



UFRRJ
INSTITUTO DE FLORESTAS

MONOGRAFIA

Obtenção de estirpes de rizóbio de alta eficiência na fixação biológica de N₂ para espécies leguminosas com potencial de uso na recuperação de áreas degradadas.

Elisabeth da Silva Uchôas

SEROPÉDICA - 2007



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTAS
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL**

**SELEÇÃO DE ESTIRPES DE RIZÓBIO PARA ESPÉCIES LEGUMINOSAS COM POTENCIAL
DE USO NA RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS**

ELISABETH DA SILVA UCHÔAS

Sob a Orientação do pesquisador
Sérgio Miana de Faria

Monografia submetida como
requisito parcial para obtenção do
título de Engenheiro Florestal no
Curso de Engenharia Florestal pela
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro

Seropédica, RJ
Julho de 2007

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTAS**

ELISABETH DA SILVA UCHÔAS

Monografia submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Engenheiro Florestal, no Curso de Engenharia Florestal, área de Concentração em Recuperação de Áreas degradadas

APROVADA EM 23/07/2007

Sérgio Miana de Faria, PhD. Embrapa Agrobiologia
(Orientador)

Rosângela Stralotto, Dra. Embrapa Agrobiologia

Ricardo Luis Louro Berbara, PhD. UFRRJ- Depto Solos

FICHA CATALOGRÁFICA

UCHÔAS, Elisabeth da Silva.

Obtenção de estirpes de rizóbio de alta eficiência na fixação biológica de N₂ para espécies leguminosas com potencial de uso na recuperação de áreas degradadas. 2007. Monografia, Instituto de Florestas, Departamento de Ciências Florestais, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica/RJ, 2007.

Orientador: Sérgio Miana de Faria

Monografia (Bacharelado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ – Instituto de Florestas - 2007.

Referências Bibliográficas: 32 p.

1. RESUMO

UCHÔAS, Elisabeth da Silva. Obtenção de estirpes de rizóbio de alta eficiência na fixação biológica de N₂ para espécies leguminosas com potencial de uso na recuperação de áreas degradadas. 2007. Monografia, Instituto de Florestas, Departamento de Ciências Florestais, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

Este trabalho foi realizado nas instalações da Embrapa Agrobiologia, em Seropédica-RJ em regime controlado de casa de vegetação, visando selecionar estirpes de rizóbio de alta eficiência na fixação biológica de nitrogênio para espécies leguminosas com potencial de uso na recuperação de áreas degradadas. Os experimentos foram instalados no período de junho de 2005 à março de 2007. O estudo teve como objetivo avaliar a eficiência e a eficácia de estirpes de rizóbio potenciais na fixação biológica de nitrogênio, de 7 espécies florestais: *Mimosa quadrivalvis* var. *leptocarpa* (DC) Barn. (dormideira gigante), *Mimosa* sp. (dormideira comprida), *Mimosa* sp. (maricá peludo), *Mimosa setosa* Benth. (sansão preto), *Mimosa extensa* Benth. (arranha gato de malícia), *Piptadenia adiantoides* (Spreng.) J.F. Macbr. e *Mimosa* sp (malícia mineira). Os parâmetros avaliados foram: a produção de parte aérea e produção de nódulos. Os tratamentos com maiores valores de eficiência, foram selecionados e indicados como estirpes potenciais para a produção de inoculantes para as espécies em estudo. Esse trabalho também teve objetivo de dar continuidade à seleção de estirpes eficientes na fixação biológica de nitrogênio para espécies de interesse na recuperação de áreas degradadas da Embrapa Agrobiologia. Para todas as espécies foram encontradas bactérias de alta eficiência na FBN.

Palavras-chave: bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN), seleção de BFN para espécies florestais, RAD.

2. ABSTRACT

This work was carried out at the Embrapa Agrobiologia, in Seropédica- RJ, in controlled regimen in glasshouse, aiming to select strains with high efficiency for legumes species. The species have potential use in the recovery of degraded areas as confirmed. The experiments had been installed at Embrapa from June of 2005 to the march of 2007. The study had as objective to evaluate the efficiency and the effectiveness of potential lineages of rizóbio in the biological nitrogen fixation, in the stimulatón of the growth for 7 forest species: *Mimosa quadrivalvis* var. *leptocarpa* (DC) Barn. (dormideira gigante), *Mimosa* sp (dormideira comprida), *Mimosa* sp (maricá peludo), *Mimosa setosa* Benth. (sansão preto), *Mimosa extensa* Benth. (arranha gato de malícia), *Piptadenia adiantoides* (Spreng.) J.F. Macbr. e *Mimosa* sp (malícia mineira). The evaluated parameters had been: the biomass production of aerial part and biomass production of nodules. The treatments with bigger values of efficiency, had been selected and indicated as potential lineages for the production of inoculantes for the species in study. This work also had objective to give continuity to the selection of efficient lineages in the biological nitrogen fixation for species of interest in the recovery of areas degraded of the Embrapa Agrobiologia.

Word-key: fixing nitrogen bacteria, selection of BFN for forest species, RAD.

3. AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais José Geraldo Uchôas e Tereza Rosa da Silva Uchôas, pelo carinho e compreensão e que mesmo a distância me deram sempre apoio e carinho.

Aos meus amigos da UFRRJ, Marília Alves Grugiki, Ranusa Cofler, Marinei Augusto Simões, Antônio Sérgio Cardoso Filho, Deise Amaral e tantos outros, pelos bons momentos compartilhados pelos momentos de alegria, desabafos, compreensão, companheirismo, torcida, pelos risos e pela experiência de vida compartilhada nesses cinco anos de convivência. Aos amigos Maria da Penha Gonçalves e Eliézer Ferreira Sobrinho, pela amizade, companheirismo, incentivo, paciência e claro, pelas constantes acolhidas em sua casa.

E ao meu amigo namorado e companheiro, Juvenal Gomes Martins, pelo amor, carinho e atenção dedicados a cada dia;

Aos laboratoristas Adriana do Nascimento, Telmo Félix da Silva, Carlos Fernando do Nascimento e Jorge Nascimento da Silva, pela ajuda na montagem e execução dos trabalhos. Aos funcionários da casa de vegetação da Embrapa Agrobiologia pela força e orientação na montagem e condução do experimento em vasos de Leonard, em especial ao Cláudio Pereira Ferreira (Claudinho), Luiz Carlos Dias (Luizinho) e Sérgio Pereira de Souza Filho (Serginho) pela paciência e o bom humor contagiante mesmo nas situações mais difíceis;

Ao Roriz Luciano Machado, pela ajuda nas análises estatísticas e ajuda inicial;

Aos amigos Fernando Soares Gonçalves e Keila Caroline Dalle Laste, pela ajuda nessa etapa final;

Ao pesquisador Sérgio Miana de Faria, pela orientação, correções e a paciência!

Aos participantes desta banca, pelo tempo e atenção dedicados;

Ao CNPq e Cia Vale do Rio Doce pelo auxílio financeiro e material.

4. SUMÁRIO

1. RESUMO	iv
2. ABSTRACT	vi
3. AGRADECIMENTOS	vii
4. SUMÁRIO	viii
5. INTRODUÇÃO	1
6. REVISÃO DE LITERATURA	3
7. MATERIAL E MÉTODOS	6
7.1. Experimentos em condições estéreis:	6
7.2. Experimentos em condições não estéreis:	7
8. RESULTADOS	7
8.1. Experimentos em condições estéreis utilizando vasos de <i>Leonard</i> :	7
8.1.1. <i>Mimosa setosa</i> - sansão preto	7
8.1.2. <i>Mimosa quadrivalvis</i> – dormideira gigante	8
8.1.3. <i>Mimosa sp</i> - dormideira comprida	9
8.1.4. <i>Mimosa sp</i> - maricá peludo	10
8.1.5. <i>Mimosa extensa</i> Benth. – arranha gato de malícia	11
8.1.6. <i>Piptadenia adiantoides</i> – arranha gato vermelho	12
8.1.7. <i>Mimosa sp.</i> - malícia mineira	14
8.2. Experimentos em condições não estéreis utilizando vasos de solo:	15
8.2.1. <i>Mimosa quadrivalvis</i> (<u>dormideira gigante</u>)	15
8.2.2. <i>Mimosa sp</i> (<u>dormideira comprida</u>)	16
8.2.3. <i>Mimosa setosa</i> (<u>sansão preto</u>)	16
9. DISCUSSÃO	19
10. CONCLUSÕES	20
11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20

5. INTRODUÇÃO

As pesquisas para reabilitação ambiental de áreas alteradas por ações antrópicas ou naturais, buscam facilitar os processos da sucessão natural, objetivando a sustentabilidade ambiental do ecossistema que estará sendo criado ou recriado. A recuperação de áreas degradadas visa fornecer as condições para que o ecossistema possa restabelecer suas funções iniciais mínimas e assim restaurar um novo equilíbrio do solo e sua paisagem (DIAS & GRIFFITH, 1988). No processo de recuperação de áreas degradadas, a revegetação é uma parte essencial, e neste sentido o uso de espécies leguminosas que estabelece associações simbióticas com bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos pode significar em economia de recursos, tempo na indução dos processos de sucessão vegetal.

O uso de recursos naturais destaca-se dos demais métodos pela melhor relação custo benefício ambiental e tem despertado grande interesse em diversos estudos (FRANCO et al., 1995; FARIA et al., 2002; MACHADO et al., 2003).

Em ambientes degradados, onde a matéria orgânica fica escassa, o nitrogênio é um elemento chave e essencial, principalmente nos estádios iniciais do crescimento vegetal. Por sua importância no crescimento vegetal torna-se o nutriente mais limitante no estabelecimento inicial das plantas em ambientes alterados.

