

EFETIVIDADE DA INOCULAÇÃO COM RIZÓBIO E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM MUDAS DE SABIÁ SUBMETIDAS A DIFERENTES NÍVEIS DE FÓSFORO¹

HÉLIO ALMEIDA BURITY², MARIA DO CARMO CATANHO PEREIRA DE LYRA³, EIDY SIMÕES DE SOUZA⁴
ADÁLIA CAVALCANTI DO ESPÍRITO SANTO MERGULHÃO⁵ e MARIA LUIZA RIBEIRO BASTOS DA SILVA⁵

RESUMO - Visando otimizar a produção de mudas de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth), foi conduzido um experimento para avaliar a efetividade da dupla inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e rizóbio. Os tratamentos, arrumados em esquema fatorial consistiram de presença e ausência de *Rhizobium* sp. e de FMA (*Glomus etunicatum*, *Acaulospora morrowae* e *A. longula*), e de três níveis de P (0, 20 e 40 kg/ha de P₂O₅, na forma de superfosfato triplo). A aplicação de P na ausência e na presença dos fungos não favoreceu o desenvolvimento das plantas. As mudas com a dupla inoculação apresentaram valores significativos no crescimento, área foliar, altura das plantas, atividade da enzima nitrogenase, porcentagem de colonização radicular e outros parâmetros analisados, independentemente do nível de P usado. A nodulação do sabiá foi favorecida pela micorrização, uma vez que as mudas inoculadas apenas com *Rhizobium* apresentaram nodulação significativamente menor. Houve aumento da colonização micorrízica e diminuição da esporulação na presença de *Rhizobium*.

Termos para indexação: nodulação, colonização micorrízica, fungo vesículo-arbuscular, *Rhizobium*, *Glomus etunicatum*, *Acaulospora morrowae*, *Acaulospora longula*.

EFFECTIVENESS OF INOCULATION WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI AND RHIZOBIUM SP. ON MIMOSA CAESALPINIIFOLIA SEEDLINGS, UNDER DIFFERENT PHOSPHORUS LEVELS

ABSTRACT - In order to optimize *Mimosa caesalpinifolia* Benth seedlings production, an experiment was carried out to evaluate the inoculation with both arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and *Rhizobium*. Treatments, arranged in a factorial scheme, consisted of presence or absence of *Rhizobium*, and of AMF (a mixture of *Glomus etunicatum*, *Acaulospora morrowae* and *A. longula*), with three P levels (equivalent to 0, 20 and 40 kg/ha of P₂O₅), applied as triple superphosphate. The P application, in the absence or in the presence of AMF inoculation, did not enhance plant development, while the seedlings which received the double inoculation presented significant values on growth, height, leaf area, nitrogenase activity and others analyzed parameters, regardless of the P level. *Mimosa caesalpinifolia* nodulation was enhanced by the inoculation with AMF, since plants which received *Rhizobium* alone showed significantly lower nodulation values than the ones which received both inoculations. There was an increase of the mycorrhizal and a decrease of the sporulation in the presence of *Rhizobium*.

Index terms: nodulation, colonization mycorrhizae, vesicular-arbuscular micorhiza, *Rhizobium*, *Glomus etunicatum*, *Acaulospora morrowae*, *Acaulospora longula*.

INTRODUÇÃO

O uso de microrganismos com a finalidade de melhorar a disponibilidade de nutrientes às plantas é uma prática de grande importância e muito necessária para a agricultura. Entre os sistemas biológicos envolvendo planta e microrganismos, temos as simbioses leguminosas-rizóbio, de maior expressão econômica, e leguminosas-fungos micorrízicos

¹ Aceito para publicação em 17 de maio de 1999.

² Eng. Agrôn., Ph.D., Laboratório de Biologia do Solo, IPA, Av. Gal. San Martin, 1.371 Bongi, Caixa Postal 1022, CEP 50671-000 Recife, PE. Bolsista do CNPq. E-mail: burity@ipa.br

³ Eng. Agrôn., M.Sc., IPA, Recife, PE.

⁴ Zoot., Dra., IPA, Recife, PE.

