

ENSAIOS AGRONÔMICOS DE INOCULANTES. FASE I: SELEÇÃO DE ESTIRPES PARA SOJA-PERENE (*NEONOTONIA WIGHTII*) (1)

(Agronomical inoculants' trials: phase I: *Rhizobia strains'* selection for perennial soybean (*Neonotonia wightii*)

MARIA JOSEFA FERNANDES SANCHEZ (2) e PAULO BARDAUIL ALCÂNTARA (3)

RESUMO: A soja-perene, apesar de ser a leguminosa forrageira de maior sucesso no Estado de São Paulo, tem apresentado problemas de ordem agrônômica, que podem residir na associação *Rhizobium*-leguminosa. Este trabalho teve por objetivo encontrar, através de seleção massal, populações de *Rhizobium* de maior eficiência e competitividade. Para tanto coletaram-se solos em três localidades do Estado de São Paulo com histórico antigo de cultivo de soja-perene. As amostras de solo, após diluição seriada, foram inoculadas em vasos de Leonard contendo plântulas da leguminosa. Após sessenta dias foram coletados nódulos nos vasos com maiores diluições efetuando-se testes da atividade da nitrogenase. Realizaram-se cento e cinquenta e três isolamentos que, juntamente com cinquenta e quatro isolamentos de nódulos colhidos a campo, foram testados quanto ao potencial relativo em fixar nitrogênio. Os resultados mostraram que um dos isolamentos (i-94b) produziu significativamente ($P < 0,01$) mais nitrogênio total que os demais, incluindo as estirpes recomendadas até então para soja-perene. Os contrastes Isolamento Direto X Isolamento após Redução de Acetileno, Estirpes Recomendadas X Controles Nitrogenados, Isolamentos de Nativos X Estirpes Recomendadas + Controles Nitrogenados, mostraram-se altamente significativos ($P < 0,01$) em relação à produção de matéria seca e quantidade total de nitrogênio por vaso.

INTRODUÇÃO

De origem Asiática e Africana, a soja-perene é uma leguminosa tropical com potencialidade como planta forrageira que, apesar de apresentar barreiras para sua exploração racional e econômica, tem apresentado boa adaptação no Estado de São Paulo.

O uso de leguminosas em pastagens de gramíneas tropicais é assunto de algumas décadas entre nós (ENCONTRO..., 1969). Sua contribuição como fonte de nitrogênio e como melhoria proteica na dieta dos bovinos bem como sua vantagem econômica quando comparada à fertilização nitrogenada já

(1) Parte do Projeto IZ-035/84, Convênio Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa Agropecuária (FUNDEPAG)/Secretaria de Estado da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia (SICCT). Recebido para publicação em abril de 1988.

(2) Da Seção de Agronomia de Plantas Forrageiras, Divisão de Nutrição Animal e Pastagens.

(3) Da Seção de Agronomia de Plantas Forrageiras, Divisão de Nutrição Animal e Pastagens. Bolsista do CNPq.

foi descrita por vários autores (ALCÂNTARA et alii, 1979 e SILVA & SANTOS, 1986). Segundo BOIN (1986) o uso da consorciação diminui o efeito da estacionalidade de produção de gramíneas tropicais.

Para alguns autores, um dos problemas a serem solucionados para a maior utilização da soja-perene em pastos consorciados pode residir na eficiência da associação Rhizobium-leguminosa (ANDREW & HUTTON, 1974 e ALLEN & ALLEN, 1981); tratando-se de leguminosa que nodula espontaneamente com Rhizobium do "grupo cowpea", nativo dos solos tropicais, (MOLINA et alii, 1983 e SANCHEZ et alii, 1985) a soja-perene depende, na formação de um processo simbiótico eficiente, da complexa interação entre os fatores genéticos dos micro e macro simbioses, bem como das condições ambientais que interferem nas relações de competitividade dos microorganismos no solo (TRINICK, 1985). Alguns autores consideram o lento crescimento inicial da soja-perene e a nodulação tardia como uma característica de espécie (WHITEMAN, 1968/69 e PHILPOTTS, 1975).

Quanto ao efeito da introdução no solo de estirpes selecionadas, dados relatados por vários pesquisadores demonstram ser a correção da fertilidade do solo, condição suficiente para boa nodulação (DIATLOFF & LUCK, 1972; SCHOLLES et alii, 1981; MONTEIRO et alii, 1983; DE POLLI & FRANCO, 1985 e SANCHEZ et alii, 1986); outros optam pela classificação da soja perene como "moderadamente seletiva", respondendo à inoculação principalmente por auxiliar e acelerar o estabelecimento inicial (Bogdan, citado por SEIFFERT, 1982 e DE POLLI & FRANCO, 1985). No entanto, não são poucos os que citam a necessidade de se inocular a soja-perene com estirpes

próprias visando sua plena eficiência na fixação de nitrogênio. Trabalhos como os de GLYCINE... (1967), HUTTON (1970), RIBEIRO et alii (1970) e PHILPOTTS (1977) mostram que para haver bom estabelecimento e boa nodulação, há necessidade de inoculação. No Estado de São Paulo, LOPES et alii (1971 e 1972) e LOPES (1973), trabalhando com rizóbios nativos e soja-perene com diversos tipos de solo, conclui que a população nativa estudada não foi suficiente para promover fixação equivalente ao de estirpes selecionadas, embora culturas anteriores com soja-perene tenham promovido um aumento da população nativa do solc capaz de nodular esta leguminosa, bem como da efetividade desta população nativa.

