradados e em adubação verde (Pott e Pott, 1994). Os estudos de nodulação indicam que esta planta apresenta características distintas da grande maioria das leguminosas, estabelecendo simbiose somente com estirpes de rizóbios da espécie *Azorhizobium doebereineriae* (Gonçalves e Moreira, 2004; Moreira *et al.*, 2006; Cummings *et al.*, 2009; Florentino e Moreira, 2009; Florentino *et al.*, 2009). Além disso, estes trabalhos relatam que estirpes de *A. doebereineriae* são altamente eficientes em fornecer nitrogênio a *S. virgata*, indicando elevada especificidade simbiótica entre estes dois organismos.

A especificidade entre estes organismos ocorre de tal forma que no solo *A. doebereineriae* somente foi encontrada próximo à rizosfera de *S. virgata* (Florentino, 2007; Florentino e Moreira, 2009; Florentino *et al.*, 2009). No entanto, nos diversos ecossistemas estudados por estes autores, plantações de café, mata, pastagem e solos rizosféricos de *S. virgata*, verificou-se que estes últimos apresentaram maior teor de nutrientes, baixa acidez (com valores de pH maior que 6,5) e ausência de Al^{3+} , quando comparados aos demais ecossistemas, não permitindo inferir se a ocorrência de *A. doebereineriae* foi devido à presença de *S. virgata* ou às características químicas favoráveis do solo.

Considerando que grande parte do potencial de utilização de *S. virgata* está diretamente relacionado à capacidade de estabelecer simbiose com *A. doebereineriae*, torna-se importante conhecer as condições químicas do solo que são favoráveis à sobrevivência desta bactéria e também ao estabelecimento da simbiose com *S. virgata*. Nesse sentido, esse trabalho teve como objetivo verificar a influência do pH e saturação por bases (V%) na sobrevivência de *A. doebereineriae* no solo e no estabelecimento da simbiose com *S. virgata*.

Material e Métodos

O ensaio foi conduzido em estufa, em vasos, no município de Alfenas, sul de Minas Gerais, no período de abril a agosto de 2013. As amostras de solo foram colhidas na camada superficial (0 a 20 cm) de uma zona de pastagem, cuidadosamente selecionada visando não conter a leguminosa *S. virgata*. Após a coleta, o solo foi colocado para secar ao ar, destor-

roado, passado em peneira de 4 mm de abertura de malha e foi retirada uma amostra para caracterização química inicial de rotina (Embrapa, 2011), apresentando os seguintes resultados: pH (H_2O) = 4,6; P = 5 mg dm^{-3} ; K^+ = 88 mg dm^{-3} ; Ca^{2+} = 0,5 cmolc dm^{-3} ; Mg^{2+} = 0,3 cmolc dm^{-3} ; Al^{3+} = 0,5 cmolc dm^{-3} ; H+Al = 3,8 cmolc dm^{-3} ; soma de bases (SB) = 1,1 cmolc dm^{-3} ; CTC potencial = 4,9 cmolc dm^{-3} ; saturação por bases (V%) = 22,0; saturação por alumínio (m%) = 32 e matéria orgânica (M.O.) = 15 g kg^{-1} .

Em função da saturação por bases inicial do solo (V% = 22) foram calculadas doses de calcário dolomítico (PRNT = 90%), visando elevar os valores de V% para 30, 40, 50, 60 e 70%, os quais constituíram os tratamentos, incluindo o V de 22%. Empregou-se um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 6 tratamentos e 4 repetições, totalizando 24 unidades experimentais (vasos).

