

RAFAEL BARROCA SILVA

**EFEITOS DA INOCULAÇÃO DE MUDAS DE FARINHA-SECA (*Albizia niopoides*
(SPRUCE EX BENTH.) BURKART) COM BACTÉRIA DIAZOTRÓFICA E
ADUBAÇÃO NITROGENADA EM VIVEIRO**

Botucatu

2017

RAFAEL BARROCA SILVA

**EFEITOS DA INOCULAÇÃO DE MUDAS DE FARINHA-SECA (*Albizia niopoides*
(SPRUCE EX BENTH.) BURKART) COM BACTÉRIA DIAZOTRÓFICA E
ADUBAÇÃO NITROGENADA EM VIVEIRO**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus
de Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Ciência Florestal

Orientador: Prof. Dr. Iraê Amaral Guerrini

Coorientadora: Prof^a Dr^a Magali Ribeiro da
Silva

Botucatu

2017

S586e	Silva, Rafael Barroca Efeitos da inoculação de mudas de farinha-seca (<i>Albizia niopoides</i> (Spruce ex Benth.) Burkart) com bactéria diazotrófica e adubação nitrogenada em viveiro / Rafael Barroca Silva. -- Botucatu, 2017 65 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu Orientador: Iraê Amaral Guerrini Coorientadora: Magali Ribeiro da Silva 1. Biotecnologia. 2. Viveiro florestal. 3. <i>Bradyrhizobium elkanii</i>. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITOS DA INOCULAÇÃO DE MUDAS DE FARINHA-SECA (*Albizia niopoides* (Spruce ex Benth.) Burkart) COM BACTÉRIA DIAZOTRÓFICA E ADUBAÇÃO NITROGENADA EM VIVEIRO

AUTOR: RAFAEL BARROCA SILVA

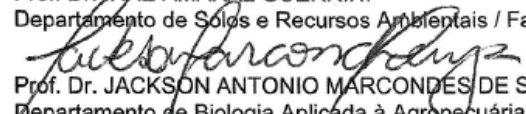
ORIENTADOR: IRAÊ AMARAL GUERRINI

COORDINADORA: MAGALI RIBEIRO DA SILVA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência Florestal, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. IRAÊ AMARAL GUERRINI

Departamento de Solos e Recursos Ambientais / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu


Prof. Dr. JACKSON ANTONIO MARCONDES DE SOUZA

Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. ROBERTO LYRA VILLAS BOAS

Depto de Solos e Recursos Ambientais / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu

Botucatu, 17 de agosto de 2017

AD REGINA COELI

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais: ao meu pai, Edilson, que sempre ajudou no que era necessário para a pesquisa, inclusive coletando sementes da espécie estudada; minha mãe, Maria Alice, que apoiou a decisão de vir estudar longe de casa; e à minha irmã, Ana Paula.

Agradeço ao prof. Iraê, que me acolheu como orientado desde o início, e por sua confiança e paciência na realização do trabalho.

Agradeço a prof^a Magali, que aceitou prontamente ser co-orientadora do projeto e por suas valiosas contribuições para a execução da pesquisa.

À Cristiane de Pieri, que ajudou imensamente com a manipulação do inoculante para a pesquisa, especiais agradecimentos.

Ao prof. Raimundo, pela prontidão na ajuda na estatística da pesquisa, e também pelos conhecimentos que adquiri com sua experiência no assunto.

Agradecimentos especiais para a dr^a Rosa Pitard e Orivaldo Saggin, da Embrapa Agrobiologia, de Seropédica – RJ, por suas sugestões antes dos experimentos e por fornecerem prontamente inoculante para a realização do experimento.

À Glaucia Uesugi, pela amizade e prontidão na ajuda com a pesquisa.

A todo o pessoal do Depto de Ciência Florestal, especialmente aqueles com os quais convivi e me ajudaram muito no cultivo das plantas (Sr. João, Dinho e Claudinho). Também a toda a equipe do Depto de Solos e Recursos Ambientais, pelo apoio e amizade. Devo citar também a equipe da Biblioteca, que cuidam do acervo de tantas informações que ajudaram na construção do trabalho.

Durante esse período do curso de Mestrado, aprendi que uma pesquisa se faz com muitas mentes e muitas mãos. Por isso, agradeço também a todos aqueles responsáveis pelo conhecimento existente sobre o assunto deste trabalho.

Agradeço também a todas as pessoas que conheci e convivi aqui em Botucatu, cidade que me acolheu tão bem desde que cheguei, nas últimas semanas de 2014.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de financiamento 001.