⁵ Biól., M.Sc., IPA, Recife, PE.

arbusculares (FMA) que, a partir de estudos de Gerdermann (1975) também foi considerada importante para o processo de nodulação. Segundo Siqueira (1983), a dupla inoculação é capaz de reduzir os custos com fertilizantes nitrogenados e fosfatados, além de conferir às plantas maior capacidade de absorção de nutrientes, induzindo ao aumento na produtividade. O sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth.) é uma das mais importantes leguminosas tropicais arbóreas, pela sua comprovada resistência à seca e rápido crescimento (Almeida et al., 1987) e por ser considerada indispensável em qualquer programa de reflorestamento na Região Nordeste, principalmente no Semi-Árido. Vasconcelos et al. (1984), estudando a ocorrência de *Rhizobium* e endomicorrizas em leguminosas arbóreas e arbustivas, observaram que 47,5% das plantas eram micorrizadas ou noduladas, enquanto 30% eram simultaneamente micorrizadas e noduladas, na qual o sabiá foi citado. Döbereiner (1984) relata que apenas 18% das espécies leguminosas arbóreas foram estudadas em relação a nodulação, entretanto, das 63 espécies florestais mais importantes que nodulavam, o sabiá estava presente. Silva (1995), estudando o efeito da inoculação com *Bradyrhizobium* e da calagem em sabiá, sob condições de solos ácidos, observou que as plantas inoculadas apresentaram melhor desenvolvimento e maior resistência à acidez quando comparadas com as plantas adubadas com N mineral, onde a cultura do sabiá não foi afetada pela acidez do solo.

O sucesso no estabelecimento da nodulação e fixação de N₂ das leguminosas forrageiras depende de uma nutrição fosfatada adequada, e como as micorrizas aumentam a absorção de P, este elemento é de grande valor para a melhoria da fixação do N atmosférico, crescimento e efetiva nodulação da planta (Gibbson, 1976). Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da dupla inoculação e diferentes níveis de P sobre o desenvolvimento de mudas de sabiá.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação na Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), com delineamento experimental em blocos ao acaso com arranjo fatorial 2 x 2 x 3 (presença e ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) x presença e au-

sência de rizóbio x 3 níveis de P), com quatro repetições. As sementes de sabiá foram imersas em álcool por dois minutos, escarificadas quimicamente com ácido sulfúrico por três minutos e esterilizadas com bicloreto de mercúrio a 0,5% por três minutos, e lavadas com água destilada. Posteriormente, foram mantidas em bandejas com uma camada de algodão (autoclavado por 20 minutos a 120°C) embebida com água destilada, por dois dias, para germinar. O solo utilizado para o plantio foram os 20 primeiros centímetros de um Latossolo Vermelho-Amarelo, previamente esterilizado (autoclavado por 1 hora a 120°C, em três dias consecutivos), com as seguintes características químicas: pH - 6,7; Ca²⁺ + Mg²⁺ - 16 mmol_c kg⁻¹ de solo; K - 0,3 mmol_c kg⁻¹ de solo; P - 3,25 mg kg⁻¹. O saco de plástico para as mudas tinha capacidade para 5 kg de solo. O P foi aplicado na forma de superfosfato triplo com níveis de 0, 20 e 40 kg/ha de P₂O₅. O inóculo de fungo micorrízico foi produzido em casa de vegetação, com substrato solo-vermiculita na proporção 3:1 (v:v), utilizando-se como planta multiplicadora o painço (*Panicum millaceum*) constituído de uma mistura das espécies *Glomus etunicatum*, *Acaulospora morrowae* e *A. longula*, com 70 esporos por grama de substrato, mais pedaços de raízes colonizadas colocados a 3 cm da superfície do saco. Quanto ao inóculo de rizóbio, foi constituído de uma população de células rizobianas de 10⁸/mL (SEMIA 6167). A colheita se deu aos 110 dias após o plantio, quando foram avaliados os seguintes parâmetros: altura das plantas; área foliar, através de medidor de área foliar marca Licor-Area meter, com medição não-destrutiva e resultados expressos em cm²; atividade da enzima nitrogenase, mediante análise de redução de acetileno, em um cromatógrafo de gás CG 27 equipado com detector de ionização de chama de hidrogênio e uma coluna Poropak N, com 2 cm de comprimento e 1/8 de diâmetro. A coluna foi operada isotermicamente a 40°C, tendo o N como gás de arraste. A temperatura do vaporizador e do detector foram de 140 e 160°C, respectivamente. A matéria seca da parte aérea e raiz levadas à estufa, a 60-65°C, com ventilação forçada, para secagem até o peso constante; matéria seca dos nódulos; contagem do número de esporos pelo método de Gerdemann & Nicolson (1963) e porcentagem de colonização radicular foram estimadas pelo método de Phillips & Hayman (1970). Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, observa-se que houve interação significativa entre a inoculação com rizóbio e micorriza

TABELA 1. Matéria seca dos nódulos, da parte aérea e raiz, altura da planta, área foliar, número de esporos, colonização radicular na presença e ausência de rizóbio e de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em diferentes níveis de P em sabiá (*Mimosa caesalpiniiifolia*)¹.