Os vasos permaneceram incubados por 60 dias, mantendo-se o nível de umidade a 70% da capacidade de campo. Após esse período, foram retiradas de cada vaso amostras de solo de cerca de 300 g para análise química de rotina (Embrapa, 2011) e também para analisar a ocorrência de *A. doebereineriae* no solo, a qual foi realizada por meio da utilização de *S. virgata* como planta-armadilha, uma vez que esta leguminosa nodula somente quando inoculada com estirpes de *A. doebereineriae* (Florentino e Moreira, 2009; Florentino *et al.*, 2009). *S. virgata* foi cultivada seguindo a metodologia adotada por Florentino e Moreira (2009), utilizando-se frascos de vidro escuro reciclado contendo 500 cm^3 de solução nutritiva de Jensen (1942) esterilizada sem nitrogênio. A preparação (escarificação) das sementes, bem como a sua colocação nos frascos de vidro foi realizada conforme Florentino e Moreira (2009).

Além da inoculação com as suspensões de solos, foi utilizado um tratamento inoculado com a estirpe de *A. doebereineriae*, BR 5401^T, aprovada pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) como estirpe inoculante para *S. virgata* (MAPA, 2011) e por isso, utilizada como controle de nodulação. Foram adicionados ainda dois controles sem inoculação, um sem adição de N mineral e o outro contendo N mineral (35 mg L^{-1} N- NH_4NO_3).

Para a preparação das suspensões das amostras de solos, utilizaram-se 50 g de cada amostra, ressuspendeu-se cada uma em 450 cm^3 de solução salina (NaCl 0,85%) esterilizada, constituindo-se assim a

diluição 10^{-1} e foram mantidas sob agitação durante 30 min a 120 rpm antes da inoculação em *S. virgata*. A estirpe de *A. doebereineriae*, BR 5401^T, foi cultivada em meio de cultura líquido 79 com azul de bromotimol e pH 6,8 (Fred e Waksman, 1928; Vincent, 1970), sob agitação até a fase log de crescimento, apresentando aproximadamente 10^9 UFC cm^{-3} .

Concomitantemente ao cultivo em condições axênicas, procedeu-se ao cultivo de *S. virgata* nos vasos contendo porções de solo com diferentes valores de V%. Foram colocadas quatro sementes por vaso e posteriormente, após a emergência, foi realizado um desbaste, deixando-se duas plantas. Na sementeira foi efetuada a inoculação de 1 cm^3 por semente com a estirpe BR 5401^T, *A. doebereineriae*, contendo aproximadamente 10^9 UFC cm^{-3} .

O ensaio em que *S. virgata* foi utilizada como planta-armadilha e cultivada em condições axênicas foi conduzido por 45 dias. No solo, o cultivo foi por 60 dias. Em ambos os ensaios, foram avaliados a matéria seca da parte aérea (MSPA) e das raízes (MSR), número (NN) e matéria seca dos nódulos (MSN), os quais foram comparados pelo teste de Skott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa Sisvar (Ferreira, 2011).

Resultados e Discussão

Os resultados das análises químicas das amostras de solo colhidas após incubação com calcário estão apresentados no Quadro 1. Verificou-se que os valores de saturação por bases (V%) obtidos ficaram bem próximos aos desejados, o que evidencia que a mistura das doses de calcário com o solo e o tempo de incubação foi adequado. Com a calagem, além do V% também houve aumento no pH e nos teores de Ca^{2+} e de Mg^{2+} do solo. O Quadro 2 apresenta os resultados do ensaio realizado em condições axênicas, em que *S. virgata* foi utilizada como planta-armadilha. Observa-se que não foi verificada nodulação nos tratamentos com adição de N mineral e sem adição de N mineral, indicando ausência de contaminação do ensaio. Somente foi observada nodulação nos tratamentos inoculados com a estirpe BR 5401^T e com as suspensões de solo apresentando V% de 50, 60 e 70.

A ausência de nodulação em *S. virgata* quando inoculada com suspensões de amostras de solos contendo valores de V% abaixo de 40, indica a baixa

tolerância de *A. doebereineriae* à acidez, sugerindo que estas condições não favorecem o desenvolvimento desta bactéria no solo. Nestes solos, os valores de pH ficaram abaixo de 5,4 (Quadro 1). Estes resultados estão de acordo com os observados por Florentino *et al.* (2012), em que *A. doebereineriae* somente se desenvolve quando cultivada em meio de cultura contendo valores de pH acima de 6,0.

