


UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
TROPICAL

The seal of the Universidade Federal do Amazonas is a circular emblem. It features a central shield with a cross, surrounded by a laurel wreath. Above the shield are three stars. The text "UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS" is written along the top inner edge of the circle, and "IN UNIVERSA SCIENTIA VERITAS" is written along the bottom inner edge.

CRESCIMENTO DE PLANTAS JOVENS DE
LEGUMINOSAS ARBÓREAS EM RESPOSTA À
ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO DE
RIZÓBIOS EM ARGISSOLO VERMELHO AMARELO E
LATOSSOLO AMARELO NA AMAZÔNIA CENTRAL

MARCO ANTONIO DE FREITAS MENDONÇA

MANAUS
2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
TROPICAL

MARCO ANTONIO DE FREITAS MENDONÇA

CRESCIMENTO DE PLANTAS JOVENS DE
LEGUMINOSAS ARBÓREAS EM RESPOSTA À
ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO DE
RIZÓBIOS EM ARGISSOLO VERMELHO AMARELO E
LATOSSOLO AMARELO NA AMAZÔNIA CENTRAL

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Agronomia Tropical da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Agronomia Tropical, área de concentração em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Hedinaldo Narciso Lima
Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Augusto Gomes de Souza

MANAUS
2012

Mendonça, Marco Antonio de Freitas

M539c Crescimento de plantas jovens de leguminosas arbóreas em resposta à adubação nitrogenada e inoculação de Rizóbios em Argissolo Vermelho Amarelo e Latossolo Amarelo na Amazônia Central. Marco Antonio de Freitas Mendonça; Orientação: Hedinaldo Narciso Lima; Co-orientação: Luiz Augusto Gomes de Souza – Manaus/AM: UFAM, 2012.

83 f.; il.; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Amazonas,
Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical, 2012.

1. Solos ácidos – Rizóbios – Amazonas. 2. Solos ácidos -- Inoculação – Amazonas. 3. Ingá-barata – Crescimento – Amazonas. I. Lima, Hedinaldo o Narciso (Orient.). II. Souza Luiz Augusto Gomes de (Co-Orient.). III. Título.

CDU (1997) 631.8(811)

MARCO ANTONIO DE FREITAS MENDONÇA

CRESCIMENTO DE PLANTAS JOVENS DE
LEGUMINOSAS ARBÓREAS EM RESPOSTA À
ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO DE
RIZÓBIOS EM ARGISSOLO VERMELHO AMARELO E
LATOSSOLO AMARELO NA AMAZÔNIA CENTRAL

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação
em Agronomia Tropical da Universidade Federal
do Amazonas, como requisito para obtenção do
título de Doutor em Agronomia Tropical, área de
concentração em Produção Vegetal.

Aprovada em 21 de junho de 2012

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hedinaldo Narciso Lima, Presidente
Universidade Federal do Amazonas

Prof. Dr. Carlos Alberto Franco Tucci, Membro
Universidade Federal do Amazonas

Prof. Dr. José Ferreira da Silva, Membro
Universidade Federal do Amazonas

Prof. Dr. Luiz Augusto Gomes de Souza, Membro
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Prof. Dr. Francisco Adilson dos Santos Hara, Membro
Universidade Federal do Amazonas

À
minha amada Sílvia,
minhas doces Anas (Carolina e Beatriz),
meus amores Antonio Neto e Marquinho e
meus pais Antonio e Esmeralda,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter propiciado tantas felicidades, sem a preocupação primária de julgar e sim de acolher e amparar.

A meus pais Antonio de Freitas Mendonça e Esmeralda Gomes Mendonça e irmãos Manoel de Freitas Mendonça Neto e Antonio de Freitas Mendonça Júnior pelo amor e incentivo, mesmo que à distância.

À minha amada Silvia e aos meus filhos, Ana Carolina, Ana Beatriz, Marcela, Antonio Neto e Marquinho, pela fonte inesgotável de força e inspiração.

À Universidade Federal do Amazonas – UFAM, pela liberação parcial e apoio logístico.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, que em convênio com a Universidade Federal do Amazonas - UA, possibilitou-me a realização deste estudo.

Ao Dr. Hedinaldo Narciso Lima pela orientação e atenção.

A todos os professores do curso de Agronomia Tropical, nas pessoas do Dr. Carlos Alberto Franco Tucci, Dr. José Ferreira da Silva, Dr. Ari de Freitas Hidalgo e Dra. Jania Lilia da Silva Bentes, por todos os ensinamentos repassados durante o curso.

Às professoras Ana Cristina Martins e Edijane Paredes Garcia e à Servidora Ana Lúcia Machado, da Universidade Federal do Amazonas, pelo apoio e incentivo.

Ao Eng. Florestal Edilingles Pinto Vieira, pelo fundamental apoio na execução deste trabalho.

Em especial ao Dr. Luiz Augusto Gomes de Souza, pela orientação e apoio imprescindíveis à conclusão desta tese.

Enfim a todos que de uma maneira ou outra participaram ou auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho.

AGRADEÇO

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
INTRODUÇÃO	10
OBJETIVOS	12
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
REVISÃO DE LITERATURA	13
O ciclo bioquímico do Nitrogênio.....	13
As transformações do Nitrogênio.....	14
As entradas de nitrogênio fixado no ciclo.....	16
Sistemas biológicos fixadores de nitrogênio.....	17
Evolução das leguminosas em direção a processos fixadores de nitrogênio.....	19
A importância ecológica das leguminosas.....	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
Efeito da inoculação com rizóbios na formação de mudas de ingá-barata (<i>Inga thibaudiana</i> var. <i>thibaudiana</i>) em dois solos ácidos da Amazônia Central	33
Resumo.....	33
Abstract.....	33
1. Introdução.....	34
2. Material e Métodos.....	37
3. Resultados e Discussão.....	40
4. Conclusões.....	53
5. Referências Bibliográficas.....	53
Crescimento e distribuição da biomassa de leguminosas arbóreas inoculadas com rizóbios em dois solos ácidos da Amazônia Central	58
Resumo.....	58
Abstract.....	58
1. Introdução.....	59
2. Material e Métodos.....	62
3. Resultados e Discussão.....	66
4. Conclusões.....	78
5. Referências Bibliográficas.....	79

RESUMO

EFEITO DA INOCULAÇÃO COM RIZÓBIOS NO CRESCIMENTO E DISTRIBUIÇÃO DA BIOMASSA DE MUDAS DE LEGUMINOSAS ARBÓREAS EM DOIS SOLOS ÁCIDOS DA AMAZÔNIA CENTRAL

Pouco se conhece sobre a eficiência da resposta fixadora de N₂ de leguminosas arbóreas nativas da Amazônia quando inoculadas com rizóbios específicos ou homólogos, havendo a necessidade de demonstrar o potencial de uso deste inoculante microbiano para estimular tecnologias biológicas na produção agrícola e recuperação de solos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação com rizóbios sobre o crescimento e distribuição de biomassa em três leguminosas arbóreas nativas. As espécies selecionadas foram: *Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*, *I. nobilis* e *Erythrina fusca*. Dois solos ácidos da terra firme foram avaliados: Latossolo Amarelo coletado sob pastagem e Argissolo Vermelho Amarelo coletado em sistemas agroflorestais. As espécies foram semeadas em areia e transplantadas para sacos com 2 kg de solo e conduzidas no viveiro. Nos dois solos, três formas de suprimento de N foram testadas: testemunha (plantas não inoculadas e sem N-mineral); plantas supridas com 80 kg de N ha⁻¹; e, plantas inoculadas com um coquetel de estirpes de rizóbios da coleção do INPA. Mensalmente avaliou-se o comprimento do caule das plantas. A colheita foi efetuada aos 93 dias para *E. fusca* e 165 e 151 dias para *I. thibaudiana* e *I. nobilis*, determinando-se a distribuição de biomassa seca nas folhas, raízes, caule e nódulos das plantas. O número de nódulos foi contado e efetuado determinações do N-foliar e N-total das plantas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 3 (solos x formas de suprimento de N), com 9 repetições. A inoculação com rizóbios influenciou o crescimento, partição de biomassa, indicadores de nodulação e absorção de N, havendo diferenças na resposta dependendo da espécie avaliada. O caráter de especificidade ou de promiscuidade na leguminosa arbórea selecionada é determinante na resposta da espécie a inoculação. Todas as espécies de leguminosas arbóreas pesquisadas adaptaram-se melhor ao solo Argissolo comparado ao Latossolo. Demonstrou-se que as estirpes empregadas como inoculante em *I. thibaudiana* var. *thibaudiana* formaram processos de fixação de N₂ mais eficientes que quando inoculadas em *I. nobilis*. Para *E. fusca*, considerada de comportamento não específico quanto a compatibilidade com rizóbios nativos a prática da inoculação favoreceu os processos simbióticos em solo Latossolo comparado ao Argissolo. Evidenciou-se que a técnica de inoculação com rizóbios tem potencialidade alternativa para suprimento de nitrogênio para as plantas, comparado a fertilização nitrogenada.

ABSTRACT

EFFECT OF THE INOCULATION WITH RHIZOBIA IN GROWTH AND DISTRIBUTION OF BIOMASS IN THE SEEDLINGS OF LEGUME TREE IN TWO ACID SOILS OF THE CENTRAL AMAZONIA

Little one knows on the efficiency of the answer of N₂ fixation in legume tree native of the Amazonian when inoculated with specific or homolog rhizobia to demonstrate the use potential of microbial inoculants to stimulate biological technologies in the agricultural production and recovery of soils. The objective of this work was to evaluate the effect of the inoculation with Rhizobia about the growth and biomass distribution in three native legume trees. The selected species were: *Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*, *I. nobilis* and *Erythrina fusca*. Two soils acid of the firm earth they were appraised: yellow oxisol collected under pasture and yellow red ultisol collected in agroforestry systems. The species were sowed in sand and transplanted for bags with 2 soil kg and led in the nursery. In the two soils three forms of supply of N were tested: control treatment (plants not inoculated and without mineral N); plants supplied with 80 kg of N hectare⁻¹; and, plants inoculated with a cocktail of strains of Rhizobia of the INPA collection. Monthly the length of the stem of the plants was evaluated. The crop was made to the 93 days for *E. fusca* and 165 and 151 days for *I. thibaudiana* and *I. nobilis*, being determined the distribution of dry biomass in the leaves, roots, stem and nodules of the plant. The number of nodules was counted and made determinations of leave-N and total-N of the plants. The experimental design was it entirely random, in factorial arrangement 2 x 3 (soils x forms of supply of N), with 9 repetitions. The inoculation with Rhizobia influences the growth, biomass partition, nodulation indicators and absorption of N, having differences in the answer depending on the appraised species. The specificity character or of promiscuity in the selected legume tree is decisive in the answer of the species the inoculation. All the species of legume tree researched adapted better to the soil ultisol compared to the oxisol. It was demonstrated that the employed strains as inoculants in *I. thibaudiana* var. *thibaudiana* formed processes of fixation of more efficient N₂ than when inoculated in *I. nobilis*. For *E. fusca*, considered of behavior non specific as the compatibility with native Rhizobia the practice of the inoculation favored the symbiotic processes in soil oxisol compared to ultisol. It was evidenced that the inoculation technique with Rhizobia has alternative potentiality for supply of nitrogen for the plants, compared the nitrogen fertilization.

INTRODUÇÃO

A fixação simbiótica de Nitrogênio entre rizóbios e leguminosas representa um benefício importante em termos econômicos, ou seja, sob condições adequadas essa propriedade pode suprir o N para determinadas culturas, reduzindo ou eliminando o uso de adubos químicos nitrogenados e contribuindo desta forma para a redução de custos (Boddey et al., 1997).

Os rizóbios são bactérias do solo que infectam as raízes de espécies leguminosas, induzindo a formação de nódulos radiculares, sítio este, onde ocorrem as reações metabólicas da fixação de nitrogênio, que aumentam o suprimento deste elemento para as plantas. Para se estudar a simbiose rizóbio-leguminosas, há necessidade de se preservar, caracterizar e manejar germoplasma de bactéria e planta. Como geralmente a fixação de nitrogênio é maior com estirpes adaptadas a cada local, quando se tenciona selecionar os melhores genótipos é importante que cada Laboratório especializado em Rizobiologia forme e mantenha a sua própria coleção.

Existem espécies de leguminosas com habilidades nodulíferas que são capazes de auxiliar na recuperação de solos ácidos e de baixa fertilidade, porém sob condições naturais esta nodulação com rizóbio nem sempre se manifesta, sendo fundamental a inoculação das plantas com estirpes selecionadas a partir de isolados obtidos de nódulos coletados em solos de diferentes locais.

Quando não existe inoculante para a leguminosa, escolhida para o cultivo, torna-se necessário identificar estirpes de rizóbio que possam ser utilizadas com esse fim. A partir da formação de uma coleção de estirpes, testes de eficiência podem ser executados em condições de laboratório, casa de vegetação, viveiro e no campo (HALLIDAY, 1984). Comparações entre a fixação biológica e o uso de adubação química nitrogenada podem ser efetuadas. Desta forma, as melhores estirpes dentre as cepas testadas, poderão ser utilizadas como inoculante.

Embora a fixação biológica de nitrogênio seja o sistema mais eficiente de adição de N ao sistema solo-planta, o uso de leguminosas arbustivas e florestais inoculadas com rizóbios é ainda muito negligenciado. Há na vegetação da Amazônia inúmeras espécies nativas não exploradas, o que demanda ações de pesquisa que gerem novos conhecimentos sobre recursos da região. Não há a menor dúvida que o papel destas espécies no reflorestamento, na composição de sistemas produtivos locais, na recuperação de solos ácidos, erodidos e de baixa fertilidade, pode ser maior que as estimativas atuais. A inoculação com rizóbio na maioria das espécies nativas estudadas tem se mostrado como absolutamente necessária para a autosuficiência em N das espécies (CAMPÊLO & CAMPÊLO, 1972; FARIA et al., 1984; FARIA, et al., 1991).

Durante os últimos 15 anos a divisão de Microbiologia do Solo do INPA tem realizado expedições de coleta de leguminosas, abrangendo diferentes áreas da Amazônia. Foram realizadas expedições de coletas em 5 estados da região (Acre, Amazonas, Pará, Rondônia e Roraima). Nesses estudos, (SYLVESTER-BRADLEY et al., 1980; MAGALHÃES et al., 1982; MAGALHÃES & SILVA, 1986/1987; MOREIRA et al., 1992; SOUZA et al., 1993; SOUZA & SILVA, 1995), foram verificadas espécies que não possuíam qualquer referência anterior na literatura sobre sua capacidade de nodular.

Este projeto teve como base, os estudos efetuados pelo grupo de Microbiologia do Solo do INPA, sobre a capacidade de nodulação e fixação de nitrogênio de espécies Leguminosae nativas dos ecossistemas amazônicos, e constitui-se como uma atividade complementar do projeto "Capacidade de nodulação, seleção de estirpes e fixação de nitrogênio em leguminosas nativas da Amazônia", da CPCA/INPA.

Como desdobramentos deste trabalho foram produzidos dois artigos que serão submetidos a revistas científicas e que são elementos constituintes desta tese.

OBJETIVOS

Avaliar o potencial de resposta à inoculação de plantas jovens de espécies de leguminosas nativas de biomas amazônicos com potencial para cultivo na Amazônia Central.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito da adubação mineral com nitrogênio e da inoculação de plantas jovens de leguminosas com rizóbios.

Estudar a correlação entre a matéria seca total e a nodulação em espécies de leguminosas que apresentem eficiência nos processos de fixação de nitrogênio pela simbiose com rizóbios.

Comparar o desenvolvimento e a partição da biomassa entre plantas jovens de leguminosas adubadas com N mineral e inoculadas com rízóbios.

REVISÃO DE LITERATURA

O ciclo biogeoquímico do Nitrogênio

O termo biogeoquímico é empregado por Odum (1989c), para modelos mais ou menos circulares que estabelecem a rota de modificações de um elemento do meio orgânico por um inorgânico e vice versa (*bio* - organismos vivos; *geo* – rochas, solo). A biogeoquímica é o estudo das trocas ou mudanças dos materiais entre estágios vivos ou inertes como componentes da biosfera.

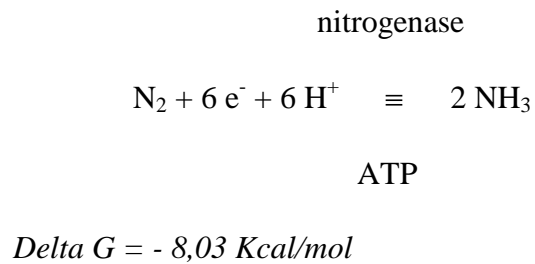
Analisando-se a biosfera como um todo, os ciclos biogeoquímicos dividem-se em dois grupos: os gasosos (com grandes reservas na atmosfera) e os sedimentares (com grandes reservas no solo ou sedimentos). O carbono e o nitrogênio são elementos cujos principais estoques são gasosos. Fósforo, cálcio e cátions metálicos como cobre e ferro tem seus depósitos sedimentares (Odum, 1989c).

Cerca de 99,86% dos estoques de nitrogênio terrestre estão na forma de N_2 na atmosfera e somente 0,04% encontra-se em organismos vivos, no solo, na água e em compostos orgânicos. O N_2 molecular, não é usado por organismos vivos. Exceto alguns poucos que podem convertê-lo em compostos aproveitáveis. As plantas, os animais e os microorganismos só podem usar nitrogênio fixado, ou seja, integrado a algum composto químico, nas formas de NO_3^- (nitrato) ou NH_3^+ (amônia). A fixação biológica de nitrogênio e a fotossíntese são dois dos processos funcionais dos ecossistemas, mais importantes para a manutenção da vida na terra (Rawsthorne *et al.*, 1990; Raven *et al.*, 1992).

O nitrogênio é o quarto elemento mais abundante na matéria viva perdendo somente para os elementos organogênicos (carbono, hidrogênio e oxigênio), e é constituinte de ácidos nucléicos, proteínas (10-15%) e enzimas. Um grupo variado de microrganismos, classificados como diazotróficos (*azol* - nitrogênio; *trofos* - alimentação), evoluiu e especializou-se na

fixação de N₂, seja em simbiose, em vida livre ou nas associações rizosféricas também conhecidas como rizocenoses (Franco & Dobereiner, 1994).

Favorecido por processos metabólicos microbianos, organismos diazotróficos possuem a enzima nitrogenase, responsável pela fixação de N₂ para NH₃ através da seguinte reação:



Dessa forma o elemento passa do estado gasoso para matéria, ou seja, é fixado. Entretanto o ciclo biogeoquímico do nitrogênio está relacionado a muitas transformações que precisam ser mais bem discriminadas.

As transformações do nitrogênio

O nitrogênio passa por inúmeras transformações em seu ciclo biogeoquímico. Um dado átomo pode passar de orgânico a inorgânico e vice-versa em uma seqüência de processos que envolvem atividades de organismos vivos, mas etapas com conversões não biológicas. Dentre as transformações mais importantes do nitrogênio (Victoria *et al.*, 1992) destacam:

- a) Amonificação. Conversão do nitrogênio orgânico em NH₄⁺, feita por heterotróficos.
- b) Nitrificação. Oxidação de NH₄⁺ a NO₃⁻, mediada por microrganismos.
- c) Mineralização. É a passagem do estado orgânico para inorgânico. Matéria orgânica fragmentada por amonificação, seguido da nitrificação do elemento.

- d) Imobilização. O nitrogênio inorgânico é absorvido por plantas ou microrganismos, passa do estado mineral a orgânico, por absorção ou assimilação.
- e) Desnitrificação. O nitrogênio inorgânico passa a N_2 molecular, perdendo-se para a atmosfera.
- f) Fixação. O N_2 molecular passa para nitrogênio orgânico assumindo formas combinadas.

Muitas destas transformações são realizadas por uns poucos organismos e o ciclo do nitrogênio é afetado pela atividade humana, especialmente o uso de adubos químicos, combustão industrial, etc. Os processos de amonificação, por exemplo, são realizados por microrganismos heterotróficos como as bactérias *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*, que fazem a oxidação de amônio a nitrato.

A velocidade de mineralização é importante para determinar a fertilidade do solo. Em uma estação 1-3% da matéria orgânica presente em um solo agrícola se mineraliza (Raison, 1979). Isto certamente indica uma certa resistência a mineralização do nitrogênio encontrado em formas orgânicas. O nitrato (NO_3^-) é a fonte de N mais importante para a maioria das plantas. Após a absorção do nitrato a enzima nitrato-redutase o converte em amônio, compondo as estruturas de aminoácidos e proteínas.

Dentre as perdas possíveis está também um fenômeno comum nos solos tropicais que é a lixiviação ou lavagem de nitratos, que ocorre quando a pluviosidade local é elevada e o solo muito permeável, o nitrato pode ser arrastado a profundidades inacessíveis para as raízes (Marschner, 1986). A lixiviação de nitratos é um importante fator de perdas do nitrogênio em solos tropicais (Sanchez, 1976).

Desse modo, a quantidade de nitrogênio no solo em forma assimilável (NH_4^+ , NO_3^-) pelas plantas, na ausência de aportes nitrogenados externos, é função da quantidade de nitrogênio orgânico das reservas do solo, e particularmente dos fatores que afetam sua imobilização e mineralização (Victoria *et al.*, 1992). Pode-se considerar, que a fixação de

nitrogênio seja a etapa reguladora do ciclo. A passagem de nitrogênio molecular para formas combinadas compensa as perdas descritas.

