



## EFEITO DA INOCULAÇÃO CONJUNTA DE RIZÓBIO E MICRORGANISMOS ANTAGÔNICOS A RIZÓBIO NA NODULAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE *NEONOTONIA WIGHTII* LACKLEY<sup>1</sup>

MARIA JOSEFA FERNANDES<sup>2</sup> e LÁZARA CORDEIRO<sup>3</sup>

**RESUMO:** Foi instalado experimento em casa de vegetação, utilizando-se dois cultivares de soja-perene (*Neonotonia wightii*) para verificar o efeito da inoculação conjunta de rizóbios (6), actinomicetos (5) ou fungos (3) produtores de agente inibidor de crescimento de rizóbio em meio de cultura, no desenvolvimento e nodulação da planta. Aos sessenta dias de germinação os valores obtidos variaram, consideradas as médias, de 410 a 600 mg/planta para peso da matéria seca da parte aérea, de 19 a 32mg/planta para peso da matéria seca de nódulos e de 16 a 24 nódulos/planta para número total de nódulos. Houve alta correlação entre a variável peso da matéria seca da parte aérea e as variáveis peso da matéria seca de nódulos, número de nódulos com diâmetros entre 2 e 4mm e número total de nódulos por planta. Os dados mostraram diferenças significativas entre cultivares e entre rizóbios, mas a inoculação conjunta de rizóbios e microrganismos produtores de agentes de inibição do rizóbio em meio de cultura não interferiu no quadro de nodulação e no crescimento da leguminosa.

**Termos para indexação:** *Bradyrhizobium spp.*, rizóbio nativo, microrganismos do solo, interação entre microrganismos.

*EFFECT OF INOCULATION WITH RHIZOBIA, TOGETHER OTHER MICROORGANISMS ANTAGONIC TO RHIZOBIA, ON NODULATION AND DEVELOPMENT OF NEONOTONIA WIGHTII LACKLEY*

**SUMMARY:** A greenhouse study was set up, with two *Neonotonia wightii* cultivars, to verify the effect of inoculation with rhizobia (6), together actinomycetes (5) or fungi (3) that produce in growth medium rhizobium inhibition agent, in plant shoot growth and nodulation response. After sixty days of germination, the mean values varied from 410 to 600mg/plant for shoot dry weight, from 19 to 32mg/plant for nodules dry weight and from 16 to 24 nodules per plant. There was high correlation between shoot dry weight and nodules dry weight, or number of nodules with diameter between 2 and 4mm or nodule number per plant. The data showed significant differences between cultivars and between rhizobia but the together inoculation of rhizobia and the other microorganisms that produce, in culture medium, inhibition agents to rhizobia did not influence the nodulation and legume growth.

**Index Terms:** *Bradyrhizobium spp.*, native rhizobium, soil microorganisms, microorganisms interaction.

<sup>1</sup> Parte do trabalho para obtenção do título de mestre junto à Universidade Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

<sup>2</sup> Seção de Nutrição de Plantas Forrageiras, do Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP. C.P. 60. 13 460-000, Nova Odessa, SP.

<sup>3</sup> Professora Assistente Doutora do Departamento de Botânica, da Universidade Paulista "Júlio de Mesquita Filho", campus de Rio Claro. C.P. 199. 13 560-900- Rio Claro, SP.



## INTRODUÇÃO

A *Neonotonia wightii* Lackley (soja-perene) tem merecido, há mais de duas décadas, a atenção dos pesquisadores do Instituto de Zootecnia da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, em Nova Odessa, SP (MELOTTI et al, 1969). Entre as cultivares que têm mostrado características de interesse para utilização em pastagens, a Tinaroo tem apresentado produções médias anuais que oscilam entre 3 e 8 toneladas de matéria seca por hectare (BOGDAN, 1977), contribuindo para o pasto com cerca de 133kg de nitrogênio fixados por hectare/ano (Miller e van der List, apud CARVALHO, 1985) e produzindo, em boas condições de fertilidade do solo, feno comparável ao da alfafa (THOMAS e WHITEMAN, 1971).