RESUMO

A inoculação de leguminosas arbóreas nativas com bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) pode favorecer a produção de mudas e até mesmo o sucesso no plantio definitivo, em campo. A adubação nitrogenada é fator importante no desempenho da fixação biológica em leguminosas, podendo reduzi-la ou inibi-la. Este trabalho testou os efeitos da inoculação de mudas de farinha-seca (*Albizia niopoides* (Spruce ex Benth.) Burkart) com *Bradyrhizobium elkanii*, estirpe BR 5611, e de cinco níveis de nitrogênio aplicados via ureia em solução nutritiva, semanalmente. As plantas foram mantidas em tubetes de 115 cm³ com substrato comercial à base de turfa. Acompanhou-se o crescimento ao longo do tempo, e no final também foram feitas avaliações de nodulação, teor e conteúdo de N e teor indireto de clorofila. Neste experimento, a produção das mudas se estendeu por quase um ano. Tanto a inoculação com rizóbios quanto as doses de nitrogênio aplicadas influenciaram o crescimento das mudas. A inoculação com BFN reduziu a necessidade de fertilização nitrogenada para as mudas atingirem valores máximos de altura e biomassa. Foi estimada a dose de 663 mg L⁻¹ de N para a altura máxima nas plantas inoculadas, contra 1136 mg L⁻¹ de N no grupo sem inoculação. Doses maiores, de 1000 e 2000 mg L⁻¹ de N ocasionaram redução acentuada de nodulação, além de prejudicar o crescimento das mudas, especialmente a formação de raízes.

Palavras-chave: rizóbios; *Bradyrhizobium elkanii*; biotecnologia; viveiro florestal; essências nativas

ABSTRACT

The inoculation of native legume trees with rhizobia (that perform biological nitrogen fixing – BNF) may support production of seedlings and even success at post-planting in the field. Nitrogen fertilization is an important factor in BNF performance in legumes, which may be reduced or inhibited depending on nitrogen levels. This study evaluated the effects of inoculation of *Albizia niopoides* (Spruce ex Benth.) Burkart seedlings with *Bradyrhizobium elkanii* (strain BR 5611) and five rates of nitrogen applied via urea on plant growth. The seedlings were grown in plastic bags (115 cm³) filled with peat-based commercial substrate. Growth was measured during the period of seedlings production, and seedling quality indices, nodulation, N content on tissues and indirect content of chlorophyll in leaves were also evaluated at end. Production of seedlings has lasted for almost a year. Both N-fertilization and inoculation with rhizobia influenced plant growth. The requirement of nitrogen fertilization to attain the maximum height and biomass was smaller when seedlings were inoculated with rhizobia. It was estimated a dose of 663 mg L⁻¹ of N for maximum height in inoculated seedlings, whereas 1136 mg L⁻¹ in non-inoculated plants. Higher doses of 1000 and 2000 mg L⁻¹ of N, induced marked reduction of nodulation, besides harmed growth of seedlings, notably the roots generation.

Keywords: rhizobia; *Bradyrhizobium elkanii*; biotechnology; nursery; native species.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	PRODUÇÃO E QUALIDADE DE MUDAS DE ESPÉCIES ARBÓREAS.....	17
2.1.1	Adubação nitrogenada em mudas.....	18
2.2	LEGUMINOSAS ARBÓREAS E FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO	19
2.2.1	Distribuição da fixação de nitrogênio na família Fabaceae	20
2.2.2	Importância da simbiose rizóbio-leguminosa em ecossistemas naturais e antrópicos	21
2.3	A FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO.....	23
2.3.1	A fixação do N	23
2.3.2	Fixação biológica.....	23
2.3.3	FBN em legumes.....	24
2.3.4	FBN em legumes e adubação nitrogenada	25
2.4	FBN RELACIONADA AO DESEMPENHO DE MUDAS EM CAMPO	27
2.5	FARINHA-SECA (<i>ALBIZIA NIOPOIDES</i>).....	27
2.6	OBJETIVOS DA PESQUISA	28
3	MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1	SEMENTES E SEMEADURA.....	30
3.2	INOCULAÇÃO	30
3.3	INSTALAÇÃO EM CANTEIROS DE CULTIVO E TRATAMENTOS DE ADUBAÇÃO.....	31
3.4	AVALIAÇÕES E ANÁLISES DE DADOS.....	33
3.4.1	Coleta de dados	33
3.4.2	Análises estatísticas	35
4	RESULTADOS.....	36
4.1	DESENVOLVIMENTO DAS MUDAS AO LONGO DO TEMPO	36
4.2	MODELOS DE REGRESSÃO NÃO-LINEAR PARA ALTURA E DIÂMETRO DAS MUDAS ..	40
4.3	ANÁLISE DE DEVIANCE	43
4.4	ÍNDICE SPAD.....	49
4.5	TEORES DE N NOS TECIDOS.....	49
5	DISCUSSÃO	52
6	CONCLUSÕES	56
	REFERÊNCIAS.....	57

1 INTRODUÇÃO

A produção de mudas de árvores nativas é uma importante ferramenta para vários fins, como restauração ecológica de áreas degradadas, sistemas de produção agropecuária e arborização urbana.