As entradas de nitrogênio fixado no ciclo

Neste detalhamento do ciclo biogeoquímico do nitrogênio é importante ressaltar que os processos biológicos não são unicamente os responsáveis pela fixação de nitrogênio, ocorrendo três formas de fixação de nitrogênio bem distintas (Franco, 1982):

- a) Fixação espontânea: Acionada por processos naturais atmosféricos como os relâmpagos, radiação ultravioleta, raios cósmicos, meteoritos, queima de combustíveis industriais, incêndios, etc., que possuem energia temporária para gerar óxidos de nitrogênio (N_2O , NO , NO_3^-) e NH_4^+ a partir do N_2 .
- b) Fixação industrial ou química: É obtida por processos industriais de fabricação de adubos químicos nitrogenados.
- c) Fixação biológica: Corresponde a conversão de N_2 em NH_4^+ realizada pelos chamados organismos diazotróficos.

Barrueno *et al.*, (1985), apresentaram algumas estimativas sobre a quantidade de nitrogênio fixado pelos processos citados aqui, e está apresentado na Tabela 1. Como pode ser verificada a contribuição da fixação espontânea é relativamente pequena, em torno de 10,9% e não é suficiente para suprir as demandas de N fixado nos ecossistemas de produção alterados pelo homem. Por outro lado, a fixação de nitrogênio pela indústria, corresponde a 25,4%, um valor destacado quando se considera que antes do século XIX o uso de adubos químicos na agricultura era praticamente restrito ao calcário. A fixação industrial é resultado da demanda para os cultivos, feita para aumentar a produção agrícola.

Por fim, destaca-se na Tabela 1, a grande contribuição da fixação biológica de nitrogênio, responsável por 2/3 das entradas de nitrogênio no ciclo biogeoquímico deste

elemento. Estima-se que a fixação biológica de nitrogênio global seja de 3 a 4 vezes maior que a fixação industrial, portanto ela corresponde a maior contribuição para a dinâmica do ciclo do nitrogênio. Em adição aos processos de fixação espontânea de nitrogênio que somam uma pequena contribuição no balanço global de nitrogênio, a fixação biológica passa a ser uma alternativa a fixação industrial de N_2 que envolve o uso de combustíveis fósseis característico dessa “idade do óleo” - como sugere Odum (1989b), quando propõe alternativas energéticas eticamente preconizáveis para o futuro. O incremento dos custos com petróleo (combustível fóssil) e aumento da demanda de nitrogênio para a produção de alimentos são as maiores razões para considerar a fixação biológica de nitrogênio uma alternativa para pelo menos suplementar o uso de adubos químicos nitrogenados, em busca da estabilidade e viabilidade dos ecossistemas (Dobereiner, 1986).

Sistemas biológicos fixadores de nitrogênio

Os processos biológicos fixadores de nitrogênio são diversificados e a lista dos organismos diazotróficos envolvidos inclui bactérias, actinomicetos e algas cianofíceas de vida livre envolvidas em associações rizosféricas, endofíticas, ou em simbioses entre planta x microrganismo, que ocorre entre Leguminosas e bactérias do grupo dos Rhizobia, mas também com actinomicetos do gênero *Frankia* e plantas da família Casuarinaceae.

Os diferentes sistemas biológicos fixadores de nitrogênio diferem, na fonte de energia e capacidade efetiva de fixação de N_2 . Em geral, os sistemas simbióticos têm eficiência, porque os organismos fixadores são alimentados pela planta com carboidratos que é a fonte de energia que alimenta os processos metabólicos e bioquímicos que permitem a fixação biológica de N_2 . Tal fato demonstra que a fixação de nitrogênio e a fotossíntese são processos interligados (Boodey *et al.*, 1997).

A capacidade de fixação biológica de nitrogênio está restrita a procariontes chamados de bactérias e algas verde-azuladas (Cyanophyceae). Segundo o conhecimento atual algumas espécies em 11 de 47 famílias de bactérias e em 8 famílias de Cyanophyceas fixam nitrogênio (Marschner, 1986). Algumas como algas verdes azuladas são organismos de vida livre em ecossistemas terrestres e aquáticos. A contribuição desses organismos para a fixação global de nitrogênio é bem reduzida. Isto é de fácil compreensão porque com microrganismos de vida livre colonizando o solo, normalmente a capacidade de fixação é severamente restrita por limitações de substrato (insuficiente quantidade de resíduos orgânicos no solo) a não ser que sejam algas verde-azuladas que são autotróficas (Brandão, 1992).

Outros organismos vivem em associações na rizosfera de plantas hospedeiras como ocorre com muitas gramíneas, e pertencem a gêneros como *Azospirillum*, *Azotobacter* e *Beijerinckia* (Dobereiner, 1992). Em gramíneas, a capacidade de fixar em associação pode ser muito alta e tem levado a interessantes especulações sobre a capacidade de fornecer nitrogênio para espécies cultivadas.

As casuarináceas ocorrem com mais frequência no subtropical, e um dos centros de origem desta família é a Jamaica. A nodulação por actinomicetos do gênero *Frankia* ocorrem em espécies dos gêneros *Alnus*, *Myrica*, *Hippophae*, *Casuarina* e *Ceanothus*, importantes para reflorestamento e associações com sistemas de agrícola (Vasquez *et al.*, 2000). Alguns dos estudos desenvolvidos com espécies de casuarinas são similares aos trabalhos com leguminosas, buscando-se através de testes de seleção de cepas encontrar inoculante microbiano adequado para uma exploração mais intensiva dos processos simbióticos fixadores de nitrogênio (Rojas *et al.*, 2002).

Entre plantas superiores, entretanto, as leguminosas nodulíferas associadas a rizóbios são um dos sistemas fixadores de nitrogênio mais destacados e praticados na

agricultura com estimativas de entrada de nitrogênio de até 600 kg de N/ha/ano. De todos os processos fixadores de nitrogênio aqui discutidos, a simbiose rizóbios e leguminosas são geralmente os mais importantes nos ecossistemas agrícolas, embora *Frankia*, cianobactérias e microrganismos heterotróficos de vida livre possam fixar significativas quantidades de nitrogênio, sob condições especiais (Kahindi *et al.*, 1997). Além disso, grande parte das entradas de nitrogênio nos ecossistemas naturais é atribuída às leguminosas presentes nos mais diferentes tipos vegetacionais de todo o mundo, já que a origem da família é a região tropical, conforme será discutido.

Tabela 1. Estimativas da quantidade de fixação anual de nitrogênio na biosfera

Tipo de fixação de N₂	Quantidade fixada (em milhões de toneladas/ano)
Fixação espontânea	30 (10,9%)
Fixação industrial	70 (25,4%)
Fixação biológica	175 (63,7%)
Total estimado	275

Fonte: Barruenco *et al.*, 1985

Evolução das leguminosas em direção a processos fixadores de nitrogênio

Distribuídas mundialmente, a família *Leguminosae* tem origem tropical. A teoria evolutiva mais aceita para a diferenciação das leguminosas é a de Norris (1958), que propôs a origem tropical da família na era Mesosóica, período Cretáceo superior, há cerca de 97 milhões de anos (Herendeen & Dilcher, 1992). Até recentemente os estudos sobre registros fósseis de *Leguminosae* ofereciam grandes dificuldades de uma avaliação geral, devido ao tamanho e megadiversidade da família.

As Leguminosas são subdivididas em 3 subfamílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae. Em termos primitivos, a subfamília Caesalpinioideae, cujo hábito dos indivíduos é predominantemente arbóreo, originou as demais subfamílias, e considera-se, atualmente, que os representantes das Papilionoideae seriam um grupamento mais evoluído, e

também, numericamente predominante dentro da família, com 441 gêneros e cerca de 12.000 espécies distribuídas em todo o mundo (Corby, 1981).

Tais números, entretanto, subestimam o total de espécies, dada as suas características de dominância, plasticidade, adaptabilidade, endemismo, etc., e regularmente novas espécies são descritas para a ciência. Nas subfamílias Mimosoideae e Caesalpinioideae, um número em torno de 3 mil espécies tem sido sugerido para cada uma, levando a diversidade das Leguminosas para mais de 18.000 espécies, classificadas em cerca de 640 gêneros (Allen & Allen, 1981). Informações sobre o número de espécie da família, hábito, habilidade nodulífera e tipo de nódulo, de leguminosas pertencentes as três subfamílias foram reunidas por Corby (1981), assim como uma estimativa da taxa de plantas noduladas em cada subfamília.

Além de sua elevada diversidade, a característica mais importante das *Leguminosae* que pode ser relacionada ao ecossistema é a propriedade da fixação biológica de nitrogênio quando em simbiose com os rizóbios. A relação simbiótica ocorre na raiz resultando no desenvolvimento de estruturas nodulares na rizosfera, sítio adequado onde reações bioquímicas e enzimáticas permitem a fixação de N₂, fornecendo nitrogênio fixado para o crescimento e desenvolvimento da planta (Neves & Rumjaneck, 1992). Há diferenças morfológicas entre nódulos, e possíveis relações evolutivas podem ser inferidas conforme discutido por Corby (1981).

Estudos recentes de estrutura nodular e dos processos de infecção mostraram que as plantas comportam-se diferentemente quanto à penetração por rizóbios e desenvolvimento nodular, sendo que esta propriedade está estreitamente relacionada com a sua posição evolucionária dentro da família (Faria & Sprent, 1994).

A grande plasticidade de hábitos de crescimento é também uma característica marcante das espécies da família. A maioria das espécies de Mimosoideae e Caesalpinioideae são árvores de grande porte de origem tropical. As Papilionoideae, forçadas a evoluir na

região subtropical apresentaram um explosivo número de espécies, a maioria com o hábito herbáceo. De acordo com a teoria de Norris (1958), ervas e arbustos evoluídos em regiões de clima temperado são relativamente recentes e derivados do grande estoque tropical.

Nem todas as leguminosas nodulam e fixam nitrogênio, e as espécies mais primitivas não têm habilidades nodulíferas. Os levantamentos efetuados sobre a nodulação das leguminosas comprovaram que um maior número de espécies noduladas encontra-se na subfamília Papilionoideae, em que apenas uma pequena quantidade de espécies não nodulam.

É possível que a evolução dos rizóbios em direção a simbiose, tenha ocorrido concomitantemente com a evolução das plantas. Rizóbios de crescimento lento estão mais associados às leguminosas tropicais ao passo que os de crescimento rápido são isolados de leguminosas de regiões temperadas. O mais extenso levantamento acerca da habilidade nodulífera das leguminosas pode ser encontrado em Allen & Allen, (1981) existindo outras listagens reconhecidas mundialmente como a de Hallyday & Nakao (1982). Tais levantamentos foram bastante enriquecidos nos últimos anos, com novos dados, com algum destaque para espécies de leguminosas nativas do Brasil (Moreira *et al.* 1992; Faria *et al.*, 1994; Faria, 1998).

Estudos de caso podem ser efetuados para relacionar a frequência de leguminosas e os teores de nitrogênio presentes no sistema solo-planta. Especula-se que as florestas jovens têm claramente deficiência de nitrogênio e isso favoreceria em termos competitivos as leguminosas por sua autonomia no suprimento de nitrogênio, compondo uma parte reguladora do ciclo. Sob esse prisma as leguminosas predominariam nas fases iniciais da sucessão onde o desequilíbrio no suprimento de nitrogênio é acentuado e perderiam essa vantagem competitiva em florestas maduras, já que o clímax pressupõe equilíbrio para todos os fatores inclusive para o suprimento de nitrogênio. De fato, Magalhães, (1986), atribuem a falta de nódulos em florestas tropicais à contínua reciclagem de nitrogênio, em situações de equilíbrio.

Entre as grandes qualidades que o grupo das Leguminosas possui está o seu múltiplo uso. O fato de a família possuir grande plasticidade seja em hábito de crescimento, ou na diversidade de espécies que evoluíram em diferentes ambientes naturais, resulta num amplo espectro de utilização (NAS, 1979). As leguminosas nativas podem ser aproveitadas como madeira, fonte de tanino, lenha, carvão, celulose e papel, flora apícola, frutos, forragem, perfumaria, cercas vivas, sombreamento de cultivos, produção de óleo-resina, essências medicinais, postes, ornamentais, na arborização urbana, recuperação de solos, etc.

Por fim, é oportuno considerar que o Brasil é um país particularmente rico em leguminosas, especialmente pela elevada diversidade biológica nos conjuntos vegetacionais homogêneos como as matas Atlântica e Amazônica. Em muitos levantamentos fitossociológicos as leguminosas são listadas como uma das famílias mais importantes nas matas brasileiras. É possível que as populações naturais distribuídas em solos pobres e ácidos que caracteriza os solos tropicais, tenham alguma vantagem competitiva sobre outras espécies pela habilidade fixadora de nitrogênio que é objeto de muitos estudos e levantamentos (Allen & Allen, 1981).

A importância ecológica das leguminosas

Parece estar claro que, dentro do conceito de ecossistemas proposto por Odum (1989a), a fixação biológica de nitrogênio está inserida no funcionamento dos ecossistemas dentro dos processos abióticos onde o fluxo de energia, influência de fatores físicos e a ciclagem de nutrientes são parte da engrenagem maior dos sistemas que permitem a existência de vida no planeta. Entre os diferentes organismos envolvidos com a ciclagem de nitrogênio, a simbiose de bactérias do solo com leguminosas foi destacada como o processo mais importante (Kahindi *et al.*, 1997), para o incremento das entradas de nitrogênio no

ecossistema. Esse papel funcional da fixação biológica de nitrogênio no ciclo biogeoquímico do elemento pode ser considerado como parte de um grupo funcional dos ecossistemas.

Novos eventos, inovações tecnológicas e outros fatores que não podem ser antecipados, podem afetar o futuro. A explosão populacional e o desenvolvimento urbano e industrial estão sendo responsáveis por efeitos prejudiciais e deletérios permanentes ao ambiente. Como estamos no auge da “idade do óleo”, os sintomas de estresse ambientais estão espalhados e em crescimento. Em contraposição, o “crescimento sustentado” é um novo “alerta” que pode ser usado para abrir pontes de comunicação entre disciplinas e grupos especiais de interesse que podem estar envolvidos no desenvolvimento de novas políticas e infra-estrutura econômica necessária para proteger a qualidade de vida (Odum, 1989c).

Em anos recentes, reconhecer que as espécies podem ter um papel importante no ecossistema aumenta o interesse em preservar a biodiversidade. Não há ainda na pesquisa ecológica resultados científicos que apontem uma relação direta entre biodiversidade e o funcionamento dos ecossistemas, e a riqueza em espécies ou índices de diversidades afetam pouco a relação diversidade x estabilidade e função dos ecossistemas (Odum, 1989c). Indiretamente, o entendimento da relação entre espécies chaves ou grupos funcionais com o ecossistema, pode ser mais importante na composição de modelos de previsões para o futuro (Bengtsson, 1998). Sob o ponto de vista funcional o ecossistema é visto sob o prisma dos processos (produtividade, decomposição, ciclagem de nutrientes, transferências entre posições tróficas) na estabilidade (resistência, resiliência) em interação com a composição e estabilidade da comunidade.

As espécies chaves são definidas por Power & Mills, (1995) como espécies cujos efeitos nas comunidades e ecossistemas são maiores do que o esperado devido a sua abundância e biomassa, ou seja, espécies que tem grande influência na comunidade ou

ecossistema. Pode-se dizer que em ecossistemas como savanas africanas espécies de *Acacia* podem exercer um papel de espécies chaves.

Grupos funcionais, por outro lado, são definidos com relação ao papel que desempenham no ecossistema e possivelmente a diversidade de grupos funcionais poderá ser relacionada com a função dos ecossistemas (Bengtsson, 1998). O conceito, entretanto, não considera que uma mesma espécie pode ter mais de uma função, como parece ocorrer tanto com as leguminosas como com os rizóbios. Fora dos nódulos os rizóbios sobrevivem nos solos com comportamento saprofítico (Freire, 1992) e, desse modo seu papel muda do grupo funcional de fixadores de nitrogênio para o de decompositores. A maioria dos grupos funcionais é classificada por suas funções tróficas.

Para microrganismos, alguns estudos têm conseguido estabelecer uma relação entre diversidade e perturbações, e o trabalho desenvolvido por Giller, (1994) pode ser interessante para contribuir com essa discussão. Esse autor adotou dois modelos para as relações entre perturbações e diversidade, que podem ser explicados da seguinte forma:

No modelo 1, os efeitos do incremento de um estresse adverso como aquecimento global ou chuva ácida resulta em decréscimo da diversidade dentro da comunidade microbiana. Altos níveis de estresse levam a progressiva extinção de organismos e perda de diversidade (Giller, 1994).

Ao passo que no modelo 2, mostra que quando o fator de estresse é mediano, a competição entre espécies (ou indivíduos) pode predominar, resultando em perdas de diversidade. O incremento do estresse, entretanto resulta em perda da capacidade competitiva individual e mesmo as espécies mais adaptadas também podem declinar rumo a níveis de baixa diversidade.

A questão principal é saber se os ecossistemas de maior biodiversidade são mais resistentes ou resilientes quando as condições do ambiente mudam. Odum (1989d) discute os

modelos atuais de desenvolvimento mundial e aponta dois cenários para o futuro, com base no manejo das entradas e saídas dos ecossistemas.

As estratégias de manter, nos ecossistemas alterados, as entradas em taxas maiores que as saídas estão relacionadas com redução de poluição. Nos sistemas de produção, o manejo das entradas (p. ex. agricultura, cultivos econômicos e de manufaturados), é uma prática e economicamente possível relacionada com a produtividade e sustentabilidade para assegurar a qualidade para nossos sistemas que permitem a vida (Blake, 1992).

Em ecossistemas agrícolas a contribuição das leguminosas para sustentabilidade de nitrogênio tem sido apontada em muitos trabalhos (Boodey *et al.*, 1997), e estas compõem um grupo de espécies de elevado interesse adicional por seu potencial econômico fornecendo produtos diretos como grãos, forragem, óleo, ração, etc., ou indireto pelos benefícios da fixação de nitrogênio sendo usadas como adubação verde, cobertura do solo, sombreamento de cultivos, consorciamentos, cultivos alternados, cultivos em faixa, etc. (Mitidieri, 1983), ampliando o leque de aproveitamento de recursos da biodiversidade. A elevada plasticidade de hábitos das leguminosas tem levado a escolha da espécie certa para cada tipo de sistema produção e as tendências atuais de aproveitamento da diversidade existente dentro das leguminosas incluem o uso de árvores fixadoras de nitrogênio em sistemas de produção agroflorestal desenvolvidos nos trópicos (Danso *et al.*, 1992) e são também componentes dos mais importantes nas novas tendências de agricultura ecológica permanente preconizada nos conceitos da permacultura (Mollison & Slay, 1998).

No passado, os processos de exploração e manejo dos ecossistemas deram uma atenção maior para as entradas e seus incrementos isto é, o maior rendimento pelo esgotamento dos recursos (fertilizantes, combustíveis fósseis), sem considerar muito a eficiência ou a quantidade de saídas indesejáveis (poluição) criadas. A fixação biológica de nitrogênio pode ser inserida entre as entradas de energia limpa, de boa qualidade, em

substituição ou redução ao emprego de adubos químicos nitrogenados que são produzidos pela combustão não renovável de petróleo (Malavolta *et al.*, 2000), além dos prejuízos decorrentes da poluição gerada.

REFERÊNCIAS UTILIZADAS NA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- ALLEN, O.N. & ALLEN, E.K. 1981. The leguminosae: a source book of characteristics, uses and nodulation. The University of Wisconsin Press, 812p.
- BARRUENCO, C.R.; GARCIA, F.S. & SUBRAMANIAN, P. 1985. La fijacion de nitrogeno atmosférico: una biotecnologia en la produccion agraria. Temas monográficos, Salamanca, Espanha, Centro de Edafologia y biologia aplicada, 11-71.
- BENGTSSON, J. 1998. Which species? What kind of diversity? Which ecosystem function? Some problems in studies of relations between biodiversity and ecosystem function. *Applied Soil Ecology*, v. 10: 191-199.
- BENINCASA, M.M.P. 1988. Análises de crescimento de plantas (Noções básicas). FUNEP, Jaboticabal, 42p.
- BLAKE, R.O. 1992. Sustainable and increased food production. *Agricultural Systems*, v 40, 7-19.
- BODDEY, R.M.; SÁ, J.C.M.; ALVES, B.J.R. & URQUIAGA, S. 1997. The contribution of biological nitrogen fixation for sustainable agricultural systems in the tropics. *Soil Biol Biochem*, v. 29 (5/6): 787-799.
- BRANDÃO, E.M. 1992. Os componentes da comunidade microbiana do solo. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. & NEVES, M.C.P. (Coord.) *Microbiologia do Solo*. SBCS, Campinas, p. 1-15.
- CAMPÊLO A.B. & CAMPÊLO, C.R. 1970. Eficiência da inoculação cruzada entre espécies da subfamília Mimosoídeae. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 5: 333-337.
- CENTENO, A.J. 1990. Curso de estatística aplicada à biologia. UFG, Goiânia, Centro Editorial, Coleção didática 3, 188p, p. 182-185.