Trabalhos de seleção de estirpes de *Bradyrhizobium*, visando aumentar a fixação de nitrogênio na planta, mostram resultados ao nível de campo pouco animadores uma vez que esta não responde à inoculação com estirpes selecionadas em casa de vegetação (SANCHEZ et al., 1991). BOGDAN, 1977, comentando essa falta de resposta à inoculação apresentada pela soja-perene, salienta que uma inoculação eficiente no desenvolvimento inicial dessa leguminosa parece mais difícil de se obter do que para a maioria das leguminosas cultivadas.

O sistema simbiótico formado pela soja-perene, assim como o de outras leguminosas que nodulam com rizóbios nativos de solos tropicais, depende de relações desse rizóbio com os demais microrganismos do solo, relações essas que são regidas pelo perfil metabólico de cada espécie envolvida e pela disponibilidade de nutrientes no nicho em que ocorrem (BUSHBY, 1982). A sobrevivência do rizóbio frente a outros tipos de microrganismos, além de depender dos fatores ambientais como tipo de solo, temperatura, umidade e salinidade, depende também da resposta por parte das estirpes à cobertura vegetal do solo, pois embora possa viver por longos períodos de tempo no solo, o rizóbio é um organismo rizosférico (BARBOUR et al., 1991).

SCOTTI et al. (1982), estudando o estabelecimento de rizóbios selecionados em solos virgens de cerrado, salientam a presença de actinomicetos antagonísticos como possível causa de insucesso da inoculação e propõem a utilização de estirpes de rizóbios resistentes a antibióticos produzidos por aqueles microrganismos. BRIAN (1957), em trabalho de revisão sobre o significado ecológico da produção de antibióticos, comenta que esta produção no solo apenas deve ter proporções significantes quando enriquecido pesadamente com matéria orgânica e conclui que sua baixa quantidade limita a produção de antibióticos, raramente atingindo, nessas condições, a quantidade e a qualidade necessárias para estimular essa produção. O

autor não desconsidera, porém, a possibilidade de produção dos antibióticos localizada na vizinhança de fontes de carbono e conseqüente profundo efeito ecológico, embora espacialmente limitado. SCOTTI et al. (1982), por sua vez, consideram possível esta produção localizada na superfície da raiz, assim como a assimilação e distribuição pelos tecidos do vegetal e conseqüente efeito na competição pela nodulação por estirpes de rizóbios.

O presente trabalho teve como objetivo verificar a resposta da leguminosa soja-perene à inoculação conjunta de rizóbios e microrganismos produtores, em meio de cultura, de agentes de inibição do rizóbio.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Planta:** Sementes de soja-perene cultivares Tinaroo (NO-779) e Clarence (NO-2336) foram escarificadas em ácido sulfúrico concentrado e mantidas em câmaras de germinação. Três dias após, cinco sementes que apresentavam desenvolvimento de radículas e aspecto sadio foram transplantadas para vasos de Leonard contendo mistura de areia e vermiculita (na proporção de 1:2). O desbaste das plantas foi efetuado 20 dias após, mantidas 2 plantas por vaso. A solução nutritiva usada, isenta de nitrogênio, assim como o esquema empregado de reposição desta solução nutritiva, seguiu recomendação do CIAT (1985).

**Inoculantes:** Os inoculantes foram obtidos a partir de colônias de actinomicetos ou fungos produtores de agente inibidor de crescimento de rizóbios, isolados em meio de cultura a partir de solo que envolvia a raiz da leguminosa soja-perene no campo (FERNANDES e CORDEIRO, 1997). Foram usados os que apresentavam coloração e morfologia de colônia diferentes entre si, sendo 5 com características de actinomicetos (VI, VII, VIII, X e XVII = *Streptomyces* sp.) e 3 de fungos (IIF e IIF = *Penicillium* sp. e IVF = *Aspergillus* sp). Para tal, placas com crescimento profuso de colônias puras do microrganismo foram inundadas com Tween 20 a 0,1% em solução fisiológica, até obtenção da turbidez desejada.