Tratamento	Sem FMA	Com FMA	Média
	Matéria seca dos nódulos ² (mg/saco)		
Sem <i>Rhizobium</i>	0,00bB	44,74aB	22,37B
Com <i>Rhizobium</i>	0,11bA	175,5aA	87,81A
Média	0,06b	110,12a	
CV(%) = 73,68			
	Matéria seca da parte aérea ² (g/saco)		
Sem <i>Rhizobium</i>	1,03bA	7,52aB	4,28B
Com <i>Rhizobium</i>	1,24bA	12,39aA	6,81A
Média	1,14b	9,96 ^a	
CV(%) = 21,96			
	Matéria seca das raízes ² (g/saco)		
Sem <i>Rhizobium</i>	0,60bA	3,21aB	1,91B
Com <i>Rhizobium</i>	0,73bA	4,17aA	2,45A
Média	0,67b	3,69a	
CV(%) = 24,24			
	Altura da planta ² (cm)		
Sem <i>Rhizobium</i>	26,95bA	49,60aB	38,28B
Com <i>Rhizobium</i>	28,64bA	61,10aA	44,87A
Média	27,80b	55,35a	
CV(%) = 10,44			
	Área foliar ² (cm ² /planta)		
Sem <i>Rhizobium</i>	68,71bA	490,38aB	279,54B
Com <i>Rhizobium</i>	82,92bA	743,50aA	413,21A
Média	75,81b	616,94a	
CV(%) = 21,15			
	Número de esporos ³ (unid./g de solo)		
Sem <i>Rhizobium</i>	0,16bA	39,75aA	19,95A
Com <i>Rhizobium</i>	0,36bA	7,95aB	4,16B
Média	0,26b	23,85a	
CV (%) = 24,17			
Níveis de fósforo (kg de P ₂ O ₅ /ha)	Sem FMA	Com FMA	Média
	Número de esporos ³ (unid./g de solo)		
0	0,89bA	4,89aA	2,89A
20	0,80bA	4,92aA	2,86AB
40	0,91bA	3,72aB	2,32B
Média	0,86b	4,51a	
CV(%) = 24,17			
	Colonização radicular ⁴ (%)		
0	1,83bA	52,88aB	27,35B
20	2,77bA	59,47aA	31,12A
40	1,59bA	62,84aA	32,21A
Média	2,06b	58,39a	
CV(%) = 8,04			

¹ Valores seguidos da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

² Médias de 12 repetições.

³ Valores transformados em $\sqrt{(x+0,5)}$; médias de oito repetições.

⁴ Valores transformados em $\arcsen \sqrt{(x/100)}$; médias de oito repetições.

em relação à matéria seca dos nódulos (MSN), da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR). Quando inoculou-se simultaneamente com rizóbio e micorriza, a MSN foi 392% superior à inoculação isolada de FMA e mais de 159.000% superior à inoculação de rizóbio isolado, apesar de as médias isoladas de cada inóculo terem sido elevadas. A ocorrência de nodulação na ausência da inoculação rizobiana e na presença de fungos micorrízicos arbusculares talvez tenha sido causada por contaminação durante o processo de produção de inóculo com os fungos. Dados semelhantes foram observados por Bonetti (1989), quando estudou o efeito de micorrizas arbusculares na nodulação, crescimento e absorção de P e N em siratro. Segundo Pacovsky et al. (1986) e Silveira et al. (1995), as plantas quando micorrizadas geralmente apresentam um metabolismo mais elevado do que as não-micorrizadas, sendo capazes de fornecer maior quantidade de carboidratos e P ao rizóbio; conseqüentemente essas plantas apresentam uma nodulação significativamente maior. Os resultados do tratamento com dupla inoculação, em relação a MSPA e MSR, foram 64% e 30%, respectivamente, superiores em relação às mudas micorrizadas e 900% e 471% superiores em relação às mudas inoculadas apenas com rizóbio. Tais resultados corroboram os de Almeida et al. (1991), quando estudaram o efeito de níveis de P de rocha e da inoculação de *Rhizobium* sp. e *Glomus macrocarpum* sobre o desenvolvimento de jurema-preta. Em experimentos realizados com mudas de sabiá e leucena, também constatou-se a influência da dupla inoculação no rendimento da MSPA, porém os valores alcançados não foram estatisticamente significativos (Almeida et al., 1987). Em estudo com *Albizia* sp., inoculada com *Glomus etunicatum* e *Rhizobium* na presença de adubação fosfatada e nitrogenada, Faria et al. (1995) observaram que houve crescimento das plantas e aumento na nodulação quando inoculadas com *Glomus etunicatum* e adubadas com P.