- CORBY, H.D.L. 1981. The systematic value of leguminous root nodules. In: Advances in Legume Systematics. Part 2. POHLHILL, R.M. & RAVEN, P.H. (Ed.) Proceedings of the International Legume Conference. Royal Botanical Gardens, London, p. 657-670.
- DANSO, S.K.A.; BOWEN, G.D. & SANGINGA, N. 1992. Biological Nitrogen Fixation in trees in agro-ecosystems. *Plant Soil*, v. 141: 177-196.
- DOBEREINER, J. 1986. A biologia do solo na Agricultura Brasileira. EMBRAPA-DDT, 29p. (EMBRAPA-UAPNPBS, Documentos nº 2).
- DOBEREINER, J. 1992. Fixação de nitrogênio em associação com gramíneas. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. & NEVES, M.C.P. (Coord.) *Microbiologia do Solo*. SBCS, Campinas, p. 173-179.
- Embrapa. 1999. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília, Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. 370p.
- FARIA, S.M. & LIMA, H.C. 1998. Additional studies of the nodulation status of legume species in Brazil. *Plant and Soil*, 200: 185-192.
- FARIA, S.M. & SPRENT, J.I. 1994. Legume nodule development: an evolutionary hypothesis. In: J.I. SPRENT & D. MCKEY (Editors). *Advances in Legume Systematics*, 5: The nitrogen factor, Royal Botanical Garden, Kew, p. 33-39.
- FARIA, S.M.; CARVALHO, C.W.P.; RAMOS, A.L.M.; FREIRE, M.F.I. & GUIMARÃES, A.F. 1991. Obtenção e seleção de estirpes de *Rhizobium* spp. para leguminosas arbóreas. CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 23., Porto Alegre, SBCS/UFRGS, Resumo Nº. 241, p. 196.
- FARIA, S.M.; LIMA, H.C.; CARVALHO, A.M.; GONÇALVES, V.F. & SPRENT, J.I. 1994. Occurrence of nodulation in legume species from Bahia, Minas Gerais and Espírito Santo states of Brazil. In: SPRENT, J.L. & MCKEY, D. (Eds.). *Advance in Legume Systematics* 5: The Nitrogen Factor. Royal Botanic Gardens, Kew, p. 17-23.

- FRANCO, A.A. & DOBEREINER, J. 1994. A biologia do solo e a sustentabilidade dos solos tropicais. *Summa Phytopathologica*, Jaguariúna, v. 20 (1): 68-73.
- FRANCO, A.A. 1982. Simbiose leguminosas-*Rhizobium* e ciclo de Nitrogênio. SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS, 7., Curitiba, Anais..., EMBRAPA-URPFCS, Documentos N° 12, p. 19-32.
- FREIRE, J.R.J. 1992. Fixação de nitrogênio pela simbiose rizóbio/leguminosas. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. & NEVES, M.C.P. (Coord.) *Microbiologia do Solo*. SBCS, Campinas, p. 121-140.
- GILLER, K.E. 1994. Microbial ecology in tropical soils. SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 3., Londrina, IAPAR, Resumos N°. 20, p. 78-82.
- HALLIDAY, J. & NAKAO, P.L. 1982. The symbiotic affinities of woody species under consideration as nitrogen fixing trees. NifTAL Project, Univ. do Hawaii, 85p.
- HALLIDAY, J. 1984. Integrated approach to nitrogen fixing tree germoplasm development. *Pesquisas Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 19 (s/n°): 91-117.
- HERENDEEN, P.S. & DILCHER, D.L. 1992. Advances in legume systematics. The fossil Record, Part 4., The Royal Botanic Gardens, Kew, 326p.
- KAHINDI, J.H.P.; WOOMER, P.; GEORGE, T.; MOREIRA, F.M.S.; KARANJA, N.K. & GILLER, K.E. 1997. Agricultural intensification, soil biodiversity and ecosystem function in the tropics: the role of nitrogen-fixing bacteria. *Applied soil Ecology*, v. 6 (1): 55-76.
- MAGALHÃES, F.M.M. & SILVA, M.F. 1986/1987. Associações *Rhizobium*-leguminosas no estado de Rondônia. *Acta Amazônica*, Manaus, 16/17 (n° único), Supl., 7-17.
- MAGALHÃES, F.M.M. 1986. O estado atual do conhecimento sobre fixação biológica de Nitrogênio na Amazônia. SIMPÓSIO DO TRÓPICO ÚMIDO, 1., Belém, EMBRAPA/CPATU, Clima-Solo, v. 1: 499-512.

- MAGALHÃES, F.M.M.; MAGALHÃES, L.M.S.; OLIVEIRA, L.A. & DOBEREINER, J. 1982. Ocorrência de nodulação em leguminosas florestais de terra firme nativas da região de Manaus. *Acta Amazônica*, Manaus, v. 12 (3): 509-514.
- MALAVOLTA, E.; PIMENTEL-GOMES, F. & ALCARDE, J.C. 2000. Os elementos e sua ação específica. In: MALAVOLTA, E. (Ed.) *Aubos & Adubações*. Livraria Nobel, São Paulo, p. 11-15.
- MARSCHNER, H. 1986. Nitrogen fixation. In: MARSCHNER, H. (Ed.) *Mineral nutrition of higher plants*. Academic Press, p. 173-194.
- MITIDIERI, J. 1983. *Manual de gramíneas e leguminosas para pastos tropicais*. São Paulo, Nobel, USP, 198p.
- MOLLISON, B. & SLAY, R.M. 1998. *Introdução à permacultura*. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Fundação Daniel Dazcal. Brasília, PNFC, 204p.
- MOREIRA, F.M.S.; SILVA, M.F. & FARIA, S.M. 1992. Occurrence of nodulation in legume species in the Amazon region of Brazil. *New Phytol.*, 121: 563-570.
- NAS, 1979. *Tropical legumes resource for the future*. Livr. Congress. Catalogo, Washington, D.C., 332p.
- NEVES, M.C.P. & RUMJANECK, N.G. 1992. Bioquímica e fisiologia da fixação de nitrogênio. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. & NEVES, M.C.P. (Coord.) *Microbiologia do Solo*. SBCS, Campinas, p. 141-155.
- NORRIS, D.O. 1958. Lime in relation to the nodulation of tropical legumes. In: HALLSWORTH, E.G. (Ed.) *Nutrition of Legumes*. London, Butterwoths, Sci. Publ., p. 164-182.
- ODUM, E.P. 1989a. The ecosystem. In: *Ecology and our endangered life-support systems*. Sinaver Associates, Inc. Publishers Sunderland, Massachusetts, p. 38-66.

- ODUM, E.P. 1989b. Material cycles and physical conditions of existence. In: Ecology and our endangered life-support systems. Sinauer Associates. Inc. Publishers Sunderland, Massachusetts, p. 108-149.
- ODUM, E.P. 1989c. The transition from youth to maturity. I: Ecology and our endangered life-support systems. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts, p. 258-274.
- POWER, M.E. & MILLS, L.S. 1995. The keystone cops meet in Hilo. *Trend Ecol. Evol.*, v. 10: 182-184.
- RAISON, R.J. 1979. Modification of the soil environment by vegetation fires with particular reference to nitrogen transformations: a review. *Plant and Soil*, 51: 73-108.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F. & EICHHORN, S.E. 1992. Fotossíntese. In: *Biologia Vegetal*. Ed. Guanabara Koogan, p. 78-89.
- RAWSTHORNE, S.; MINCHIN, F.R.; SUMMERFIELD, R.J.; COOKSON, C. & COOMBS, J. 1990. Carbon and nitrogen metabolism in legume root nodules. *Phytochemistry*, v. 19: 341-355.
- ROJAS, N.S.; PERRY, D.A.; LI, C.Y. & GANIO, L.M. 2002. Interactions among soil biology, nutrition, and performance of actinorhizal plant species in the H.J.Andrews Experimental Forest of Oregon. *Applied Soil Ecology*, v. 19 (1): 13-26.
- SANCHEZ, P.A. 1976. Nitrogen. In: *Properties and management of soils in the tropics*. WILEY, J & SONS (Eds.). New York, Cap. 6 - Nitrogen, p. 184-221.
- SOUZA, L.A.G. & SILVA, M.F. 1995. Status da nodulação em nove espécies do gênero *Ormosia* (Leg., Papilionoideae) na Amazônia Brasileira. CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 25., Viçosa, SBCS/UFV, Resumos Expandidos, v. 1, p. 522-524.

- SYLVESTER-BRADLEY, R.; OLIVEIRA, L.A.; PODESTÁ FILHO, J.A. & JOHN, T.V.S.T. 1980. Nodulation of legumes, nitrogenase activity of roots and occurrence of nitrogen fixing *Azospirillum* spp. in representative soils of central Amazônia. *Agroecosystems*, v. 6: 249-266.
- VÁSQUEZ, L.; PÉREZ, N.-O. & VALDÉS, M. 2000. Isolation and symbiotic characteristics of Mexican *Frankia* strains associated with *Casuarina*. *Applied Soil Ecology*, v. 14 (3): 249-255.
- VICTORIA, R.L.; PICCOLO, M.C. & VARGAS, A.A.T. 1992. O ciclo do nitrogênio. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. & NEVES, M.C.P. (Coord.) *Microbiologia do Solo*. SBCS, Campinas, p. 105-119.

EFEITO DA INOCULAÇÃO COM RIZÓBIOS NA FORMAÇÃO DE MUDAS DE INGÁ-BARATA (*INGA THIBAUDIANA* VAR. *THIBAUDIANA*) EM DOIS SOLOS ÁCIDOS DA AMAZÔNIA CENTRAL

Marco Antônio de Freitas Mendonça
Edilingles Pinto Vieira
Hedinaldo Narciso Lima
Luiz Augusto Gomes de Souza

Resumo

Pouco se conhece sobre a eficiência da resposta fixadora de N₂ de leguminosas arbóreas nativas da Amazônia quando inoculadas com rizóbios específicos ou homólogos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação com rizóbios em mudas de ingá-barata (*Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*), procedente de Coari, AM, em dois solos ácidos da Amazônia Central. Os solos selecionados para a pesquisa foram: Latossolo Amarelo coletado sob pastagem e Argissolo Vermelho Amarelo coletado em sistemas agroflorestais. O experimento foi conduzido em viveiro, em sacos para mudas, iniciando-se após a repicagem das plântulas germinadas em sementeira com areia. Nos dois solos os seguintes tratamentos foram aplicados: testemunha (plantas não inoculadas e não adubadas com nitrogênio); aplicação parcelada de N-mineral na forma de uréia 80 kg N ha⁻¹; inoculação com um coquetel de estirpes de rizóbios da coleção do INPA. As mudas foram acompanhadas em crescimento mensal e colhidas aos 165 dias após o transplante, determinando-se a biomassa seca da parte aérea, folhas, caule, raízes e nódulos. O número de nódulos foi contado e determinou-se o N-foliar e N-total. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 2 x 3, (solos x tratamentos) com 9 repetições. Foi comprovada a eficiência da inoculação em plantas de ingá-barata inoculadas com um coquetel de estirpes de rizóbios, nos solos pesquisados. As mudas mostraram melhor adaptação ao solo Argissolo Vermelho Amarelo, comparado ao Latossolo Amarelo. Evidenciou-se que a técnica de inoculação com rizóbios tem potencialidade alternativa para suprimento de nitrogênio para as plantas, comparado a fertilização nitrogenada.

Palavras chaves – Fabaceae, Microbiologia do Solo, Fixação de N₂, Agroecologia.

Abstract

EFFECT OF THE INOCULATION WITH RHIZOBIA IN THE SEEDLINGS FORMATION OF INGÁ-BARATA (*INGA THIBAUDIANA* VAR. *THIBAUDIANA*) IN TWO ACID SOILS OF THE CENTRAL AMAZONIAN

Little one knows on the efficiency of the answer of N₂ fixation in legume tree native of the Amazonian when inoculated with specific or homolog rhizobia. The objective of this work was to evaluate the effect of the inoculation with rhizobia ingá-barata seedlings in two acid soils of the Central Amazonian. The soils selected for the research they were: yellow oxisol collected under pasture and yellow red ultisol collected in agroforestry systems. The specie selected was the ingá-barata (*Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*), proceeding from Coari, AM. The experiment was led in nursery, in sacks for seedlings, beginning after the transplant

of the seedlings germinated in plastic box with sand. In the two soils the following treatments were applied: control (plants not inoculated and not fertilized with nitrogen); parceled out application of mineral-N in the form of urea 80 kg N hectare⁻¹; inoculation with a cocktail of rhizobia strains of the INPA collection. The seedlings were accompanied monthly in growth and harvest to the 165 days after the transplant, being determined the dry biomass of the aerial part, leaves, stem, roots and nodules. The number of nodules was counted and was determined N-foliating and N-total. The experimental design was random entirely, with factorial arrangement 2 x 3, (soils x treatments) with 9 repetitions. It was proven the efficiency of the inoculation in ingá-barata plants inoculated with a cocktail of rhizobia strains, in the researched soils. The seedlings showed better adaptation to the soil yellow red ultisol, compared to the yellow oxisol. It was evidenced that the inoculation technique with rhizobia has alternative potentiality for supply of nitrogen for the plants, compared the nitrogen fertilization.

Key words – Fabaceae, Soil Microbiology, Nitrogen fixation, Agronomic Ecology.

1. Introdução

A fixação simbiótica de N₂ na associação rizóbios e leguminosas representa um benefício importante em termos econômicos e ambientais, ou seja, sob condições adequadas essa simbiose pode complementar o suprimento de adubos químicos nitrogenados na agricultura, contribuindo desta forma para a redução de custos e redução do lançamento de fertilizantes químicos no ambiente. No Brasil, a cultura extensiva da soja em grandes áreas tem sido a principal beneficiária desta tecnologia biológica, com correspondente aumento de produtividade.

Existem espécies de leguminosas com habilidades nodulíferas que são capazes de prosperar em solos ácidos e de baixa fertilidade, porém, sob condições naturais, esta nodulação com rizóbios nem sempre se manifesta, quando a população de bactérias do solo não apresenta compatibilidade com a planta (Bala *et al.*, 2003). Na ausência da bactéria simbiote eficiente torna-se necessária a inoculação das plantas com estirpes selecionadas a partir de isolados obtidos de nódulos coletados em solos de diferentes locais. O termo inoculação significa a multiplicação de microrganismos em condições controladas seguido da disponibilização para o cultivo de interesse. No Brasil, a turfa é o veículo mais empregado no preparo de inoculantes de

bactérias diazotróficas e há nas coleções microbianas nacionais bactérias fixadoras de N₂ classificadas em 13 gêneros classificados em 8 famílias de bactérias (Moreira, 2008).

Os estudos da nodulação de leguminosas lenhosas têm sido ampliados nos últimos anos, devido à demanda por espécies de rápido crescimento, para produção de madeira e lenha, e habilidade fixadora de nitrogênio. Entretanto, na Amazônia estima-se que somente 33 % das espécies foram avaliadas quanto a sua habilidade de nodulação e fixação de N₂ e não há registro de nodulação para 22 dos gêneros de Fabaceae encontrados na região (Souza, 2010).

Sob o prisma da agroecologia, buscam-se modelos tecnológicos para sistemas sustentáveis de produção. Entende-se, assim, sob o enfoque deste novo paradigma, o sistema de produção agrícola como um ecossistema próprio em que componentes importantes, como a variedade de espécies combinadas no tempo ou no espaço, a decomposição e ciclagem de materiais, a redução dos impactos negativos da mecanização e do uso de agrotóxicos possam ser mais bem manipulados.

Dentre os processos biológicos, as simbioses, comensalismos e associações entre componentes do sistema são valorizados. Recomenda-se processos biológicos economicamente compensadores, como a simbiose rizóbio-leguminosas (Franco e Faria, 1997), complementada pela inoculação com fungos micorrízicos vesiculares-arbusculares, com o propósito de aumentar a captação de nutrientes essenciais pelas culturas. Na Amazônia, entretanto, ainda há muito questionamento sobre que espécies de leguminosas podem ser selecionadas para suprimento de nitrogênio aos agroecossistemas via fixação biológica de N₂, especialmente em solos ácidos e de baixa fertilidade natural do ambiente da terra firme.

A família *Fabaceae* (*Leguminosae*) é caracterizada em termos agronômicos como constituída por plantas de múltiplo uso, e, são inúmeras as espécies de interesse econômico, produtoras de alimentos, forrageiras, madeiráveis, medicinais, produtoras de óleos e resinas, tanino, cortiça, lenha e carvão (NAS, 1979), fornecendo um produto e, portanto, existindo a

possibilidade de cultivo econômico. Complementarmente, a eficiência da fixação biológica de N₂ passa a fornecer um serviço também ao sistema produtivo, algumas vezes transferindo nitrogênio para outros cultivos econômicos de interesse.

Pouco se conhece sobre a resposta de leguminosas arbóreas quando inoculadas com rizóbios específicos ou homólogos. Assim, muitas espécies nativas foram pouco pesquisadas quanto à eficiência da simbiose (SPRENT, 2000), e o avanço desses estudos potencializaria a expansão de seus cultivos. Especialmente no gênero *Inga*, muitas espécies têm sido pesquisadas para a recuperação de solos, sendo demonstrado experimentalmente que o cultivo de *Inga edulis* em solos degradados aumenta a mineralização de nitrogênio e exerce ação de controle de plantas invasoras (Lodka *et al.* 2012). Neste gênero das Fabaceae o Brasil é particularmente rico em biodiversidade registrando-se pelo menos 127 espécies (52 endêmicas), 10 subespécies (3 endêmicas), 2 variedades (1 endêmica) (Lima, 2010). As evidências sugerem que outras espécies de *Inga* poderão ser aproveitadas em cultivos em maior escala por suas propriedades, dentre elas a habilidade fixadora de N₂.

A ingá-barata (*Inga thibaudiana* DC.) é espécie nativa do Brasil, muito comum em áreas de terra firme no estado do Pará e também no Amazonas. O táxon é dividido em duas subespécies *russotomentella* (Malme) T.D. Penn. endêmica da Amazônia e do Cerrado e *thibaudiana*, não endêmica da Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (Lima, 2010).

Nos agroecossistemas amazônicos há ainda uma necessidade de selecionar espécies com boa capacidade de estabelecimento nos solos distróficos que recobrem a maior parte da região. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação com rizóbios em mudas de ingá-barata em dois solos da Amazônia Central.

2. Material e Métodos

Esta pesquisa foi conduzida no Laboratório de Microbiologia do Solo (LMS) e no viveiro do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – CPCA/ INPA, no Campus do V-8, em Manaus, AM, durante os anos de 2010 e 2011. As sementes de ingá-barata (*Inga thibaudiana* DC. var. *thibaudiana*) foram coletadas no mês de abril de 2010, de árvores que cresciam em vegetação secundária na Província Petrolífera de Urucu, município de Coari, AM. O registro da espécie no Herbário do INPA foi o número 234.667.

Após o beneficiamento dos frutos, as sementes foram semeadas em caixas de plástico, drenadas, preenchidas com areia. A semeadura foi a 2 cm de profundidade. O acompanhamento da germinação e manutenção da umidade do substrato foi feito diariamente, até que o processo de germinação das sementes se completasse.

Duas classes de solos foram selecionados para a pesquisa: um Argissolo Vermelho Amarelo, coletado sob sistemas agroflorestais, na Estação Experimental de Olericultura do INPA e o solo Latossolo Amarelo, coletado em área de pastagem na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Amazonas, ambos no município de Manaus, AM. Após a coleta, os solos foram peneirados em malha de 2 cm, e em seguida distribuídos nos recipientes com capacidade para 2,0 kg de solo. Uma amostra de cada solo foi separada para análise, que foi efetuada no Laboratório Temático de Solos e Plantas – LTSP do INPA, e os resultados estão apresentados na Tabela 1.

Os solos selecionados receberam uma adubação básica constituída por 0,91 g kg⁻¹ de superfosfato triplo, 0,33 g kg⁻¹ de cloreto de potássio e 1,9 g kg⁻¹ de calcário dolomítico, para o Argissolo e 0,70 g kg⁻¹ de superfosfato triplo, 0,25 g kg⁻¹ de cloreto de potássio e 1,5 g kg⁻¹ de calcário dolomítico para o Latossolo. Os cálculos da adubação foram baseados no peso dos sacos preenchidos com os solos seccionados que foram de 1,91 e 1,48 kg para o solo Argissolo

e Latossolo, respectivamente. Em seguida foi aplicada uma solução de micronutrientes para solo, 1 mL kg⁻¹, conforme recomendado por Halliday (1984). A solução de micronutrientes foi preparada de acordo com Eira *et al.*(1972).

Tabela 1. Características químicas dos solos Argissolo Vermelho Amarelo e Latossolo Amarelo utilizados no experimento com ingá-barata (*Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*).

Classe de solo	pH (H ₂ O)	Ca	Mg	K	Al	P	Fe	Zn	Mn
		-----cmol _c kg ⁻¹ -----				-----mg kg ⁻¹ -----			
Argissolo	4,31	1,86	0,37	0,11	0,65	8,5	192,0	5,7	2,9
Latossolo	4,62	0,35	0,13	0,10	1,00	1,5	313,0	2,6	2,6

Na condução dos experimentos foram adotados três tratamentos:

T-1 - Controle (plantas sem inoculação e sem N mineral);

T-2 - Adubação com uréia (TN), 80 kg ha⁻¹.