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) ocorre através de uma simbiose mutualística, onde as bactérias, presente nos nódulos das raízes, fixam o nitrogênio atmosférico e transferem para a planta o N em forma assimilável (NH_3). Esse processo contribui de forma efetiva, para o crescimento das plantas que irão depositar serrapilheira e aumentar assim os teores de matéria orgânica do solo (FRANCO et al., 1995). Porém, o processo de simbiose entre bactéria e planta pode ser muito específico, o que precisa ser avaliado para a indicação de bactérias para a produção de inoculantes. Por existirem diferenças entre estirpes de rizóbio em sua efetividade na FBN em relação as plantas, a seleção de estirpes de rizóbio é uma etapa essencial para indicação de inoculantes efetivos na FBN.

Muitas espécies de leguminosas que vêm sendo amplamente utilizadas em trabalhos de recuperação de áreas degradadas apresentam as características desejadas como: sistema radicular profuso, crescimento rápido, maior tolerância à acidez do solo e variações abruptas de temperatura, além de contribuírem com deposição de material de baixa relação C/N. As espécies estudadas possuem diferentes portes desde herbáceo até arbustivo e sistema radicular fasciculado bem

desenvolvido. Estas espécies têm potencial de uso na recuperação de taludes de mineração e na estabilização de áreas instáveis ou muito declivosas. Todas as espécies de leguminosas foram selecionadas em áreas próximas as regiões de mineração de Itabira/MG, na reserva natural da Cia Vale do Rio Doce/Linhares/ES, como espécies com potencial uso na recuperação de áreas degradadas pela mineração.

A pesquisa visa otimizar o processo de FBN, permitindo às plantas hospedeiras uma independência à adubações nitrogenadas (FARIA et al., 2003), tornando o processo de introdução nas áreas menos oneroso. O uso dessa tecnologia tem sido aplicado com resultados positivos na recuperação de áreas onde a camada superficial foi perdida, como áreas de encostas, cortes de estradas ou áreas de mineração (FARIA et al., 2002).

Esse trabalho visou selecionar, utilizando a base de recomendação II, estirpes de rizóbio eficientes na FBN em simbiose com *Mimosa quadrivalvis* var. *leptocarpa* (DC) Barn. (dormideira gigante), *Mimosa* sp (dormideira comprida), *Mimosa* sp (maricá peludo), *Mimosa setosa* (sansão preto), *Mimosa extensa* Benth. (arranha gato de malícia), *Piptadenia adiantoides* (Spreng.) J.F. Macbr. e *Mimosa* sp. (malícia mineira). E na base de recomendação III foram testadas estirpes para as espécies *Mimosa* sp. (dormideira comprida), *Mimosa quadrivalvis* var. *leptocarpa* (DC) Barn. (dormideira gigante) e *Mimosa setosa* (sansão preto). Essa pesquisa vem sendo desenvolvida pela Embrapa Agrobiologia em cooperação com Cia Vale do Rio Doce. Atualmente com esse trabalho, tornou-se possível a recomendação de bactérias fixadoras de nitrogênio de alta eficiência para 82 espécies florestais (FARIA & UCHÔAS, 2007). Estes e outros resultados estão disponíveis no site www.cnpab.embrapa.br.

6. REVISÃO DE LITERATURA

O processo de recuperação de áreas degradadas pode ser definida por um conjunto de ações idealizadas e executadas por especialistas das mais diferentes áreas do conhecimento, para proporcionar o equilíbrio e a sustentabilidade existente anteriormente no sistema natural (GRIFFITH & DIAS, 1988). A Embrapa Agrobiologia aplica uma tecnologia que consiste em utilizar plantas associadas às bactérias fixadoras de N_2 atmosférico e a fungos micorrízicos, que aumentam a capacidade de extração de nutrientes do solo, especialmente de fósforo. Isso faz com que essas plantas sejam capazes de crescer, por exemplo, em áreas que perderam a camada superficial do solo mais rica em matéria orgânica.

Entre os nutrientes das plantas superiores, o nitrogênio ocupa o primeiro lugar em quantidade presente por unidade de fitomassa (ARNOLD & VANDIEST, 1991). O nitrogênio apesar de não possuir função importante nos tecidos de estocagem, está envolvido principalmente em processos metabólicos do vegetal. É um constituinte essencial dos aminoácidos, proteínas, bases nitrogenadas, ácidos nucléicos e clorofila, entre outras moléculas, o que o torna, portanto, essencial à sobrevivência e crescimento dos organismos. Embora constitua quase 80% da atmosfera terrestre, o nitrogênio gasoso, N_2 , é quimicamente inerte a temperaturas comuns, e diferentemente de outros elementos que ocorrem na natureza, suas reservas minerais são relativamente raras. Apesar de termodinamicamente favorável, a reação de redução de nitrogênio atmosférico a amônia – fixação do nitrogênio – requer uma energia de ativação extremamente alta, não ocorrendo espontaneamente sem a presença de catalisadores adequados. Na natureza somente um pequeno número de microrganismos, denominados diazotróficos ou fixadores de nitrogênio, é capaz de reduzir nitrogênio atmosférico a amônia. A participação da FBN no ciclo biogeoquímico do nitrogênio é sobretudo importante na medida em que a atividade das bactérias diazotróficas representa cerca de 60% do nitrogênio anualmente fixado na Terra (KIM & REES, 1994).

As espécies de leguminosas florestais têm um importante papel na reabilitação dos ecossistemas, pois oferecem condições para que a sucessão natural possa atuar em áreas que anteriormente não apresentavam condições favoráveis para o desenvolvimento de plantas mais exigentes. As espécies leguminosas florestais propiciam mudanças microclimáticas, sombreamento e aumento da matéria orgânica no solo, oferecendo condições para que plântulas oriundas de outros locais possam germinar e sobreviver.

As espécies leguminosas se destacam das demais por sua grande importância econômica, o que está relacionado à sua ampla distribuição geográfica e à existência de simbioses entre essas plantas e microrganismos presentes no solo. As leguminosas estão representadas em todo o território brasileiro, tanto em diversidade como em número de indivíduos, com uma porcentagem significativa de espécies nodulíferas. Estima-se que a família Leguminosae possua cerca de 20000 espécies e cerca de 700 gêneros (LEWIS et al., 2003). As Mimosoideae têm cerca de 3000 espécies, em geral arbóreas. Os gêneros mais importantes são *Acácia*, *Mimosa* e *Inga* (e suas demais subfamílias). Nos últimos anos, vários gêneros de leguminosas tem sido estudadas no quanto a capacidade de fixar N₂ e como resultado, no Brasil e vários gêneros nodulíferos e não nodulíferos têm sido descobertos. A posição atual é de que cerca de 23% de todas as espécies no planeta já foram estudadas a esse respeito e destas 88% são nodulíferas (USDA, 2007). As leguminosas podem ser utilizadas no desenvolvimento de sistemas agroflorestais, recuperação de pastagens degradadas, sistemas agrossilvipastoris (VIEIRA et al., 2003; BALIEIRO et al., 2004), revegetação de taludes de exploração mineral, (FARIA et al., 2002; FRANCO et al., 1995) e recuperação de encostas degradadas (FARIA et al., 1998).

O uso de espécies de leguminosas apresenta múltiplos benefícios, como a cobertura rápida do solo e a proteção contra a erosão, além de ter um importante papel na ciclagem de nutrientes, principalmente do N₂ (RESENDE et al., 2001).

As espécies utilizadas neste estudo foram coletadas numa faixa de 50 km em torno das regiões de mineração, selecionadas como espécies pioneiras e agressivas e com potencial para a revegetação de taludes e áreas de rejeito.

Em áreas degradadas pela mineração, além da retirada da vegetação natural, também ocorre uma movimentação muito intensa do solo no local de abertura da lavra, gerando um volume de solo estéril capaz de contribuir para a degradação do meio ambiente. Estas áreas perturbadas irão apresentar baixíssimos teores de matéria orgânica, o que prejudica a estruturação do solo, torna a atividade biológica insuficiente e diminui a disponibilidade de água e de nutrientes às plantas, principalmente o nitrogênio e o fósforo (FRANCO et al. 1995).

Na recuperação de áreas degradadas, as leguminosas são uma alternativa utilizada para locais onde a vegetação foi retirada e onde conseqüentemente, ocorreu uma grande perda de nitrogênio, associada a processos de nitrificação (lixiviação e desnitrificação) (TAMM, 1982). A fixação biológica de nitrogênio (FBN), é o processo primário através do qual o nitrogênio, quimicamente

indisponível para a maioria dos organismos, se torna fisiológica e metabolicamente disponível, inicialmente sob a forma de amônia e, posteriormente, na ciclagem do nitrogênio, outros compostos nitrogenados, como nitritos, nitratos e óxido nítrico (FERGUSON, 1998). Através das simbioses de bactérias com as plantas indicadas, há a formação dos nódulos (que alojam as bactérias que captam o nitrogênio atmosférico e o torna disponível as plantas).

As leguminosas arbóreas podem apresentar especificidade hospedeira, resultante de um processo de reconhecimento entre a planta e a bactéria. Através da seleção de estirpes eficientes de rizóbio é possível produzir mudas de essências florestais bem noduladas, com crescimento mais rápido e resistentes às condições de campo. BARBERI et al. (1998), verificou a nodulação de 84% para espécies estudadas do gênero Mimosoideae e Papilionoideae, em leguminosas arbóreas cultivadas viveiros de Minas Gerais, comprovando a alta frequência de espécies nodulíferas nestes gêneros. FRANCO et al. (1996) também encontrou uma maior porcentagem de espécies noduladas para o gênero Mimosoideae. Estirpes de bactérias fixadoras de N₂ e espécies leguminosas podem variar de altamente específicas a altamente promíscuas, capazes de estabelecer simbiose entre poucos parceiros ou com vários parceiros (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). E entre as espécies nodulíferas há uma grande variação no potencial de fixação biológica do nitrogênio. Este processo pode ser afetado pelo genótipo e a idade da planta, além das populações de bactérias nativas do solo que podem ou não serem capazes de estabelecer simbioses mutualistas com o hospedeiro. A promiscuidade do hospedeiro pode ser um fator limitante a FBN, visto que algumas espécies nodulam com várias estirpes de rizóbio, porém não contribuem eficientemente na FBN, além de competir pelos mesmos sítios de infecção com a população nativa que é muito diversa e as vezes pouco eficiente. Torna-se necessário portanto, a seleção de estirpes de alta eficiência na FBN para as espécies de interesse, e a inoculação deve conter um número elevado de células, para que desse modo, possa dar à população introduzida uma vantagem competitiva (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Em experimentos em áreas de mineração, conseguiu-se vislumbrar o melhor desenvolvimento e o estabelecimento das espécies que fixam nitrogênio, quando se comparadas outras espécies que não fixam e que praticamente pararam o crescimento e não conseguiram se estabelecer (FRANCO et al., 1996).