O potencial de fixação de nitrogênio biologicamente pelas leguminosas forrageiras tropicais, apesar de todas essas inferências feitas, é considerado baixo se comparado com as leguminosas para produção de grãos ou mesmo com as leguminosas forrageiras temperadas. Segundo trabalho de revisão de BOIN (1986) o potencial de fixação de nitrogênio de leguminosas forrageiras tropicais em consorciação com gramíneas fica entre 44 a 180 kg de N (nitrogênio)/ha; valores da ordem de 70 a 180 kg N/ha foram encontradas em Glycine wightii na África (Jones, citado por KEYA, 1977), de 75 kg de N/ha em Glycine wightii no Brasil (MATTOS & WERNER, 1977), de 100 - 140 kg de N/ha com Glycine wightii cv. Cooper por JOHANSEN & KERRIDGE (1979) em Queensland e de 133 kg de N/ha em Neonotonia wightii cv. Tinaroo por Miller & Van Der Hist em Queensland, citado em CARVALHO (1986).

O maior problema relacionado com a procura e o uso de inóculo específico para leguminosas do "grupo cowpea", visando

umentar a contribuição em termos de nitrogênio para o pasto consorciado, reside na relação competitividade (competência saprofítica + competitividade de nodulação) x eficiência, sendo as estirpes nativas altamente competitivas e em geral de baixa eficiência (BROCKWELL, 1980 e BUSBY, 1983).

Foi com o objetivo de se encontrar, através da seleção massal, populações de rizóbios nativos que proporcionassem competitividade e eficiência elevadas para fixar nitrogênio do ar, em soja perene, que se realizou o presente trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Instituto de Zootecnia, em Nova Odessa, SP.

Foram colhidas amostras de solo em Pirassununga, SP (Areia Quartzosa), Jaca-

reí, SP (Latosolo Vermelho-Amarelo) e Leme, SP (Latosolo Vermelho-Escuro fase arenosa), em locais com, no mínimo, quinze anos de cultivo de soja perene, e que apresentaram as características constantes no quadro 1.

Quadro 1. Características químicas de solos de três localidades (Pirassununga, Jacaref e Leme) do Estado de São Paulo, com cultivo de pelo menos 15 anos com soja-perene

Solo	P		pH em CaCl ₂	K	Ca	Mg	H+Al	S	T	V
	µg/MO cm ³	%								
Pirassununga 1	13	5,9	4,7	0,21	4,4	1,8	5,5	6,4	11,9	54
Pirassununga 2	13	6,8	4,9	0,54	5,8	2,0	3,9	8,3	12,2	68
Pirassununga 3	16	4,3	5,6	0,32	4,8	1,8	2,7	6,9	9,6	72
Pirassununga 4	12	4,3	4,8	0,23	2,8	1,0	4,9	4,0	8,9	45
Jacaref	13	3,4	4,7	0,20	2,5	2,3	4,0	5,0	9,0	56
Leme	34	4,5	5,2	0,36	6,3	1,5	3,1	8,2	11,3	73

As subamostras de um mesmo local foram homogeneizadas e 10 g de solo foram diluídas em água estéril, em diluição seriada. Aliquotas de cada diluição foram inoculadas em vasos de Leonard contendo areia e vermiculita, na proporção de 1:1, com plântulas de soja-perene (Neonotonia wightii cv. Tinaroo) com sete dias de ger-

minação e solução nutritiva de Norris, isenta de nitrogênio, segundo CIAT (1985). O esquema de diluição seriada, bem como o preparo dos vasos e das sementes seguiu metodologia apresentada por ALCÂNTARA et alii (1988*). Após sessenta dias de germinação, os vasos que apresentavam plantas com características de boa fixação de ni-

* Alcântara, P. B. et alii (1988), comunicação pessoal.

trogênio, e que tinham recebido a maior diluição do solo foram levados ao laboratório, para testes do potencial de redução de acetileno da nitrogenase presente em noventa e cinco nódulos de cada solo. Dos resultados obtidos foram escolhidos vinte nódulos de cada tipo de solo e, feitos cento e cinquenta e três isolamentos em meio agar, manitol e extrato de levedura. Esta rotina de isolamento teve o cuidado de evitar passagens sucessivas em meio de cultura, sendo que colônias em morfologias diferentes foram consideradas como isolamentos distintos.

Os isolamentos (RA) foram então testados quanto à sua capacidade de fixar nitrogênio, em vasos de Leonard, com soja perene, em ensaio em blocos ao acaso com três repetições, em duas fases: no Ensaio I foram testados cento e um isolamentos e no Ensaio II cento e seis isolamentos onde

foram colocados vasos controles com dois níveis de nitrogênio; 200 mg (N_3) e 400 mg (N_6) de N por vaso, na forma de NH_4NO_3 ; foram ainda usados como controle, vasos inoculados com suspensão das estirpes NO 65 (SMS-303, isolada de G. wightii) e NO 71 (SMS-569, UNKL 44, SEMIA 6042, TAL 65, isoladas de Calopogonium mucunoides), ambas recomendadas para a inoculação da soja perene. Cinquenta e quatro isolamentos (i) feitos de nódulos colhidos diretamente no campo, nos mesmos solos, foram acrescentados ao ensaio. Incluiu-se ainda o controle total sem nitrogênio e sem inóculo.

Após noventa dias, a parte aérea das plantas foi colhida, determinando-se a produção de matéria seca e a quantidade total de nitrogênio por vaso, esta última obtida através da análise de nitrogênio na planta (método de mikrokjeldahl.).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Baseando-se em metodologia de Date & Vincent, citados por BROCKWELL (1982), para o cálculo do número mais provável de Rhizobium no solo, obtiveram-se, para as amostras colhidas em Pirassununga³, Jacareí³ e Leme, as estimativas de $6,90 \times 10^3$, $0,17 \times 10^3$ e 700×10^3 bactérias por grama de solo, respectivamente.