T-3 - Inoculação com rizóbios 5 mL planta⁻¹.

No tratamento com inoculação foram utilizadas estirpes homólogas da Coleção de Rizóbios do INPA. No preparo do inoculante líquido, em meio YMA sem agar, foram utilizadas onze estirpes: 832, 852, 842, 833, 836, 848, 847, 835, 837, 846 e 850, misturadas em coquetel (v:v). O período de incubação foi de doze dias, em agitador mecânico horizontal.

No tratamento TN, houve parcelamento aos 3 e aos 33 dias após o transplante, incorporando-se a cada aplicação o fertilizante diretamente no solo, com o auxílio de um bastão de vidro. Com base no peso do saco preenchido com solo a cada aplicação foi empregado 0,17 g de uréia no Argissolo e 0,13 g de uréia no Latossolo. Durante o experimento as plantas foram irrigadas nos dias sem chuva, extraíndo-se manualmente as plantas invasoras que colonizavam a superfície dos sacos.

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 2 x 3, constituído por 2 solos e 3 condições de suprimento de nitrogênio, perfazendo 6 tratamentos e 9 repetições, totalizando 54 parcelas experimentais.

Foi efetuado um acompanhamento do crescimento das plantas em comprimento do caule (cm) e diâmetro do colo (mm) a partir de um dia após a repicagem e aos 32, 62, 90, 121 e 165 dias. Como comprimento do caule foi definido a medida do nível do solo até o meristema principal da muda. Ao final do experimento a taxa de incremento mensal para as médias de crescimento das mudas foi estimada pela fórmula $(h_2-h_1/t_2-t_1 \times 30)$, onde h_2 e h_1 correspondem ao comprimento do caule no t_2 e t_1 , respectivamente. Do mesmo modo foram estimadas para o diâmetro do colo $(d_2-d_1 / d_2-d_1 \times 30)$.

A colheita das plantas foi efetuada aos 165 dias. Nesta fase, foi extraída a planta inteira de cada vaso, separando-se a parte aérea das raízes, para determinação do peso da matéria seca das raízes, caule, folhas e dos nódulos, efetuando-se também a contagem do número de nódulos. A secagem do material vegetal foi feita a 65°C, por 72 h. As folhas foram separadas e moídas em moinho de facas para determinação do teor de N foliar no Laboratório Temático de Solos e Plantas do INPA. A concentração de N foliar foi determinada pelo método de destilação ácida e titulação de Kjeldhal, estimando-se em seguida o N-total (mg/planta), com base na biomassa foliar seca.

Como variáveis adicionais consideraram-se a matéria seca total, a relação raiz/parte aérea e o peso específico dos nódulos (peso seco dos nódulos/número de nódulos). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Na análise, os dados da contagem dos nódulos foram transformados em $\sqrt{x+0,01}$ (Centeno, 1990) e os valores de N-foliar (%) foram transformados para arco-seno $\sqrt{x+0,01}$. A eficiência do processo simbiótico foi avaliada pela correlação entre variáveis de desenvolvimento, nodulação e absorção de nitrogênio nas plantas.

3 Resultados e Discussão

As mudas de ingá-barata desenvolveram-se satisfatoriamente no período experimental e, aos 165 dias, apresentaram qualidade adequada para o plantio definitivo. Foi verificado que nos primeiros três meses de acompanhamento o crescimento inicial das plantas em comprimento do caule não diferiu entre os solos avaliados, conforme pode ser observado na Tabela 2. A partir dos 121 dias as plantas que cresceram em solo argissolo apresentaram maior comprimento do caule que o latossolo ($P < 0,01$), refletindo uma média mensal de crescimento de $4,7 \text{ cm mês}^{-1}$ e $3,9 \text{ cm mês}^{-1}$, respectivamente para o argissolo, comparado ao latossolo. Quanto às medidas do diâmetro do colo, verificou-se uma desuniformidade inicial das plantas após a repicagem, e aos 32 dias de acompanhamento com as maiores médias sendo observadas em solo argissolo. Essa diferença no diâmetro do colo entre as plantas foi não significativa aos 62 e 90 dias, e posteriormente passou a ser maior em solo argissolo comparado ao latossolo, refletindo as tendências verificadas para o comprimento do caule. O incremento mensal no diâmetro do colo do ingá-barata nos dois solos foi calculado em $0,5 \text{ mm mês}^{-1}$.

Tabela 2. Evolução do crescimento em comprimento do caule e diâmetro do colo de mudas de ingá-barata (*Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*) em dois solos da Amazônia Central, sob enviveiramento. ^{*1}

Solos	Dias após o transplântio					
	1	32	62	90	121	165
----- Comprimento do caule (cm) -----						
Argissolo	8,9 a	10,0 a	13,7 a	21,0 a	28,2 a	34,5 a
Latossolo	7,7 a	10,1 a	14,8 a	18,0 a	23,5 b	29,2 b
Teste F	3,67ns	0,03ns	0,60ns	3,03ns	4,56*	4,17*
----- Diâmetro do colo (mm) -----						
Argissolo	1,1 a	1,6 a	1,9 a	2,6 a	3,3 a	4,1 a
Latossolo	0,7 b	1,3 b	1,7 a	2,3 a	2,8 b	3,4 b
Teste F	48,49**	6,34*	1,10ns	2,96ns	7,30**	12,61**

^{*1} – Para cada variável, as médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si no nível de 5% e 1% de probabilidade; ns – não significativo.

O tipo de suprimento de nitrogênio para as plantas também afetou o seu crescimento conforme pode ser verificado na Tabela 3. Até os 90 dias de enviveiramento não havia diferença entre os tratamentos aplicados para avaliar a forma de absorção de nitrogênio pelas plantas para o comprimento do caule. Aos 121 dias de viveiro, as plantas supridas com N mineral apresentavam comprimento do caule superior as do tratamento testemunha ($P < 0,01$), não diferindo das plantas inoculadas. Entretanto, esta vantagem relativa foi amenizada na avaliação final aos 165 dias, e as mudas inoculadas apresentavam a maior média de comprimento do caule superando as plantas testemunhas, não diferindo das que receberam N-mineral. Embora respostas de crescimento das plantas sejam pouco relacionadas ao nitrogênio, os dados evidenciam o potencial da inoculação com rizóbios como uma alternativa ao uso de adubos químicos nitrogenados. Quanto ao incremento mensal de crescimento em comprimento do caule, as plantas testemunhas apresentavam média de $3,5 \text{ cm mês}^{-1}$, as que receberam N-mineral $4,6 \text{ cm mês}^{-1}$ e as plantas inoculadas com rizóbios $4,9 \text{ cm mês}^{-1}$.

Tabela 3. Evolução do crescimento em comprimento do caule e diâmetro do colo de mudas de ingá-barata (*Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*) em resposta a adubação nitrogenada e inoculação com rizóbios, sob enviveiramento.*¹

Tratamentos	Dias após o transplântio					
	1	32	62	90	121	165
----- Comprimento do caule (cm) -----						
Testemunha	7,6 a	8,9 a	12,4 a	17,3 a	20,9 b	26,6 b
N-mineral	8,8 a	10,9 a	15,5 a	21,5 a	30,1 a	33,9 ab
Inoculação	8,3 a	10,4 a	14,8 a	19,8 a	26,5 ab	35,0 a
Teste F	1,27ns	1,88ns	1,70ns	2,13ns	5,86**	4,14*
----- Diâmetro do colo (mm) -----						
Testemunha	1,0 a	1,3 a	1,9 a	2,2 b	2,7 b	3,4 b
N-mineral	1,0 a	1,6 a	1,9 a	2,6 ab	3,4 a	4,1 a
Inoculação	0,8 b	1,5 a	1,7 a	2,7 a	3,1 ab	4,0 ab
Teste F	6,40**	2,68ns	1,35ns	4,13*	5,86**	4,64*

*¹ – Para cada variável, as médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si no nível de 5% e 1% de probabilidade; ns – não significativo.

Avaliando-se o diâmetro do colo em resposta aos tratamentos aplicados, verificou-se que após a repicagem as mudas de ingá-barata apresentavam diâmetro do colo entre 0,8-2,0 mm e até os 60 dias de acompanhamento não diferiram significativamente. Aos 90 dias as plantas inoculadas apresentavam uma média de diâmetro do colo superior ao das plantas não inoculadas e não adubadas com N-mineral. Entretanto, a partir dos 121 dias as plantas supridas com uréia apresentavam as maiores médias desta variável, comparável às plantas inoculadas e superiores àquelas do tratamento testemunha. As evidências são de que nos solos estudados o fornecimento de nitrogênio por via biológica ou com fertilizantes favorece o crescimento em diâmetro do colo das plantas. As estimativas de incremento mensal de diâmetro do colo das mudas de ingá-barata foram de 0,4 cm mês⁻¹ para plantas do tratamento controle e 0,6 cm mês⁻¹ para plantas supridas com N-mineral ou inoculadas com rizóbios. Em muitos estudos silviculturais, na fase de produção de mudas, o diâmetro do colo da planta tem sido considerado como um indicador da qualidade da muda para o plantio (Atik, 1992; Arco-verde; Moreira, 1998).

Quanto ao desenvolvimento das plantas, foi verificado que o peso da biomassa seca do caule e a relação raiz/parte aérea das mudas de ingá-barata tiveram diferenças significativas na comparação dos dois solos testados aos 165 dias após o plantio (Figura 1), entretanto o peso das folhas e raízes secas não diferiu significativamente entre os solos. A relação raiz/parte aérea das plantas tem sido empregada como uma característica relacionada com a qualidade da muda formada. Os dados evidenciam um melhor desenvolvimento radicular das plantas no solo latossolo comparado ao argissolo, resultando em uma relação raiz/parte aérea de 0,28, bem próxima da faixa recomendável para a produção de mudas florestais e frutíferas. Segundo Sturion (1981), as mudas que apresentam relação raiz/parte aérea na faixa compreendida entre 0,30-0,40 são as mais adequadas ao plantio definitivo. Em decorrência as plantas que cresceram em solo argissolo apresentaram uma relação abaixo desse valor de

referência, embora na média o peso de raízes secas do ingá-barata nos dois solos tenha sido equivalente. Foi considerado que o maior peso médio do caule em plantas que cresceram em solo argissolo refletiu o seu maior desenvolvimento em parte aérea, e este fator afetou a relação raiz/parte aérea de plantas que cresceram neste solo.

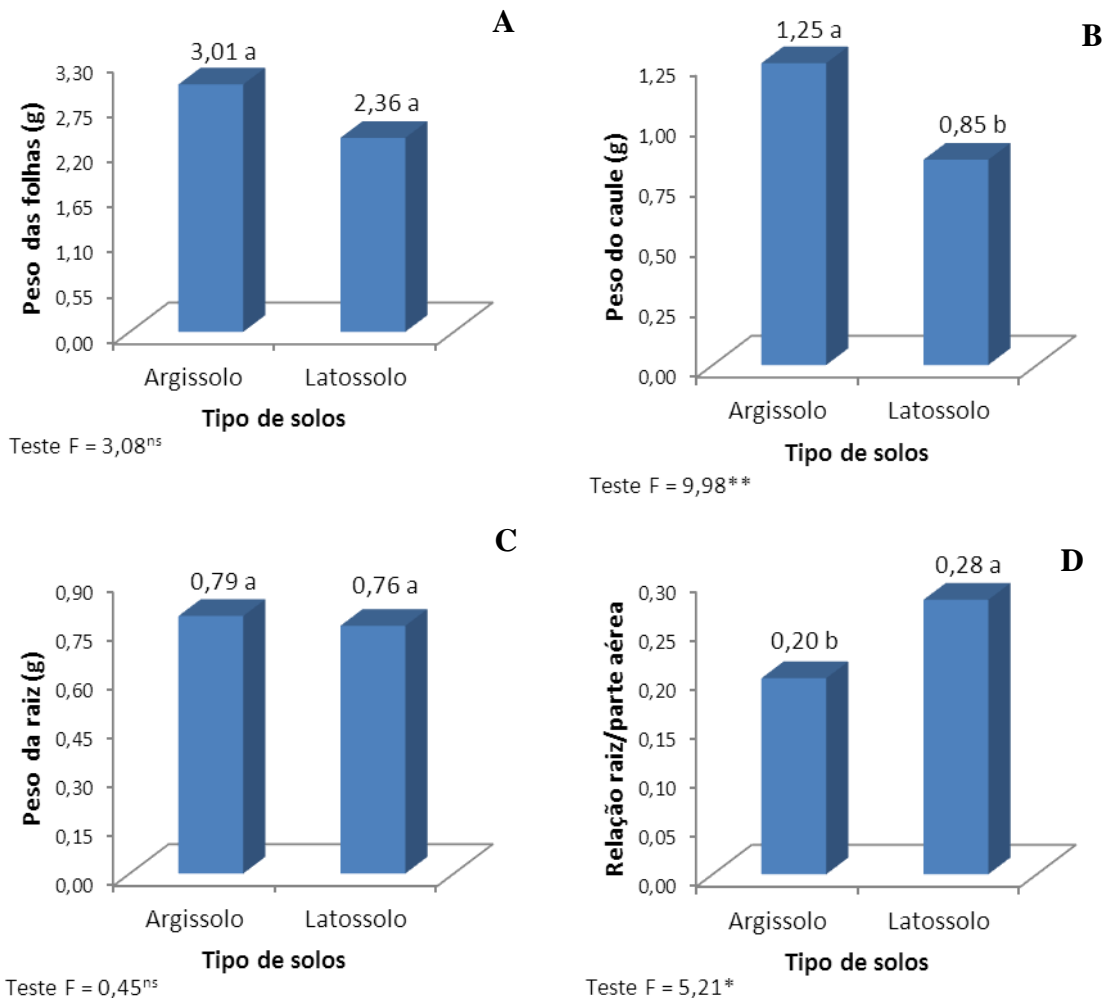


Figura 1. Efeito do tipo de solo sobre o desenvolvimento em biomassa seca de mudas de ingá-barata (*Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*) sobre o peso das folhas (A), caule (B), raiz (C) e relação raiz/parte aérea (D), aos 165 dias de enviveiramento.

A forma de suprimento de nitrogênio afetou as plantas de ingá-barata no desenvolvimento das raízes, caule, folhas e relação raiz/parte aérea das plantas, conforme

pode ser verificado na Figura 2. As mudas inoculadas acumularam 84,9 % mais biomassa seca nas folhas, comparadas ao tratamento controle ($p < 0,01$), sendo também superiores aos valores observados nas plantas que receberam N-mineral em 25,4%. De fato, espera-se que a autonomia de nitrogênio no desenvolvimento vegetal se reflita principalmente na biomassa foliar já que é nesta parte da planta que ocorre o maior acúmulo deste elemento, estocando-se reservas que serão investidas nos processos de floração e frutificação de plantas adultas (Marschner, 1990). Foi verificado que o peso da biomassa seca do caule aumentou com a inoculação, sendo 47,9 % maior que no tratamento controle, sugerindo que a prática de inoculação pode resultar em mudas com caule mais vigoroso. Entretanto, a adubação com N mineral resultou nas maiores médias do peso do caule, não diferindo do tratamento inoculado.

O desenvolvimento radicular das mudas de ingá-barata foi favorecido pela adubação com uréia e em resposta ao fertilizante apresentou valores significativamente maiores que nas outras formas de suprimento de nitrogênio para as plantas. Outras pesquisas têm demonstrado que a fertilização mineral com nitrogênio favorece o desenvolvimento radicular dos cultivos. Avaliando-se a relação raiz/parte aérea, as plantas inoculadas com rizóbios apresentaram a menor média, refletindo um expressivo desenvolvimento na parte aérea da planta e diferindo significativamente das outras formas de suprimento de nitrogênio. Entretanto a faixa de 0,15 está bem abaixo a recomendada para classificar a qualidade das mudas (Sturion, 1981).

O exame do sistema radicular das plantas do ingá-barata identificou nódulos esféricos e ramificados do tipo astragalóide na classificação de Corby (1981), de cor marrom claro, em raízes marrons. Na comparação entre os solos testados, no argissolo as mudas apresentaram resultados significativamente superiores aos observados para o latossolo ($p < 0,01$), considerando-se o número e biomassa seca de nódulos e na concentração de nitrogênio foliar e N-total nas folhas aos 165 dias após o plantio (Figura 3). Os resultados obtidos demonstram um ambiente mais favorável para a nodulação em solo argissolo onde a média de nódulos

formados ultrapassou a 100 nódulos ao passo que em latossolo os valores foram até 4 vezes menores. O desenvolvimento nodular avaliado pela biomassa seca dos nódulos também foi significativamente superior em solo argissolo comparado ao latossolo.

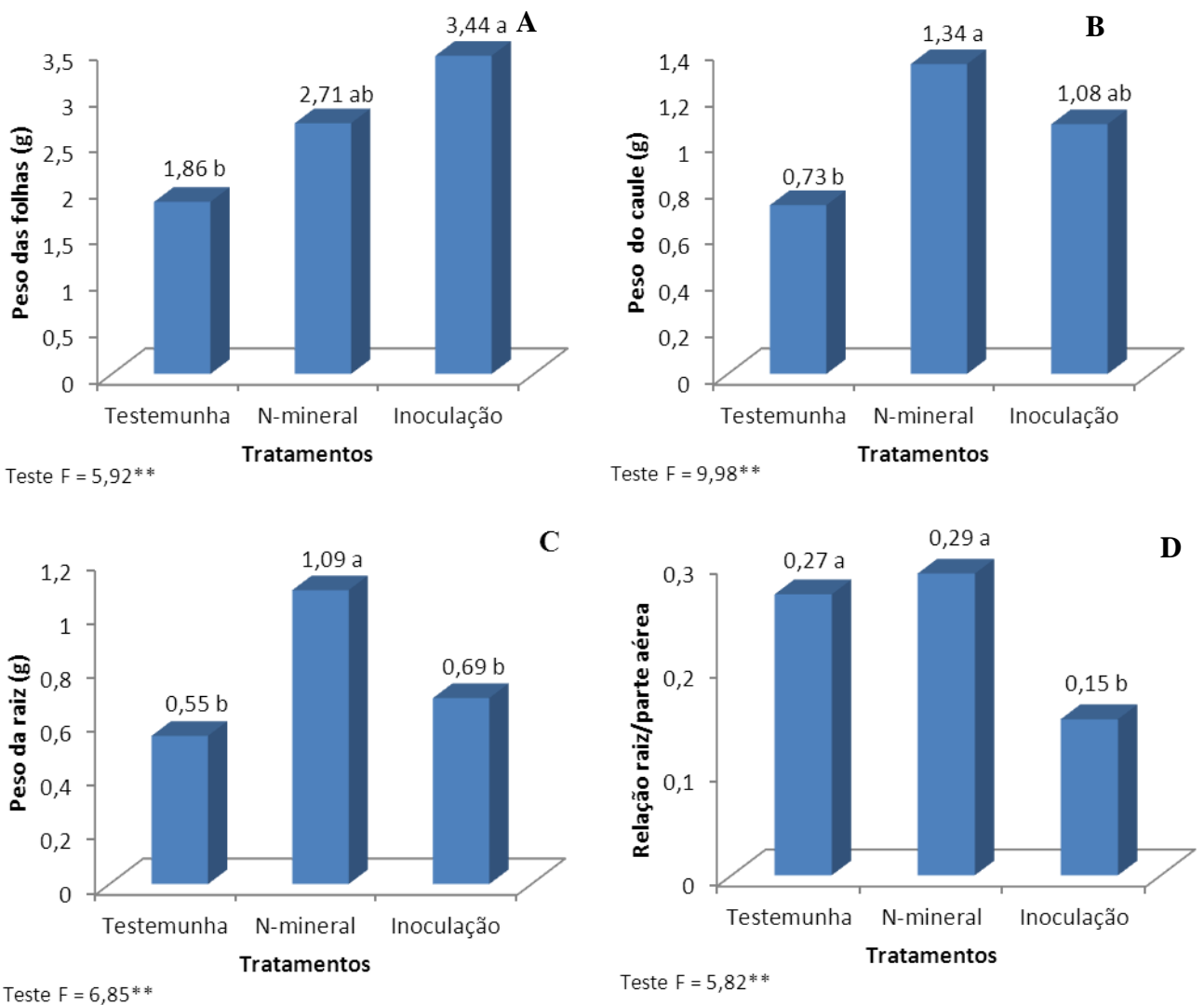


Figura 2. Efeito da adubação com N-mineral e inoculação com rizóbios sobre o desenvolvimento em biomassa seca de mudas de ingá-barata (*Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*) sobre o peso das folhas (A), caule (B), raiz (C) e relação raiz/parte aérea (D), aos 165 dias de enviveiramento.

A melhor nodulação das plantas em solo argissolo também refletiu nas concentrações de N-folhares, que superaram significativamente o solo latossolo. Entretanto, os valores abaixo de 3,0 % de nitrogênio nas folhas não são tão expressivos como os verificados para outras espécies. Ao apresentar o teor de nitrogênio foliar em folhas de leguminosas arbóreas fixadoras de N₂, Moreira (1994) relacionou plantas com teores de N-foliar variando entre 3,18 e 5,60 % de N, e algumas espécies podem apresentar valores ainda mais elevados.