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) realizada pela simbiose entre plantas leguminosas e um grupo de várias espécies de bactérias fixadoras de nitrogênio – conhecidas genericamente por “rizóbios” – é um fenômeno ecológico que, desde que dispostas condições adequadas, pode trazer grandes benefícios ao desenvolvimento vegetal, através do fornecimento do nutriente à planta. Isso pode contribuir na produção e qualidade de mudas de espécies arbóreas, que comumente são produzidas em viveiros.

Essa associação rizóbio-leguminosa caracteriza-se, geralmente, pela presença de colônias dessas bactérias vivendo em nódulos radiculares de várias espécies da família Fabaceae (=Leguminosae). Aí ocorre a redução do nitrogênio inorgânico (N_2 , abundante no ar atmosférico) à amônia (NH_3), que será utilizada pelo metabolismo vegetal. Em troca, a planta mantém a população de rizóbios com fotoassimilados. Nas espécies arbóreas, a inoculação com esses microrganismos pode beneficiar tanto a produção da muda, pela aquisição de nitrogênio, como após o plantio em local definitivo, onde terá, em tese, uma fonte de N constante. Os benefícios podem se estender ainda a todo o ecossistema onde a planta será inserida, através de ciclagem de nutrientes e outras interações simbióticas.

A disponibilidade de nitrogênio mineral às raízes é um dos fatores de maior influência na eficiência da simbiose rizóbio-leguminosa, podendo, em concentrações elevadas, reduzir ou até anular o funcionamento do processo. Em viveiros, isso pode acontecer por meio das adubações, práticas cotidianas e necessárias ao bom desenvolvimento das mudas produzidas. No entanto, vários outros fatores também modulam o funcionamento da simbiose, dentre eles as características genéticas das espécies das partes envolvidas.

A farinha-seca (*Albizia niopoides* (Spruce ex Benth.) Burkart) é árvore leguminosa de médio a grande porte, de ocorrência ampla na América Latina. É natural de florestas decíduas ou semi-decíduas, mas ocorre frequentemente em

outras áreas abertas, como pastagens. É cultivada para projetos de restauração ecológica, como recomposição florestal, em sistemas de produção agropecuária, inclusive em países da África e na Índia. Além disso, devido ao seu valor ornamental, é muito usada em arborização urbana. É conhecida sua capacidade de nodulação e fixação de nitrogênio, mas ainda é pequeno o conhecimento sobre sua interação com esta simbiose.

Desse modo, foi desenvolvida uma pesquisa a fim de estudar o efeito da inoculação de mudas de farinha-seca com bactérias fixadoras de nitrogênio, e como é a interação da simbiose com níveis crescentes de adubação nitrogenada. Para isso, foram considerados os padrões morfológicos e qualidade da muda e a nodulação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção e qualidade de mudas de espécies arbóreas

A produção de mudas de espécies arbóreas é de grande utilidade para diversos fins. Em recuperação de ecossistemas florestais em áreas degradadas, por exemplo, o plantio de mudas acelera a sucessão ecológica, reduzindo o tempo necessário para que os objetivos planejados sejam alcançados, se comparado à sucessão natural (MIYAWAKI, 1993). Nas últimas décadas, no Brasil, tem sido crescente o interesse na produção de mudas de espécies nativas, grande parte em decorrência da preocupação na conservação dos recursos naturais e uso econômico de essências locais (CRESTANA et al., 2006; CARVALHO, 1982).

O termo “qualidade da muda” designa atributos morfológicos, fisiológicos, sanitários e nutricionais que são desejáveis para um rápido estabelecimento e crescimento inicial da planta após o plantio no local definitivo (HAHN et al., 2006). No entanto, o termo é subjetivo, pois esses atributos desejáveis variam conforme as condições ambientais e ecológicas dos locais de plantio (CARNEIRO, 1995).

As características morfológicas são facilmente mensuráveis: altura, diâmetro do colo, número de folhas e massas de tecidos.

Em referência à parte aérea, mudas mais altas e com maior diâmetro têm, na maioria das vezes, maior vantagem competitiva no crescimento após o plantio, com maior área foliar e ocupação do espaço (GROSSNICKLE; MACDONALDS, 2018). O diâmetro, inclusive, é um bom indicador de qualidade para a muda, relacionado com o desenvolvimento após o plantio (BAYALA et al., 2009). É importante observar, no entanto, que é necessário haver um equilíbrio entre a altura e o diâmetro. Mudas muito altas e com pouco diâmetro podem indicar estiolamento, e estão mais sujeitas a danos físicos durante as operações de plantio (HAHN et al., 2006).

A integridade do sistema radicular é, muitas vezes, de maior importância para o planejamento de um reflorestamento, já que, após o plantio, as raízes serão responsáveis pela absorção de água e nutrientes, fundamentais para o crescimento vegetal (DAVIS; JACOBS, 2005). Mudas com menor massa radicular e menor

potencial de emissão de raízes finas podem não conseguir absorver água suficiente para a transpiração das folhas, causando a morte da planta.