Pelos dados da cromatografia gasosa, verificou-se que nos solos amostrados, a frequência de nódulos obtidos com atividade de nitrogenase próxima a zero foi alta, mostrando uma tendência a representarem uma população mista altamente ineficiente quanto ao potencial enzimático em reduzir o acetileno a etileno. Não houve, no caso, uma preocupação em se fazer homogeneização quanto à idade dos nódulos amostra-

dos (o peso nodular variou de 0,1 a 37,8 mg). A distribuição da frequência de nódulos em função dos nanomoles de atividade de nitrogenase calculados, em cada tipo de solo é mostrada nas figuras 1, 2 e 3.

Dos resultados obtidos em vasos de Leonard, para estudar a eficiência dos diversos isolados em fixar nitrogênio do ar pode-se verificar que, ao contrário do encontrado nas Guianas por TROTMAN & WEAVER (1986), grande número de isolamentos foi altamente ineficiente. Os dados obtidos mostraram, no ensaio I, valores de produção de matéria seca da parte aérea e quantidade total de nitrogênio considerados dentro da faixa de normalidade para soja perene, nestas condições experimentais. Quanto ao ensaio II, os dados de produção

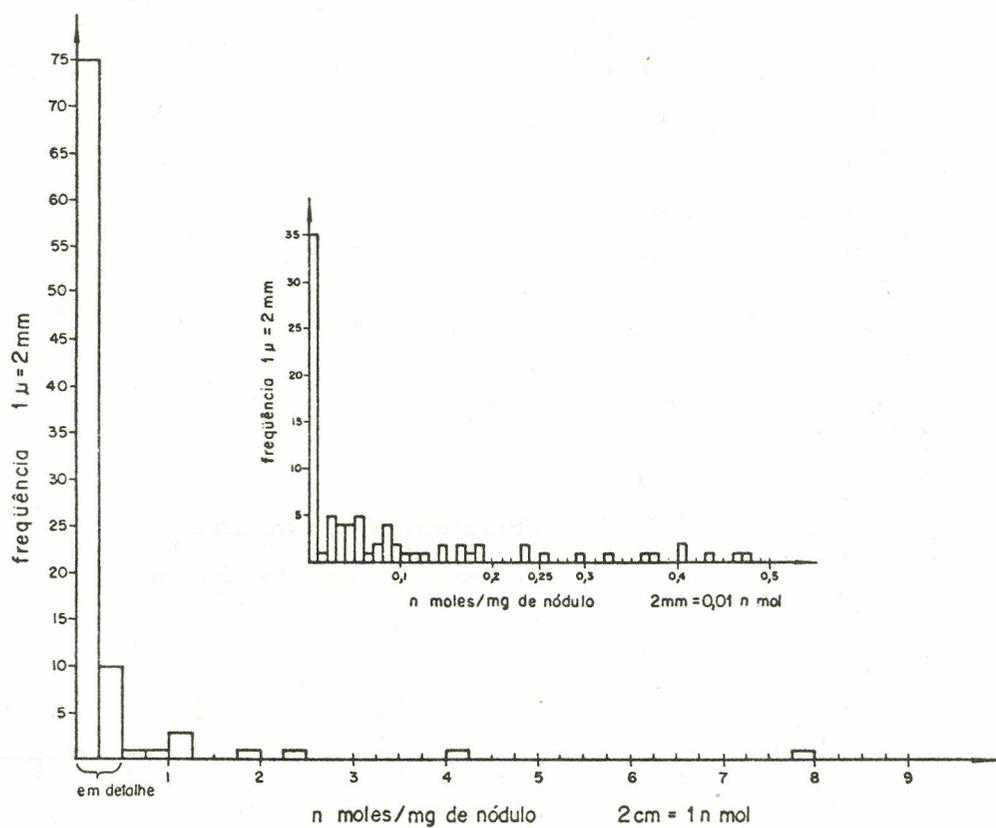


Figura 1. Solo de Jacareí: atividade da nitrogenase (n moles/mg de nódulo)