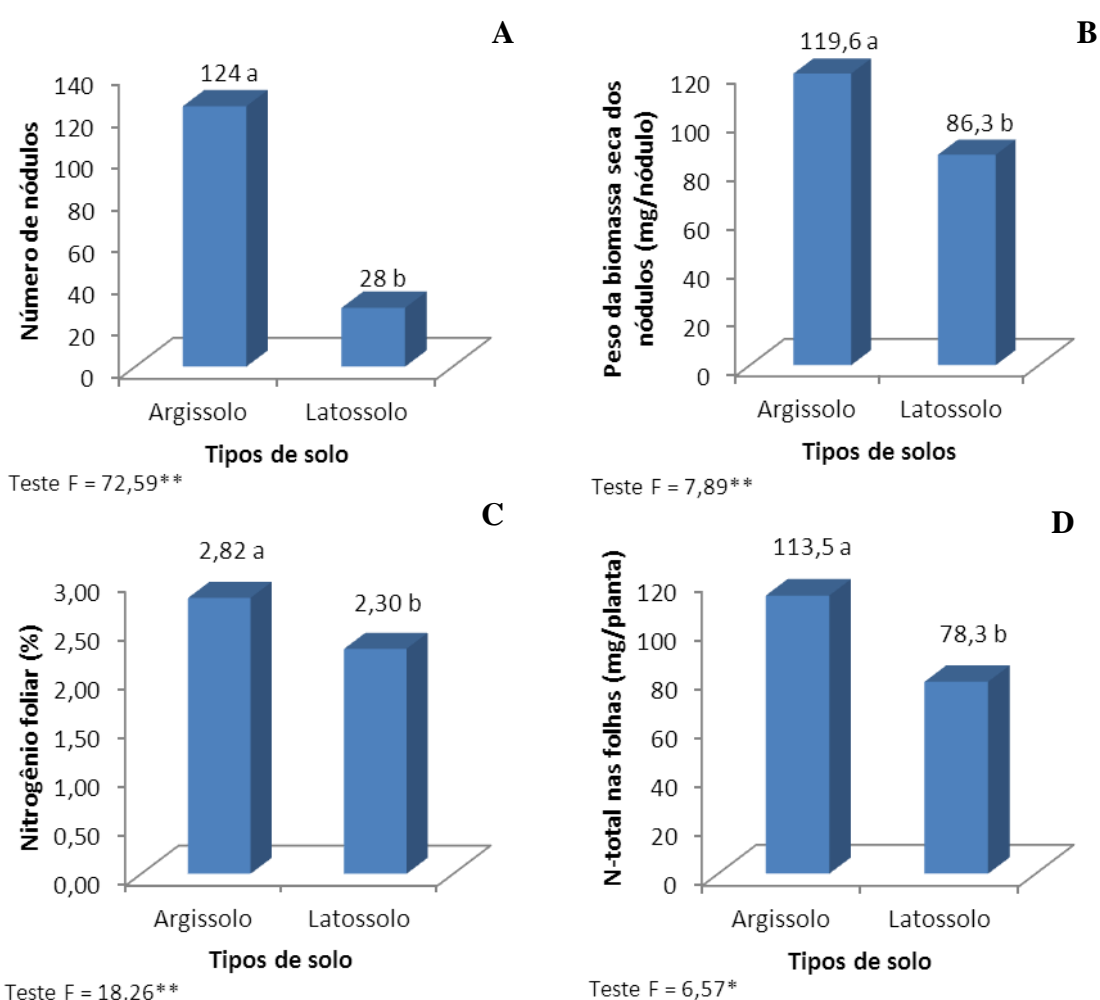


Figura 3. Efeito do tipo de solo sobre o número de nódulos (A), peso da biomassa seca dos nódulos (B), nitrogênio foliar (C) e nitrogênio total nas folhas (D) em mudas de ingá-barata (*Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*), aos 165 dias de enviveiramento.

Os valores observados nas análises do Nitrogênio Total nas Folhas, também mostram resultados superiores para o argissolo, com média de 113,5 mg planta⁻¹ enquanto o latossolo obteve média 78,3 mg planta⁻¹ aos 165 dias de enviveiramento.

A inoculação com rizóbios favoreceu os indicadores relacionados à nodulação das mudas, especialmente o desenvolvimento dos nódulos do ingá-barata (Figura 4). Foi verificado que o número de nódulos formados não variou significativamente entre as diferentes formas de suprimento de nitrogênio, refletindo a característica de promiscuidade simbiótica de espécies do gênero *Inga*, que caracteristicamente apresentam baixa especificidade quando a capacidade de se deixar infectar por uma estirpe hospedeira. Outros resultados de pesquisas com leguminosas arbóreas consideram que a aplicação de N-mineral inibe os indicadores da nodulação (Goi, Sprent; Jacob-Neto, 1997).

O desenvolvimento nodular foi favorecido pela inoculação das mudas do ingá-barata que superou significativamente, e duplicando, a biomassa seca dos nódulos formada em plantas não inoculadas e que não receberam N-mineral (P<0,01). Entretanto, não foram verificadas diferenças significativas na biomassa dos nódulos secos entre plantas inoculadas e plantas supridas com fertilizante nitrogenado. Mais uma vez fica evidenciado o potencial alternativo dos processos biológicos em relação ao fornecimento de N para a planta, na fase de formação de mudas.

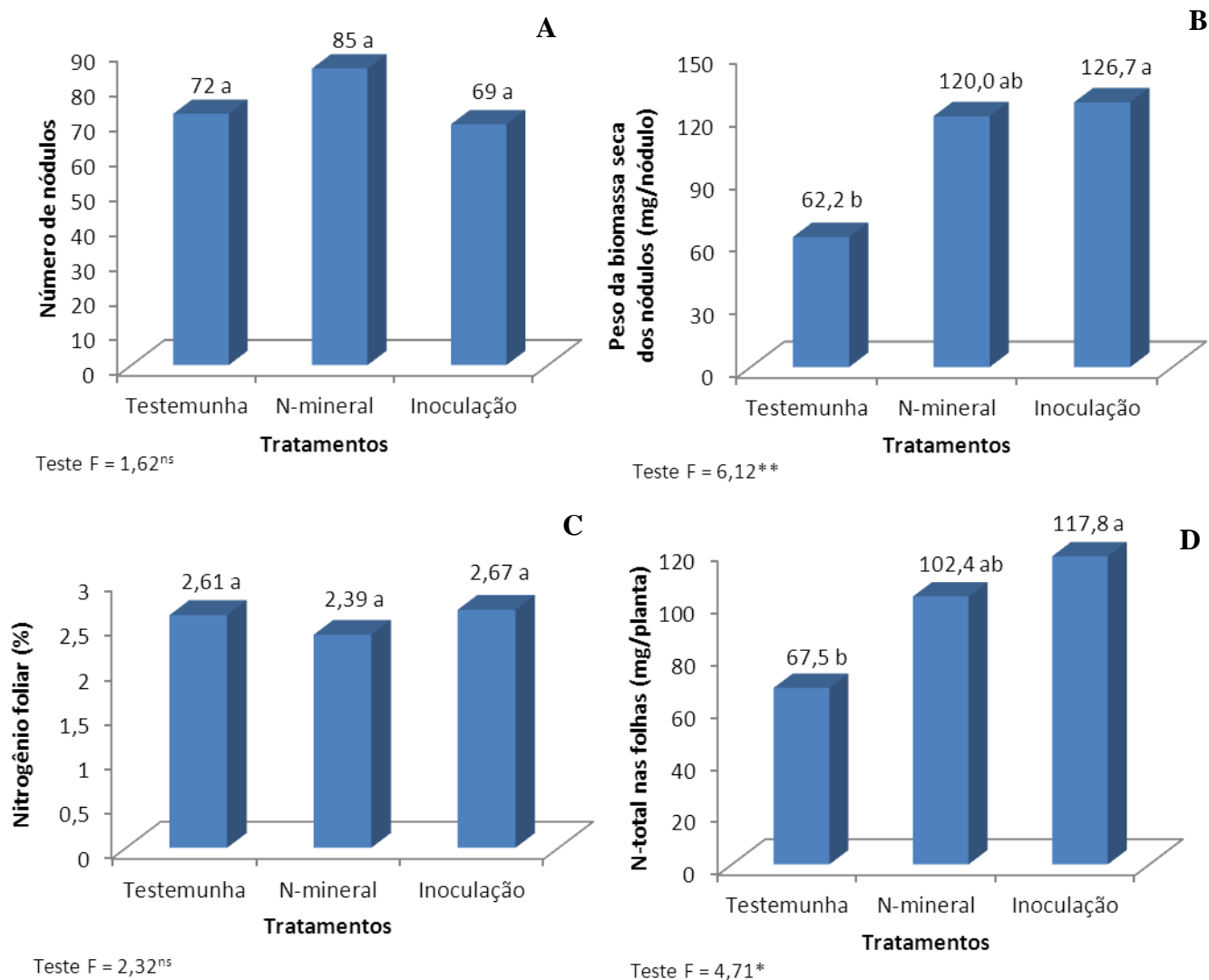


Figura 4. Efeito da adubação com N-mineral e inoculação com rizóbios sobre o número de nódulos (A), biomassa seca dos nódulos (B), nitrogênio foliar (C) e N-total nas folhas (D) de mudas de ingá-barata (*Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*), aos 165 dias de enviveiramento.

Os teores de N-foliar não diferiram significativamente entre as diferentes formas de suprimento de N (Figura 4), mas para o N-total acumulado nas folhas das mudas do ingá-barata as plantas inoculadas com rizóbios apresentaram valores significativamente superiores que as do tratamento não inoculado e que também não foram fertilizadas com N-mineral. Refletindo os dados de biomassa de nódulos secos, as plantas inoculadas também não

diferiram significativamente nos valores de N-total daquelas que foram supridas com N-mineral. Maiores estoques de nitrogênio acumulados na biomassa foliar das mudas podem ser importantes nas etapas subsequentes de desenvolvimento que se processam após o plantio definitivo das espécies. O interesse em efetuar o plantio definitivo de mudas de leguminosas arbóreas com nódulos estabelecidos baseia-se em resultados de pesquisa experimental que concluíram que há uma maior tolerância às condições adversas nos locais onde são implantadas, retomando logo em seguida o seu crescimento (Ribeiro Júnior *et al.*, 1987). Galiana *et al.* (1998) verificaram que a inoculação com rizóbios na fase viveiro tem efeito positivo no crescimento de *Acacia mangium* aos 39 meses após o plantio, em solos africanos. Os resultados experimentais também demonstraram uma interação significativa entre o tipo de solo e as formas de suprimento de nitrogênio nas mudas do ingá-barata, para o número de nódulos formados, conforme pode ser verificado na Figura 5. Nas plantas dos tratamentos testemunha e que receberam N-mineral o número de nódulos formados em solo argissolo foi significativamente superior que em solo latossolo. Entretanto, quando as plantas receberam inoculante não houve diferença significativa no número de nódulos formados nestes dois solos, sugerindo que a inoculação promoveu a formação de nódulos em latossolo equiparando o número de nódulos formados entre estes solos. Considerando-se a forma de suprimento de nitrogênio o número de nódulos formados nas mudas não diferiu no solo argissolo, entretanto no solo latossolo foi demonstrado que a inoculação com rizóbios condicionou o número de nódulos formados que foi significativamente superior que nas plantas do tratamento controle ou que receberam N-mineral. Os dados evidenciam que para incremento dos processos de infecção radicular e iniciação nodular das mudas de ingá-barata a inoculação das plantas no solo latossolo mostrou-se fundamental, confirmando a eficiência desta técnica. O passo inicial para a formação dos nódulos é o aumento da população de rizóbios na rizosfera das plantas. Os processos decorrentes da inoculação antecipam essa etapa que ocorre naturalmente,

quando milhares de células de rizóbios são fornecidas ao solo alcançando a área da rizosfera (Franco; Neves, 1992).

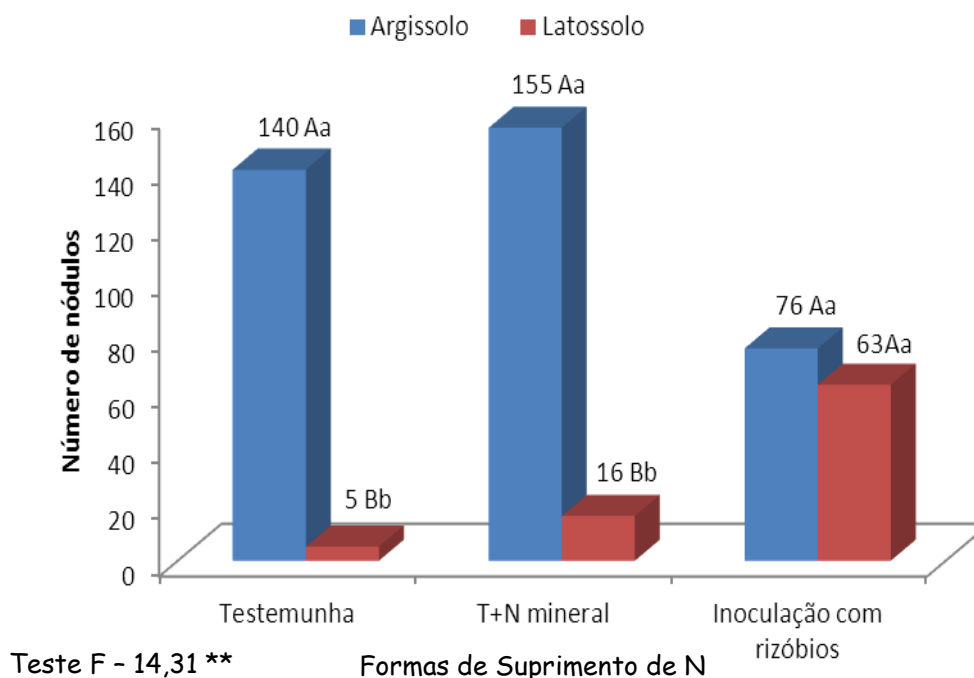


Figura 5. Interação entre solos e tratamentos de inoculação sobre o número de nódulos de ingá-barata (*Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*), aos 165 dias após o transplantio. *1

*1 – Médias seguidas de mesma letra minúscula para solos e de mesma letra maiúscula para tratamentos não diferem entre si no nível de 1 % de probabilidade ($P < 0,01$).

Sabe-se que a tecnologia de inoculação com rizóbios é de baixo custo e adequada para espécies florestais encontradas em países como o Brasil (Dobereiner, 1984). Grossman et al. (2005), trabalhando no México com *Acacia koa*, *A. mangium* e *Gliricidia sepium*, demonstraram que a média de biomassa de mudas inoculadas foi significativamente maior do que em plantas supridas com N-mineral, apoiando a hipótese de que a prática de inoculação de leguminosas arbóreas pode favorecer o desenvolvimento da planta.

Na planta, o nitrogênio acumula-se principalmente na biomassa foliar, onde ocorre a síntese de proteínas, fotossíntese, duplicação celular (Marschner, 1990). Para avaliar a eficiência da inoculação com rizóbios foram feitas correlações entre variáveis da nodulação e

o peso da parte aérea seca do ingá-barata nas mudas do tratamento que recebeu o coquetel de estirpes. Aos 165 dias de enviveiramento, observou-se correlação positiva entre as variáveis do número de nódulos e a biomassa seca da parte aérea e também entre a biomassa dos nódulos e a biomassa seca da parte aérea de ingá-barata, conforme pode ser verificado na Figura 6. Os valores de R^2 de 0,99 e R^2 0,97, respectivamente para estas duas relações, evidenciam uma alta contribuição dos indicadores da nodulação no desenvolvimento da parte aérea das mudas, confirmando a eficiência da fixação biológica nas condições experimentais, evidenciando a eficiência da simbiose fixadora de N_2 .

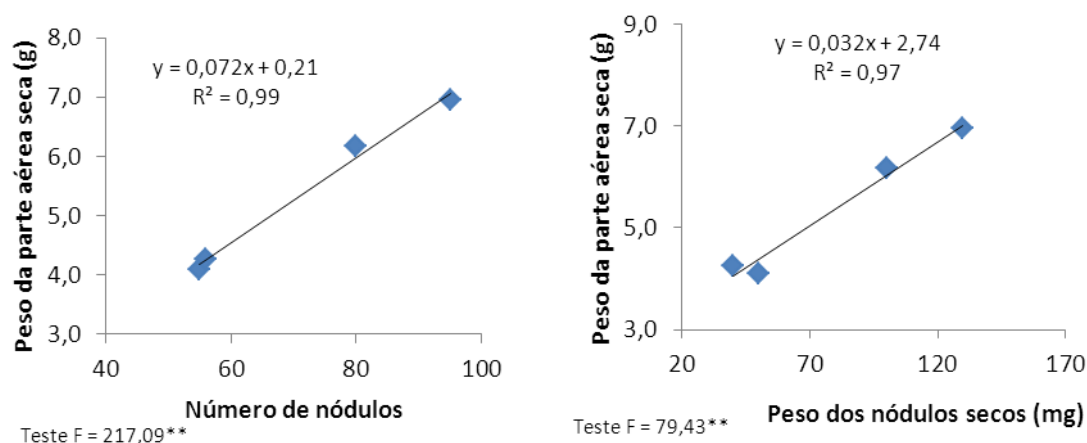


Figura 6. Correlações entre o número e peso dos nódulos e o peso da parte aérea seca em mudas de ingá-barata (*Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*) em solo Argissolo Vermelho Amarelo.

Faria *et al.* (1995) inocularam mudas de *Albizia lebbek* em Latossolo Vermelho Escuro distrófico e verificaram que, embora a inoculação com rizóbios tenha proporcionado o desenvolvimento das mudas, foi menos eficiente que a adubação nitrogenada de 175 mg kg⁻¹ de N por planta. Rodríguez-Echeverría e Pérez-Fernández (2005) consideram que a inoculação de leguminosas com estirpes de rizóbios selecionadas maximiza a probabilidade de sobrevivência das plantas após o plantio e reintroduz, nos solos muitas vezes degradados,

rizóbios nativos benéficos ao desenvolvimento das plantas. Souza *et al.* (2007), correlacionaram a biomassa seca dos nódulos e o N-total na parte aérea das plantas de palheteira (*Clitoria fairchildiana*) crescendo em solos da Mata Atlântica de Pernambuco e encontraram correlação significativa de R^2 0,84. Vieira e Souza (2011) também correlacionaram estas variáveis em saboarana (*Swartzia laevis*), inoculada com coquetel de estirpes em solo Latossolo Amarelo e obtiveram um R^2 de 0,86.

As pesquisas já conduzidas com solos de várias partes do mundo, como a realizada por Bala *et al.* (2003), concluíram que quando uma leguminosa é introduzida em uma área fora de seu centro de origem, dependendo de seu padrão de infecção promíscuo ou específico, só formará nódulos eficientes se rizóbios compatíveis estiverem presentes na população natural do solo do local onde é introduzida. Desse modo, a contribuição da fixação biológica de N_2 em plantas não inoculadas deve-se aos rizóbios nativos e, naquelas que são expostas a estirpes selecionadas, trata-se de uma somatória dos rizóbios nativos e inoculados. Os resultados demonstram que leguminosas arbóreas da Amazônia como a ingá-barata respondem a técnica da inoculação aumentando seu suprimento de nitrogênio obtido por via simbiótica.

Várias espécies do gênero *Inga*, são caracterizadas como plantas de múltiplo uso e têm sido usadas tradicionalmente pelo homem ao longo das gerações e continuam até o presente, incrementadas pelo reconhecimento de seu potencial de restaurar o solo e compor sistemas agroflorestais, indicando um melhor aproveitamento futuro (Pennington, 1997). Dentre os diferentes tipos de aproveitamento estão: o fruto comestível para a fauna e para o homem, como árvores de sombra, para produção lenha ou madeira e para recuperação de solos e agrosilvicultura. A adaptação do ingá-barata a solos de terra firme e sua eficiência fixadora de N_2 , evidencia o seu potencial de aproveitamento nos sistemas de produção praticados na Amazônia Central.

4 Conclusões

Foi comprovada a eficiência da inoculação de plantas de ingá-barata (*Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*) inoculada com um coquetel de estirpes de rizóbios nos solos latossolo amarelo e argissolo vermelho-amarelo procedentes da Amazônia Central.

As mudas de ingá-barata mostraram melhor adaptação ao solo argissolo vermelho amarelo, comparado ao latossolo.

Evidenciou-se que a técnica de inoculação com rizóbios tem potencialidade alternativa para suprimento de nitrogênio para as plantas, comparado a fertilização nitrogenada.

5. Referências Bibliográficas

- ALLEN, O.N.; ALLEN, E.K. *The leguminosae: a source book of characteristics, uses and nodulation*. Wisconsin: The University Press, 1981. 812p.
- ARCO-VERDE, M.; MOREIRA, M.A.B. *Viveiros florestais. Construção, custos, cuidados e atividades desenvolvidas para a produção de mudas*. Boa Vista: Embrapa - CPAF, 1998. 32p. (Documentos, 3).
- ATIK. *Seeds and plant propagation*. Philippines: Agroforestry Technology Information Kit No. 5, 1992. 106p.
- BALA, A.; MURPHY, P.J.; OSUNDE, A.O.; GILLER, K.E. Nodulation of tree legumes and the ecology of their native rhizobial populations in tropical soils. *Applied Soil Ecology*, v.22, n.3, p.211-223, 2003.
- BENINCASA, M.M.P. *Análises de crescimento de plantas (Noções básicas)*. Jaboticabal: Funep, 1988. 42p.