Foram utilizadas, como inoculantes de rizóbios, além de culturas em meio líquido das duas estirpes que serviram de indicadoras na obtenção dos halos de inibição (rizóbio 1 = estirpe NO-65 (SMS 303); rizóbio 2 = estirpe i-94b 2, nativo), culturas de isolados de rizóbios nativos, obtidos a partir de nódulos formados na leguminosa em vasos de Leonard, após inoculação de solo diluído, e de nódulos desta leguminosa obtidos no campo. Foram escolhidos quatro isolados, sendo um isolamento de campo e um de vaso de Leonard, a partir de nódulos obtidos de cada um dos cultivares (rizóbio 3 = nativo, isolado do cultivar Clarence (vaso); rizóbio 4 =



nativo, isolado do cultivar Clarence (campo); rizóbio 5 = nativo, isolado do cultivar Tinaroo (vaso) e rizóbio 6 = nativo, isolado do cultivar Tinaroo (campo).

Três dias após o transplante para os vasos de Leonard, foram feitas as inoculações das suspensões de microrganismos, utilizando 0,5ml das suspensões de rizóbios, actinomicetos ou fungos.

**Delineamento experimental:** Os vasos de Leonard foram distribuídos em quatro blocos ao acaso, contendo 48 combinações de dois microrganismos (seis isolados de rizóbios e cinco isolados de actinomicetos ou três de fungos). Foram usados os seguintes controles: sem inoculação e sem adição de nitrogênio mineral, sem inoculação com adição de nitrogênio mineral (300mg de N, adicionados parcelada e semanalmente, a partir do início de disponibilidade de nitrogênio pelas plantas inoculadas com rizóbio), com inoculação simples dos isolados de rizóbios e com inoculação simples dos outros microrganismos, num total de 256 vasos por cultivar.

**Variáveis analisadas:** Aos 60 dias do plantio, avaliaram-se a produção de matéria seca da parte aérea e de nódulos, número total de nódulos e número de nódulos por classes de diâmetro (os nódulos foram passados por peneiras com distância entre malhas de 4, 2, 1 e 0,5mm). Dois nódulos de cada planta foram cortados e observados em lupa em sua estrutura interna. Procurando aumentar a aceitabilidade da análise, devido à grande variabilidade dos dados obtidos, foi realizada análise estatística da variância, usando-se o programa SANEST apenas com os dados da planta que apresentou o maior desenvolvimento, entre as duas mantidas no vaso. Os dados de contagens foram transformados a valores de  $\sqrt{x+1}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apesar da variação dentro dos dados analisados continuar alta, principalmente dentro do cultivar Tinaroo, a análise estatística da variância dos dados mostrou diferenças significantes quanto ao efeito cultivar, sendo que a cultivar Tinaroo produziu mais que a Clarence a nível de 1% em relação às variáveis peso da matéria seca da parte aérea, número de nódulos com menor diâmetro entre 1 e 2mm e entre 2 e 4mm e número total de nódulos por planta. O efeito da estirpe de rizóbio inoculada se mostrou significativa ao nível de 1% nas variáveis peso da matéria seca da parte aérea e de nódulos, número de nódulos com menor diâmetro entre 1 e 2mm e entre 2 e 4mm e número total de nódulos por planta. O efeito do actinomiceto ou do fungo inoculado não se mostrou significativo. O Quadro 1 apresenta as médias obtidas para as variáveis observadas.

Na Austrália, DIATLOFF e FERGUSON (1970), estudando as variáveis número de nódulos, início de nodulação e eficiência do processo simbiótico em onze introduções de *Neonotonia wightii*, verificaram que a combinação hospedeiro-estirpe apresentou respostas diferentes para cada parâmetro, sugerindo os autores que esses são controlados independentemente. Ainda nesse trabalho pode-se verificar que o cultivar Tinaroo produziu mais nódulos com estirpe isolada da leguminosa, enquanto que no cultivar Clarence o número de nódulos não diferiu entre estirpes. A observação se repete: o maior número de nódulos produzidos no cultivar Tinaroo pelos rizóbios 5 e 6, isolados deste cultivar, foi superado apenas pelo número de nódulos produzidos pelo rizóbio 1 (NO-65, previamente selecionado).

A análise dos dados mostrou correlação linear simples entre a variável peso da matéria seca da parte aérea e as variáveis peso da matéria seca de nódulos (coeficiente de correlação= 0,72), número de nódulos com diâmetros entre 2 e 4mm (coeficiente de correlação= 0,68) e número total de nódulos por planta (coeficiente de correlação= 0,66).