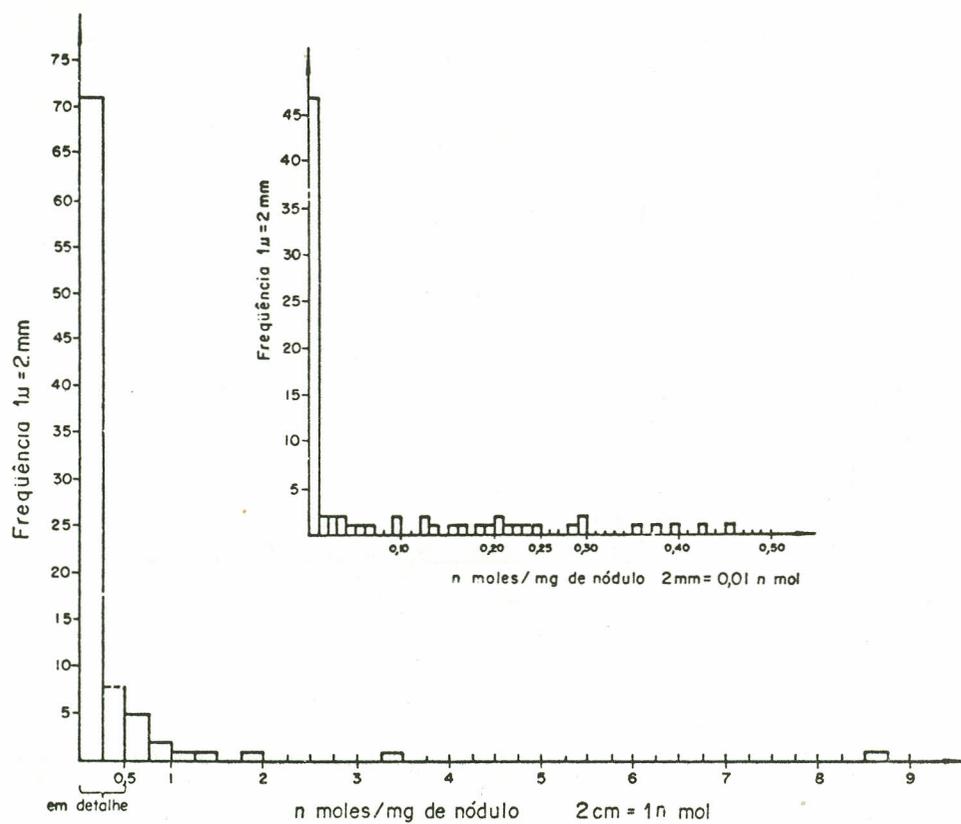


Figura 2. Solo de Pirassununga: atividade da nitrogenase (n moles/mg de nódulo)

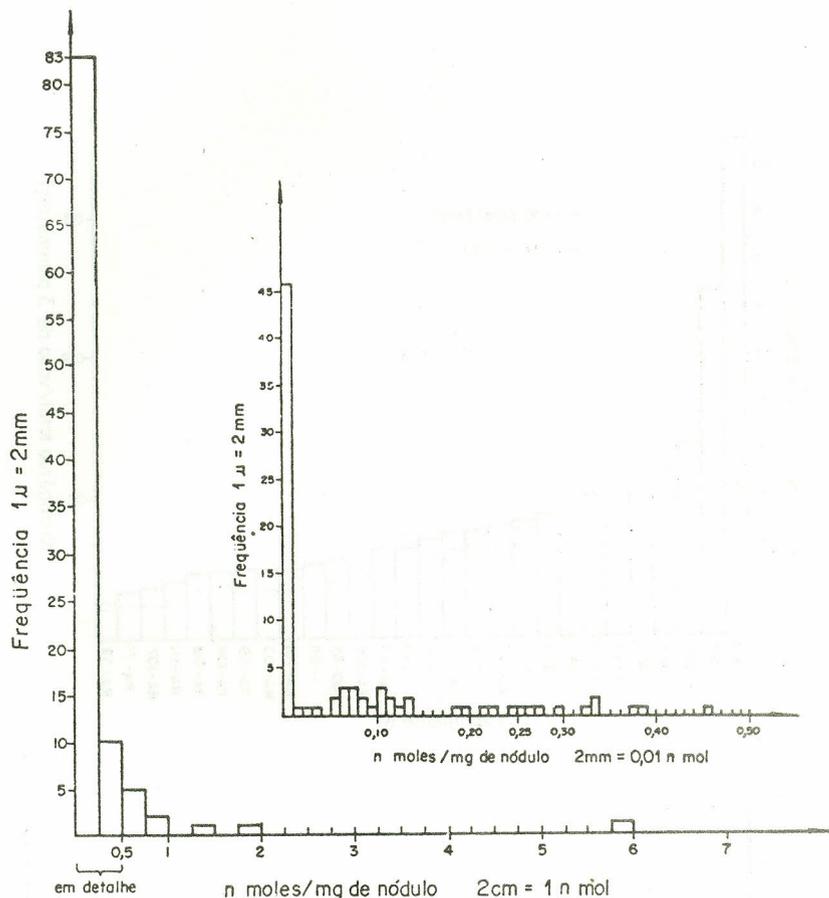


Figura 3. Solo de Leme: atividade da nitrogenase (n moles/mg de nódulo)

sugerem interferência negativa na expressão do potencial dos diferentes sistemas testados, promovendo um achatamento nos valores dos dados experimentais.

A figura 4 mostra os gráficos que sobrepõe às medidas de produção de matéria seca em ordem decrescente a quantidade total de nitrogênio por vaso dos diferentes isolados mostrando que, em alguns isolados, como afirma HAYDOCK et alii (1980), a correlação entre produção de matéria seca da parte aérea da planta e nitrogênio total no vaso deve ser aceita com cuidado, como em casos onde ocorreram limitações no desenvolvimento pleno da planta.

O solo amostrado em Pirassununga, em local com vegetação típica de cerrado fraco, apresentou uma porcentagem maior de isolamentos altamente ineficientes, comparado com os solos amostrados em Leme e Jacareí, sendo que este último apresentou isolados com potencial de fixação de até quatro vezes mais do que as estirpes usadas com referência (os quadros 2 e 3 apresentam as médias das três repetições). Estas observações confirmam as de DATE (1982) e as de SINCLAIR et alii (1984) que citam uma grande variação das características genéticas das populações nativas de rizóbios entre regiões distintas para outras leguminosas forrageiras.