O Índice de Qualidade de Dickson (IQD) é um indicador de qualidade desenvolvido para mudas florestais da América do Norte (DICKSON; LEAF; HOSNER, 1960). É bastante usado em pesquisas para espécies florestais do Brasil (LEITE et al., 2017; KOZEN et al., 2017). O índice é calculado com base nos valores de altura, diâmetro e massas aérea e radicular da muda, e tende a ser maior quanto maior for a relação massa radicular : massa aérea e diâmetro : altura.

2.1.1 Adubação nitrogenada em mudas

O manejo nutricional do nitrogênio é bastante relevante, uma vez que o nutriente é encontrado em grandes quantidades nos tecidos vegetais (GROSSNICKLE; MACDONALDS, 2018).

O fornecimento de N para mudas florestais durante a fase de cultivo em viveiros está ligado ao aumento da taxa fotossintética (DUAN; CHANG, 2017) e maior crescimento da planta (JACKSON; DUMROESE; BARNETT, 2012), principalmente em tecidos de parte aérea (AIAZZI; ARGÜELLO; ABRIL, 1996).

Além disso, a adubação nitrogenada pode ser manejada com o objetivo de gerar acúmulo do nutriente nas mudas, que pode ser usado pela planta para um crescimento mais rápido após o plantio em campo (GROSSNICKLE; MACDONALDS, 2018). Em experimento com *Populus tremuloides*, Pokharel e Chang (2016) observaram que plantas adubadas com níveis crescentes de N durante a fase de viveiro tiveram acúmulo do nutriente e retranslocação para a formação de ramos e folhas novos.

A fertilização com N também pode ser usada como ferramenta para aumentar a tolerância das mudas a ambientes com salinidade, com aumento da taxa de fotossíntese e crescimento da planta (DUAN; CHANG, 2017). Porém, esse efeito é dependente entre as espécies de árvores, assim como dos níveis de salinidade no solo (DUAN; CHANG, 2017).

Entretanto, um excesso de N fornecido pode levar a prejuízos para a qualidade de mudas. Quando absorvido em forma de amônio (NH_4), o nitrogênio deve ser prontamente metabolizado em compostos orgânicos, uma vez que mesmo em baixas concentrações, essa molécula é tóxica (BARKER; BRYSON, 2007). Quando o nitrato (NO_3) é a forma absorvida, pode ser estocado no vacúolo da célula, havendo menor problema de toxicidade (BARKER; BRYSON, 2007). O excesso de amônio disponível no meio pode levar à redução do crescimento e deformação das raízes e, conseqüentemente, do crescimento da parte aérea, como observado em mudas de *Sesbania sesban* em experimento de Dan e Brix (2009).

No Brasil, as espécies nativas – ao contrário de outras com grande uso econômico, como eucalipto e pinus, que já possuem vasto conhecimento das necessidades nutricionais – precisam ser mais estudadas acerca de suas demandas nutricionais, a fim de obtenção de maior conhecimento para definir manejos nutricionais mais eficientes (RESENDE; FURTINI NETO; CURI, 2005).

2.2 Leguminosas arbóreas e fixação de nitrogênio

A família Fabaceae (=Leguminosae) é uma das maiores famílias botânicas do mundo, com cerca de 19500 espécies. Presente em todos os continentes, tem grande variedade de hábitos, desde pequenas ervas até enormes árvores de florestas tropicais (ILDIS, 2006). Lewis et al. (2005) expõem a subdivisão clássica em três subfamílias: Caesalpinoideae, Mimosoideae e Papilionoideae, podendo ser distinguidas pela morfologia dos órgãos reprodutivos e vegetativos.

As espécies arbóreas estão presentes em todas as subfamílias, sendo bastante abundantes em Caesalpinoideae. As leguminosas arbóreas são reconhecidas por boas características de sistema radicular, taxa de crescimento, ciclagem de nutrientes e tolerância às variadas condições adversas. Uma das características que mais influenciam na boa aceitação das espécies é a capacidade de associar-se com bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) – chamadas genericamente de “rizóbios” –, resultando na fixação biológica de nitrogênio (CHAER et al., 2011; GALIANA et al., 1998). A formação de nódulos nas raízes indica a infecção da planta pelas bactérias. Em decorrência disso, o interesse em leguminosas que fixam nitrogênio vem

crescendo há algumas décadas (GALVÃO, 1984; DÖBEREINER, 1984; LEDGARD, 1991; ODEE et al., 1995).

2.2.1 Distribuição da fixação de nitrogênio na família Fabaceae

Não são todas as espécies leguminosas que são capazes de formar nódulos (ver seção 2.3.3). Entre as três subfamílias propostas por Lewis et al. (2005) (Caesalpinoideae, Mimosoideae e Papilionoideae), é grande a variação no número de espécies capazes de nodulação.