No presente trabalho os nódulos se apresentaram distribuídos por todo o sistema radicular, com tamanho variável e raros nódulos com mais de 4mm de diâmetro. Observados na lupa, os nódulos menores mostraram zona interna delicada, úmida e rósea, mesmo quando seu diâmetro não ultrapassava 2mm. Entre os nódulos de tamanho médio, alguns mantinham a aparência dos nódulos menores, enquanto que outros se apresentavam brancos ou esverdeados, com resistência ao corte. No cultivar Clarence o número de nódulos esverdeados era maior, indicando senescência nodular mais cedo neste cultivar. Os nódulos maiores apresentavam paredes espessas, rijas ao corte, com tecido central deteriorado ou em início de deterioração, apresentando espaços internos ociosos. Muitos dos nódulos apresentavam vários pontos de desenvolvimento do tecido infectado, separados por tecido que ofereciam maior resistência ao corte, conferindo ao nódulo aspecto externo lobado. Essa descrição coincide com a feita por alguns autores para quadros de alterações do genoma, tanto da planta como do rizóbio, assim como alterações no meio ambiente que podem resultar no desenvolvimento de nódulos ineficientes (VANCE e JOHNSON, 1983). Esses nódulos, segundo os autores, podem se apresentar pequenos (NEWCOMB et al., 1977), redondos, brancos, tornando-se verdes com degeneração acelerada, semelhantes a tumores (VANCE e JOHNSON, 1983), com morfologia externa variável (SPRENT, 1989), apresentando áreas meristemáticas na superfície do nódulo (VANCE e JOHNSON, 1983). A coloração interna verde, encontrada em muitos nódulos, ocorre em



condições ambientais não apropriadas para o desenvolvimento das plantas, sendo reversível com a mudança destas condições experimentais (SPRENT, 1989).

Estudos sobre interação de actinomicetos antagonísticos e isolados de rizóbios em diferentes condições concluem que a presença do agente antagonístico, em solo, não influencia significativamente a sobrevivência daquele (BARRION e HABTE, 1988) ou

não mostra efeito antagonístico evidente (ZEPH e CASIDA, 1986). A interação entre fungos e rizóbios pode apresentar respostas de acréscimo ou diminuição dos valores das variáveis estudadas (ANGLE et al., 1981; ANUSUYA e SULLIA, 1985) ou não apresentar efeito antagonístico ao rizóbio, semelhante ao exibido em meio de cultura, quando testados juntos em solo esterilizado (HABTE e BARRION, 1984).

**Quadro 1 - Médias das variáveis estudadas, aos 60 dias após a germinação, em função do cultivar, rizóbio e microrganismo inoculados. diâmetro 1 = número de nódulos retidos em peneira com distância entre malhas de 4mm, diâmetro 2= distância entre malhas de 2mm; diâmetro 3 = distância entre malhas de 1mm e diâmetro 4 = distância entre malhas de 0,5mm.**

Efeito (número de dados)	Peso seco (mg)		Número de nódulos				total
	parte aérea	nódulos	Diâmetro 1	Diâmetro 2	Diâmetro 3	Diâmetro 4	
cultivar:							
Tinaroo (216)	571,4 <sup>a</sup>	26,7	1,0	16,2 <sup>a</sup>	6,0 <sup>a</sup>	1,2	24,0 <sup>a</sup>
Clarence (216)	441,9 <sup>b</sup>	25,9	1,0	13,9 <sup>b</sup>	1,9 <sup>b</sup>	1,0	16,7 <sup>b</sup>
rizóbio:							
1 (72)	600,6 <sup>A</sup>	27,0 <sup>AB</sup>	0,0	16,7 <sup>A</sup>	6,0 <sup>A</sup>	0,4	24,8 <sup>A</sup>
2 (72)	555,7 <sup>AB</sup>	24,3 <sup>BC</sup>	0,0	14,0 <sup>AB</sup>	3,6 <sup>B</sup>	0,1	18,6 <sup>BC</sup>
3 (72)	473,6 <sup>BC</sup>	26,4 <sup>B</sup>	0,0	16,3 <sup>A</sup>	2,5 <sup>B</sup>	0,1	19,7 <sup>BC</sup>
4 (72)	410,9 <sup>C</sup>	19,3 <sup>C</sup>	0,0	11,2 <sup>B</sup>	3,2 <sup>B</sup>	0,1	16,3 <sup>C</sup>
5 (72)	511,8 <sup>AB</sup>	28,8 <sup>AB</sup>	0,0	16,5 <sup>A</sup>	4,3 <sup>AB</sup>	0,4	22,0 <sup>AB</sup>
6 (72)	487,0 <sup>BC</sup>	32,1 <sup>A</sup>	0,0	15,9 <sup>A</sup>	3,2 <sup>B</sup>	0,1	20,2 <sup>ABC</sup>
só rizóbio (48)	530,5	29,9	0,0	16,4	3,2	0,2	20,8
outro microrgan.: actinomiceto:							
VI (48)							
VII (48)	515,2	27,1	0,0	15,1	3,5	0,2	19,7
VIII (48)	544,8	28,1	0,0	16,6	3,8	0,3	21,4
X (48)	490,9	24,5	0,0	13,2	3,8	0,2	18,5
XVII (48)	488,0	24,2	0,0	14,9	4,0	0,2	20,2
fungo:	503,9	25,6	0,0	15,2	4,5	0,3	21,7
IIF (48)							
IIIF (48)	500,5	26,7	0,0	15,5	3,8	0,2	20,5
IVF (48)	473,4	26,1	0,0	13,9	3,9	0,2	19,4
	512,3	24,4	0,0	14,8	3,8	0,3	19,7
C.V.(%)	35,1	35,0	6,0	20,6	34,9	23,9	18,4
Médias gerais (432)	506,6	26,3	1,0	15,0	3,8	1,1	20,3