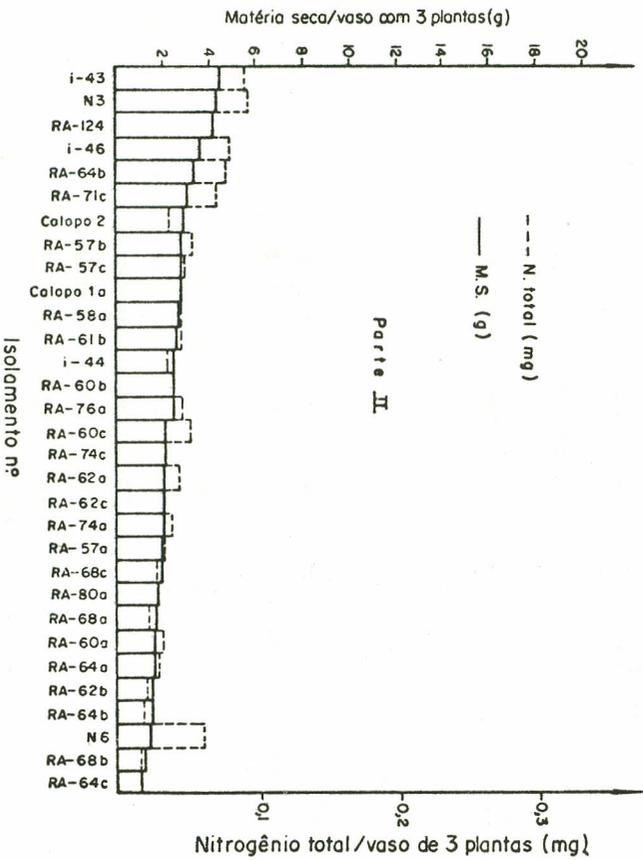
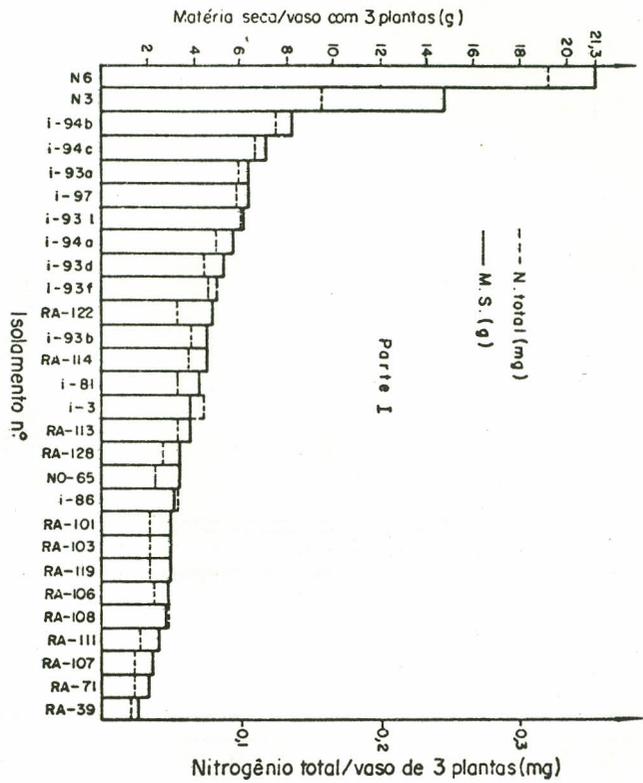


Figura 4. Produção de matéria seca por vaso (g) em ordem decrescente e quantidade total de nitrogênio por vaso (mg), dos isolados testados nos ensaios I e II.

Quadro 2. Peso seco (g) a 65°C da parte aérea, nitrogênio total (mg) produzido por vaso, quantidade, tamanho e posição dos nódulos. Dados de 26 isolamentos; médias de 3 plantas. Ensaio I*

Isolado	Nº	P	Tamanho	Peso seco da parte aérea (g)	N total (mg/vaso)
i-3	A	V	M	3,9	75,5
RA-39	R	S	V	1,6	20,3
i-81	Rv	S	V	4,3	55,1
i-86	Rv	S	G	3,2	56,2
i-93a	A	1/2	V	6,4	99,4
i-93b	A	S	V	4,6	65,4
i-93d	A	S	V	5,3	74,5
i-93e	A	1/2	V	6,2	102,2
i-93f	A	S	V	5,0	77,5
i-94a	Rv	S	V	5,7	82,9
i-94b	Ma	1/2	V	8,2	125,8
i-94c	Rv	S	V	7,1	111,3
i-97	A	1/2	V	6,4	97,5
RA-101	F	S	V	3,0	36,0
RA-103	Rv	S	V	3,0	36,4
RA-106	Rv	S	V	2,9	38,3
RA-107	R	S	G	2,2	24,3
RA-108	R	S	V	2,8	48,6
RA-111	R	S	G	2,5	29,3
RA-113	R	S	V	3,9	55,2
RA-114	A	S	G	4,6	64,6
RA-119	F	S	G	3,0	35,3
RA-122	Rv	S	G	4,8	54,1
RA-128	R	S	G	3,4	45,1
NO-71	R	S	G	2,0	23,2
NO-65	Rv	S	V	3,4	37,5
N ₆				21,3	320,0
N ₃				14,8	158,8

* = Resultados dos isolamentos que apresentaram produção de MS suficiente para análise de N de um total de 207 isolados testados.

i = isolado de nódulo colhido diretamente do campo.

RA = isolamentos escolhidos por redução de acetileno.

N₃ = 200 mg N/vaso.

N₆ = 400 mg N/vaso.

Nº: Ma = muito abundante (>30); A = abundante (20 a 30); Rv = razoável (10 a 20); F = fracamente (5 a 10); R = ralos (1 a 5).

P = (posição); V = variável; S = superfície do vaso; 1/2 = meio do vaso.

Tam: tamanho dos nódulos: V = variável; G = grandes; M = médios.