A maioria das espécies de Caesalpinoideae são árvores, e apenas 20-30% delas é capaz de formar nódulos de rizóbios. A simbiose é relatada em apenas alguns gêneros, como *Chamaecrista* e *Campsiandra* (FARIA & LIMA, 1998), cujas espécies são em sua maioria herbáceas ou arbustivas. Dentre as poucas árvores que formam nódulos está *Melanoxylon brauna*, nativa do sudeste do país (FARIA et al., 1984). Existe um interesse silvícola considerável por várias outras essências florestais nativas, como paricá (*Schizolobium amazonicum*), guapuruvu (*S. parahyba*), copaíbas (*Copaifera* spp.), pau-brasil (*Caesalpinia echinata*) e canafístula (*Peltophorum dubium*). Estas espécies, porém, não formam nódulos (FARIA; LIMA & 1998; FARIA et al., 1989). Entretanto, existem evidências, discutidas por Bryan et al. (1996), que indicam a possibilidade de fixação de nitrogênio por meio de outras associações endofíticas em leguminosas sem a presença de nódulos. Os autores relatam a redução de acetileno em espécies leguminosas que não formam nódulos, e, em algumas destas espécies, foram observadas estruturas semelhantes a bacteroides no interior das raízes, o que poderiam ser associações endofíticas. O estudo de Dias et al. (2007) mostrou um enriquecimento de nitrogênio por indivíduos de *Peltophorum dubium* (que não forma nódulos), semelhante ao que acontecia com *Dalbergia nigra* e *Enterolobium contortisiliquum*, que são nodulíferas, sugerindo que, não obstante a ausência de nodulação, indivíduos de *P. dubium* também podem, através da FBN, contribuir para um suprimento de nitrogênio no ecossistema.

A subfamília Mimosoideae é representada principalmente por espécies arbóreas (SPRENT & PARSONS, 2000), e a nodulação acontece em cerca de 80-90% das espécies estudadas (FARIA & LIMA, 1998; FARIA et al., 1984, 1989). As

espécies nativas de maior interesse são as dos gêneros *Mimosa* (p. ex. *M. scabrella*, cultivada na região Sul para diversos fins); *Anadenanthera* (angicos), utilizadas em algumas regiões como madeira e lenha; *Inga*, importantes em sistemas agroflorestais e recuperação ambiental; *Albizia* e *Enterolobium*, usadas em sistemas silvopastoris e recuperação ambiental. As espécies que não nodulam são exceções. No gênero *Acacia*, parte considerável das espécies não fazem associações com rizóbio (FARIA, 1989).

A subfamília Papilionoideae é a mais diversa das leguminosas, sendo herbáceas a maior parte de suas espécies. Nela estão incluídas muitas culturas agrícolas, como soja, feijão e favas. Também é considerável a quantidade de espécies arbóreas e arbustivas que fazem associação com rizóbios. O gênero *Dalbergia* é de ampla ocorrência nos trópicos (SPRENT & PARSONS, 2000), e no Brasil destaca-se o jacarandá-da-Bahia (*Dalbergia nigra*), muito utilizado pela beleza e qualidade da madeira. Várias espécies dos gêneros *Machaerium* e *Andira* são interessantes do ponto de vista da recuperação ambiental e uso em sistemas silvopastoris. Apenas algumas espécies não formam nódulos, como *Dipterix alata* e *Pterocarpus santalinoides*. (SPRENT & PARSONS, 2000; FARIA & LIMA, 1998).

2.2.2 Importância da simbiose rizóbio-leguminosa em ecossistemas naturais e antrópicos

Desde o início das pesquisas sobre a simbiose rizóbio-leguminosa (inicialmente em espécies herbáceas), essa interação chamou a atenção de pesquisadores justamente pelo fato de poder suprir a planta com nitrogênio, reduzindo assim a necessidade de fornecimento via adubação (UCHÔA CAVALCANTI, 1998). Desde então, tem-se visto que a inoculação de várias espécies, tanto herbáceas quanto arbóreas, pode proporcionar considerável aporte de N ao vegetal, chegando ao ponto de, algumas vezes, ser desnecessária a aplicação de adubos nitrogenados a algumas espécies cultivadas.

No entanto, o potencial benéfico da FBN em leguminosas se estende além das plantas hospedeiras. Devido ao fato de haver um enriquecimento do tecido vegetal em nitrogênio, haverá um input do nutriente no ecossistema, que pode acontecer pela

ciclagem de nutrientes (deposição de folhas e outros resíduos, etc), ou pela exsudação de nitrogênio orgânico das raízes ou conexões entre plantas por redes de micorrizas. O trabalho de Dias et al. (2007), usando ^{15}N , mostrou que indivíduos adultos de *Dalbergia nigra*, *Enterolobium contortisiliquum* e *Peltophorum dubium* forneceram nitrogênio para o capim Survenola (*Digitaria setivalva* x *D. valida*), que crescia ao lado. Também foi observado, em trabalho de Rodrigues et al. (2003), que a inoculação com rizóbios e fungos micorrízicos arbusculares aumentou o teor de nitrogênio nos tecidos de eucalipto e *Sesbania virgata* (Papilionoideae), espécie bastante usada em recuperação ambiental e reflorestamento. Foi confirmado que plantas de eucalipto receberam nitrogênio oriundo de *S. virgata*, além de absorção do solo. Galiana et al. (1998) relatam que a inoculação com rizóbio tem efeitos positivos no desenvolvimento de *Acacia mangium*, em vários locais do mundo. Essa espécie exótica é bastante cultivada no Brasil, tanto em reflorestamentos com fins madeireiros como em arborização.