Os melhores resultados de altura de planta (AP) e área foliar (AF) (Tabela 1) foram observados na interação rizóbio-micorriza, apresentando-se 127% e 982%, respectivamente, superiores aos tratamentos controle. Com relação ao número de esporos no solo (NES), os resultados foram contrários aos obtidos

para os parâmetros citados anteriormente; o NES foi maior no tratamento inoculado apenas com micorriza. Esses resultados podem indicar que a tríplice interação leguminosa-rizóbio-micorriza pode inibir a esporulação do FMA, apesar de ter promovido aumentos significativos na nodulação, MSPA, MSR, AF e AP. Outro fato que pode ter ocorrido foi, provavelmente, a presença de certos nutrientes que tenham proporcionado ao FMA condição favorável para a sobrevivência na planta hospedeira e, com isto, inibiu a esporulação do fungo no solo, uma vez que o esporo é uma estrutura de sobrevivência da espécie. Como as micorrizas precisam de uma condição equilibrada entre fungo-planta e ambiente (condições edafoclimáticas), faz-se necessário estudo mais aprofundado para se chegar a conclusões mais precisas do fato observado.

Ao analisarem-se os dados em função dos níveis de P estudados, percebeu-se que os parâmetros NES e colonização radicular (CR) apresentaram interação significativa com os FMA (Tabela 1); o nível de 40 kg/ha de P_2O_5 (ou 20 ppm de P) apresentou inibição da micorrização, uma vez que, com FMA, o NES foi superior nos níveis de 0 e 20 kg/ha de P_2O_5 (0 e 10 ppm). Tais dados podem ser justificados provavelmente pelo efeito da aplicação do P, inibindo a esporulação. Paula et al. (1993) apresentaram resultados semelhantes ao estudarem a ocorrência de FMA e de bactérias diazotróficas na cultura da batata-doce. Quanto à colonização radicular de FMA, os valores foram crescentes com o aumento dos níveis de P; os níveis 20 e 40 foram superiores ao nível 0, mas não diferiram entre si. A ação do P parece ocorrer por meio de sua concentração na planta (Sanders et al., 1975), portanto é possível imaginar que a aplicação de P possa ter um efeito diferente em função da espécie estudada. Segundo Menge et al. (1978), o mecanismo que regula a relação entre a infecção das raízes por FMA não é ainda bem conhecido, mas deve estar associado ao nível crítico interno de P da planta hospedeira. Almeida et al. (1987) observaram que na leucena e no sabiá, embora a inoculação com *Glomus macrocarpum* tenha causado um rendimento de frequência e intensidade de infecção micorrízica, este não foi significativo em relação aos tratamentos

não-inoculados em relação aos inoculados, cuja infecção foi determinada pelos endófitos nativos.

O nível de P aplicado não apresentou interação positiva com a altura da planta em função da inoculação com e sem rizóbio (Fig. 1). Os resultados relativos à atividade da nitrogenase (ARA) (Fig. 2) apresentaram uma interação significativa quando são comparados os tratamentos com dupla inoculação e sem rizóbio. Apesar de não ter havido diferença significativa entre as médias dos níveis, ao se analisar separadamente cada nível, nota-se que no nível 0, o ARA foi bem maior na dupla inoculação, com 312,81 μmoles de $\text{C}_2\text{H}_2/\text{h}$, com uma eficiência de 592%, quando comparado com os tratamentos inoculados apenas com o rizóbio. Esses incrementos foram de 465% e 628% em relação aos níveis 20 e 40, respectivamente. Segundo Smith et al. (1979) e Mosse (1981), a eficiência micorrízica no processo

de fixação de N atmosférico foi observada em outras leguminosas, e o rendimento na fixação de N_2 em rizóbio em mudas de sabiá pode ter sido favorecido pela micorrização que satisfaz a demanda de P nesse processo. Em solos com deficiência de N e P, a relação entre FMA e o rizóbio é de grande importância; a fixação biológica do N, cuja eficiência depende de um balanço nutricional adequado na planta hospedeira, especialmente do nível de P, pode depender também do *status* micorrízico da planta (Diederichs, 1990). De acordo com Sieverding (1992), a fixação de N requer bastante energia e estímulo ao crescimento, e maior absorção de P por fungos micorrízicos arbusculares, podendo aumentar a superfície de área foliar das leguminosas, que neste caso podem suplementar fotossintetatos suficientes para o simbionte e suprir a demanda de energia.