Quadro 3. Peso seco (g) a 65°C da parte aérea, nitrogênio total (mg) produzido por vaso, quantidade, tamanho e posição dos nódulos. Dados de 27 isolamentos; médias de 3 plantas. Ensaio II*

Isolado	nº	P	Tam.	Peso seco da parte aérea (g)	N total (mg/vaso)
i-43	A	V	V	4,5	92,6
i-44	Rv	1/2	V	2,4	35,7
i-46	Ma	1/2	MP	3,6	82,0
RA-57a	Rv	T	V	1,9	34,1
RA-57b	Rv	T	V	2,8	54,4
RA-57c	A	T	V	2,8	49,7
RA-58a	Rv	1/2	V	2,7	46,4
RA-60a	A	1/2	MP	1,5	32,0
RA-60b	A	T	V	2,4	40,0
RA-60c	Rv	T	V	2,3	53,0
RA-61b	Rv	T	V	2,6	46,4
RA-62a	A	T	MP	2,1	43,3
RA-62b	F	1/2	MG	1,4	20,5
RA-62c	A	T	V	2,0	34,8
RA-64a	Rv	1/2	MP	1,5	28,0
RA-64b	Rv	T	V	3,4	79,1
RA-64c	F	1/2	V	0,9	13,7
RA-68a	Rv	T	V	1,6	21,8
RA-68b	Rv	T	V	1,0	13,5
RA-68c	Rv	1/2	V	1,9	28,3
RA-71c	Ma	T	MP	3,1	71,9
RA-74a	A	T	V	2,0	38,4
RA-74b	Rv	1/2	V	1,4	18,8
RA-74c	A	T	V	2,3	34,2
RA-76a	A	T	V	2,4	46,1
RA-80a	Rv	V	V	1,7	29,5
RA-124	R	1/2	V	4,2	69,3
N ₃				4,4	94,8
N ₆				1,3	60,3
calopo 1a	Rv	T	V	2,8	46,1
Calopo 2	Rv	V	V	2,9	39,3

* = Resultados de isolamentos que apresentaram produção de MS suficiente para análise de N de um total de 207 isolados testados.

i : isolado de nódulo colhido diretamente do campo.

RA : isolamentos escolhidos por redução de acetileno.

N₃ : 200 mg N/vaso.

N₆ : 400 mg N/vaso.

nº = número de nódulos: Ma = muito abundante (>30); A = abundante (20 a 30); Rv = razoável (10 a 20); F = fracamente (5 a 10); R = raros (1 a 5).

P = posição dos nódulos: V = variável; S = superfície do vaso; 1/2 = meio do vaso; T = total das raízes.

Tam = tamanho dos nódulos: V = variável; G = grandes; M = médios; P = pequenos; MP = médios e pequenos; MG = médios e grandes.

O número de estirpes, dentro de cada solo, que se mostraram eficientes para a soja-perene foi, porcentualmente o mesmo, tanto para as obtidas por isolamento direto de nódulos colhidos no campo (i) quanto de nódulos escolhidos por redução de acetileno (RA).

De maneira geral, as plantas inoculadas com isolados de nódulos colhidos no campo (i) mostraram que as estirpes mais eficientes formaram maior número de nódulos confirmando as observações de KENNEDY (1962) com o gênero Glycine (inclusive G. wightii). O mesmo não foi observado nas plantas inoculadas com isolados de nódulos escolhidos por redução de acetileno (RA); estas apresentaram, no geral, menor produção de matéria seca que as anteriores tanto nas plantas bem noduladas, quanto nas com pouca nodulação.

A análise de variância dos dados mostrou que, no Ensaio I, os controles que receberam 200 a 400 mg de nitrogênio por vaso produziram significativamente mais que os isolamentos ($P < 0,01$), e que não houve diferença significativa ($P > 0,01$), entre estes, em termos de produção de matéria seca por vaso. Quanto à quantidade total de nitrogênio por vaso, o controle que recebeu 400 mg de nitrogênio produziu

significativamente ($P < 0,01$) mais que os demais tratamentos; o controle que recebeu 200 mg de N e o isolamento i-94b produziram menos que o que recebeu 400 mg de N, mas significativamente ($P < 0,01$) mais que os demais isolamentos, inclusive mais que as estirpes recomendadas para soja perene (NO 65 e NO 71). Os tratamentos do ensaio II não mostraram diferenças significativas ($P > 0,01$).

Ainda pela análise de variância foram encontradas significâncias ($P < 0,01$) para os contrastes relativos à produção de matéria seca e nitrogênio total por vaso, de isolados de população nativa (i + RA) "versus" controles com adubação nitrogenada (N) ou estirpes recomendadas (NO); isolados de nódulos colhidos no campo (i) "versus" isolados de nódulos escolhidos por redução de acetileno (RA); controles nitrogenados (N) "versus" estirpes recomendadas (NO). Não foram significativos ($P > 0,01$) os contrastes entre as estirpes isoladas de nódulos colhidos no campo (i), entre as estirpes isoladas de nódulos escolhidos por redução de acetileno (RA), entre as estirpes recomendadas (NO). Entre os dois controles nitrogenados, o contraste não foi significativo ($P > 0,01$) para a produção de matéria seca, mas foi significativo ($P < 0,01$) para a quantidade total de nitrogênio por vaso.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados observados pode-se concluir que:

Existe material genético nativo de Rhizobium spp altamente eficiente em fixar nitrogênio do ar em simbiose com a soja perene.

Diferentes isolados de Rhizobium spp, obtidos de um mesmo nódulo, mostraram diferentes capacidades de fixar nitrogênio do ar em vasos de Leonard, na presença de soja perene.

Nos solos estudados, há grande ocorrência de estirpes de *Rhizobium* spp altamente ineficientes em fixar nitrogênio do ar com a soja perene.

De uma maneira geral, as estirpes provenientes de isolados de nódulos colhidos a campo foram mais eficientes em fixar nitrogênio do ar em simbiose com a soja

perene, em vasos de Leonard, do que as estirpes obtidas de nódulos originados da diluição do solo, e escolhidos pelo potencial enzimático em reduzir o acetileno a etileno.