O maior desenvolvimento da parte aérea foi observado para as plantas cultivadas com N mineral e quando inoculadas com suspensão de solo apresentando V% de 70. Os tratamentos inoculados com a estirpe BR 5401^T e com as suspensões de solo contendo V% de 50 e 60 apresentaram resultados semelhantes. O tratamento sem adição de N mineral apresentou valores de MSPA semelhantes aos tratamentos inoculados com suspensões de solo contendo V% de 22 (controle), 30 e 40, sendo inferiores aos demais.

Em relação à MSR, observou-se que os tratamentos contendo N mineral e inoculados com a estirpe BR 5401^T e com as suspensões de solo contendo V% igual a 60 e 70% apresentaram maior desenvolvimento do sistema radicular. Em relação à MSN, destaca-se o tratamento contendo V% 70, que proporcionou alto valor de MSPA em *S. virgata*.

Estudos prévios associam a ocorrência de *A. doebereineriae* a *S. virgata* (Florentino e Moreira, 2009; Florentino *et al.*, 2009). Mas, de acordo com os resultados obtidos nesse estudo, pode-se inferir que *A. doebereineriae* pode ocorrer no solo independentemente de *S. virgata*, basta que este apresente condições químicas favoráveis. No entanto, é importante considerar que a especificidade simbiótica apresentada por *A. doebereineriae* e *S. virgata* pode explicar a ausência de representantes desta espécie bacteriana em levantamentos de diversidade desenvolvidos em várias regiões do Brasil e do mundo, nos quais foram utilizadas diferentes plantas-armadilha, não constando *S. virgata* (Bala *et al.*, 2003; Jesus *et al.*, 2005; Wolde-Meskel *et al.*, 2004; Guimarães *et al.*, 2012). Nesse sentido, torna-se importante a realização de pesquisas visando detectar *A. doebereineriae* em diferentes condições de solo e vegetação, uma vez que as plantas podem influenciar a diversidade microbiana do solo (Nelson e Mele, 2006; Schweitzer *et al.*, 2008).

No Quadro 3 estão apresentados os valores da matéria seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR),

Quadro 1 - Características químicas do solo após aplicação das diferentes doses de calcário e 60 dias de incubação

Tratamentos	pH	Ca ²⁺	Mg ²⁺	V
	H ₂ O	mmolc dm ⁻³		%
Controle (V% 22)	4,85 f	6,00 f	3,50 f	23,50
V% 30	5,15 e	8,78 e	4,61 e	30,75
V% 40	5,40 d	13,25 d	8,00 d	40,52
V% 50	5,75 c	17,50 c	11,00 c	49,58
V% 60	6,00 b	21,50 b	13,50 b	60,50
V% 70	6,35 a	24,50 a	17,00 a	69,50
CV (%)	2,70	3,20	5,20	2,80

Médias seguidas de mesma letra nas colunas, não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste de Scott Knott.

Quadro 2 - Número de nódulos (NN), peso da matéria seca da parte aérea (MSPA), das raízes (MSR) e dos nódulos (MSN) de *Sesbania virgata* quando inoculada com os diferentes tratamentos e cultivada em condições axênicas

Tratamentos	NN	MSPA (mg)	MSR (mg)	MSN (mg)
Tratamentos sem inoculação				
Com N mineral	0,00 b	270,00 a	202,50 a	0,00 c
Sem N mineral	0,00 b	112,50 c	115,00 c	0,00 c
Tratamentos inoculados				
BR 5401 ^T	34,00 a	205,00 b	187,50 a	24,05 b
Controle (V% 22)	0,00 b	90,50 c	120,00 c	0,00 c
V% 30	0,00 b	140,00 c	117,50 c	0,00 c
V% 40	0,00 b	125,00 c	155,00 b	0,00 c
V% 50	38,00 a	175,00 b	160,00 b	20,58 b
V% 60	43,00 a	185,00 b	205,00 a	28,08 b
V% 70	55,00 a	240,00 a	222,50 a	35,13 a
CV (%)	29,97	15,37	10,97	21,33

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste de Scott Knott.