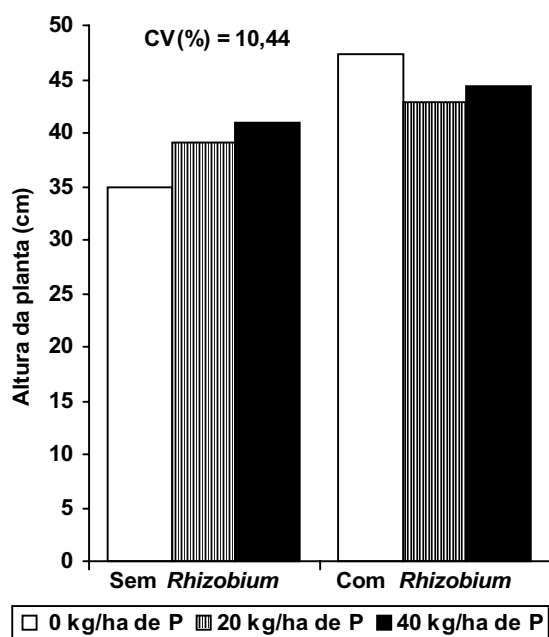


FIG. 1. Altura da planta na presença e ausência de *Rhizobium* em três diferentes níveis de P, em sabiá (*Mimosa caesalpinifolia*). Média de 12 repetições.

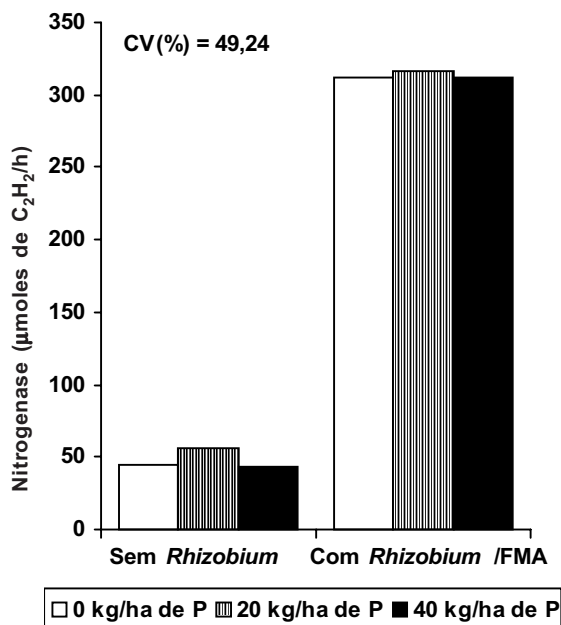


FIG. 2. Atividade da nitrogenase pelo método de redução de acetileno na presença da dupla inoculação e ausência de *Rhizobium* em três diferentes níveis de P em sabiá (*Mimosa caesalpinifolia*). Média de 12 repetições.

CONCLUSÕES

1. A dupla inoculação (rizóbio/micorriza) apresenta maior eficiência na nodulação, área foliar, colonização radicular e atividade da nitrogenase em relação à inoculação com rizóbio, em mudas de sabiá.