Nos solos estudados, há grande ocorrência de população nativa de rizóbios altamente ineficientes quanto ao potencial enzimático em reduzir acetileno a etileno.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Dr^a Siu Mui Tsai Saito, da Seção de Microbiologia do Solo, do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, ao Dr. Caio Vidor, do Departamento de Solos da Faculdade de Agronomia da UFRGS e à Dr^a Eliana Aparecida Schammass, da Seção de Estatística e Técnica Experimental do Instituto de Zootecnia, pela orientação técnica recebida. Agradecem ao apoio recebido do Dr. Geraldo Leme da Rocha, Pesquisador Científico VI - bolsista do CNPq e do bibliotecário Ademir Giacomo Pietrosanto; a ajuda recebida dos técnicos da Coordenadoria de Assistência Técnica e Integral, particularmente a: Walter Marques Pereira (Campinas), Roberto Albers (Leme), do engenheiro agrônomo Roberto de Souza Gomes Coelho, da Fazenda Rolinha, Guararapes, SP, do médico veterinário Nilson Guilherme Oliveira Monteiro, da fazenda Dois Irmãos, Guararapes, SP e do Dr. Santo Lunardelli, da fazenda Santa Rita do Mato Dentro, Campinas, SP. Agradecem a participação na condução dos trabalhos laboratoriais, recebido das biólogas Maria Goretti de Oliveira Pelincer Lellis e Silvia Mansur Scagliusi Novaski.

SUMMARY: Acting as the most promising forage legume in the State of São Paulo, perennial soybean has presented some agronomical problems due, maybe, to the legume-*Rhizobium* association. The present work had the aim to find out through massal selection, *Rhizobium* populations with higher competitiveness and efficiency. Soil collectings in three ancient perennial soybean cultivation sites in the State of São Paulo were made. Soil samples after progressive dilutions were inoculated in Leonard pots with legume seedlings. Nodules were collected 60 days after inoculation using those pots with higher dilutions. Two hundred and seven isolates from nodules were tested on their capacity of fixing N. One strain, i-94b, gave more total N ($P < 0,01$) than the others, overcoming the recommended ones. Direct isolation x isolation after acetylene reduction; recommended strains x N controls; native isolations x recommended strains + N controls contrasts were highly significant ($P < 0,01$) for DMP per pot and for total N amount per pot.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCÂNTARA, P. B.; ABRAMIDES, P. L. G. & ROCHA, G. L. Efeito da quantidade de leguminosas presentes em pastagens de gramíneas tropicais, sobre o ganho de peso de bovinos de corte. Zootecnia, Nova Odessa, SP, 17(4):225-38, out./dez. 1979.
- ALLEN, O. N. & ALLEN, E. K. The leguminosae: a source book of characteristics, uses and nodulation. London MacMillan, 1981. 812 p.
- ANDREW, C. S. & HUTTON, E. M. Effect of pH and calcium on the growth of tropical pasture legumes. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 12., Moscow, 1974. Proceedings... Moscow, State Committee on Science and Technique of the USSR Council of Ministers, 1974. v. 2, p. 23-8.
- BOIN, C. Produção animal em pastos adubados. In: SIMPÓSIO SOBRE CALAGEM E ADUBAÇÃO DE PASTAGENS, 1., Nova Odessa, SP, 1985. Calagem e adubação de pastagens: anais... Piracicaba, SP, Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1986. p. 383-419.
- BROCKWELL, J. Can inoculant strains ever compete successfully with established soil population. In: GIBSON, A. H. & NEWTON, W. E., eds. Current perspectives in nitrogen fixation: proceedings of the fourth international symposium on nitrogen fixation, held in Canberra, Australia, 1980. scp, 1980. p. 277-9.
- Plant-infection counts of rhizobia in soils. In: VICENTE, J. M., ed. Nitrogen fixation in legumes. New York, Academic Press, 1982. p. 41-58.
- BUSHBY, H. V. A. Studies on introduced Rhizobium spp. in Australia. In: CSIRO. Annual report 1982-1983. Brisbane, Division of Tropical Crops and Pastures, 1983. p. 74-6.
- CARVALHO, M. M. Fixação biológica como fonte de nitrogênio para pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE CALAGEM E ADUBAÇÃO DE PASTAGENS, 1., Nova Odessa, SP, 1985. Calagem e adubação de pastagens: anais.. Piracicaba, SP, Associação Brasileira para Pesquisa de Potassa e do Fosfato, 1986. p. 125-44.
- CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (CIAT). Aislamiento, caracterización y selección de Rhizobium para leguminosas forrajeras en suelos acidos da América Tropical: guia metodológica. Cali, Sección de Microbiología de Suelos; Programa de Pastos Tropicales, 1985. 57 p.
- DATE, R. A. Rhizobium collection and evaluation activities. In: CSIRO. Annual report 1981-1982. Brisbane, Division of Tropical Crops and Pastures, 1982. p. 64-5.
- DE POLLI, H. & FRANCO, A. A. Inoculação de sementes de leguminosas. Seropédica, RJ, Embrapa/UAPNBS, 1985. 31 p. (Circular Técnica, 1).
- DIATLOFF, A. & LUCK, P. E. The effects of the interaction between seed inoculation, pelleting and fertilizer on growth and nodulation of Desmodium and Glycine on two soils in S.E. Queensland. Trop. Grassl., Brisbane, 6(1):33-8, Mar. 1972.

ENCONTRO de técnicos da região Centro-Sul para discussão de problemas relacionados às leguminosas forrageiras, l., Nova Odessa, SP, 1969. Trabalhos apresentados. Nova Odessa, scp, 1969. 190 f.

GLYCINE javanica - its strengthes and weaknesses. Rur. Res. CSIRO, East Melbourne, (59):11-7, June, 1967.

HAYDOCK, K. P.; NORRIS, D. O & MANNETJE, L. T'. The relation between nitrogen percent and dry weight of inoculated legumes. Plant and Soil, The Hague, 57 (2/3):353-62, 1980.

HUTTON, E. M. Tropical pastures. Adv. Agron., New York, 22:2-73, 1970.