Quadro 3 - Peso da matéria seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR), número (NN) e peso da matéria seca de nódulos (MSN) de *Sesbania virgata* cultivada em solos contendo diferentes valores de saturação de bases (V%)

Tratamentos	MSPA (mg)	MSR (mg)	NN	MSN (mg)
Controle (V% 22)	1890 b	550 b	16,00 a	47 b
V% 30	2010 b	550 b	14,00 a	56 b
V% 40	2500 b	530 b	17,00 a	50 b
V% 50	3520 a	860 a	15,00 a	88 a
V% 60	3610 a	910 a	16,00 a	94 a
V% 70	3840 a	990 a	23,00 a	102 a
CV (%)	17,22	17,31	25,07	18,30

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste de Scott Knott.

número (NN) e matéria seca dos nódulos (MSN) de *S. virgata* inoculada com a estirpe BR 5401^T, do ensaio em vasos. Observou-se que *S. virgata* apresentou maiores valores de MSPA e MSR, quando cultivada em solo com valores de pH e de V% mais elevados (pH em H₂O acima de 5,8, e V% a partir de 50 %).

Em relação ao número de nódulos, não foi verificada diferença significativa entre os tratamentos. Isso pode ser explicado pelo fato de todas as plantas terem sido inoculadas no momento do plantio. Entretanto, observou-se um aumento nos valores de MSN nos tratamentos com V% a partir de 50%, e consequentemente com maiores valores de pH e teores de Ca²⁺ e Mg²⁺ (Quadro 1). Analisando os valores de MSPA, verifica-se que os nódulos presentes em solo com condições inadequadas de fertilidade (acidez elevada e menores teores de Ca²⁺ e de Mg²⁺) foram ineficientes, apresentando coloração branca, indicando que o número de nódulos não está diretamente relacionado com a eficiência da simbiose.

Moreira *et al.* (2010), estudando o efeito da utilização de fertilizantes, calagem e inoculação com rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares em diferentes leguminosas, observaram que a calagem influencia o desenvolvimento (altura, MSPA e MSR) de *S. virgata*, mas não o número de nódulos (NN), conforme verificado no presente estudo.

Considerando o potencial de utilização de *S. virgata*, esses resultados apresentam grande relevância em termos práticos, indicando que o sucesso da inoculação com *A. doebereineriae*, estirpe BR 5401^T, está diretamente relacionado com as condições de fertilidade do solo, principalmente quando o cul-

tivo desta leguminosa for efetuado pela técnica da sementeira direta, cujo principal objetivo é reduzir o custo de implantação, eliminando a fase de formação de mudas em viveiros (Ferreira *et al.*, 2007, 2009).

Queiroz *et al.* (2007), utilizando a técnica de sementeira direta no cultivo de leguminosas em solo com pH = 5,5 e V% = 44, verificaram que *S. virgata* não apresentou boa produção de fitomassa quando comparada com as outras leguminosas, o que pode ser devido às características químicas do solo.

Conclusão

Solos com valores de pH e saturação por bases abaixo de 5,8 e 50, respectivamente, limitam a ocorrência de *A. doebereineriae* nestes solos e, consequentemente, o estabelecimento da simbiose efetiva com *S. virgata*.

Agradecimentos

À Fapemig, pelas bolsas de Iniciação Científica aos estudantes do curso de Agronomia, Ana Paula Pereira Nunes e Gustavo Aguiar Junqueira e ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica à estudante do curso de Agronomia Flávia Romam da Costa Souza.