- CENTENO, A.J. *Curso de estatística aplicada à biologia*. Goiânia: UFG, Centro Editorial, 1990. 188p. (Coleção Didática, 3).
- CORBY, H.D.L. The systematic value of leguminous root nodules. In: POLHILL, R. M.; RAVEN, P.H.(Eds.). *Advances in legume systematics. Proceedings of the International Legume Conference*. London: Royal Botanical Gardens, 1981. Part 2, p. 657-670.
- DOBEREINER, J. Nodulação e fixação de nitrogênio em leguminosas florestais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.19, p.83-90, 1984.
- DUCKE, A. *Notas sobre a flora neotropical - II. As leguminosas da Amazônia Brasileira*. Belém: Boletim Técnico do IAN, 1949. 249p.
- EIRA, P.A.; ALMEIDA, D.L.; SILVA, W.C. Fatores nutricionais limitantes do desenvolvimento de três leguminosas forrageiras de um solo podzólico vermelho amarelo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira Sér. Agron.*, v.7, p.185-192, 1972.
- FARIA, M.P.; SIQUEIRA, J.O.; VALE, F.R.; CURI, N. Crescimento de leguminosas arbóreas em resposta a fósforo, nitrogênio, fungo micorrízico e rizóbio. I. *Albizia lebbek* (L.) Benth. *Revista Árvore*, v.19, n.3, p.293-307, 1995.
- FRANCO, A.A.; NEVES, M.C.P. Fatores limitantes à fixação biológica de nitrogênio. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Eds.). *Microbiologia do solo*. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 219-230.
- FRANCO, A.A.; FARIA, S.M. The contribution of N₂ fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. *Soil Biology & Biochemistry*, v.29, n.5/6, p.897-903, 1997.
- GALIANA, A.; GNAHOUA, G.M.; CHAUMONT, J.; LESUEUR, D.; PRIN, Y.; MALLET, B. Improvement of nitrogen fixation in *Acacia mangium* through inoculation with *Rhizobium*. *Agroforestry Systems*, v.40, n.3, p.297-307, 1998.

- GOI, S.R.; SPRENT, J.I.; JACOB-NETO, J. Effect of different sources of N₂ on the structure of *Mimosa caesalpinifolia* root nodules. *Soil Biology & Biochemistry*, v.29, n.5/6, p.983-987, 1997.
- GROSSMAN, J.M.; SHEAFFER, C.; WYSE, D.; GRAHAM, P.H. Characterization of slow-growing root nodule bacteria from *Inga oerstediana* inorganic coffee agroecosystems in Chiapas, Mexico. *Applied Soil Ecology*, v.29, n.3, p.236-251, 2005.
- HALLIDAY, J. Integrated approach to nitrogen fixing tree germoplasm development. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.19, p.91-117, 1984.
- LIMA, H.C. 2010. Fabaceae. In: FORZZA, R.C. et al., (Org.) *Catálogo de plantas e fungos do Brasil*. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, v. 2, p. 989-1102.
- LOJKA, B.; PREININGER, D.; VAN DAMME, P.; ROLLO, A. & BANOUT, J. 2012. Use of the Amazonian tree species *Inga edulis* for soil regeneration and weed control. *Journal of Tropical forest Science*, v. 21, n.1, p. 89-101.
- MARSCHNER, H. Mineral nutrition and yield response. In: MARSCHNER, H. *Mineral nutrition of higher plants*. 4. ed. London: Academic Press, 1990. p.155-172.
- MOREIRA, F.M.S. Fixação Biológica do nitrogênio em espécies arbóreas. In: ARAUJO, R.S. & HUNGRIA, M. (Ed.) *Microrganismos de Importância Agrícola*. EMBRAPA-CNPAP, Goiânia, Documentos 44, 1994, p.121-149.
- MOREIRA, F.M.S. 2008. Bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam. Leguminosae. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; BRUSSAARD, L. (Eds.) *Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros*. Ed. UFLA, Lavras, p.621-680.
- MOREIRA, F.W.; MOREIRA, F.M.S.; SILVA, M.F. Germinação, crescimento inicial e nodulação em viveiro de saboarana (*Swartzia laevicarpa* Amshof). *Acta Amazonica*, Manaus, v.25, n.3/4, p.149-160, 1995.

- NAS. *Tropical legumes resource for the future*. Washington: National Academy of Science, 1979. 332p.
- PENNINGTON, T.D. 1997. The genus *Inga* botany. The Royal Botanic Gardens, Kew, Continental Printing Belgium, 844p.
- RIBEIRO JÚNIOR, W.Q.; LOPES, Ely S.; FRANCO, A.A. Eficiência de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. para quatro leguminosas arbóreas e competitividade das estirpes de *Albizia lebbek* em latossolo ácido. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.11, n.3, p.275-282, 1987.
- RODRÍGUEZ-ECHEVERRÍA, S.; PÉREZ-FERNÁNDEZ, M.A. Potential use of Iberian shrubby legumes and rhizobia inoculation in revegetation projects under acidic soil conditions. *Applied Soil Ecology*, v.29, p.203-208, 2005.
- SILVA, M.F.; SOUZA, L.A.G. Levantamento das leguminosas do arquipélago das Anavilhanas, baixo rio Negro, Amazonas. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Botânica*, v.18, n.1, p.3-35, 2002.
- SOUZA, L.A.G. 2010. Levantamento da habilidade nodulífera e fixação simbiótica de N₂ nas Fabaceae da região amazônica. *Enciclopédia Biosfera, Goiânia*, v. 6 (10): 1-11.
- SOUZA, L.A.G.; BEZERRA NETO, E.; SANTOS, C.E.R.S.; STAMFORD, N.P. Desenvolvimento e nodulação natural de leguminosas arbóreas em solos de Pernambuco. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.42, n.2, p.207-217, 2007.
- SPRENT, J.I. Nodulation in woody legumes our state of ignorance. *Iufro, NFT News, Improvement and Culture of Nitrogen Fixing Trees*, v.3, n.1, p.4-5, 2000.
- STURION, J.A. *Métodos de produção e técnicas de manejo que influenciam o padrão de qualidade de mudas de essências florestais*. In: SEMINÁRIO DE SEMENTES E VIVEIROS FLORESTAIS, 1., 1981, Curitiba: Fupef, UFPR, 1981. v.2, p.1-26.

VIEIRA, E.P. & SOUZA, L.A.G. 2011. Inoculação com rizóbios em mudas de acapu do igapó e saboarana. Revista de Ciências Agrárias, UFRA, Belém, v. 54, n.1, p. 54-62.

CRESCIMENTO E DISTRIBUIÇÃO DA BIOMASSA DE LEGUMINOSAS ARBÓREAS INOCULADAS COM RIZÓBIOS EM DOIS SOLOS ÁCIDOS DA AMAZÔNIA CENTRAL

Marco Antônio de Freitas Mendonça
Edilingles Pinto Vieira
Hedinaldo Narciso Lima
Luiz Augusto Gomes de Souza

RESUMO

Há necessidade de demonstrar o potencial de uso de inoculante microbiano em leguminosas arbóreas da Amazônia para estimular tecnologias biológicas na produção agrícola e recuperação de solos. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação com rizóbios sobre o crescimento e distribuição de biomassa em três leguminosas arbóreas nativas. As espécies selecionadas foram: *Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*, *I. nobilis* e *Erythrina fusca*. Dois solos ácidos da terra firme foram avaliados: Latossolo Amarelo sob pastagem e Argissolo Vermelho Amarelo sob sistema agroflorestral. As espécies foram semeadas em areia e transplantadas para sacos com 2 kg de solo e conduzidas no viveiro. Três formas de suprimento de N foram testadas: testemunha (plantas não inoculadas e sem N-mineral); plantas supridas com 80 kg de N ha⁻¹; e, plantas inoculadas com um coquetel de estirpes de rizóbios da coleção do INPA. Mensalmente avaliou-se o comprimento do caule das plantas. A colheita foi efetuada aos 93 dias para *E. fusca* e 165 e 151 dias para *I. thibaudiana* e *I. nobilis*, determinando-se a distribuição de biomassa seca nas folhas, raízes, caule e nódulos da planta. O número de nódulos foi contado e efetuado determinações do N-foliar e N-total das plantas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 3 (solos x formas de suprimento de N), com 9 repetições. A inoculação com rizóbios influenciou o crescimento, partição de biomassa, indicadores de nodulação e absorção de N, havendo diferenças na resposta dependendo da espécie avaliada. O caráter de especificidade ou de promiscuidade na leguminosa arbórea selecionada é determinante na resposta da espécie a inoculação. Todas as espécies de leguminosas arbóreas pesquisadas adaptaram-se melhor ao solo Argissolo comparado ao Latossolo. Demonstrou-se que as estirpes empregadas como inoculante em *I. thibaudiana* var. *thibaudiana* formaram processos de fixação de N₂ mais eficientes que quando inoculadas em *I. nobilis*. Para *E. fusca*, considerada de comportamento não específico quanto a compatibilidade com rizóbios nativos a prática da inoculação favoreceu os processos simbióticos em solo Latossolo comparado ao Argissolo.

Palavras-chave: Microbiologia do Solo; Fabaceae; agricultura sustentável, fixação biológica de nitrogênio.

ABSTRACT

GROWTH AND DISTRIBUTION OF BIOMASS IN LEGUME TREE INOCULATED WITH RHIZOBIA IN TWO ACID SOILS OF THE CENTRAL AMAZONIA

There is need to demonstrate the use potential of microbial inoculants in legume tree of the Amazonia to stimulate biological technologies in the agricultural production and recovery of soils. This work had as objective evaluates the effect of the inoculation with Rhizobia about the growth and biomass distribution in three native legume trees. The selected species were:

Inga thibaudiana var. *thibaudiana*, *I. nobilis* and *Erythrina fusca*. Two soils acid of the firm earth they were appraised: yellow oxisol under pasture and yellow red ultisol under agroforestry system. The species were sowed in sand and transplanted for bags with 2 soil kg and led in the nursery. Three forms of supply of N were tested: control treatment (plants not inoculated and without mineral N); plants supplied with 80 kg of N hectare⁻¹; and, plants inoculated with a cocktail of strains of Rhizobia of the INPA collection. Monthly the length of the stem of the plants was evaluated. The crop was made to the 93 days for *E. fusca* and 165 and 151 days for *I. thibaudiana* and *I. nobilis*, being determined the distribution of dry biomass in the leaves, roots, stem and nodules of the plant. The number of nodules was counted and made determinations of leave-N and total-N of the plants. The experimental design was it entirely random, in factorial arrangement 2 x 3 (soils x forms of supply of N), with 9 repetitions. The inoculation with Rhizobia influences the growth, biomass partition, nodulation indicators and absorption of N, having differences in the answer depending on the appraised species. The specificity character or of promiscuity in the selected legume tree is decisive in the answer of the species the inoculation. All the species of legume tree researched adapted better to the soil ultisol compared to the oxisol. It was demonstrated that the employed strains as inoculants in *I. thibaudiana* var. *thibaudiana* formed processes of fixation of more efficient N₂ than when inoculated in *I. nobilis*. For *E. fusca*, considered of behavior non specific as the compatibility with native Rhizobia the practice of the inoculation favored the symbiotic processes in soil oxisol compared to ultisol.

Key-words: Microbiology of the Soil; Fabaceae; Sustentable Agriculture, Biological Nitrogen Fixation.

INTRODUÇÃO

As leguminosas (Fabaceae) lenhosas da Amazônia são um componente numeroso do grande estoque genético de biodiversidade presente nas florestas desta região. Atualmente estão documentados em herbários registros superiores a 1200 espécies, classificadas em 160 gêneros, 98 deles arbóreos (Souza, 2012). Esta elevada variedade também resulta em grandes possibilidades de aproveitamento para produtos madeireiros e não madeireiros, mas também pela importância ecológica das Fabaceae nos agroecossistemas especialmente em sua contribuição para as entradas de nitrogênio.

A eficiência na absorção de nitrogênio das leguminosas é relacionada a propriedade de muitas espécies que constituem essa família em se associar simbioticamente com bactérias do solo do grupo dos rizóbios. Na evolução dos processos simbióticos o desenvolvimento do sistema radicular de leguminosas no solo estimula a multiplicação de rizóbios na rizosfera,

que pode resultar na infecção das raízes (Freire, 1992). Em resposta a esta infecção, a planta desenvolve os nódulos. No interior dos nódulos, envolvidos por uma membrana protetora e adotando um comportamento endofítico, o rizóbio sofre modificações de estrutura e em seu metabolismo, transformando-se em “bacteróide” e interage com a planta para fixar N_2 atmosférico, transformando-o em NH_4^+ , que é transportado para as regiões de crescimento vegetal (Hungria & Stacey, 1997), possibilitando o suprimento deste nutriente para a planta via fixação biológica de nitrogênio. Forma-se, assim, uma das mais perfeitas associações biológicas conhecidas pela ciência, sendo a planta e a bactéria mutuamente favorecidas no processo conhecido como simbiose das leguminosas.

As pesquisas mais recentes que incluem técnicas moleculares têm evoluído sobre o conhecimento da taxonomia dos rizóbios, que tem sido acrescida de numerosos registros recentes, que permitem a classificação dos rizóbios em várias famílias de bactérias. Segundo Moreira (2008), os registros de gêneros e espécies de bactérias fixadoras de N_2 que nodulam Fabaceae são: na Família Rhizobiaceae os gêneros *Rhizobium*, *Sinorhizobium* e *Allorhizobium*; na família Bradyrhizobiaceae, os gêneros *Bradyrhizobium* e *Blastobacter*; na família Xanthobacteraceae o gênero *Azorhizobium*; na família Hyphomicrobiaceae o gênero *Devosia*, na família Phyllobacteriaceae os gêneros *Phyllobacterium* e *Mezorhizobium*; na família Methylobacteriaceae, o gênero *Methylobacterium*; na família Brucellaceae o gênero *Ochrobactrum* e, finalmente, na família Burkholderiaceae os gêneros *Burkholderia* e *Ralstonia*. A existência de 13 gêneros de bactérias fixadoras de N_2 , reconhecida em anos recentes sugere que este número ainda está em elevação, o que será comprovado por novas descrições originais.

As possibilidades de aproveitamento de espécies nativas de Fabaceae em sistemas de produção são estimuladas pela grande variedade de hábito de crescimento das plantas desta família, abrigando ervas anuais, ervas perenes, arbustos, arbustos escandentes, cipós,

arvoretas, árvores e também espécies gigantescas nas matas tropicais, algumas como o cumaru (*Dipteryx odorata*) com até 800 anos de vida (Chambers et al., 1998). Várias espécies de leguminosas são aproveitadas como alimento para o homem, produção de madeira, forragem, celulose, adubação verde, taninos, resinas, lenha, etc. Dentro deste grupo diversificado, as leguminosas florestais podem representar um papel importante de composição e sustentabilidade dos sistemas agroflorestais (Russo, 1983).

Relativo ao outro par simbiote, o conceito de inoculante aplicado à Microbiologia do Solo significa todo material contendo microrganismos que aplicado durante o seu desenvolvimento atue favoravelmente no desenvolvimento das plantas. Entretanto, nem todas as leguminosas possuem habilidade de associar-se a rizóbios, existindo um grupo primitivo que não possui esta propriedade. Nas espécies capazes de desenvolver nódulos, a inoculação tem por finalidade colocar junto à semente recém germinada uma grande população do rizóbio específico e comprovadamente eficaz na indução da nodulação e fixação de N₂. Para as leguminosas arbóreas da Amazônia, estima-se que 67,0 % das espécies e 22 dos gêneros ocorrentes na região ainda não foram pesquisados quanto à habilidade de nodulação e fixação de N₂ (Souza, 2010).

Para auxiliar o desenvolvimento e crescimento de leguminosas selecionadas para o cultivo, a inoculação com rizóbios na fase de enviveiramento, pode resultar na formação de mudas vigorosas e com nódulos estabelecidos. Em condições adversas após o plantio definitivo, o desenvolvimento das leguminosas pode ser favorecido quando as plantas jovens apresentam nodulação eficiente (Franco & Silva, 1985; Ribeiro Junior *et al.*, 1987). Estudos recentes de resposta a inoculação em leguminosas com estirpes nativas de solo da Amazônia tem sido desenvolvidos (Vieira & Souza, 2011), e os resultados favoráveis sugerem um melhor aproveitamento desta tecnologia biológica. A perspectiva é a de gerar novas

informações para um melhor aproveitamento dos recursos da biodiversidade de leguminosas arbóreas da Amazônia.

O INPA/CPCA possui uma coleção de rizóbios, constituída por estirpes isoladas em solos da Amazônia, que vem sendo avaliadas, em sua eficiência fixadora de N₂, para uso como inoculante de leguminosas que apresentam potencial de aproveitamento econômico. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação com rizóbios isolados de solo da Amazônia, sobre o crescimento e distribuição de biomassa em três leguminosas arbóreas nativas.

MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos nas dependências do INPA-CSAS, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Coordenação de Sociedade Ambiente e Saúde, no Laboratório de Microbiologia do Solo – SMS - e no viveiro de produção de mudas localizado no Campus do V-8, em Manaus, AM, durante os anos de 2010 e 2011.

Três espécies de leguminosas arbóreas foram selecionadas para a pesquisa: ingá-barata (*Inga thibaudiana* DC. var. *thibaudiana*), ingá-de-macaco (*Inga nobilis* Willd.) e mulungu (*Erythrina fusca* Loureiro). As duas espécies de ingá foram coletadas na Base Petrolífera de Urucu, município de Coari, AM, e as sementes beneficiadas foram imediatamente semeadas. O número de registro de herbário destas espécies foi respectivamente 234.667 e 234.662, para *I. thibaudiana* var. *thibaudiana* e *I. nobilis*. As sementes de mulungu foram obtidas do banco de sementes ortodoxas do LMS, procedentes de uma matriz coletada no município de Careiro da Várzea, AM, cujo registro de identificação no herbário do INPA foi o de 150.977.

As sementes das duas espécies de ingá foram semeadas sem tratamento e as de mulungu foram escarificadas em lixa no lado oposto ao hilo, e permaneceram imersas em

água 24 h antes da sementeira. Como sementeira foram utilizadas caixas de plástico drenadas e preenchidas com areia. Estas sementeiras foram mantidas em galpão aberto e ventilado, com cobertura de telhas de barro. Os processos germinativos e manutenção da umidade do substrato foram monitorados diariamente. O transplântio das mudas foi conduzido por raiz nua quando estas apresentavam dois pares de folhas definitivas.

Foram selecionados dois solos ácidos de terra firme para a pesquisa: um Argissolo Vermelho Amarelo, coletado sob sistemas agroflorestais, na Estação Experimental de Olericultura do INPA, localizada na rodovia AM 0,10, Km 14. A análise deste solo no Laboratório Temático de Solos e Plantas – LTSP, do INPA, determinou uma acidez elevada (pH 4,31) e baixa disponibilidade de nutrientes com 1,86 $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ de cálcio, 0,37 $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ de magnésio, 0,11 $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ de potássio e 0,65 $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ de alumínio. Os teores de fósforo, ferro, zinco e manganês corresponderam a 8,5, 192,0, 5,7 e 2,9 mg kg^{-1} , respectivamente; o outro solo, da classe dos Latossolo Amarelo sob pastagem abandonada foi coletado na Fazenda Experimental da UFAM, na BR 174, Km 45, apresentou pH de 4,62, e teores de Ca, Mg, K e Al respectivamente de 0,35, 0,13, 0,10 e 1,00 $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$, destes elementos químicos. Os teores de fósforo foram de 1,5 mg kg^{-1} e Fe, Zn e Mn apresentavam valores respectivamente de 313,0, 2,6 e 2,6 mg kg^{-1} . As determinações químicas foram realizadas segundo métodos descritos em Embrapa, 2009.

Após a coleta dos solos e transporte para o viveiro, estes foram peneirados em malha de 2 cm, e em seguida distribuídos nos recipientes com capacidade para 2,0 kg de solo. Para correção da fertilidade do solo para estudos de nodulação como recomenda Hallyday (1984), foi feita uma fertilização com 0,91 g kg^{-1} de superfosfato triplo, 0,33 g kg^{-1} de cloreto de potássio e 1,9 g kg^{-1} de calcário dolomítico, para o argissolo e 0,70 g kg^{-1} de superfosfato triplo, 0,25 g kg^{-1} de cloreto de potássio e 1,5 g kg^{-1} de calcário dolomítico para o latossolo. Os cálculos da adubação foram baseados no peso dos sacos preenchidos com os solos

seccionados que foram de 1,91 e 1,48 kg para o solo argissolo e latossolo respectivamente. Em seguida foi aplicada solução líquida de micronutrientes para solo, 1 mL kg⁻¹. A solução líquida de micronutrientes foi preparada de acordo com Eira *et al.* (1972).

Na condução dos experimentos foram adotados três tratamentos:

T-1 - Controle (plantas sem inoculação e sem N mineral);

T-2 - Adubação com uréia (TN), 80 kg de N ha⁻¹.