Na Tabela 1 estão descritas outras características importantes, além da alta eficiência, que as estirpes de rizóbio devem apresentar, na maximização do processo de FBN.

Tabela 1. Características desejáveis das estirpes de rizóbio usadas em inoculantes comerciais (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

-
- Habilidade de formar nódulos e fixar n na espécie alvo.
 - Habilidade de fixar N₂ numa ampla faixa de genótipos de hospedeiros.
 - Habilidade de crescer bem em meio artificial no veículo inoculante e no solo.
 - Estabilidade genética.
 - Baixa mortalidade na semente.
 - Compatibilidade com agroquímicos.
 - Habilidade de competir na formação de nódulos com população de rizóbio já presente no solo (nativa).
 - Habilidade de colonizar a rizosfera do hospedeiro.
 - Habilidade de migrar de um sítio inicial de inoculação.
 - Habilidade de fixar N numa ampla faixa de condições ambientais.
 - Habilidade de formar nódulos e fixar N na presença de N combinado no solo.
 - Habilidade de tolerar estresses ambientais.
 - Habilidade de persistir no solo, sobretudo para leguminosas que se regeneram anualmente.
 - Habilidade de colonizar o solo na ausência do hospedeiro.
-

A obtenção e recomendação de estirpes de rizóbio para fabricação de inoculantes é realizada em diferentes níveis, gerando quatro bases de recomendação usadas para as leguminosas florestais. Para a base de recomendação I é realizado um teste de autenticação, em condições estéreis, testando se a bactéria purificada é realmente rizóbio. Para a base de recomendação II, as estirpes selecionadas na etapa anterior são testadas em vasos de Leonard sob condições também estéreis em casa de vegetação. A base de recomendação III é feita em vasos com solo não estéril, avaliando a competitividade das bactérias testadas com as estirpes nativas do solo. A etapa IV consiste no teste em condições de campo das estirpes selecionadas na etapa III. As estirpes que apresentaram melhores resultados são identificadas, caracterizadas e recomendadas para produção de inoculantes (FARIA, 2000).

7. MATERIAL E MÉTODOS

7.1. Experimentos em condições estéreis:

Os experimentos foram conduzidos em vasos de Leonard (VINCENT, 1970), em casa de vegetação, com duração média de 3 (três) meses. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com três repetições. As sementes são procedentes da região de Itabira/MG e Linhares/ES. As espécies testadas foram *Mimosa quadrivalvis* (dormideira gigante), *Mimosa* sp. (dormideira

comprida), *Mimosa* sp. (maricá peludo), *Mimosa setosa* Benth. (sansão preto), *Mimosa extensa* Benth. (arranha gato de malícia), *Piptadenia adiantoides* (arranha gato vermelho) e *Mimosa* sp. (malícia mineira). Os tratamentos foram constituídos de estirpes de bactérias pertencentes à coleção do laboratório de leguminosas florestais da Embrapa Agrobiologia. A Tabela 2 lista as estirpes utilizadas nos tratamentos, seu hospedeiro inicial e sua origem:

Tabela 2: Listagem das estirpes utilizadas nos experimentos que promoveram a formação de nódulos nas espécies testadas, os hospedeiros e sua região de origem.

Estirpes testadas que nodularam	Hospedeiro inicial	Local de coleta	Data de coleta
SMF 1168 - 3	<i>Mimosa camporum</i>	Paraibuna/SP	Abr/96
SMF 1429-3	<i>Mimosa camporum</i>	Porto Murtinho/MS	Mar-98
SMF 1444 - 2	<i>Mimosa</i> sp.	CNPAB/RJ	Jan-99
SMF 1444-1	<i>Mimosa</i>	Campo Grande/MS	Mar-98
SMF 1758-1	<i>Piptadenia cf adianthoides</i>	Mariana/MG	Ago/99
SMF 1758-2	<i>Piptadenia cf adianthoides</i>	Mariana/MG	Ago/100
SMF 1758-3	<i>Piptadenia cf adianthoides</i>	Mariana/MG	Ago/101
SMF 1758-4	<i>Piptadenia cf adianthoides</i>	Mariana/MG	Ago/102
SMF 1758-6	<i>Piptadenia cf adianthoides</i>	Mariana/MG	Ago/103
SMF 1758-7	<i>Piptadenia cf adianthoides</i>	Mariana/MG	Ago/103
SMF 1758-8	<i>Piptadenia cf adianthoides</i>	Mariana/MG	Ago/104
SMF 2248 - 4	<i>Mimosa</i> sp.	Bahia	Jan-07
SMF 2248-3	<i>Mimosa</i> sp.	Bahia	Jan-07
SMF 428-2	<i>Mimosa pellita</i>	CNPAB/RJ	Jan-07
SMF 428 -8	<i>Mimosa pellita</i>	CNPAB/RJ	Jan-07
SMF 456-1	<i>Mimosa</i> sp.	CNPAB/RJ	Ago/92
SMF 473-1	<i>Mimosa bimucromata</i>	CNPAB/RJ	set/92
SMF 553-2	<i>Piptadenia adianthoides</i>	CNPAB/RJ	Jan-93
SMF 553-3	<i>Piptadenia adianthoides</i>	CNPAB/RJ	Feb-93
SMF 553-4	<i>Piptadenia adianthoides</i>	CNPAB/RJ	Mar-93
SMF 553-12	<i>Piptadenia adianthoides</i>	CNPAB/RJ	Apr-93
SMF 553-5	<i>Piptadenia adianthoides</i>	CNPAB/RJ	May-93
SMF 553-6	<i>Piptadenia adianthoides</i>	CNPAB/RJ	Jun-93
SMF 553-9	<i>Piptadenia adianthoides</i>	CNPAB/RJ	Jul-93
SMF 555-1	<i>Piptadenia adianthoides</i>	CNPAB/RJ	Jan-93
SMF 555-3	<i>Piptadenia adianthoides</i>	CNPAB/RJ	Jan-93
SMF 555-4	<i>Piptadenia adianthoides</i>	CNPAB/RJ	Jan-93
SMF 555-5	<i>Piptadenia adianthoides</i>	CNPAB/RJ	Jan-93
SMF 555-6	<i>Piptadenia adianthoides</i>	CNPAB/RJ	Jan-93
SMF 555-7	<i>Piptadenia adianthoides</i>	CNPAB/RJ	Jan-93
SMF 555-8	<i>Piptadenia adianthoides</i>	CNPAB/RJ	Jan-93
SMF 555-9	<i>Piptadenia adianthoides</i>	CNPAB/RJ	Jan-93
SMF 555-10	<i>Piptadenia adianthoides</i>	CNPAB/RJ	Feb-93
SMF 555-11	<i>Piptadenia adianthoides</i>	CNPAB/RJ	Jan-93
SMF 696 -2	<i>Mimosa hostilis</i>	CNPAB/RJ	out/93
SMF B71 - 1	<i>Mimosa setosa</i>	Linhares/ES	Jun-07
SMF B71 - 2	<i>Mimosa setosa</i>	Linhares/ES	Jul-07

Continua...

Continuação Tabela 2:

SMF B71 - 4	<i>Mimosa setosa</i>	Linhares/ES	Aug-07
SMF B71 - 5	<i>Mimosa setosa</i>	Linhares/ES	Sep-07
SMF B71 - 6	<i>Mimosa setosa</i>	Linhares/ES	Oct-07
SMF B71 - 7	<i>Mimosa setosa</i>	Linhares/ES	Nov-07
SMF B71 - 8	<i>Mimosa setosa</i>	Linhares/ES	Dec-07
SMF B71 - 9	<i>Mimosa setosa</i>	Linhares/ES	Jan-08
SMF B71-10	<i>Mimosa setosa</i>	Linhares/ES	Feb-08
SMF B71-11	<i>Mimosa setosa</i>	Linhares/ES	Mar-08
SMF B71-12	<i>Mimosa setosa</i>	Linhares/ES	Apr-08
SMF B71-13	<i>Mimosa setosa</i>	Linhares/ES	May-08
SMF B71-14	<i>Mimosa setosa</i>	Linhares/ES	Jun-08
SMF B71-15	<i>Mimosa setosa</i>	Linhares/ES	Jul-08
SMF 1168 -1	<i>Mimosa scabrella</i>	Paraibuna/SP	Abr/96

Foram incluídos dois controles: controle com N mineral e um absoluto, não inoculado com bactérias e livre de N mineral.