Referências

- Bala, A.; Murphy, P. e Giller, K.E. (2003) - Distribution and diversity of rhizobia nodulating agroforestry legumes in soils from three continents in the tropics. *Molecular Ecology*, vol. 12, n. 4, p. 917-930. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.01754.x>
- Cummings, S.P.; Gyaneshwar, P.; Vinuesa, P.; Farruggia, F.T.; Andrews, M.; Humphry, D.; Elliott, G.N.; Nelson, A.; Orr, C.; Pettitt, D.; Shah, G.R.; Santos, S.R.; Krishnan, H.B.; Odee, D.; Moreira, F.M.S.; Sprent, J.I.; Young, J.P.W. e James, E.K. (2009) - Nodulation of *Sesbania* species by *Rhizobium* (*Agrobacterium*) strain IRBG74 and other rhizobia. *Environmental Microbiology*, vol. 11, n. 10, p. 2510-2525. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.01975.x>
- EMBRAPA (2011) - *Manual de métodos de análise de solos*. 2ª ed. rev. Rio de Janeiro, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Solos, 230 p.
- Ferreira, D.F. (2011) - Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, vol. 35, n. 6, p. 1039-1042. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-7054201100600001>
- Ferreira, R.A.; Davide, A.C.; Bearzoti, E. e Motta, M.S. (2007) - Semeadura direta com espécies arbóreas para recuperação de ecossistemas florestais. *Cerne*, vol. 13, n. 3, p. 21-27.
- Ferreira, R.A.; Santos, P.L.; Aragão, A.G.; Santos, T.I.S.; Santos Neto, E.M. e Rezende, A.M.S. (2009) - Semeadura direta com espécies florestais na implantação de mata ciliar no Baixo São Francisco em Sergipe. *Scientia Forestalis*, vol. 37, n. 81, p. 37-46.
- Florentino, L.A. (2007) - *Relações simbióticas e edáficas de Azorhizobium doebereinae e de outras espécies nodulíferas em solos coletados próximos ao sistema radicular de Sesbania virgata (Cav.) Pers.* Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras, 62 p.
- Florentino, L.A. e Moreira, F.M.S. (2009) - Características simbióticas e fenotípicas de *Azorhizobium doebereinae*, microsimbionte de *Sesbania virgata*. *Revista Árvore*, vol. 33, n. 2, p. 215-226.
- Florentino, L.A.; Guimarães, A.P.; Rufini, M.; Silva, K. e Moreira, F.M.S. (2009) - *Sesbania virgata* stimulates the occurrence of its microsymbiont in soils but does not inhibit microsymbionts of other species. *Scientia Agricola*, vol. 66, n. 5, p. 667-676. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162009000500012>
- Florentino, L.A.; Moreira, F.M.S.; Florentino, L.A.; Jaramillo, P.M.D.; Silva, K.B.; Silva, J.S.; Oliveira, S.M. e Moreira, F.M.S. (2012) - Physiological and symbiotic diversity of *Cupriavidus necator* strains isolated from nodules of Leguminosae species. *Scientia Agricola*, vol. 69, n. 4, p. 247-258. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162012000400003>
- Fred, E.B. e Waksman, S.A. (1928) - *Laboratory manual of general microbiology - with special reference to the microorganisms of the soil*. New York, McGraw-Hill, 145 p.
- Gonçalves, M. e Moreira, F.M.S. (2004) - Specificity of the legume *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. and its nodule isolates *Azorhizobium johannae* with other legume hosts and rhizobia. I. *Symbiosis*, vol. 36, n. 1, p. 57-68.
- Guimarães, A.A.; Jaramillo, P.M.D.; Nóbrega, R.S.A.; Florentino, L.A.; Silva, K.B. e Moreira, F.M.S. (2012) - Genetic and symbiotic diversity of nitrogen-fixing bacteria isolated from agricultural soils in the Western Amazon by using cowpea as the trap plant. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 78, n. 18, p. 6726-6733. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.01303-12>
- Jensen, H.L. (1942) - Nitrogen fixation in leguminous plants. I. General characters of root-nodule bacteria isolated from species of *Medicago* and *Trifolium* in Australia. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*, vol. 66, n. 3, p. 98-108.
- Jesus, E.C.; Florentino, L.A.; Rodrigues, M.I.D.; Oliveira, M.S. e Moreira, F.M.S. (2005) - Diversidade de bactérias que nodulam siratro em três sistemas de uso da terra da Amazônia Ocidental. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol. 40, n. 8, p. 769-776. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2005000800006>
- MAPA (2011) - *Instrução Normativa nº 13. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*.
- Moreira, F.M.S.; Cruz, L.; Faria, S.M.; Marsh, T.; Martinez-Romero, E.; Pedrosa, F.O. e Young, P.P.W. (2006) - *Azorhizobium doebereinae* sp. nov. Microsymbiont of *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. *Systematic and Applied Microbiology*, vol. 29, n. 3, p. 197-206. <http://dx.doi.org/10.1016/j.syapm.2005.09.004>
- Moreira, F.M.S.; Carvalho, T.S. e Siqueira, J.O. (2010) - Effect of fertilizers, lime, and inoculation with rhizobia and mycorrhizal fungi on the growth