T-3 - Inoculação com coquetel de estirpes de rizóbios.

No tratamento com inoculação foram utilizadas estirpes homólogas da Coleção de Rizóbios do INPA. No preparo do inoculante líquido, em meio YMA sem agar, para as duas espécies de ingá foram utilizadas onze estirpes: SMS 832, SMS 852, SMS 842, SMS 833, SMS 836, SMS 848, SMS 847, SMS 835, SMS 837, SMS 846 e SMS 850, misturadas em coquetel (v:v). Para mulungu foram empregadas quatro estirpes homólogas isoladas de *Erythrina fusca*: SMS 887, SMS 890, SMS 894 e SMS 880. O preparo do meio líquido obedeceu a formulação de Vincent (1970): 0,2 g de sulfato de magnésio (MgSO₄.7H₂O), 0,1 g de cloreto de sódio (NaCl), 10,0 g de manitol, 0,4 g de extrato de levedura, 0,4 g de dihidrogenofosfato de potássio (KH₂PO₄), 0,1 g de hidrogeno fosfato de potássio (K₂HPO₄), sem adição de Agar Agar bacteriológico. Após a combinação dos componentes, o pH é ajustado para 6,0 em potenciômetro, seguindo-se a autoclavagem por 20 minutos em pressão de 1,5 atm, com posterior distribuição de 50 mL de meio líquido em erlenmeyers de 125 mL. O período de incubação foi de doze dias, em agitador mecânico horizontal. Após a combinação proporcional em volume das estirpes, o coquetel foi aplicado na base do colo das plantas transplantadas na dosagem de 5 mL planta⁻¹.

No tratamento TN, houve parcelamento da fertilização nitrogenada aos 3 e aos 33 dias do transplântio, incorporando-se a cada aplicação o fertilizante diretamente no solo, com o auxílio de um bastão de vidro. Com base no peso do saco preenchido com solo a cada

aplicação foi empregado 0,17 g de uréia no argissolo e 0,13 g de uréia no latossolo. Durante o experimento as plantas foram irrigadas nos dias sem chuva, extraíndo-se manualmente as plantas invasoras que colonizavam a superfície dos sacos.

Cada espécie constituiu um experimento. O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 2 x 3, constituído por 2 solos e 3 condições de suprimento de nitrogênio, em um total de 6 tratamentos e 9 repetições. Um total de 54 mudas constituiu cada ensaio.

O crescimento das plantas foi monitorado durante o período de enviveiramento, por medidas regulares do comprimento do caule. Para *Inga nobilis* esses registros foram tomados aos 1, 30, 61, 90, 125 e 151 dias após o transplântio; para *Inga thibaudiana* var. *thibaudiana* aos 1, 32, 62, 90, 121 e 165 dias após o transplântio; e para *Erythrina fusca* aos 1, 30, 60 e 93 dias do transplântio. A colheita das plantas foi feita na última data de avaliação do crescimento em comprimento do caule para cada espécie. Ao final do experimento, a taxa de incremento mensal para as médias de crescimento das mudas foi estimada pela fórmula $(h_2 - h_1 / t_2 - t_1 \times 30)$, onde h_2 e h_1 correspondem ao comprimento do caule no t_2 e t_1 , respectivamente (Benincasa, 1988).

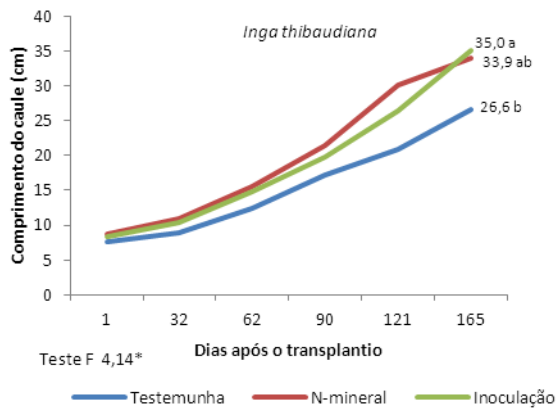
A colheita das plantas foi efetuada aos 165 dias. Nesta fase, foi extraída a planta inteira de cada saco para mudas, separando-se a parte aérea das raízes, para determinação do peso da matéria seca das raízes, caule, folhas e dos nódulos, efetuando-se também a contagem do número de nódulos. A secagem do material vegetal foi feita a 65°C, por 72 h. As folhas foram separadas e moídas em moinho de facas para determinação das concentrações de N-foliares no LTSP-INPA. A concentração de N foliar foi determinada pelo método de destilação ácida e titulação de Kjeldhal, estimando-se em seguida o N-total (mg planta^{-1}), com base na biomassa foliar seca.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Na análise, os dados da contagem dos nódulos foram transformados em $\sqrt{x+0,01}$ (Centeno, 1990) e os valores de N-foliar (%) foram transformados para arco-seno $\sqrt{x+0,01}$.

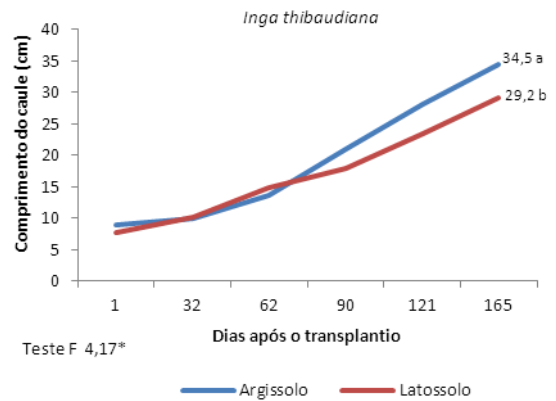
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período experimental as mudas das três espécies de leguminosas arbóreas desenvolveram satisfatoriamente, apresentando 100 % de sobrevivência e folhagem vigorosa de cor verde a verde escura, adquirindo qualidade adequada ao plantio definitivo. As respostas em crescimento do comprimento do caule em relação ao tipo de obtenção de nitrogênio variaram entre as espécies pesquisadas (Figura 1).

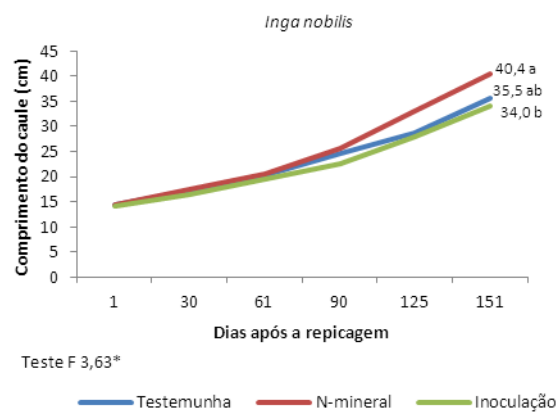
As mudas de ingá-barata responderam positivamente a inoculação com o coquetel de estirpes de rizóbios, apresentando desenvolvendo comprimento do caule significativamente maior neste tratamento quando comparado a plantas do tratamento controle (Figura 1-a), e não diferindo das plantas supridas com N-mineral. Foi verificado que a melhor resposta em crescimento do comprimento do caule para ingá-de-macaco foi à adubação com N-mineral, correspondente a 80 kg de N ha⁻¹ na forma de uréia, onde o comprimento do caule das plantas formadas diferiu significativamente de plantas inoculadas, mas não das plantas do tratamento controle (Figura 1-c). Por outro lado, o mulungu apresentou crescimento muito rápido sob enviveiramento e melhor resposta no incremento do comprimento do caule em plantas do tratamento testemunha, comparado a plantas inoculadas e supridas com N mineral, o que foi atribuído a presença de uma população de rizóbios compatível e eficiente nos solos pesquisados (Figura 1-e).



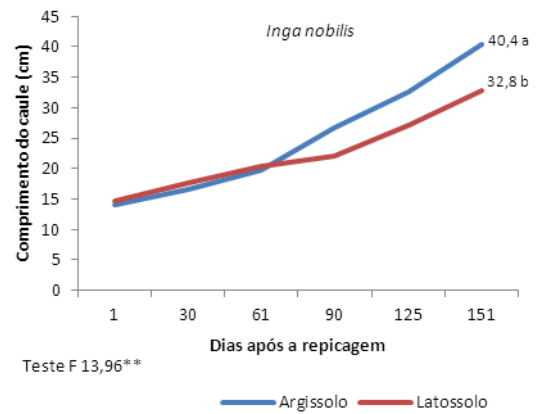
(a)



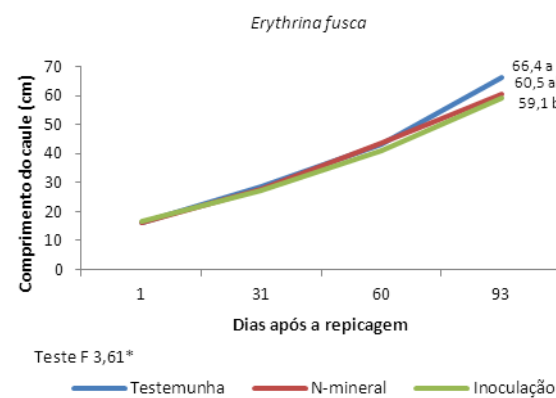
(b)



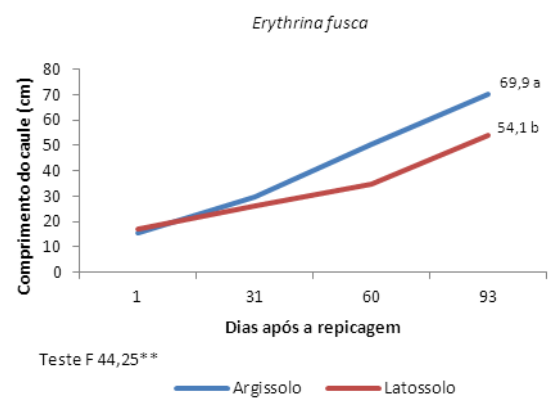
(c)



(d)



(e)



(f)

Figura 1. Efeito da inoculação com rizóbios no comprimento do caule das mudas de ingá-barata (*Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*), ingá-de-macaco (*Inga nobilis*) e mulungu (*Erythrina fusca*), em dois solos da Amazônia Central.

A velocidade de crescimento mensal também variou entre as espécies em resposta as diferentes formas de suprimento de nitrogênio avaliadas, observando-se diferenças significativas para todas as espécies ($P < 0,05$). As duas espécies de ingá apresentaram crescimento mais lento que o mulungu e no tratamento testemunha a velocidade de crescimento de ingá-barata e ingá-de-macaco foi calculada respectivamente em 3,5 e 4,2 cm mês⁻¹. Na mesma seqüência de espécies, no tratamento que recebeu N-mineral o crescimento destas espécies foi calculado em 4,6 e 5,2 cm mês⁻¹ e para o tratamento inoculado essas estimativas de crescimento foram de 4,9 e 4,0 cm mês⁻¹, respectivamente. Apresentando crescimento rápido comparado as demais espécies as estimativas de incremento mensal no comprimento do caule de mulungu foram de 16,4, 14,4 e 13,9 cm mês⁻¹, respectivamente para os tratamentos controle, adubado com N-mineral e inoculação com rizóbios. Os resultados evidenciam que é necessário pelo menos 5 meses para a formação de mudas de ingá-barata e ingá-de-macaco, mas para o mulungu o tempo de enviveiramento pode ser abreviado para 3 meses.

O tipo de solo influenciou significativamente o crescimento do caule de todas das três leguminosas arbóreas pesquisadas e, para todas as espécies, o crescimento em solo argissolo vermelho amarelo superou a médias observadas no latossolo por ocasião da colheita. Estas diferenças entre solos foram significativas para ingá-barata ($P < 0,05$) e altamente significativas para ingá-de-macaco e mulungu ($P < 0,01$), conforme pode ser observado na Figura 1-b, Figura 1-d e Figura 1-f. Tal fato foi atribuído as melhores condições químicas do solo argissolo comparado ao latossolo, já que era originário de uma área sob sistema agroflorestral. Já o latossolo foi procedente de uma área de pastagem degradada, onde muitas vezes é constatada uma perda das propriedades químicas, físicas e biológicas destes solos antes ocupados com gramíneas.

A velocidade de crescimento das leguminosas arbóreas pesquisadas também foi favorecida no solo argissolo comparado ao latossolo. Assim, para o ingá-barata, ingá-de-macaco e mulungu, as taxas mensais de incremento no comprimento do caule em solo argissolo foram estimadas respectivamente em 4,7, 5,3 e 17,7 cm mês⁻¹. Para o solo latossolo as estimativas para todas as espécies foram menores e, obedecendo à mesma seqüência resultou em incrementos de 3,9, 3,6 e 13,9 cm mês⁻¹, respectivamente.

Os dados obtidos para a partição de biomassa seca para as três leguminosas arbóreas pesquisadas em resposta a forma de suprimento de nitrogênio estão apresentados na Tabela 1. Como podem ser verificados, os diferentes tratamentos aplicados para comparar a inoculação com rizóbios em mudas de ingá-barata afetaram todas as suas variáveis de biomassa com diferenças altamente significativas (P<0,01) nas respostas de desenvolvimento de folhas, caule, raízes e biomassa seca total.

Tabela 1. Efeito da inoculação com rizóbios na partição de biomassa de mudas de ingá-barata (*Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*), ingá-de-macaco (*Inga nobilis*) e mulungu (*Erythrina fusca*), respectivamente aos 165, 151 e 93 dias de enviveiramento.

Formas de suprimento de N	Biomassa seca (g)			
	Folha	Caule	Raízes	Total
<i>Inga thibaudiana</i> var. <i>thibaudiana</i>				
Testemunha	1,86 b	0,73 b	0,55 b	3,17 b
N mineral	2,71 ab	1,34 a	1,09 a	5,14 a
Inoculação	3,44 a	1,08 ab	0,69 b	5,22 a
Teste F	5,92**	7,58**	6,85**	5,43**
<i>Inga nobilis</i>				
Testemunha	2,39 a	1,69 ab	1,88 ab	5,83 ab
N mineral	2,97 a	2,05 a	2,21 a	7,23 a
Inoculação	2,20 a	1,36 b	1,50 b	5,10 b
Teste F	2,88 ^{ns}	7,95**	6,85**	6,22**
<i>Erythrina fusca</i>				
Testemunha	1,01 a	2,24 a	1,47 a	4,72 a
N mineral	0,94 a	3,13 a	1,18 a	5,25 a
Inoculação	0,59 a	2,28 a	1,17 a	4,03 a
Teste F	2,43 ^{ns}	2,48 ^{ns}	3,30 ^{ns}	1,78 ^{ns}

Foi observado que o tratamento de inoculação com rizóbios beneficiou principalmente o desenvolvimento foliar do ingá-barata, superando a biomassa de folhas no tratamento controle e não diferindo das plantas que receberam seu suprimento de N na forma de uréia. A biomassa de folhas formadas em plantas inoculadas foi 45,9 % maior que plantas do tratamento testemunha e 21,2 % maior que plantas que receberam N-mineral. Para o desenvolvimento do caule, as plantas supridas com N mineral apresentaram as maiores médias de biomassa seca, superando significativamente as plantas do tratamento controle e não diferindo das plantas inoculadas. Entretanto, o suprimento de N-mineral favoreceu significativamente o desenvolvimento radicular das plantas comparado aos tratamentos que receberam inoculante e o tratamento controle, evidenciando que a pronta disponibilidade de N fornecida pelo adubo mineral nitrogenado tem efeito direto no desenvolvimento radicular do ingá-barata. Essa pronta resposta ao nitrogênio solúvel já foi verificada em inúmeras pesquisas especialmente com cultivos anuais como a soja, conforme verificado no trabalho de Menosso *et al.* (2001), especialmente em cultivares tolerantes ao alumínio tóxico no solo. A comparação das formas de suprimento de N na biomassa total das mudas evidencia o potencial da inoculação com rizóbios sobre esta espécie, como uma forma biológica alternativa de suprir nitrogênio em substituição ao uso de fertilizantes nitrogenados. Tanto a inoculação com rizóbios como a adubação das mudas com uréia não se diferenciaram em resposta e favoreceram significativamente o desenvolvimento total do ingá-barata comparado a plantas não inoculadas e não adubadas com N ($P < 0,01$).

As diferentes formas de suprimento de N não afetaram a biomassa foliar formada em ingá-de-macaco (Tabela 1), entretanto o desenvolvimento do caule, das raízes e a biomassa total seca foram significativamente afetados pelos tratamentos aplicados ($P < 0,01$). Para estas variáveis observou-se uma alta resposta das mudas de ingá-de-macaco ao suprimento de nitrogênio na forma de N-mineral e a adição de uréia favoreceu significativamente o

desenvolvimento da planta em caule, raízes e biomassa seca total comparada a plantas inoculadas com rizóbios, não se diferenciando de plantas do tratamento testemunha. É possível que nas condições testadas o coquetel de estirpes fornecidas para a planta não tenha resultado em completa efetividade para a simbiose, e que esta tenha encontrado no solo os simbiontes compatíveis já que as plantas não inoculadas não diferiram das que receberam N mineral nestes componentes da partição de sua biomassa.

Além de apresentar um crescimento muito rápido sob enviveiramento, os resultados experimentais demonstraram que o mulungu não teve o seu desenvolvimento, representado pela sua distribuição de componentes da biomassa, influenciados pelas diferentes formas de suprimento de nitrogênio em níveis significativos (Tabela 2). Dentre as leguminosas nodulíferas, dois padrões são tipicamente identificados quanto à habilidade da espécie em se permitir nodular e fixar eficientemente N₂ por mais de um tipo de simbiote: as espécies “promíscuas” e as espécies “específicas”. As espécies consideradas promíscuas são capazes de desenvolver nódulos com várias espécies de rizóbios e formar simbiose eficaz. Isso tem sido identificado, por exemplo, para o feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris*), conforme os resultados obtidos por Aguilar *et al.* (2006). Filogeneticamente ambas as espécies, o feijoeiro-comum e o mulungu pertencem à tribo Phaseoleae, o que sugere que o mulungu também tenha esse comportamento promíscuo, nodulando eficientemente em muitos solos com a população de rizóbios natural. Friori *et al.* (1998), ao relacionar gêneros de leguminosas arbóreas com comportamento promíscuo, incluiu espécies de *Erythrina*, mas também *Acacia*, *Enterolobium* e *Prosopis*. Por outro lado, o grupo de leguminosas de padrão de nodulação específico, apresenta em decorrência alta especificidade em relação à espécie simbiote, nodulando algumas vezes somente na presença de seus rizóbios compatíveis (Hungria *et al.*, 1994).

Tabela 2. Efeito do tipo de solo na partição de biomassa de mudas de ingá-barata (*Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*), ingá-de-macaco (*Inga nobilis*) e mulungu (*Erythrina fusca*), respectivamente aos 165, 151 e 93 dias de enviveiramento.

Solos	Biomassa seca (g)			
	Folha	Caule	Raízes	Total
<i>Inga thibaudiana</i> var. <i>thibaudiana</i>				
Argissolo	3,01 a	1,25 a	0,79 a	5,05 a
Latossolo	2,36 a	0,85 b	0,76 a	3,97 a
Teste F	3,08 ^{ns}	9,98**	0,45 ^{ns}	3,51 ^{ns}
<i>Inga nobilis</i>				
Argissolo	2,82 a	1,93 a	2,23 a	6,98 a
Latossolo	2,22 b	1,48 b	1,50 b	5,10 b
Teste F	4,94*	10,32**	21,97**	13,81**
<i>Erythrina fusca</i>				
Argissolo	1,13 a	3,52 a	1,66 a	6,30 a
Latossolo	0,57 b	1,58 b	0,88 b	3,04 b
Teste F	11,18**	27,75**	50,72**	38,17**

Há muito tempo se conhece que a subfamília Mimosoideae forma um grupo fechado de inoculação cruzada, ou seja, muitos de seus representantes só nodulam com rizóbios compatíveis, o que inclui as espécies do gênero *Inga*, que se classificam na tribo Ingeae (Campelo, 1976; Grossman *et al.*, 2005). Dessa maneira é possível que as respostas à inoculação com rizóbios evidenciadas nestes experimentos concordem com essa teoria de especificidade/promiscuidade já que as respostas foram bem mais acentuadas em nas leguminosas arbóreas do gênero *Inga*, classificadas como específicas. Nesta interação simbiótica, não há um comportamento homogêneo quanto à compatibilidade com rizóbios, havendo entre os hospedeiros o grupo promíscuo, cuja nodulação é induzida por um grande grupo de estirpes de rizóbios tropicais e o grupo específico, que requer estirpes de rizóbios específicas para nodular (Bala *et al.*, 2003). No entanto, espécies com especificidade em relação aos rizóbios têm maiores respostas à inoculação de estirpes selecionadas que espécies promíscuas (Souza, 2007).

Os solos avaliados também influenciaram o desenvolvimento da planta com níveis de respostas variáveis, conforme pode ser verificado na Tabela 2. Para a espécie ingá-barata não houve diferenças significativas entre os solos para o desenvolvimento foliar, das raízes e na matéria seca total das plantas, sendo identificadas diferenças somente para o desenvolvimento do caule que foi superior no solo argissolo comparado ao latossolo ($P < 0,01$). Essas evidências de adaptação em desenvolvimento aos dois solos identificadas no ingá-barata sugerem um melhor aproveitamento da espécie em solos de terra firme.