As bactérias cresceram em meio semi-sólido 79, (FRED & WAKSMAN, 1928), durante três dias em sala de incubação. Foram confeccionados em média 99 vasos de leonard para cada experimento. Esses vasos são compostos de duas partes: uma parte superior, que contém uma mistura de 1:1 (v:v) de areia e de vermiculita, e uma inferior, contendo uma solução nutritiva segundo Norris, citado por GRUZMAN & DÖBEREINER (1968). Após o preparo, os vasos foram autoclavados duas vezes. A solução nutritiva foi autoclavada por 20 min. As sementes foram escarificadas em ácido sulfúrico concentrado, por dez minutos e esterilizadas em H₂O₂ durante cinco minutos em seguida, lavadas com água destilada esterilizada. Posteriormente, as sementes foram colocadas em placas de petri, que continham papel filtro umedecido e algodão e foram levadas à câmara de germinação até a emissão das radículas. Foram colocadas em média quatro sementes por vaso, e após quinze dias em média, foi realizado um desbaste, deixando-se uma planta por vaso. A inoculação das bactérias foi realizada no momento do plantio, adicionando-se em média 1ml de inoculante por semente. A superfície do vaso foi coberta com uma fina camada de areia esterilizada. Os níveis de solução nos vasos foram repostos periodicamente, com solução autoclavada. Os tratamentos nitrogenados na concentração de 5 mg/ml, foram adicionados semanalmente, sob as formas de KNO₃, NH₄NO₃ e (NH₄)₂SO₄, onde avaliou-se a preferência da planta dentre as diversas fontes de nitrogênio. As avaliações foram feitas a partir do momento que se observou uma diferença significativa entre os tratamentos. Após a colheita, as plantas foram secas, pesadas e a partir do peso seco da parte aérea e o dos nódulos foram feitas as análises estatísticas utilizando-se o programa SISVAR (FERREIRA, 2000).

7.2. Experimentos em condições não estéreis:

Nesses experimentos foram utilizados vasos de polietileno, contendo 3 kg de solo/vaso. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com quatro repetições. As espécies testadas foram *Mimosa quadrivalvis* (dormideira gigante), *Mimosa* sp. (dormideira comprida), *Mimosa setosa* Benth. (sansão preto). Os vasos foram acondicionados sobre mesas em casa de vegetação em condições não esterilizadas. Para cada espécie de leguminosa testada, foram selecionadas as seis melhores estirpes experimento em vasos de Leonard para o mesmo hospedeiro e destas, cinco estirpes foram testadas de acordo com seu crescimento nas placas de petri, as que se desenvolveram pouco ou que contaminaram, foram descartadas. Foram incluídos dois tratamentos controles, uma testemunha absoluta e uma testemunha nitrogenada. A escolha da fonte nitrogenada para cada tratamento foi baseada nos resultados dos experimentos em vasos de Leonard. A aplicação de nitrogênio foi realizada semanalmente, na concentração de 5 mg/ml, para comparar a eficácia da bactéria inoculada sobre a aplicação de uma fonte mineral. Foi aplicado um total de 550mg de N/vaso para *M.* e *Mimosa* sp. *quadrivalvis* na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e 675 mg de N/vaso para *M. setosa* na forma de KNO_3 , a quantidade aplicada acompanhou o desenvolvimento das testemunhas nitrogenadas e a data em que os experimentos foram colhidos. Após 5 meses do plantio, foi realizada a coleta da parte aérea das plantas e a retirada dos nódulos das raízes. Comparou-se o efeito da inoculação no desenvolvimento das mesmas, através da avaliação da matéria seca acumulada na parte aérea o peso seco de nódulos por planta. A média dos tratamentos foi analisada pelo programa estatístico SISVAR. Foi calculado a eficiência ($\text{MSPA Trat/ MSPA absoluto} \times 100$) e a eficácia = ($\text{MSPA Trat/ MSPA TN} \times 100$) para cada tratamento e as duas melhores estirpes que apresentaram a maior eficiência, foram selecionadas e indicadas para produção de inoculantes.

8. RESULTADOS

8.1. Experimentos em condições estéreis utilizando vasos de Leonard:

8.1.1. *Mimosa setosa* - sansão preto

Nesse experimento, do total de 29 tratamentos, foi realizada a análise estatística apenas dos 18 tratamentos que apresentaram produção de nódulos. Na tabela 1, estão apresentados os dados de matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria seca dos nódulos (MSN) e as diferenças significativa desses parâmetros. Para cada tratamento verificou-se a eficiência e eficácia da inoculação. A análise

estatística evidenciou a potencialidade das estirpes BR 3505 (SMF 1444-1) e BR 3506 (SMF 659-1), que proporcionaram às plantas os maiores valores de produção e eficiência na FBN. As plantas foram coletadas aos 95 dias após o plantio (dap). As três fontes de nitrogênio que testadas foram: NH_4NO_3 (TN1), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (TN2) e KNO_3 (TN3). Neste experimento foi aplicado um total de 60 mg de N por vaso. A adição de N-mineral não acompanhou o desenvolvimento das plantas inoculas, indicando que a dose aplicada de N foi inferior a necessária para o desenvolvimento pleno desta espécie ou que as fontes testadas não são as indicadas a esta espécie. Contudo, a fonte de NH_4NO_3 propiciou um maior ganho para a esta planta.

Tabela 1. Acúmulo de massa seca na parte aérea e de nódulos, eficiência e eficácia de várias estirpes de rizóbio inoculados em *Mimosa setosa* (sansão preto) aos 95 dap (média de 3 repetições).

Estirpes	MSPA (mg/planta)	MSN (mg/planta)	Eficiência (%)	Eficácia (%)
T. absoluta	0.1167 d	0.0000 d	100	7.3
SMF 1429-3	0.1600 d	0.0193 d	137	10.0
SMF 696-2	0.3167 d	0.1150 c	271	19.7
SMF 567-1	0.7800 d	0.0820 c	669	48.5
TN 2- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.8733 d	0.0000 d	749	54.4
TN1 - (NH_4NO_3)	1.0867 d	0.0000 d	931	67.6
SMF 473-1	1.5500 d	0.1600 c	1329	96.5
TN3- KNO_3	1.6066 d	0.0000 d	1377	100.0
SMF B71-7	1.9800 c	0.2190 b	1697	123.2
SMF B71-1	2.0300 c	0.2340 b	1740	126.4
SMF B71-15	2.2967 c	0.3223 b	1969	143.0
SMF B71-6	2.2967 c	0.2987 b	1969	143.0
SMF B71-8	2.6167 c	0.2817 b	2243	162.9
SMF B71-10	2.8333 c	0.2867 b	2429	176.4
SMF B71-14	2.8733 c	0.2983 b	2463	178.8
SMF B71-4	3.0367 c	0.2090 b	2603	189.0
SMF B71-5	3.1133 c	0.3793 a	2669	193.8
SMF B71-13	3.2133 c	0.3367 b	2754	200.0
SMF B71-2	3.2333 c	0.2937 b	2771	201.3
SMF B71-9 (BR 3521)	3.5567 c	0.3450 b	3049	221.4
SMF 1444-1 (BR 3505)	6.2433 b	0.4960 a	5351	388.6
SMF 659-1 (BR 3506)	8.1573 a	0.4833 a	6992	507.7

Valores seguidos de letras iguais dentro da coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0,05$)- Eficácia: (MSPA trat /peso da testemunha nitrogenado x 100). Eficiência* (MSPA trat/peso da testemunha absoluto x 100). CV(%) MSPA= 31,60 e CV(%) MSN= 34,74. Qt de N aplicado: 60 mg/vaso.

8.1.2. *Mimosa quadrivalvis* - dormideira gigante

Dos 33 isolados bacterianos testados, foram analisados as 19 estirpes que induziram a produção de nódulos. A parte aérea foi seca em estufa para obtenção do seu peso seco. As raízes foram lavadas e secas, os nódulos foram retirados manualmente e também secos em estufa. Na tabela 2 estão apresentados os dados de matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria seca dos nódulos (MSN). Também verificou-se a eficiência e eficácia de cada tratamento, a análise

evidenciou o potencial das estirpes BR 3505 (SMF 1444-1) e BR 3506 (SMF 659-1) para a produção de inoculantes para essa espécie. As plantas foram colhidas após 95 dias de duração do experimento. A dose de 140 mg de N por vaso com a fonte de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ propiciou a maior produção de matéria seca entre as testemunhas nitrogenadas. Os resultados mostraram que plantas dessa espécie apresentaram preferência pela fonte nitrogenada com NH_4 , com uma maior produção de massa de parte aérea, sendo viável e utilização dessa fonte nitrogenada para seu cultivo. Resultados indicando a mesma fonte preferencial foram obtidos por MARQUES et al. (2006) para *Mimosa caesapinaefolia*.

Tabela 2. Acúmulo de massa seca na parte aérea e de nódulos, eficiência e eficácia de várias estirpes de rizóbio inoculados em *Mimosa quadrivalvis* (dormideira gigante) aos 97 dap (média de 3 repetições).

Estirpes	MSPA		MSN		Eficiência (%)	Eficácia (%)
SMF B71-9 (BR 3521)	0.063	c	0.017	c	61	1.5
SMF B71-6	0.070	c	0.095	c	68	1.7
SMF 696-2	0.102	c	0.028	c	98	2.4
T. absoluta	0.104	c	0.000	c	100	2.4
SMF B71-1	0.104	c	0.026	c	100	2.4
SMF B71-2	0.109	c	0.028	c	104	2.5
SMF B71-13	0.149	c	0.056	c	143	3.5
SMF B71-7	0.180	c	0.034	c	173	4.2
SMF 428-2	0.191	c	0.021	c	184	4.5
SMF B71-4	0.247	c	0.061	c	238	5.8
SMF B71-14	0.264	c	0.065	c	254	6.2
SMF B71-10	0.273	c	0.145	c	262	6.4
SMF B71-11	0.405	c	0.069	c	390	9.5
SMF B71-15	0.635	c	0.078	c	610	14.9
SMF B71-12	0.690	c	0.048	c	663	16.2
SMF B71-5	0.977	c	0.036	c	939	22.9
SMF B71-8	1.137	c	0.106	c	1094	26.7
SMF 473-1	1.573	c	0.382	b	1513	36.9
TN 1 (NH_4NO_3)	2.405	b	0.000	c	2312	100
TN3 - KNO_3	3.165	b	0.000	c	3044	100
SMF 1444-1 (BR 3505)	3.750	a	0.382	b	3606	88.0
TN 2 - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	4.262	a	0.000	c	4098	100
SMF 659-1 (BR 3506)	4.424	a	1.081	a	4254	103.8

Valores seguidos de letras iguais dentro da coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0,05$)- Eficácia: (MSPA trat/peso da testemunha nitrogenada x 100). Eficiência* (MSPA trat/peso da testemunha absoluto x 100). CV(%) MSPA= 64.99 e CV(%) MSN=93.53. Qt de N aplicado: 140 mg/vaso.