- of four leguminous tree species in a low-fertility soil. *Biology and Fertility of Soils*, vol. 46, n. 8, p. 771-779.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00374-010-0477-5>
- Nelson, D.R. e Mele, P.M. (2006) - The impact of crop residue amendments and lime on microbial community structure and nitrogen-fixing bacteria in the wheat rhizosphere. *Soil Research*, vol. 44, n. 4, p. 319-329.
<http://dx.doi.org/10.1071/SR06022>
- Pott, A. e Pott, V.J. (1994) - *Plantas do Pantanal*. Corumbá, EMBRAPA/CPAP/SPI, 320 p.
- Queiroz, L.R.; Coelho, F.C.; Barroso, D.G. e Queiroz, V.A.V. (2007) - Avaliação da produtividade de fitomassa e acúmulo de N, P e K em leguminosas arbóreas no sistema de aléias, em Campos dos Goytacazes, RJ. *Revista Árvore*, vol. 31, n. 3, p. 383-390.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622007000300003>
- Rincón-Rosales, R.; Lloret, L.; Ponce, R. e Martínez-Romero, E. (2009) - Rhizobia with different symbiotic efficiencies nodulate *Acaciella angustissima* in Mexico, including *Sinorhizobium chiapanecum* sp. nov. which has common symbiotic genes with *Sinorhizobium mexicanum*. *FEMS Microbiology Ecology*, vol. 67, n. 1, p. 103-117.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00590.x>
- Schweitzer, J.A.; Bailey, J.K.; Fischer, D.G.; Leroy, C.J.; Lonsdorf, E.V.; Whitham, T.G. e Hart, S.C. (2008) - Plant-soil-microorganism interactions: heritable relationship between plant genotype and associated soil microorganisms. *Ecology*, vol. 89, n. 3, p. 773-781.
<http://dx.doi.org/10.1890/07-0337.1>
- Sylla, S.N.; Samba, R.T.; Neyra, M.; Ndoye, I.; Giraud, R.; Willems, A.; De Lajudie, P. e Dreyfus, B. (2002) - Phenotypic and genotypic diversity of rhizobia nodulating *Pterocarpus erinaceus* and *P. lucens* in Senegal. *Systematic Applied Microbiology*, vol. 25, n. 4, p. 572-583.
- Vincent, J.M.A. (1970) - *Manual for the practical study of root-nodule bacteria*. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 164 p.
- Wolde-Meskel, E.; Terefework, Z.; Lindstrom, K. e Frostegard, A. (2004) - Rhizobia nodulating African *Acacia* spp. and *Sesbania sesban* trees in southern Ethiopian soils are metabolically and genomically diverse. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 36, n.3, p. 2013-2025.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.05.020>