Por outro lado para o ingá-de-macaco e o mulungu, todos os resultados de partição de biomassa foram significativamente maiores em solo argissolo comparado ao latossolo, refletindo as diferenças já discutidas entre estes dois solos. Nota-se que para ingá-de-macaco as diferenças de desenvolvimento entre solos foram bem menos evidentes que para mulungu onde as plantas crescidas em argissolo apresentaram o dobro de biomassa de folhas, raízes, caule e biomassa total seca do que em solo latossolo, sugerindo que neste solo houve condições que favoreceram o seu estabelecimento. Um dos fatores que favorecem a formação e desenvolvimento de nódulos em solo argissolo certamente é atribuído às suas melhores propriedades físicas, ou seja, a existência de uma textura mais arenosa também implica em maior porosidade e menor densidade, o que no latossolo é menos característico devido a uma textura argilosa predominante.

Na Tabela 3, são apresentadas informações sobre indicadores da nodulação e da absorção de N para as três leguminosas arbóreas pesquisadas. Foi verificado que para ingá-barata, as diferentes formas de suprimento de N não afetaram o número de nódulos e as taxas de N-foliar da planta, entretanto, o desenvolvimento dos nódulos avaliado pela biomassa dos nódulos secos e o nitrogênio total acumulado na parte aérea da planta variou entre os tratamentos aplicados. Para esta espécie a prática da inoculação favoreceu o incremento da biomassa de nódulos secos que superou duas vezes mais a das plantas noduladas por rizóbios

nativos representados no tratamento testemunha e não diferiu da biomassa de nódulos de plantas que receberam N-mineral ($P < 0,01$). Esse maior desenvolvimento nodular também refletiu em maior acúmulo de nitrogênio acumulado nas folhas das mudas de ingá-barata. As mudas inoculadas apresentaram 42,7 % a mais de nitrogênio nas folhas que as não inoculadas e não adubadas com N-mineral. Adicionalmente, a absorção de nitrogênio pelas plantas inoculadas também não diferiu significativamente das plantas que receberam N-mineral ($P < 0,05$), sugerindo que para esta espécie a tecnologia da inoculação pode prover o N para a planta por via biológica como uma alternativa ao suprimento de N com fertilizantes nitrogenados.

Tabela 3. Efeito da inoculação com rizóbios na nodulação e absorção de nitrogênio em mudas de ingá-barata (*Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*), ingá-de-macaco (*Inga nobilis*) e mulungu (*Erythrina fusca*), respectivamente aos 165, 151 e 93 dias de enviveiramento.

Formas de suprimento de N	Número de nódulos	Biomassa seca dos nódulos (mg)	N-foliar (%)	N-total (mg planta ⁻¹)
<i>Inga thibaudiana</i> var. <i>thibaudiana</i>				
Testemunha	72 a	62,23 b	2,61 a	67,50 b
N mineral	85 a	120,00 ab	2,39 a	102,39 ab
Inoculação	69 a	126,67 a	2,67 a	117,80 a
Teste F	1,62 ^{ns}	6,12**	2,32 ^{ns}	4,71*
<i>Inga nobilis</i>				
Testemunha	23 ab	94,55 a	2,11 a	60,78 a
N mineral	12 b	25,00 b	2,24 a	79,00 a
Inoculação	49 a	97,27 a	2,20 a	63,01 a
Teste F	8,94**	9,13**	2,10 ^{ns}	3,76 ^{ns}
<i>Erythrina fusca</i>				
Testemunha	23 a	83,64 a	2,82 ab	43,50 a
N mineral	11 a	49,55 a	2,61 b	31,90 a
Inoculação	16 a	75,91 a	3,89 a	34,96 a
Teste F	2,43 ^{ns}	1,42 ^{ns}	4,60*	0,63 ^{ns}

Para ingá-de-macaco, foi verificado que a prática de inoculação com rizóbios influenciou somente os parâmetros da nodulação, com pouca correspondência na concentração de N-foliar e N-total nas folhas das mudas (Tabela 3). A prática da inoculação favoreceu os processos de infecção radicular, avaliados pelo número de nódulos formados que

foi significativamente maior em plantas inoculadas comparado a plantas que receberam N-mineral. A ausência de diferenças entre as plantas inoculadas e as do tratamento controle, sugere a presença de rizóbios efetivos para ingá-de-macaco nos solos pesquisados, o que é reforçado pela ausência de diferenças na biomassa seca dos nódulos entre estes tratamentos. O desenvolvimento nodular foi significativamente menor em plantas que receberam N-mineral, o que, em outros trabalhos tem sido atribuído a um efeito inibidor da adubação nitrogenada. De fato, sabe-se que na presença de nitrogênio prontamente disponível no solo, alguns indicadores do estabelecimento e desenvolvimento dos nódulos são inibidos, como uma estratégia natural da planta para não desperdiçar recursos (Goi *et al.*, 1997).

Brito (1997) conduziu um ensaio avaliando a eficiência fixadora de N₂ de uma coleção com 30 estirpes de *Bradyrhizobium* spp., isoladas de matrizes de ingá-cipó, ocorrentes nos solos latossolo amarelo, argissolo vermelho amarelo e gley pouco húmico. Nesse estudo destacaram-se as estirpes 529-B1B, 529-A4A e 529-D5A, todas relacionadas com médias superiores aos tratamentos controle e com uréia, em relação aos parâmetros de diâmetro do colo, N-total acumulado, biomassa total, número de nódulos e massa nodular. De acordo com Alfaia e Souza (2002), a inoculação de bactérias do grupo dos rizóbios em ingá-cipó pode proporcionar maior conteúdo em nitrogênio total na biomassa aérea da planta e na concentração de N foliar, além de melhor a absorção de outros macro nutrientes, como P, K, Ca, Mg e S.

As diferentes formas de suprimento de N não influenciaram o número de nódulos e a biomassa dos nódulos formados em mulungu, bem como o N-total nas folhas das mudas, entretanto favoreceu significativamente as taxas de N-foliar (Tabela 3). Para esta espécie, já discutida como de comportamento promíscuo, o número de nódulos e biomassa nodular desenvolvidas nas mudas foi em média maior no tratamento testemunha evidenciando a presença de diferentes grupos de rizóbios compatíveis com o mulungu nos solos pesquisados. Entretanto a

formação e desenvolvimento de nódulos nem sempre está associada à eficiência fixadora de N₂ e a inoculação das plantas com o coquetel de estirpes homólogas resultou na maior taxa de nitrogênio foliar entre as espécies pesquisadas, alcançando teores de 3,89 %, e esta concentração de N foi significativamente maior que em plantas que receberam N-mineral (P<0,05), não diferindo, entretanto, das plantas do tratamento controle.

Os solos de terra firme pesquisados também influenciaram significativamente a formação e desenvolvimento de nódulos e as concentrações de N-foliar e N-total das leguminosas arbóreas pesquisadas (Tabela 4). Para o ingá-barata, foram verificadas diferenças altamente significativas no número, biomassa dos nódulos secos e taxas de N-foliar no solo argissolo comparado ao latossolo (P<0,01). Estas diferenças também foram significativas e vantajosas do argissolo sobre o latossolo para a concentração de N na parte aérea da planta (P<0,05).

Tabela 4. Efeito do tipo de solo na nodulação e absorção de nitrogênio em mudas de ingá-barata (*Inga thibaudiana* var. *thibaudiana*), ingá-de-macaco (*Inga nobilis*) e mulungu (*Erythrina fusca*), respectivamente aos 165, 151 e 93 dias de enviveiramento.

Solos	Número de nódulos	Biomassa seca dos nódulos (mg)	N-foliar (%)	N-total (mg planta ⁻¹)
<i>Inga thibaudiana</i> var. <i>thibaudiana</i>				
Argissolo	124 a	119,63 a	2,82 a	113,46 a
Latossolo	28 b	86,30 b	2,30 b	78,33 b
Teste F	72,59**	7,89**	18,26**	6,57*
<i>Inga nobilis</i>				
Argissolo	45 a	111,21 a	2,23 a	76,15 a
Latossolo	12 b	33,33 b	2,14 a	59,04 b
Teste F	21,28**	23,09**	1,94 ^{ns}	8,36**
<i>Erythrina fusca</i>				
Argissolo	30 a	115,15 a	2,67 b	41,64 a
Latossolo	4 b	24,24 b	3,53 a	31,93 a
Teste F	145,60**	65,08**	6,14*	1,23 ^{ns}

Para o ingá-de-macaco as diferenças entre solos afetaram o número de nódulos e seu desenvolvimento e também as taxas de N-total acumulado nas folhas, que foram melhores em Argissolo comparado ao Latossolo, mas não interferiram na porcentagem de N-foliar que não

variou entre os diferentes solos testados. Considerou-se, entretanto os valores de N-foliar em ingá-de-macaco como baixos (média de 2,18%), sugerindo que há ainda um melhor incremento a ser obtido nas taxas de fixação de nitrogênio desta espécie.

Por fim, para o mulungu foi verificado que as plantas desenvolvidas em solo argissolo apresentaram diferenças altamente significativas para o número e biomassa dos nódulos secos, comparado ao latossolo ($P < 0,01$), mas não afetaram o N-total acumulado nas folhas nestes dois diferentes solos. Contrariando uma tendência observada para todas as espécies quando foram feitas comparações entre os solos, onde sempre havia alguma vantagem para o solo argissolo sobre o latossolo, o mulungu teve a maior taxa de N-foliar verificada no latossolo, alcançando uma média de 3,53 % que superou significativamente a concentração de N nas folhas de plantas desenvolvidas em solo argissolo, evidenciando que esta espécie também está adaptada para cultivos em latossolo e que possivelmente incrementou a absorção de N por via biológica neste solo pela prática da inoculação das mudas. Vários trabalhos tem relatado respostas favoráveis a práticas de inoculação para leguminosas arbóreas, como o de Galiana *et al.*, (1998), que identificou um aumento da nodulação de *Acacia mangium* quando inoculadas com rizóbios, relacionando esta prática a efeitos positivos no crescimento da árvore 39 meses após o plantio definitivo.

Deve-se considerar que na pesquisa aqui realizada não se trabalhou com rizóbios selecionados e a inoculação foi praticada com combinações de estirpes homólogas e compatíveis com as leguminosas arbóreas pesquisadas. Diversos experimentos têm apresentado respostas favoráveis à inoculação de estirpes, demonstrado que a produção de mudas de leguminosas arbóreas inoculadas com rizóbios selecionados resulta no rápido estabelecimento após o plantio, maior sobrevivência e boa adaptação após o cultivo, justificando a adoção dessa tecnologia de baixo custo e necessária para a auto-suficiência das plantas.

A inoculação com estirpes selecionadas apresenta vantagens, especialmente se comparadas com mudas não inoculadas ou adubadas com N mineral (Faria *et al.*, 1984). Quando o suprimento de nitrogênio é feito por fertilização mineral, registra-se um atraso considerável no estabelecimento e desenvolvimento dos nódulos, afetando o crescimento inicial das espécies após o plantio definitivo, além das perdas do adubo mineral por volatilização e/ou lixiviação (Silva e Faria, 1995; Ribeiro *et al.*, 2004).

Recentemente, Vieira e Souza (2011) avaliaram o efeito da inoculação com rizóbios em acapú do igapó (*Swartzia argentea* Benth.) e saboarana (*S. laevicarpa* Amshoff) e constataram que a inoculação com rizóbios na fase viveiro substituiu a necessidade de N mineral, proporcionou elevada nodulação e contribuiu para a formação de mudas com boa qualidade para o plantio definitivo. Em ensaio realizado em solos ácidos na Colômbia com as leguminosas arbustivas *Calliandra calothyrsus*, *Cratylia argentea*, *Desmodium velutinum*, *Indigofera constricta* e *Sesbania sesban*, Rondón *et al.* (1996) concluíram que, em casa de vegetação, *Calliandra calothyrsus* apresentou a taxa mais elevada de resposta à inoculação em comparação às demais espécies, a qual permitiu incrementar em cinco vezes a área foliar e mais de seis vezes a concentração de N total na biomassa das plantas, superando o efeito da adubação de 150 kg de N/ha como fertilizante mineral.

CONCLUSÕES

A inoculação com rizóbios influencia o crescimento, partição de biomassa, indicadores de nodulação e absorção de N com especificidade, havendo diferenças na resposta dependendo da espécie avaliada.

O caráter de especificidade ou de promiscuidade na leguminosa arbórea selecionada é determinante na resposta da espécie a inoculação.

Todas as espécies de leguminosas arbóreas pesquisadas adaptaram-se melhor ao solo argissolo comparado ao latossolo.

Demonstrou-se que as estirpes empregadas como inoculante em *Inga thibaudiana* var. *thibaudiana* formaram processos de fixação de N₂ mais eficientes que quando inoculadas em *Inga nobilis*. Para *Erythrina fusca*, considerada de comportamento não específico quanto a compatibilidade com rizóbios nativos a prática da inoculação favoreceu os processos simbióticos em solo latossolo comparado ao argissolo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILAR, O.M.; LÓPEZ, M.V.; DONATO, M.; MORÓN, B.; SORIA-DIAZ, M.E.; MATEOS, C.; GIL-SERRANO, A.; SOUSA, C & MEGIAS, M. 2006. Phylogeny and nodulation signal molecule of rhizobial populations able to nodulate common beans – other than the predominant species *Rhizobium etli* – presente in soils from the northwest of Argentina. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 38 (3): 573-586.
- ALEXANDER, M. 1980. Introducción a la microbiología del suelo. AGT Editor, AS. México, Capítulo 3, p. 47-62.
- ALFAIA, S.S.; SOUZA, L.A.G. 2002. Perspectivas do uso e manejo dos solos da Amazônia. In: ARAÚJO, Q.R. (Org.). *500 anos de uso do solo no Brasil*. Editora da UESC. Ilhéus. p.311-327.
- BALA, A.; MURPHY, P.J.; OSUNDE, A.O.; GILLER, K.E. 2003. Nodulation of tree legumes and the ecology of their native rhizobial populations in tropical soils. *Applied Soil Ecology*, 22(3): 211-223.
- BENINCASA, M.M.P. 1988. Análises de crescimento de plantas (Noções básicas). FUNEP, Jaboticabal, 42p.

- BRITO, V.M. de. 1997. *Formação, caracterização e eficiência fixadora de nitrogênio de uma coleção de rizóbio para Ingá cipó (Inga edulis Mart., Leguminosae)*. Monografia. Universidade Federal do Amazonas/Faculdade de Ciências Agrárias. Manaus. 57p.
- CAMPÊLO, A.B. 1976. Caracterização e especificidade de *Rhizobium* spp de leguminosas florestais. Tese de Mestrado da UFRRJ, Seropédica, 122p.
- CENTENO, A.J. *Curso de estatística aplicada à biologia*. Goiânia: UFG, Centro Editorial, 1990. 188p. (Coleção Didática, 3).
- CHAMBERS, J.Q.; HIGUCHI, N. & SCHIMEL, J.P. 1998. Ancient trees in Amazonia. *Nature, USA*, v. 391: 135-136.
- EIRA, P.A.; ALMEIDA, D.L.; SILVA, W.C. Fatores nutricionais limitantes do desenvolvimento de três leguminosas forrageiras de um solo podzólico vermelho amarelo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira Sér. Agron.*, v.7, p.185-192, 1972.
- EMBRAPA. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2ª ed. revista ampliada. Brasília, DF, 627pp. 2009.
- FARIA, S.M.; MOREIRA, V.C.G. & FRANCO, A.A. 1984. Seleção de estirpes de *Rhizobium* para espécies leguminosas florestais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 19 (s/Nº): 175-179.
- FRANCO, A.A. & SILVA, G.G. 1985. Potential of the *Rhizobium* symbiosis in tree legumes. In: Proceedings of the workshop on Rhizobium/legume inoculants. FREIRE, J.R.J. & FALCÃO, C.P.B. (Eds.) MIRACEN, Porto Alegre-RS, 111-129.
- FREIRE, J.R.J. 1992. Fixação do nitrogênio pela simbiose rizóbio/Leguminosas. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Coords.) *Microbiologia do Solo*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, Cap. 9, p. 121-140.
- FRIORI, L.; DODERA, R.; MALATES, D. & IRIGOYEN, I. 1998. An assessment of nitrogen fixation capability of leguminous trees in Uruguai. *Applied Soil Ecology*, v. 7 (3): 271-279.

- GALIANA, A.; GNAHOVA, G.M.; CHAUMONT, J.; LESUEUR, D.; PRIN, Y. & MALLET, B. 1998. Improvement of nitrogen fixation in *Acacia mangium* through inoculation with *rhizobium*. *Agroforestry Systems*, ICRAF, Nairobi, v. 40 (3): 297-307.
- GOI, S.R.; SPRENT, J.I.; JACOB-NETO, J. Effect of different sources of N₂ on the structure of *Mimosa caesalpinifolia* root nodules. *Soil Biology & Biochemistry*, v.29, n.5/6, p.983-987, 1997.
- GROSSMAN, J.M.; SHEAFFER, C.; WYSE, D. & GRAHAM, P.H. 2005. Characterization of slow-growing root nodule bacteria from *Inga oerstediana* in organic coffee agroecosystems in Chiapas, Mexico. *Applied Soil Ecology*, v. 29 (3): 236-251.
- HALLIDAY, J. 1984. Integrated approach to nitrogen fixing tree germoplasm development. *Pesquisas Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 19 (s/nº): 91-117.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.A.R.; PERES, J.R.R. & MENDES, I.C. 1994. Identificação de parâmetros relacionados com a eficiência e capacidade competitiva de rizóbio. In: HUNGRIA, M. & ARAUJO, R.S. (Eds.) *Manual de Métodos empregados em estudos de Microbiologia Agrícola*. EMBRAPA-CNPAP, Documentos 46, Brasília, 285-316.
- HUNGRIA, M. & STACEY, G. 1997. Molecular signals exchanged between host plants and Rhizobia: basic aspects and potential application in agriculture. *Soil Biol. Biochem.*, UK, v. 29 (5/6): 819-830.
- MENOSSO, O.G.; COSTA, J.A.; ANGUINONI, I. & BOHNEN, H. 2001. Root growth and production of organic acids by soybean cultivars with different tolerance to aluminum. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 36 (11): 1339-1345.
- MOREIRA, F.M.S. Bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam Leguminosae. In: *Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros*. MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. & BRUSSAARD, L. (Eds.), Lavras, UFLA, 2008, p.621-680.

- RIBEIRO, J.R.A.; RODRIGUES, L.C.B.; TORRES, B.H.P.; OLIVEIRA, J.P.; FIGUEIREDO, M.V.B.; BURITY, H.A. 2004. *Eficiência simbiótica de isolados de rizóbio de áreas degradadas e nativas da região de caatinga*. FERTBIO 2004, Lages-SC, CD-ROM, SBCS, 3p.
- RIBEIRO JÚNIOR., W.Q.; LOPES, E.S. & FRANCO, A.A. 1987. Eficiência de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. para quatro leguminosas arbóreas e competitividade das estirpes de *Albizia lebbek* em latossolo ácido. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, SBCS, v. 11 (3): 275-282.
- RÓNDON, M.A.; ASAKAWA, N.M.; OCAMPO, G.I. ; THOMAS, R. 1996. *Inoculación de leguminosas arbustivas com rhizobio en suelos ácidos de ladera del sur de Colômbia*. REUNIÓN LATINOAMERICANA DE RHIZOBIOLOGIA, 18., Santa Cruz de la Sierra, ALAR. PIJNENB ORG, J.; RUÍZ, D. ; SILA, W. (Eds.) *Memorias*, Bolívia, p. 111-113.
- RUSSO, R.O. 1983. Fijacion de nitrogeno em sistemas agroflorestais via arboles de uso multiplo. CATIE, Turrialba, Costa Rica, 11p.
- SILVA, M.G.; FARIA, S.M. 1995. *Estirpes de alta eficiência na fixação de nitrogênio por leguminosas de múltiplo uso*. CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 25., Viçosa, SBCS/UFV, Resumos Expandidos, 1: 525-527.
- SOUZA, L.A.G.; BEZERRA NETO, E.; SANTOS, C.E.R.S.; STAMFORD, N.P. 2007. Desenvolvimento e nodulação natural de leguminosas arbóreas em solos de Pernambuco. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, 42(2): 207-217.
- SOUZA, L.A.G. 2010. Levantamento da habilidade nodulífera e fixação simbiótica de N₂ nas Fabaceae da região amazônica. *Enciclopédia Biosfera*, Goiânia, v. 6 (10): 1-11.
- SOUZA, L.A.G. 2012. Biodiversidade e importância madeireira das Fabaceae da Amazônia Brasileira. In: VIANEZ, B.F.; VAREJÃO, M.J.C.; ABREU, R.L.S. & SALES-

CAMPOS, C. Potencial tecnológico de madeiras e resíduos florestais da Amazônia Central, Editora do INPA, Manaus, p. 11-35.

VIEIRA, E.P. & SOUZA, L.A.G. 2011. Inoculação com rizóbios em mudas de acapu do igapó e saboarana. Revista de Ciências Agrárias, UFRA, Belém, v. 54, n.1, p. 54-62.

VINCENT, J.M. 1970. *A manual for the practical study of root-nodules bacteria*. London, Burgess. 164p.