8.1.3. *Mimosa* sp. - dormideira comprida

Nesse experimento foram isolados 33 estirpes de bactérias da coleção de isolados da Embrapa Agrobiologia. As 15 estirpes que apresentaram produção de nódulos foram analisadas estatisticamente. A análise dos dados de matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria seca dos

nódulos (MSN) foram demonstradas na Tabela 3, e não foram encontradas diferenças significativas entre esses parâmetros, após 95 dias de duração do experimento. Também verificou-se a eficiência e eficácia, para cada tratamento. As estirpes BR 3508 e BR 3509 foram as que apresentaram os maiores valores, evidenciando a potencialidade destas. Foi aplicado um total de 140 mg de N/vaso e a fonte que produziu maior biomassa foi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, que assim como nos experimentos anteriores, essa espécie também mostrou maior preferência pelo íon amônio.

Tabela 3. Acúmulo de massa seca na parte aérea e de nódulos, eficiência e eficácia de várias estirpes de rizóbio inoculados em *Mimosa sp* (dormideira comprida) aos 99 dap (média de 3 repetições).

Estirpes	MSPA (mg/planta)		MSN (mg/planta)		Eficiência (%)	Eficácia (%)
T. absoluta	0.031	a	0.000	a	100	0.9
SMF B71-6	0.888	a	0.170	a	2842	25.5
SMF B71-4	0.915	a	0.180	a	2929	26.2
SMF B71-5	0.976	a	0.201	a	3123	28.0
SMF B71-1	1.113	a	0.191	a	3561	31.9
SMF B71-13	1.176	a	0.253	a	3764	33.7
SMF B71-15	1.295	a	0.215	a	4144	37.1
TN 3- KNO_3	1.360	a	0.000	a	4352	39.0
SMF B71-7	1.397	a	0.258	a	4470	40.1
SMF B71-10	1.495	a	0.239	a	4785	42.9
SMF B71-8	1.802	a	0.284	a	5767	51.7
SMF B71-14	2.053	a	0.300	a	6570	58.9
SMF 696-2	2.148	a	0.354	a	6875	61.6
SMF B71-9 (BR 3521)	2.534	a	0.284	a	8110	72.7
TN 1- (NH_4NO_3)	3.02	a	0.000	a	9664	86.6
SMF 473-1 (BR 3508)	3.148	a	0.390	a	10076	90.3
TN 2 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	3.487	a	0.000	a	11158	100.0
SMF 567-1 (BR 3509)	4.462	a	0.562	a	14278	128.0

Valores seguidos de letras iguais dentro da coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0,05$) - Eficácia: (MSPA trat/peso da testemunha nitrogenada x 100). Eficiência* (MSPA trat/peso da testemunha absoluto x 100). CV(%) MSPA= 70.87 e CV(%) MSN=10.48. Qt de N aplicado: 140 mg/vaso.

8.1.4. *Mimosa sp.* (maricá peludo)

Na Tabela 4 estão mostrados as 28 estirpes que induziram a produção de nódulos. Pode-se observar que incremento de biomassa proporcionado pelas estirpes BR 3505 e BR 3506 que foi quase 52 vezes maior quando comparadas à testemunha absoluta após 95 dias de instalação do experimento. Nas testemunhas nitrogenadas foi adicionado um total de 150 mg de N/vaso. As plantas foram colhidas e secas em estufa e a partir dos dados de massa seca da parte aérea (MSPA) calculou-se a eficiência de cada estirpe. Quando este valor é superior a testemunha absoluta, indica que a inoculação realizada nessas condições, pode substituir a aplicação de N_2 . Foi aplicado um total de 175 mg de N/vaso. As fontes nitrogenadas tiveram efeito positivo e significativo e embora a aplicação de sulfato de amônio tenha apresentado as maiores médias, considera-se viável também, o

emprego de NH_4NO_3 na impossibilidade da utilização desta fonte de N, apenas a fonte de KNO_3 apresentou diferença significativa entre as fontes e pode ser desconsiderada. Nesse experimento a TN apresentou a maior produção de parte aérea, os tratamentos inoculados estão estatisticamente iguais e comprovam a eficiência da inoculação como potencializadores no crescimento desta espécie.

Tabela 4. Produção de massa seca na parte aérea e de nódulos, eficiência e eficácia dos tratamentos para *Mimosa sp* (maricá peludo). Coletados aos 95 dias após o plantio.

Estirpes testadas	MSPA (mg/planta)	MSN (mg/planta)	Eficiência (%)	Eficácia (%)		
SMF 1429-3	0.233	c	0.000	c	20	4
SMF B71 – 11	0.392	c	0.000	c	33	6
SMF 659 – 2	0.510	c	0.000	c	43	8
SMF1168 –1	0.603	c	0.049	c	51	10
SMF428 -8	0.637	c	0.000	c	54	10
SMF 2248 - 4	0.707	c	0.000	c	60	11
SMF 428-2	0.817	c	0.000	c	69	13
SMF 2248-3	0.877	c	0.000	c	74	14
SMF 456-1	0.937	c	0.000	c	79	15
SMF 567 - 1	0.947	c	0.000	c	80	15
T. absoluta	1.180	c	0.000	c	100	19
SMF 473 – 1	1.267	c	0.000	c	107	20
SMF B71 – 7	1.657	c	0.000	c	140	26
SMF B71 – 12	2.337	c	0.000	c	198	37
SMF B71 – 8	2.957	b	0.206	a	250	47
SMF B71 – 1	3.593	b	0.166	b	304	57
TN 3 (KNO_3)	3.950	b	0.000	c	334	100
SMF 1168 – 3	4.180	b	0.179	b	354	66
SMF B71 – 14	4.190	b	0.205	a	355	66
SMF B71 - 4	4.260	b	0.192	b	361	68
SMF B71 - 6	4.267	b	0.165	b	361	68
SMF B71 – 10	4.267	b	0.186	b	361	68
SMF B71 – 13	4.303	b	0.168	b	365	68
SMF B71 – 2	4.317	b	0.179	b	366	68
SMF B71 – 9	4.630	b	0.231	a	392	73
SMF B71 – 5	4.810	b	0.197	a	408	76
SMF B71 – 15	4.840	b	0.211	a	410	77
SMF 1444 – 2	5.243	a	0.218	a	444	83
SMF 1444 – 1 (BR 3505)	5.247	a	0.138	b	445	83
TN 1 (NH_4NO_3)	5.483	a	0.000	c	465	100
SMF 659 – 1 (BR 3506)	6.190	a	0.256	a	525	98
TN 2 (NH_4)₂SO₄	6.300	a	0.000	c	534	100

Valores seguidos de letras iguais dentro da coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0,05$) - Eficiência: (MSPA trat/peso da testemunha absoluta x 100). Eficiência* (MSPA trat/peso da testemunha nitrogenada x 100). CV(%) MSPA= 27 e CV(%) MSN= 35. Qt de N aplicado:175 mg/vaso.

8.1.5. *Mimosa extensa* Benth. (arranha gato de malícia)

Nesse experimento apenas 14 estirpes dos 29 isolados de rizóbio formaram nódulos e puderam

ser analisadas. Na tabela 2 estão apresentados os dados de produção de massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca de nódulos (MSN). Os resultados foram obtidos 95 dias após o plantio (dap) e com a obtenção do peso seco da parte aérea e peso seco dos nódulos analisou-se estatisticamente a diferença de médias entre os tratamentos. As estirpes BR 3514 e BR 3515 apresentaram maior eficiência e eficácia, o que contribuiu no aumento de quase 18 vezes maior no incremento de biomassa produzida para esses tratamentos. Foi aplicado uma dose total de 150 g de N/vaso. A fonte nitrogenada que produziu uma maior biomassa foi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e pode ser utilizada como fonte alternativa de aplicação de N, porém, não apresentou diferenças estatísticas em relação à outros tratamentos nitrogenados. Resultados similares foram obtidos por MARQUES et al. (2006) para *Mimosa caesalpiniaefolia*.

Tabela 5: Acúmulo de massa seca na parte aérea e de nódulos, eficiência e eficácia dos tratamentos para *Mimosa extensa* (arranha gato de malícia). Coletado aos 95 dias após o plantio.