2. A presença do rizóbio aumenta a colonização micorrízica e diminui a esporulação.

3. Os níveis de P integram com número de esporos no solo, colonização radicular e atividade da nitrogenase; entretanto não diferem entre si quanto à melhor dosagem a ser aplicada na cultura do sabiá.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R.T. de; FREIRE, V.F.; VASCONCELOS, I. Efeitos da interação *Glomus macrocarpum*, *Rhizobium* sp. e níveis crescentes de fosfatos de rocha sobre o desenvolvimento de mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia*) e de leucena (*Leucena leucocephala* Lam. de Witt). **Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.18, n.1, p.131-136, 1987.
- ALMEIDA, R.T. de; VASCONCELOS, L.; FREIRE, V.F. Efeito de níveis de fosfatos de rocha e da inoculação de *Rhizobium* sp. e *Glomus macrocarpum* Tul. sobre o desenvolvimento da jurema preta, *Mimosa acutistipula* Benth. **Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.22, n.1/2, p.1-5, 1991.
- BONETTI, R. Efeito de micorrizas vesiculares-arbusculares na nodulação, crescimento e absorção do fósforo e nitrogênio em siratro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.2, n.2, p.189-192, 1989.
- DIEDERICHS, C. Improved growth of *Cajanus cajan* (L.) Millsp. in an unsterile soil by three mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.123, p.261-266, 1990.
- DÖBEREINER, J. Nodulação e fixação de nitrogênio em leguminosas florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, s/n, p.83-90, jun. 1984. Edição Especial.
- FARIA, M.P.; SIQUEIRA, J.O.; VALEE, F.R.; CURTI, N. Crescimento de leguminosas arbóreas em resposta a fósforo, nitrogênio, fungo micorrízico e rizóbio. I. *Albizia lebeck* (L.) Benth. **Revista Árvore**, Viçosa, v.19, n.3, p.293-307, 1995.
- GERDEMANN, J.N. Vesicular-arbuscular micorrhiza. In: TORREY, J.G.; CLARKSON, D.T. (Eds.). **The development and function of roots**. New York : Academic, 1975. p.573-579.
- GERDEMANN, J.N.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogenous species extracted from soil by wet sieving and decanting. **British Mycological Society Transactions**, Cambridge, Grã-Bretanha, v.46, n.2, p.235-244, 1963.
- GIBBSON, A.H. Limitation to dinitrogen fixation in legumes. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF NITROGEN FIXATION, 1976, Washington. **Proceedings**. Washington : University Press, 1976. p.400-428.
- MENGE, J.A.; STEIRLE, D.; BAGYARAJ, D.J.; JONHSON, E.L.V.; LEONARD, R.T. Phosphorus concentrations in plants responsible for inhibition of mycorrhizal infections. **New Phytologist**, Cambridge, Grã-Bretanha, v.80, p.75-80, 1978.
- MOSSE, B. **Vesicular-arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture**. Hawaii : University of Hawaii-Institute for Tropical Agriculture and Human Resources, 1981. 82p. (ITAGR. Research Bulletin, 194).
- PACOVSKY, R.S.; PAUL, E.A.; BETHLENTALVAY, G.J. Response of mycorrhizal and P-fertilized soybean to nodulation by *Bradyrhizobium* or ammonium nitrate. **Crop Science**, Madison, v.26, n.1, p.145-150, 1986.
- PAULA, M.A.; SIQUEIRA, J.O.; DOBEREINER, J. Ocorrência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares e de bactérias diazotróficas na cultura da batata-doce. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.17, n.3, p.319-419, 1993.
- PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **British Mycological Society Transactions**, Cambridge, Grã-Bretanha, v.55, p.158-161, 1970.
- SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B. Endomycorrhizal inoculation in soil. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, v.23, p.219-223, 1975.
- SIEVERDING, E. **Vesicular-arbuscular mycorrhiza**. [S.l.] : GTZ, 1992. 371p.

- SILVA, R.A. da. **Efeito da inoculação com *Bradyrhizobium* e da calagem em sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia*) em dois solos ácidos do Estado de Pernambuco.** Recife : UFRPE, 1995. 126p. Tese de Mestrado.
- SILVEIRA, A.P.D.; FREITAS, S.S.; SILVA, L.R.C.; LOMBARDI, M.L.C.O.; CARDOSO, E.J.B.N. Interações de micorrizas arbusculares e rizobactérias promotoras do crescimento em plantas de feijão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.19, p.205-211, 1995.
- SIQUEIRA, J.O. **Nutritional and edaphic factors affecting spores germination, germ tube and root colonization by vesicular-arbuscular-mycorrhizal fungi.** Gainesville : University of Florida, 1983. 159p. Ph.D. Thesis.
- SMITH, S.E.; NICHOLAS, D.J.D.; SMITH, F.A. Effect of early mycorrhizal infection on nodulation and nitrogen fixation in *Trifolium subterraneum* L. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v.6, p.305-311, 1979.
- VASCONCELOS, I.; ALMEIDA, R.T.; MENDES FILHO, P.F.; LADIM, C.M.V. Comportamento de 13 estirpes de *Rhizobium* sp. em simbiose com sabiá, *Mimosa caesalpinifolia* Benth. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v.15, n.1/2, p.133-138, 1984.