médias seguidas de letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste F, e de letras maiúsculas pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 1%.

No presente trabalho, os resultados de produção em vasos de Leonard usando material que em meio de cultura inibe o crescimento do rizóbio e, na presença da leguminosa, apresenta acréscimo ou inibição da produção de peso da matéria seca da parte aérea e peso da matéria seca de nódulos, bem como de número de nódulos podem ser explicados por possível indução de deficiência de nutrientes (FUHRMANN e WOLLUM, 1989) ou mesmo pelo desaparecimento das condições ideais de síntese de antibióticos (LI e ALEXANDER, 1988).

Segundo LYNCH (1986), o produto do microrganismo, biologicamente ativo na forma e concentração apresentadas no solo, pode ser inibidor a uma dada concentração e estimulante em outra. Segundo o autor, o equilíbrio entre a ação inibidora ou estimulante pode ser, em certos casos, delicado. RICE (1979) salienta que grande quantidade de metabólitos fúngicos são estimulantes do crescimento de vários tipos de organismos e conclui que talvez sejam mais importantes em ecologia do que os inibidores.



## CONCLUSÕES

A inoculação conjunta em vasos de Leonard da soja-perene com rizóbios e microrganismos produtores, em meio de cultura de agentes de inibição do rizóbio, não interferiu no quadro de nodulação e no crescimento da leguminosa.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos funcionários do Instituto de Zootecnia, em particular a José Carlos Viches, Mauro Bertolai, Renato da Silva e Sebastião de Castro, e ao Dr. Joaquim Carlos Werner pelo apoio recebido na condução do experimento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGLE, J.S. et al. Fungal effects on *Rhizobium japonicum*-soybean symbiosis. *Agron. J.*, Madison, v.73, n.2, p.301-306, 1981.
- ANUSUYA, D., SULLIA, S.B. Interaction between *Rhizobium* and three soil fungi. *Trop. Agric.*, Trinidad, v.62, n.1, p.13-14, 1985.
- BARBOUR, W.M. et al. Chemotaxis of *Bradyrhizobium japonicum* to soybean exudates. *Appl. Environ. Microbiol.*, Washington, v.57, n.9, p.2635-2639, 1991.
- BARRION, M., HABTE, M. Interaction of *Bradyrhizobium* sp. with an antagonistic actinomycete in culture medium and in soil. *Biol. Fertil. Soils*, Berlin, v.6, p.306-310, 1988.
- BOGDAN, A.V. *Tropical Pasture and Fodder Plants: Grasses and Legumes*. London: Longman, 1977. 475 p.
- BRIAN, P.W. The ecological significance of antibiotic production. *Symp. Soc. Gen. Microbiol.*, Cambridge, v.7, p.168-189, 1957.
- BUSHBY, H.V.A. Ecology. In: Broughton, W.J. (ed.). *Nitrogen Fixation - Rhizobium*. Oxford: Clarendon Press, 1982. p.35-70.
- CARVALHO, M.M. Fixação simbiótica como fonte de nitrogênio para pastagens. In: MATTOS, H.B. et al. (Ed.). *Simpósio sobre Calagem e Adubação de Pastagens*. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 1985. p.125-144.
- CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL Aislamiento, Caracterización y Selección de *Rhizobium* para Leguminosas Forrajeras en Suelos Acidos de America Tropical: Guia Metodológica. Cali: CIAT, 1985. 58p.