Tratamentos	PSPA (g/planta)		PSN (g/planta)		Eficiência (%)	Eficácia (%)
SMF 428-2	0,09	c	0,0025	a	43	2
T. absoluta	0,22	c	0,0000	a	100	5
SMF 473 – 1	0,34	c	0,0050	a	155	8
SMF 659 – 1	0,40	c	0,0156	a	182	9
SMF1168 -1	0,58	c	0,0141	a	265	13
SMF 2248-3	0,72	c	0,0050	a	327	16
SMF 1429-3	0,76	c	0,0092	a	346	17
SMF 1444 – 1	0,97	c	0,0171	a	442	22
SMF B71 – 8	0,99	c	0,0095	a	448	23
SMF 659 – 2	0,99	c	0,0180	a	452	23
SMF 1444 – 2	1,23	c	0,0222	a	560	28
TN 3 (KNO ₃)	1,29	a	0,0000	a	585	100
SMF B71 – 1	1,60	c	0,0064	a	726	37
SMF B71 – 5	2,20	b	0,0264	a	1002	50
SMF B71 – 2 (BR 3514)	2,55	b	0,0331	a	1158	58
SMF B71 – 6 (BR 3515)	3,15	b	0,0219	a	1430	72
TN 1 (NH ₄ NO ₃)	3,97	a	0,0000	a	1803	100
TN 2 (NH₄)₂SO₄	4,37	a	0,0000	a	1986	100
CV %	66		116			

Médias seguidas de mesma letra dentro da coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0,05$); * Eficácia: (MSPAtrat / peso da testemunha nitrogenada 100). Eficiência* (MSPA/peso da testemunha absoluta *100) CV(%) MSPA= 66 e CV(%) MSN= 116

8.1.6. *Piptadenia adiantoides* (arranha gato vermelho)

O experimento foi montado para testar 33 estirpes de rizóbio da coleção do laboratório da Embrapa Agrobiologia e apenas 21 tratamentos induziram a nodulação. Foi realizada uma análise estatística entre as médias de MSPA e MSN, indicados na Tabela 6. As estirpes BR 4831 e BR 4830

apresentaram os melhores resultados em eficiência e eficácia, com produção 9 vezes maior quando comparadas à testemunha absoluta. A partir desses resultados selecionou-se os dois melhores tratamentos que são indicados para a produção de inoculantes específicos para esta espécie. O experimento teve duração de 163 dias, sendo aplicado uma dose de 300 mg de N nas testemunhas nitrogenadas.

Tabela 6. Estirpes testadas em *Piptadenia adiantoides* (arranha gato vermelho) para seleção de estirpes em ambiente estéril, avaliando a massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca dos nódulos (MSN) e cálculo de sua eficiência e de sua eficácia.

Tratamentos	MSPA (g/planta)		MSN (g/planta)		Eficiência/ Eficácia *	
					(%)	
T. absoluta	0,0955	d	0	b	100	2
SMF 553-5	0,114	d	0	b	119	2
SMF 555-2	0,1426	d	0	b	149	3
SMF 555-9	0,1433	d	0,0443	b	150	3
SMF 1758-6	0,1506	d	0,0220	b	158	3
SMF 555-4	0,1533	d	0	b	161	3
SMF 1758-1	0,1657	d	0,0155	b	173	3
SMF 555-7	0,166	d	0,0220	b	174	3
SMF 553-4	0,1693	d	0	b	177	3
SMF 553-11	0,1786	d	0,0115	b	187	4
SMF 555-8	0,1823	d	0,0250	b	191	4
SMF 555-10	0,1923	d	0,0370	b	201	4
SMF 553-10	0,2213	d	0	b	232	5
SMF 1758-2	0,2400	d	0	b	251	5
SMF 555-5	0,2560	d	0	b	268	5
SMF 1758-7	0,2617	d	0,0660	a	274	5
SMF 555-6	0,2650	c	0,0750	a	277	5
SMF 553-8	0,2953	d	0	b	309	6
SMF 555-11	0,3183	d	0,0260	b	333	7
SMF 553-1	0,3917	d	0,0433	b	410	8
SMF 555-1	0,3957	d	0,0187	b	414	8
SMF 1758-3	0,4327	d	0	b	453	9
SMF 553-6	0,4550	d	0,0317	b	476	9
SMF 1758-8	0,4697	d	0,0403	b	492	10
SMF 553-1	0,4840	d	0,0310	b	507	10
SMF 555-3	0,4947	c	0,0690	a	518	10
SMF 553-9	0,665	c	0,0680	a	696	14
SMF 553-3	0,7637	b	0,0410	b	800	16
SMF 553-12	0,7860	b	0,1147	a	823	16
SMF 553-2 (BR 4831)	0,8770	b	0,0983	a	918	18
SMF 1758-4 (BR 4830)	0,9050	b	0,0610	a	948	19
TN1- NH ₄ NO ₃	1,768667	b	0	b	1852	100
TN2- (NH₄)₂SO₄	4,884333	a	0	b	5114	100

Médias comparadas pelo teste Scott Knott ($p \leq 0,05$); * Eficácia = (MSPAtrat/peso da testemunha nitrogenada *100). Eficiência = (MSPAtrat/peso da testemunha absoluta *100). CV(%) MSPA= 80.83 e CV(%) MSN= 117.88. Qt de N aplicado: 300 mg N/vaso.

8.1.7. *Mimosa sp.* (malícia mineira)

Nos experimentos foram analisados os 21 tratamentos que induziram a nodulação de um total de 29 tratamentos para essa espécie. As plantas foram colhidas e o peso da MSPA e MSN foi analisados estatisticamente. A partir das médias, calculou-se a eficiência e eficácia para cada tratamento (tabela 7) e foram estabelecidas as duas melhores estirpes aquelas que apresentaram os maiores valores de eficiência. As estirpes BR 3522 e BR 3505 foram as estirpes indicadas após 119 dias de duração do experimento, pois apresentaram uma maior eficiência quando comparadas à testemunha absoluta. Foram aplicados 275 mg de nitrogênio e a fonte KNO₃ foi a que colaborou com o melhor desenvolvimento das testemunhas nitrogenadas, porém, observou-se estirpes que obtiveram uma maior eficácia, o que indica que a dose aplicada de N foi insuficiente ou que estas fontes testadas não sejam as ideais para esta espécie.

Tabela 7. Estirpes testadas em *Mimosa sp.* (malícia mineira) na seleção de estirpes, utilizando substrato esterilizado, avaliando a produção de massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca dos nódulos (MSN) e cálculo de sua eficiência e de sua eficácia, aos 119 dap.

Tratamentos	MSPA (g/planta)		MSN (g/planta)		Eficiência (%)	Eficácia (%)
SMF1354-4	0.0425	b	0.0000	b	59	28
SMF B71-13	0.0426	b	0.0000	b	60	28
SMF 428-2	0.0435	b	0.0213	b	61	28
SMF B71-11	0.0462	b	0.0000	b	65	30
SMF 1429-3	0.0470	b	0.0000	b	66	31
SMF B71-7	0.0511	b	0.0058	b	71	33
SMF 1975-6	0.0548	b	0.0000	b	77	36
SMF 898-4	0.0552	b	0.0000	b	77	36
SMF 696-2	0.0569	b	0.0016	b	80	37
SMF 1168-1	0.0586	b	0.0000	b	82	38
TN1 (NH ₄ NO ₃)	0.0713	b	0.0000	b	100	46
T. absoluta	0.0715	b	0.0000	b	100	47
SMF 567-1 (BR 3509)	0.0779	b	0.0030	b	109	51
SMF 659-1 (BR 3506)	0.0842	b	0.0000	b	118	55
SMF 659-2	0.0985	b	0.0290	b	138	64
TN2 (NH ₄) ₂ SO ₄	0.1199	b	0.0000	b	168	78
TN 3 (KNO₃)	0.1533	b	0.0000	b	214	100
SMF 2248-4	0.1656	b	0.0137	b	232	108
SMF B71-4	0.2284	b	0.0186	b	319	149
SMF 473-1	0.2723	b	0.0076	b	381	178
SMF B71-14	0.4165	a	0.0410	a	583	272
SMF B71-1	0.4954	a	0.0453	a	693	323
SMF B71-9 (BR 3521)	0.4994	a	0.0434	a	699	326

Continua...

Continuação: Tabela 7

SMF B71-2	0.5040	a	0.0444	a	705	329
SMF B71-6	0.6042	a	0.0376	a	845	394
SMF B71-8	0.6338	a	0.0317	a	886	413
SMF 1444-2	0.6589	a	0.0613	a	921	430
SMF B71-5	0.7075	a	0.0438	a	990	462
SMF B71-10	0.7408	a	0.0279	a	1036	483
SMF B71-12	0.7791	a	0.0630	a	1090	508
SMF 473-1 (BR 3508)	0.7862	a	0.0571	a	1100	513
SMF 1444-1(BR 3505)	0.9424	a	0.0979	a	1318	615
SMF B71-15 (BR 3522)	1.2251	a	0.0547	a	1713	799

Médias seguidas de mesma letra dentro da coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0,05$);

Eficiência: (MSPA trat/peso da testemunha absoluta 100). Eficácia (MSPA trat/peso da testemunha nitrogenada

*100) CV(%) MSPA= 137,37 e CV(%) MSN= 146,47. Qt de N aplicado: 275 mg/vaso.

8.2. Experimentos em condições não estéreis utilizando vasos de solo:

8.2.1. *Mimosa quadrivalvis* (dormideira gigante)

Para este experimento foram selecionadas e testadas as cinco estirpes que foram mais eficientes no experimento com vasos de Leonard. Entre as cinco estirpes usadas que estão sendo mostradas na tabela 8, as estirpes que obtiveram uma produção de biomassa superior, quando comparadas com a testemunha absoluta form a BR3505 e BR3507, apesar de não existir diferenças estatísticas entre eles, de acordo com a análise estatística pelo teste Scott Knott ($p < 5\%$). A estirpe BR 3505 conseguiu manter-se como a mais eficiente, tanto em condições estéreis como nos vasos com solo, considerada como uma estirpe que apresenta boa competitividade com os rizóbios nativos. A estirpe BR 3507 selecionada nesse experimento, difere das estirpes indicadas sob a base de recomendação II, porém como apresentou uma melhor produção em condições não estéreis, passa a ser indicada como estirpe potencial para o produção de inoculantes na base de recomendação III.

Tabela 8. Seleção de estirpes testadas em dormideira gigante - *Mimosa quadrivalvis*, utilizando vasos com solo, em ambiente não estéril. Apresentação dos dados de massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca dos nódulos (MSN) e cálculo da eficiência e eficácia para cada tratamento.