O uso de espécies leguminosas em sistemas agroflorestais é bastante indicado (SCHERR, 1990), e não é prática recente. Já durante os anos 1940, Hoehne (1946) indicava o uso de ingazeiros (*Inga* spp.) e outras plantas para o sombreamento de cafezais, justamente pela FBN e maior ciclagem de nutrientes, pelas raízes profundas e formação de serapilheira. Além disso, outras características de espécies leguminosas, como capacidade de rebrota e facilidade de manejo justificam o seu uso em sombreamento de culturas e outras aplicações (BUDOWSKI et al., 1984). Em solos arenosos do Sudão Ocidental, muitos agricultores praticam cultivos integrados de culturas agrícolas com *Acacia senegal*, pequena árvore fornecedora de goma arábica. Esses sistemas têm grande importância regional na conservação e restauração da fertilidade dos solos e fornecimento de lenha e alimentação animal (BUNDERSON et al., 1990). Kass et al. (1997) relatam que, apesar do amplo uso de várias leguminosas em plantações de cacau e café, em vários sistemas agroflorestais nas Américas, ainda faltam estudos sobre a importância da FBN nesses sistemas.

Outro uso interessante para as leguminosas fixadoras de nitrogênio é em projetos de restauração ecológica, tanto para restauração de solos degradados ou recomposição florestal. Franco e Faria (1997) indicam práticas de inoculação de bactérias diazotróficas e micorrizas arbusculares em leguminosas, com baixa necessidade de adubação. O uso de leguminosas fixadoras de N para esses fins

também estimulam os processos de sucessão vegetal, especialmente quando feita uma escolha adequada de espécies (CHAER et al., 2011).

2.3 A fixação biológica de nitrogênio

2.3.1 A fixação do N

O nitrogênio é um nutriente essencial ao desenvolvimento vegetal, sendo constituinte de várias moléculas fundamentais ao metabolismo celular, como os aminoácidos, ácidos nucleicos e clorofila (RAVEN, EVERT; EICHHORN 2007). Entretanto, o N-atmosférico, na forma de N_2 (gás dinitrogênio) – que é a maior reserva do elemento no planeta –, é indisponível para os seres vivos. Isso ocorre devido à alta estabilidade da molécula de N_2 , de ligação tripla, que necessita de alta energia para ser rompida e permitir um novo arranjo de moléculas orgânicas. O gás N_2 deve, portanto, ser convertido a uma forma assimilável ao metabolismo celular, para o desenvolvimento de qualquer forma de vida complexa. Esse processo é chamado de “fixação de nitrogênio”.

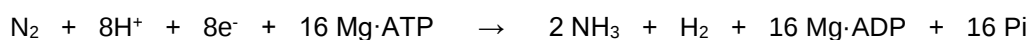
2.3.2 Fixação biológica

A fixação do N pode ocorrer, na natureza, por meio de alguns eventos esporádicos, como descargas elétricas; ou então pela fixação biológica, realizada apenas por alguns grupos de microrganismos procariotos. Esses organismos possuem um complexo enzimático denominado de nitrogenase, que é capaz de catalisar o rompimento da molécula de N_2 e subsequente produção de NH_3 (amônia), através de elaboradas reações bioquímicas.

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é a mais importante porta de entrada desse nutriente na forma orgânica, e tem enorme importância no ciclo global do elemento, e na dinâmica de toda a vida no planeta. Ela também tem uma grande vantagem sobre a fixação sintética de N, operada industrialmente para produção de fertilizantes nitrogenados e outros compostos. Apesar de a produção desses materiais ser de grande importância na produção agropecuária e florestal, todos os processos

de fixação artificial requerem condições especiais de temperatura e pressão (MALAVOLTA, 1967), que gastam grandes quantidades de combustíveis fósseis.

A fixação do nitrogênio consiste na redução da molécula de N_2 para amônia (NH_3), que será a base de todas as outras formas orgânicas de nitrogênio. A molécula de N_2 é altamente estável, necessitando de muita energia para ser fracionada. No processo de FBN, isso é alcançado através de um sistema bioquímico envolvendo o complexo enzimático nitrogenase e fornecimento de energia através de ATP e carregamento de elétrons (MARSCHNER, 1995). Existem alguns tipos diferentes de nitrogenases, mas os mais comuns são as que contêm grupos prostéticos de molibdênio e ferro (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007), que trabalham em conjunto em muitos microrganismos. O molibdênio é participante direto no processo de formação de amônia, ligando-se aos átomos de N (oriundos do N_2), aos quais se juntam átomos de hidrogênio em sucessivas reações (protonações) até chegar ao produto final, NH_3 . Segundo Marschner (1995), a reação pode ser resumida da seguinte forma:



A nitrogenase também pode funcionar sobre outros substratos, como acetileno (C_2H_2) e hidrogênio (H_2), convertendo-os em novas substâncias.