JOHANSEN, C. & KERRIDGE, P. C. Nitrogen fixation and transfer in tropical legume-grass swards in South-eastern Queensland. Trop. Grassl., Brisbane, 13:165-70, 1979.

KENNEDY, M. M. Notes on the symbiosis of selected strains of rhizobia and Glycine javanica. Queensl. J. Agric. Sci., Brisbane, 19(3):425-8, Sept. 1962.

KEYA, S. O. Nodulation and nitrogen fixation in legumes in East Africa. In: AYANABA, A. & DART, P. J., eds. Biological nitrogen fixation in farming systems of the tropics. Chichester, John Wiley & Sons, 1977. p. 233-43.

LOPES, E. S. Ecology of Rhizobium in tropical legumes. In: IMPACTOS GLOBAIS DA

MICROBIOLOGIA APLICADA, São Paulo, 1973. Resumos... São Paulo, scp, 1973. p. 1.

—————; LOVADINI, L. A. C.; GARGANTINI, H. & IGUE, T. Número mais provável e eficiência de Rhizobium autóctone para soja perene e siratro, em quatro grandes grupos de solos do Estado de São Paulo. Bragantia, Campinas, SP, 31(20):235-48, jul. 1972.

—————; ————; ———— & MIYASAKA, S. Capacidade fixadora de nitrogênio de Rhizobium autóctone associado com soja perene e siratro, em dois solos do Estado de São Paulo. Bragantia, Campinas, SP, 30(15):145-54, nov. 1971.

MATTOS, H. B. & WERNER, J. C. Effect of mineral nitrogen and legumes upon dry matter production of "colonião" grass, Panicum maximum Jacq. In: DOBEREINER, J.; BURRIS, R. H. & HOLLANDER, A., eds. Limitation and potential for biological nitrogen fixation in the tropics. New York, Plenum, 1977. p. 341. (Basic Life Science, 10).

MOLINA, O. E.; RODRIGUEZ REY, J. C. & TOLLA, J. R. Nodulación espontanea en leguminosas forrajeras tropicales. Rev. Ind. Agric. Tucuman, 60(1):105-8, 1983.

MONTEIRO, F. A.; COLOZZA, M. T.; WERNER, J. C. & OLIVEIRA, J. B. Limitações de fertilidade em solos de seis localidades paulistas para o cultivo da soja-perene. Zootecnia, Nova Odessa, SP, 21(3):181-212, jul./set. 1983.

- PHILPOTTS, H. The effect of lime and Rhizobium strain on the nodulation of Glycine wightii and Macroptilium atropurpureum on acid soils. Trop. Grassl., Brisbane, 9(1):37-43, Mar. 1975.
- _____. Effect of inoculation on Rhizobium survival and plant nodulation under adverse conditions. Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb., East Melbourne, 17(85):308-15, Apr. 1977.
- RIBEIRO, G. L.; GARCIA, R.; RADIM, A. T. & GOMIDE, J. A. Respostas da soja perene (Glycine javanica) à inoculação com Rhizobium cowpea, calagem e adubação fosfatada e potássica. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 7., Piracicaba, SP, 1970. Anais... Piracicaba, SP, Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1970. p. 16-7.
- SANCHEZ, M. J. F.; GHISI, O. M. A. A.; AGUIAR, M. S. A. & GOMES, M. J. I. R. Observações sobre nodulação a campo em soja perene (Neonotonia wightii) e centrosema (Centrosema pubescens) em diversas regiões do Estado de São Paulo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 22., Balneário Camboriú, SC, 1985. Anais... Balneário Camboriú, SC, Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1985. p. 314.
- _____; MATTOS, H. B.; LOPES, E. S.; TAKEDA, A. K.; ADELINO, M. G. F. & EBNER FILHO, W. Resposta à inoculação por algumas leguminosas forrageiras de clima tropical. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 23., Campo Grande, 1986. Anais... Campo Grande, Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1986. p. 204.
- SCHOLLES, D.; KOLLING, J. & FREIRE, J. R. J. Necessidade de inoculação e aplicação de calcário em leguminosas forrageiras tropicais em solos ácidos. R. Bras. Ci. Solo, Campinas, SP, 5:97-102, 1981.
- SEIFFERT, N. F. Leguminosas para pastagens no Brasil Central. Campo Grande, Embrapa/CNPQC, 1982. 131 p. (Documentos, 7)
- SILVA, G. L. S. P. & SANTOS, Z. A. P. Aspectos econômicos da adubação de pastagens no Estado de São Paulo. In: SIMPÓSIO SOBRE CALAGEM E ADUBAÇÃO DE PASTAGENS, 1., Nova Odessa, SP, 1985. Calagem e adubação de pastagens: anais... Piracicaba, SP, Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1986. p. 421-42.
- SINCLAIR, M. J.; STOWERS, M. D.; GOLDMAN, B. J.; AYANABA, A. & EAGLESHAM, A. R. J. Characteristics of indigenous populations of cowpea rhizobia from West Africa. In: VEEGER, C. & NEWTON, W. E., eds. Advances in nitrogen fixation research. The Hague, Nijhoff/Junk, 1984. p. 360.
- TRINICK, M. J. Rhizobium strain competition for host nodulation. In: SHIBLES, R. ed. World soybean research conference III: proceeding. Boulder, COLO, Westvies, 1985. p. 911-7.
- TROTMAN, A. A. & WEAVER, R. W. Number and effectiveness of cowpea rhizobia in soils of Guyana. Trop. Agric., London, 63(2):129-32, Apr. 1986.
- WHITEMAN, P. C. Nodulation of tropical legumes in the field. In: CSIRO. Annual report 1968-1969. Brisbane, 1969. p. 50-3.