Tratamento	MSPA (g/planta)		MSN (g/planta)		Eficiência (%)	Eficácia (%)
BR 3506	11.473	a	0.27395	a	91	93
SMF 473-1	11.730	a	0.4286	a	93	95
B71-8	12.026	a	0.5494	a	95	98
TN (NH ₄) ₂ SO ₄	12.295	a	0.4804	a	97	100
BR 3505	12.597	a	0.288675	a	99	102
T. absoluta	12.671	a	0.574125	a	100	103
B71-5 (BR 3507)	14.366	a	0.44145	a	113	117

Médias comparadas pelo teste Scott Knott ($p \leq 0,05$); * Eficiência: (MSPA/peso da testemunha absoluta *100). Eficácia* (MSPA/peso da testemunha nitrogenada *100). CV(%) MSPA= 11,38 e CV(%) MSN= 49.79. Total de N aplicado nas testemunhas: 550 mg

8.2.2. *Mimosa sp.* (dormideira comprida)

Nesse experimento não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos testados. De acordo com a análise estatística (teste Scott Knott a $p < 5\%$). Na tabela 9 os resultados encontrados para as estirpes BR 3523 (SMF 696-2) e BR 3521 (SMF B71-9) não diferem estatisticamente do controle nitrogenado nem das estirpes pré- selecionadas BR 3508, BR 3509, B71-8. Porém estas apresentaram um ganho maior de matéria seca, superando o desempenho da testemunha absoluta. Conclui-se que as estirpes BR 3523 (SMF 696-2) e BR 3521 (SMF B71-9) obtiveram os maiores valores de eficiência e são indicadas para a produção de inoculantes na base de recomendação III.

Tabela 9. Seleção de estirpes testadas em *Mimosa sp.* - dormideira comprida, utilizando vasos com solo, em ambiente não estéril. Apresentação dos dados de massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca dos nódulos (MSN) e cálculo da eficiência e eficácia para cada tratamento, aos 145 dias após o plantio.

Tratamento	MSPA (g/plant a)	MSN (g/planta)	Eficiência/ Eficácia (%)
BR 3508	9.252 a	0.8235 a	94 75
T. absoluta	9.877 a	0.9249 a	100 80
BR 3509	10.335 a	0.9578 a	105 84
B71-8	10.875 a	1.1235 a	110 88
SMF 696-2(BR 3523)	10.940 a	0.9238 a	111 89
B71-9 (BR 3521)	11.627 a	0.9959 a	118 94
TN (NH ₄) ₂ SO ₄	12.325 a	0.9000 a	125 100

Médias comparadas pelo teste Scott Knott ($p \leq 0,05$); * (MSPA/peso da testemunha absoluta *100). Eficácia* (MSPA/peso da testemunha nitrogenada *100). CV(%) MSPA= 18.83 e CV(%) MSN= 18.88. Total de N aplicado nas testemunhas: 550 mg/vaso.

8.2.3. *Mimosa setosa* (sansão preto)

Nesse experimento não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos pela análise estatística. As estirpes BR 3505 e B71-13 apresentaram uma produção de biomassa superior à testemunha absoluta. Destaca-se a estirpe BR 3505, que mostrou ser uma estirpe de alta eficiência na FBN com uma boa competitividade com os rizóbios nativos. As duas estirpes selecionadas passam a ser indicadas como estirpes potenciais para a produção de inoculantes na base de recomendação III.

Tabela 10. Seleção de estirpes testadas em sansão preto - *Mimosa setosa*, utilizando vasos com solo, em ambiente não estéril. Apresentação dos dados de massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca dos nódulos (MSN) e cálculo da eficiência e eficácia para cada tratamento. Aos 159 dias após o plantio.

Trat	MSPA (g/planta)	MSN (g/planta)	Eficiência (%)	Eficácia (%)
BR 3506	12.5225 a	0.15395 a	91	94
B71-5 (BR 3522)	12.9875 a	0.276925 a	94	97
TN	13.3625 a	0 a	97	100
B71-9 (BR 3521)	13.385 a	0.199975 a	97	100
B71-13 (BR3524)	13.6675 a	0.2457 a	99	102

Continua...

T. absoluta	13.82	a	0.220925	a	100	103
BR 3505	16.465	a	0.276475	a	119	123

Médias comparadas pelo teste Scott Knott ($p \leq 0,05$); * Eficiência: (MSPA/peso da testemunha absoluta *100). Eficácia* (MSPA/peso da testemunha nitrogenada*100). CV(%) MSPA= 13.16 e CV(%) MSN= 32.70. Total de N aplicado nas testemunhas: 675 mg

9. DISCUSSÃO

Os isolados selecionados para *Mimosa quadrivalvis*, *Mimosa setosa*, *Mimosa extensa* e *Mimosa* sp. (malícia mineira) tiveram em comum as bactérias isoladas de *Mimosa setosa* (maricá peludo ou sansão preto). A *M. setosa* é uma das espécies selecionadas pela CVRD como espécie potencial para a recuperação de áreas mineradas. A associação entre bactéria-hospedeiro comprovou ser de alta eficiência na fixação biológica do nitrogênio. E seguindo os postulados de Koch, a planta da qual se isolou a bactéria, foi testada com a reinoculação dos isolados, e conseguiu-se obter estirpes eficientes, que promoveram a produção de novos nódulos e um maior desenvolvimento dos tratamentos inoculados.

Os isolados de *M. setosa* também foram eficientes para outras espécies do mesmo gênero, indicando uma possível especificidade desta bactéria pelo gênero *Mimosa*, assim como, os isolados de *P. adianthoides* que também foram os mais eficientes nos experimentos. A especificidade de bactérias fixadoras e seus hospedeiros tem sido observada em trabalhos anteriores (FARIA et al., 1999).

As espécies testadas em vasos de solo (Tabelas 8, 9 e 10) apresentaram um acúmulo de MSPA e MSR próximos ao da testemunha absoluta e a testemunha nitrogenada. E conseqüentemente apresentaram uma baixa eficiência e eficácia para os tratamentos inoculados. Esses resultados são devido a existência de fontes de bactérias nativas já presentes no solo utilizado no experimento, que competiram eficientemente com as bactérias selecionadas. Resultados semelhantes foram encontrados por JESUS et al. (2005) para as espécies de leguminosa *Piptadenia gonoacantha* e *Piptadenia paniculata*.

Para a espécie *Piptadenia adianthoides* usada nesse experimento, a aplicação de N sob a forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ proporcionou a espécie um ganho de biomassa superior a testemunha absoluta e aos tratamentos inoculados de maior eficiência e pode ser usado como fonte alternativa na aplicação de N, justificando os valores baixos para eficiência das estirpes quando comparadas com a testemunha nitrogenada, contudo, os isolados promoveram uma alta eficácia se comparadas a testemunha absoluta. JESUS et al. (2005) estudando espécies do mesmo gênero, mostra que algumas espécies apresentaram uma forte dependência micorrízica. Nesse experimento é mostrado que a

espécie *Piptadenia adiantoides* pode apresentar um desenvolvimento satisfatório, não necessitando da adição de micorrizas para que ocorra a nodulação.

Para *Mimosa quadrivalvis*, os resultados mostraram que esta espécie apresenta preferência pela fonte nitrogenada com NH_4 , com uma maior produção de massa de parte aérea. O cultivo dessa espécie é viável com a utilização dessa fonte nitrogenada. Resultados indicando a mesma fonte preferencial foram obtidos por MARQUES et al. (2006) para *Mimosa caesapinaefolia*.

Para a espécie *Mimosa setosa*, a adição de nitrato teve um efeito deletério na formação de nódulos, esse efeito já foi observado em outros trabalhos com outras leguminosas como *Acacia mangium* (JACOB-NETO et al., 1998), *Acacia auriculiformis* (GOI et al., 1992). De acordo com SIQUEIRA E FRANCO (1998), a adição de nitrogênio mineral tem efeito sobre a fixação biológica e sua presença é necessária para o crescimento dos microorganismos até o início da fixação. O N-mineral afeta o processo de infecção, a taxa de fixação e o número de nódulos formados, bem como a eficiência da fixação do N.

10. CONCLUSÕES

As estirpes BR 3505 e BR 3506 foram as mais eficientes para as espécies *Mimosa quadrivalvis*, *Mimosa setosa* e *Mimosa sp.* (maricá peludo). As estirpes BR 3508 e BR 3509 são indicadas para *Mimosa sp.* (dormideira comprida). As estirpes BR 3514 e BR 3515 foram indicadas para *Mimosa extensa*. As BR 4830 e BR 4831 foram indicadas para *Piptadenia adiantoides*, assim como as estirpes BR3522 e BR3505 foram indicadas para a espécie *Mimosa sp.* (malícia mineira), na base de recomendação II (vasos de leonard).

As estirpes indicadas para a produção de inoculantes para a espécie *Mimosa quadrivalvis* foram as BR3507 e BR3505. Para *Mimosa setosa* foram indicadas as estirpes BR 3505 e BR 3524 e para *Mimosa sp.* (dormideira comprida) foram indicadas as estirpes BR 3523 e BR 3521, na base de recomendação III (vasos de solo - não estéril),

Dentre as fontes de N testadas o $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ foi a que mais contribuiu no aumento de peso das testemunhas nitrogenadas, seguido pela fonte KNO_3 .

As duas melhores estirpes observadas nestes experimentos de seleção que se destacaram por sua eficiência e eficácia, são indicadas para produção de inoculantes na base de recomendação II ou III, os resultados estão resumidos na Tabela 11.

Tabela 11. Relação das estirpes selecionadas e indicadas para produção de inoculantes na base de recomendação II (Vasos de Leonard) e III (Vasos com solo).