Dentre os sistemas simbióticos de FBN, são conhecidas as relações entre cianobactérias do gênero *Nostoc* e plantas da família Gunneraceae; entre actinomicetos do gênero *Frankia* e plantas actinorrízicas; e de um grupo de bactérias, chamados genericamente de “rizóbios” com várias espécies de Fabaceae (GEURTS et al., 2016). Entre essas associações, a simbiose entre bactérias diazotróficas e leguminosas tem a maior relevância em aplicações práticas (agricultura e outras).

2.3.3 FBN em legumes

De modo geral, os microrganismos fixadores de N que fazem simbiose com legumes são de grupos de alta diversidade genética e metabólica, todos pertencentes a duas subclasses de proteobactérias (MASSON-BOIVIN et al., 2009): alfa (α) e beta (β)-proteobactéria. São considerados 15 ou mais gêneros em oito famílias (REMIGI et al., 2016; SPRENT et al., 2017). Inicialmente, no século 19, foi estabelecido o gênero

Rhizobium, nomeando todas as bactérias fixadoras que se associam com leguminosas, formando nódulos; e posteriormente foram adicionados os gêneros *Ensifer* (= *Sinorhizobium*), *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Burkholderia* e outros, no século 20 (MOREIRA, 2010). O termo “rizóbio” é oriundo do primeiro gênero descrito, sendo atualmente usado por vários autores para se referir a qualquer espécie que faz associação com alguma leguminosa.

A associação é geralmente caracterizada pela infecção das células corticais das raízes finas da planta pela bactéria. No ponto da infecção, há o crescimento da estrutura denominada nódulo, que abrigará a colônia do rizóbio, onde ocorrerá o processo bioquímico de fixação de nitrogênio. Essa estrutura é facilmente observada no sistema radicular da planta, facilitando muito a pesquisa nesse campo da biotecnologia.

As pesquisas em busca de espécies de Fabaceae que formam nódulos revelou-se um instrumento muito útil para avanços na biotecnologia (DÖBEREINER, 1984), tornando possível a seleção de espécies de plantas e linhagens de bactérias eficientes. Vale ressaltar, entretanto, que existem evidências de que em algumas espécies que não formam nódulos, também há fixação de nitrogênio, sugerindo a existência de outras formas de associações endofíticas que podem fixar N atmosférico (BRYAN et al., 1996).

2.3.4 FBN em legumes e adubação nitrogenada

Em muitas plantas, o nitrogênio é o nutriente mais exigido, tanto em leguminosas como em outras famílias (SILVA & MUNIZ, 1995; BRAGA et al., 1995), embora possam haver outros minerais com maior demanda do que ele, como o fósforo em *Apuleia leiocarpa* (NICOLOSO et al., 2001) e cálcio em *Aspidosperma polyneuron* (MUNIZ & SILVA, 1995).

Algumas vezes a inoculação com diazotróficos é suficiente para fornecer a quantidade de N necessária para o desenvolvimento de mudas de leguminosas fixadoras de N. Algumas estirpes de *Burkholderia nodosa* foram mais eficientes para plântulas de *Mimosa scabrella* do que adubação nitrogenada (PRIMIERY et al., 2016). Chaves et al. (2006) relatam que a inoculação de *Anadenanthera macrocarpa* com

Rhizobium sp. proporcionou melhor crescimento às mudas do que quando adubadas com fontes minerais de N.

Entretanto, existem também casos onde a inoculação não é muito eficiente. Góes et al. (2015) descrevem que mudas de *Inga laurina* inoculadas com várias espécies de rizóbio tiveram crescimento menor em relação àquelas fertilizadas com N mineral. Porém, os mesmos autores defendem que a inoculação em viveiro pode ser uma estratégia para o sucesso da muda em condições de campo, onde provavelmente não haverá fornecimento de N mineral ou outros fertilizantes.

A variabilidade genética das estirpes das bactérias envolvidas pode explicar grande parte dessa ambiguidade na eficiência da fixação. No mesmo estudo de Primieri et al. (2016), relata-se que nódulos de *Mimosa scabrella* contém grande diversidade de espécies de bactérias endofíticas, e cada uma delas com alta variabilidade genética entre as estirpes. Variados mecanismos fisiológicos ajudam a explicar a eficiência de FBN para as espécies e estirpes de diazotróficos (MARSCHNER, 1995). São recomendadas pesquisas para seleção de estirpes de maior eficiência, para cada espécie.