- DIATLOFF, A., FERGUSON, T.E. Nodule number, time to nodulation and its effectiveness in eleven accessions of *Glycine wightii*. *Trop. Grassl.*, Brisbane, v.4, n.3, p.223-228, 1970.
- FERNANDES, M.J., CORDEIRO, L. Interaction in culture medium of actinomycetes and native fungi with rhizobia that form nodules in *Neonotonia wightii* Lackley (perennial soybean). *R. Microbiol.*, São Paulo, v.28, p.204-209, 1997.
- FUHRMANN, J., WOLLUM, A.G. In vitro growth responses of *Bradyrhizobium japonicum* to soybean rhizosphere bacteria. *Soil Biol. Biochem.*, Oxford, v.21, n.1, p.131-135, 1989.
- HABTE, M., BARRION, M. Interaction of *Rhizobium* sp. with toxin-producing fungus in culture medium and in a tropical soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, Washington, v.47, n.5, p.1080-1083, 1984.
- LI, D.M., ALEXANDER, M. Co-inoculation with antibiotic producing bacteria to increase colonization and nodulation by rhizobia. *Plant Soil*, Dordrecht, v.108, p.211-219, 1988.
- LYNCH, J.M. *Biotechnologia do Solo: fatores microbiológicos na produtividade agrícola*. São Paulo: Manole, 1986. 209 p.
- MELOTTI, L. et al. Determinação do valor nutritivo dos fenos de soja-perene (*Glycine javanica*), de capim-gordura I e II (*Melinis minutiflora* Pal. de Beauv.) e de silagem de sorgo (*Sorghum vulgare* Pers.) através de ensaio de digestibilidade aparente em ovinos. *B. Indústria Anim.*, Nova Odessa, v.26, p.303-314, 1969a.
- NEWCOMB, W. et al. Development of an ineffective pea root nodules: morphogenesis, fine structure, and cytokinin biosynthesis. *Can. J. Bot.*, Ottawa, v.55, p.1891-1907, 1977.
- RICE, E.L. Allelopathy an update. *Bot. Rev.*, New York, v.45, n.1, p.15-109, 1979.



- SANCHEZ, M. J. F. et al. Resposta à inoculação por algumas leguminosas forrageiras de clima tropical. R. bras. Ci. Solo, Campinas, v.15, p.163-168, 1991.
- SCOTTI, M. R. M. L. et al. Suscetibility of *Rhizobium* strains to antibiotics: A possible reason for legume inoculation failure in cerrado soils. In: GRAHAM, P.H., HARRIS, S. (eds.). BNF Technology for Tropical Agriculture. Cali: CIAT, 1982. p.195-200.
- SOMASEGARAN, P. et al. Effects of inoculation rate, rhizobial strain competition, and nitrogen fixation in chickpea. Agron. J., Madison, v.80, n.1, p.68-73, 1988.
- SPRENT, J. Wich steps are essential for the formation of functional legume nodules? New Phytol., Cambridge, v.111, p.129-153, 1989.
- THOMAS, D., WHITEMAN, P.C. The effect of soil type on the establishment, early growth and nodulation of *Glycine wightii*. Austr. J. Exp. Agric. Anim. Husb., Melbourne, v.52, n.11, p.513-520, 1971.
- VANCE, C.P., JOHNSON, L.E.B. Plant determined ineffective nodules in alfalfa (*Medicago sativa*): structural and biochemical comparisons. Can. J. Bot., Ottawa, v.61, p.93-106, 1983.
- ZEPH, L.R., CASIDA, L.E. Gram-negative versus Gram-positive (actinomycete) nonobligate bacterial predators of bacteria in soil. Appl. Environ. Microbiol., Washington, v.52, n.4, p.819-823, 1986.