Nome Científico	Nome Comum	Nº Trat Testados	Estirpes Recomendadas	Eficiência (%)	Eficácia (%)	Base de recomendação	Tempo de duração experimento (dias)	Quantidade de N aplicado/ Fonte
<i>Mimosa quadrivalvis</i>	Dormideira gigante	29	BR 3505	3506	88	II	95	280 mg KNO ₃
			BR 3506	4254	104			
<i>Mimosa setosa</i>	sansão preto	29	BR 3505	5351	389	II	95	140 mg (NH ₄) ₂ SO ₄
			BR 3506	6992	508			
<i>Mimosa sp</i>	Dormideira comprida	29	BR 3508	10076	90	II	97	300 mg (NH ₄) ₂ SO ₄
			BR 3509	14278	128			
<i>Mimosa sp</i>	maricá peludo	29	BR 3505	445	83	II	95	150 mg (NH ₄) ₂ SO ₄
			BR 3506	525	98			
<i>Mimosa extensa</i>	arranha gato de malícia	29	BR 3514	1158	58	II	95	175 mg (NH ₄) ₂ SO ₄
			BR 3515	1430	72			
<i>Piptadenia adiantoides</i>	arranha gato vermelho	29	BR 4830	769	396	II	163	300 mg (NH ₄) ₂ SO ₄
			BR 4831	794	409			
<i>Mimosa sp</i>	malícia mineira	29	BR 3522	1713	1719	II	119	275 mg KNO ₃
			BR 3505	1318	1322			
<i>Mimosa quadrivalvis</i>	Dormideira gigante	5	BR 3505	99	102	III	194	550mg (NH ₄) ₂ SO ₄
			BR 3507	113	117			
<i>Mimosa setosa</i>	sansão preto	5	BR 3505	119	123	III	159	675 mg KNO ₃
			BR 3524	99	102			
<i>Mimosa sp</i>	Dormideira comprida	5	BR 3523	111	89	III	145	550 mg (NH ₄) ₂ SO ₄
			BR 3521	118	94			

Eficácia = (MSPA Trat./ MSPA TN X 100); Eficiência = (MSPA Trat./ MSPA ABSOLUTA X 100)

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNOLD, G.; & VANDIEST, A. Nitrogen supply, tree growth and soil acidification. **Fertilizer Research**, The Hague, v.27, n.1, p.29-38,1991.
- BALIEIRO, F. de C.; FRANCO, A. A.; DIAS, P. F.; SOUTO, S. M.; CAMPELLO, E. F. C. Sistemas agrossilvipastoris: a importância das leguminosas arbóreas para as pastagens da Região Centro-Sul. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande, MS. **Anais...** Campo Grande: SBZ, 2004. p. 191-201.
- BARBERI, A.; CARNEIRO, M. A. C.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Nodulação em leguminosas florestais em viveiros no sul de Minas Gerais. **CERNE**, Lavras,v.4, n.1, p.145-153, 1998.
- DANSO, S. K. A.; BOWEN, G. D.; SANGINGA, N. Biological nitrogen fixation in trees in agroecosystems. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.141, n.1-2, p. 177-196, 1992.
- DIAS, L. E. & GRIFFITH, J. J.; Conceituação e caracterização de áreas degradadas. In: DIAS, L. E.; MELLO, J. W. V. de (Ed.) **Recuperação de áreas degradadas**. Viçosa: UFV, Departamento de solos; Sociedade Brasileira de Recuperação de Áreas Degradadas, 1988, p. 1-7.
- FARIA, S. M. de. **Obtenção de estirpes de rizóbio eficientes na fixação de nitrogênio para espécies florestais** (aproximação 2000). Seropédica: Embrapa Agrobiologia 2000, 10 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 116). 2000.
- FARIA, S. M.; LIMA, H. C.; OLIVARES, F. L.; MELO, R. B.; XAVIER, R. P. Nodulação em espécies florestais, especificidade hospedeira e implicações na sistemática de leguminosae. In: FERTBIO 98 - **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**, SIQUEIRA, J. O., MOREIRA, F. M. S., LOPES, A. S., GUILHERME, L. R. G., FAQUIN, V., FURTINI NETO, A. E., CARVALHO, J. G. (Eds.). Viçosa: SBCS, Lavras: UFLA/DCS, p.667-686, 1999.
- FARIA, S. M. de; FRANCO, A. A.; CAMPELLO, E. F. C.; SILVA, E. M. R. **Recuperação de Solos Degradados com Leguminosas Noduladas e Micorrizadas**. Seropédica: EMBRAPA-CNPAB, 1998. 23 p. (EMBRAPA-CNPAB. Documentos, 77).
- FARIA, S. M. de; MOREIRA, J. F.; CORDEIRO, F. C.; MACHADO, R. L. Obtenção de estirpes de rizóbio para leguminosas florestais (aproximação de 2004). Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003. 5 p. (Embrapa Agrobiologia. Comunicado técnico 61).
- FARIA, S. M. de, SILVA, M.G., GRAIG, J. e DIAS, S. L, LIMA, H. C., NARA, M. - Revegetação com espécies arbóreas fixadoras de nitrogênio em taludes de exploração de ferro na Samarco Minerações Mariana MG. In: Água e biodiversidade. Palestras... Belo Horizonte: SOBRADE, 2002. P. 521-522. SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, 5, 2002. Belo Horizonte, MG.

FARIA, S.M. de & UCHÔAS, E. S. Indicação de estirpes de rizóbio eficientes na fixação biológica de nitrogênio para espécies de uso múltiplo, atualização ano base 2006. Comunicado técnico. Seropédica, Embrapa Agrobiologia, 2007 (no prelo).

FERGUSON, S. J. Nitrogen cycle enzymology. **Current opinion in Chemical Biology**, London, v. 2, n.2, p. 182-193, 1998.

FERREIRA, D. F. análises estatísticas por meio do SISVAR para WINDOWS versão 4.0. IN...45A Reunião Anual Da Região Brasileira Da Sociedade Internacional De Biometria, 45, 2000, São Carlos. **Programa e resumos...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p.255-258.

FRANCO, A. A., CAMPELLO, E. F.C., DIAS, L. E., FARIA, S. M. de. **Uso de leguminosas associadas a microrganismos na revegetação de áreas de mineração de bauxita em Porto Trombetas-Pa.** Itaguaí: EMBRAPA-CNPAB; 1996. 71p. (EMBRAPA-CNPAB. Documentos, 27).

FRANCO, A. A.; DIAS, L. E.; FARIA, S. M. de; CAMPELLO, E. F. C.; SILVA, E. M. R. Uso de leguminosas florestais noduladas e micorrizadas como agentes de recuperação e manutenção da vida do solo: Um modelo tecnológico. In: ESTEVES, F. de A. (Coord.) (Estrutura, funcionamento e manejo de ecossistemas brasileiros. Rio de Janeiro, UFRJ, 1995. p. 459-467 (Oecologia Brasilienses, v. 1).

FRED, E. B.; WARSMAN, S. A. **Laboratory manual of general microbiology** with special reference to the microorganisms of the soil. New York: Mcgraw-Hill Book Company, New York, 145pp., 1928. 145 p.

GOI, S. R., SPRENT, J. I. & JACOB-NETO, J. Effect of different sources of N on the structure of *Mimosa caesalpinifolia* root nodules. Soil Biology. Biochemim. 29: 983-987.

GUZMAN, I; DÖBERNER, J. Effectiveness and efficiency in the symbiosis of four cross inoculated tropical legumes. In: ANAIS DA IV REUNIÃO LATINO AMERICANA SOBRE INOCULANTES PARA LEGUMINOSAS. Porto Alegre. P.84. 1968.

JACOB-NETO, J. GOI, S. R., SPRENT, J. A. Efeito de diferentes formas de nitrogênio na nodulação e crescimento de *Acacia mangium*. Floresta e ambiente. Volume 5. P. 104-110, 1998.

JESUS, E. C.; SHIAGO, J. A.; FARIA, S.M. de. Dependência de micorrizas para a nodulação de leguminosas arbóreas tropicais. REVISTA ÁRVORE, Viçosa, v.29, n.4, p. 545-552, 2005.

KIM, J.; REES, D. C. Nitrogenase and biological nitrogen fixation. **Biochemistry**, Washington, v.33, p. 387-397, 1994.

LEWIS, G.; SCHRIER, B. D. MACKINDER, B. A.; LOCK, J. M. (Ed.) **Legumes in the world**, Royal Botanic Gardens, 2003.

MACHADO, R. L.; MOREIRA, J. F.; FARIA, S. M. de. Seleção de estirpes de rizóbio para leguminosas com potencial de uso na recuperação de áreas degradadas. In; CONGRESSO

BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 29., 2003, Ribeirão Preto. **Resumos...** Botucatu: SBCS, 2003. 4 p. CD ROM.

MARQUES, V. B.; PAIVA, H. N. de; GOMES, J. M.; NEVES, J. C. L. Efeitos das fontes de nitrogênio no crescimento de mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.). **Scientia forestalis**. N.71, p. 77-85, agosto 2006.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J.O. Fixação Biológica do Nitrogênio, capítulo 9, p. 501-529. In: **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Editora UFLA, 2006. 729 p.

RESENDE, A. V.; KONDO, M. K. Leguminosas e recuperação de áreas degradadas. Informe agropecuário, Belo Horizonte, v. 22, n. 210, p. 46-56, 2001.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. Fixação biológica do nitrogênio. In: SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. (Eds.). **Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Lavras: FAEPE; ABEAS; MEC; ESALQ, 1988. P. 179-214.

TAMM, C. O. Nitrogen cycling in undisturbed and manipulated boreal forest. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**. Series B. Biological Sciences, v. 26, n. 1082, p. 419-425, 1982.

USDA, ARS, National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network - (GRIN) [Online Database]. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. URL: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?842> (17 July 2007)

VIEIRA, A. R. R.; FEISTAUER, D.; SILVA, V. P. da. Adaptação de espécies arbóreas nativas em um sistema agrossilvicultural, submetidas a extremos climáticos de geada na região de Florianópolis. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 5, p. 627-634, 2003.

VINCENT, J. M. A Manual for the practical study of root-nodule bacteria. London: International Biological Programme Handbook, 15, 1970.