Um dos fatores que mais afetam a FBN em leguminosas é a disponibilidade de nitrogênio mineral à planta, no solo ou outro substrato. Como o processo de fixação mediado pelos rizóbios é custoso ao vegetal, com consumo de energia, existe uma tendência de que a nodulação/fixação seja inversamente proporcional ao teor de N-mineral no solo. Vários ensaios mostram que, com o fornecimento de N à planta, o processo da simbiose é inibido, com plantas apresentando poucos nódulos ou ausência (MREMA et al., 1997; PATREZE & CORDEIRO, 2004, 2005; UDDIN et al., 2008). Alguns fatores podem ativar mecanismos de regulação da planta, como a presença de nitratos e etileno na zona radicular (FERGUSON et al., 2010; LIM et al., 2014). Entretanto, esse padrão de inibição da FBN por N-mineral não é uniforme para todas as leguminosas e condições ambientais. Enquanto algumas espécies têm nodulação quase ou inteiramente inibida por certa concentração de N, outra espécie pode apresentar grande número de nódulos com essa mesma concentração (PATREZE & CORDEIRO, 2004; MÜLLER et al., 1993). Marques et al. (2006) observam boa nodulação e crescimento de *Mimosa caesalpinifolia*, adubadas ou não com fontes de nitrogênio. É possível também que o estado nutricional da planta reduza

a sensibilidade da simbiose rizóbio-leguminosa ao nitrogênio disponível no solo, como o suprimento de P e K (TSAI et al., 1993).

2.4 FBN relacionada ao desempenho de mudas em campo

A fixação de nitrogênio em leguminosas arbóreas tem um papel importante no estabelecimento de mudas no campo, especialmente em condições pouco favoráveis ao crescimento vegetal, que são muito comuns em áreas destinadas à restauração e recuperação ecológica (CHAER et al., 2011). A inoculação de sementes ou mudas com rizóbios pode aumentar a sobrevivência e sucesso de plantios, em condições com ou sem limitações ao crescimento (DIABATE et al., 2005; MOURA et al., 2016; THRALL et al., 2005). Apesar da simbiose rizóbio-leguminosa poder ser inibida durante adubação em viveiro, a inoculação pode ser uma medida que auxilie no desenvolvimento da planta após o plantio em campo (GÓES et al., 2015).

2.5 Farinha-seca (*Albizia niopoides*)

O gênero *Albizia* pertence à subfamília Mimosoideae, das leguminosas. Contém cerca de 100 espécies, a maioria tropical, presentes nas Américas, África e Ásia, com crescimento rápido, fácil cultivo e capacidade de fixação de nitrogênio atmosférico (NAT. ACAD. SCI., 1979). Uma espécie amplamente cultivada no mundo tropical é *A. lebbek*, nativa da Ásia e presente em vários países da América e África Ocidental (ORWA et al., 2009). Outros gêneros de Mimosoideae têm boas características de crescimento, ciclagem de nutrientes, rusticidade e FBN, sendo desejadas em sistemas de produção e restauração ecológica e produção agrossilvipastoril. Exemplos são espécies de *Inga*, *Enterolobium*, *Acacia* e *Anadenanthera*.

Albizia niopoides (Spruce ex Benth.) Burkart é árvore pertencente à subfamília Mimosoideae, da família Fabaceae. (ARCE, 2008; IGANCI, 2015). Sinônimos comuns são *Albizia hassleri* (Chodat) Burkart e *Pithecellobium niopoides* Spruce ex Benth. (ARCE, 2008). É árvore alta, podendo chegar a 35 m. de altura, com diâmetro à altura

do peito variando de 80cm (BURKART, 1947; CARVALHO, 2003) a mais de um metro (GIRALDO & DEL VALLE, 2012).

Albizia niopoides ocorre em várias fitofisionomias, principalmente em ambientes florestais. Ocorre também no domínio do Cerrado, mas sempre em formações florestais (ROCHA et al., 2014), provavelmente pela maior fertilidade do solo. É muito comum em áreas abertas, como pastagens e outros ambientes antropizados (DURIGAN et al., 1997). Por seu formato peculiar de copa, alta e rala (CARVALHO, 2008; ARCE, 2008), produz sombra esparsa, interferindo muito pouco no crescimento de gramíneas, sendo bem indicada para presença nesses locais (ANDRADE et al., 2012). Tem certa tolerância à seca (GIRALDO & DEL VALLE, 2012), e pode colonizar áreas perturbadas (POTT & POTT, 1994; LOPEZ, 2002), sendo muito útil para restauração ecológica (LORENZI, 2009). Também é cultivada em alguns locais do Brasil e no exterior para sombreamento de culturas, como cacau (POTT & POTT, 1994) e outros fins agroflorestais. Em alguns países da África Ocidental, onde não é nativa, a espécie é utilizada como sombreamento em várias culturas (SCHROTH et al., 1996; OKUNOMO et al., 2007).

A simbiose rizóbio-leguminosa é um evento que favorece a espécie para esses diversos fins, e talvez tenha influência na sua grande dispersão nas Américas. Sua capacidade de nodulação já é conhecida há bastante tempo (LOPEZ, 2002; POTT & POTT, 1994), mas o registro oficial de capacidade simbiótica com rizóbios foi efetuado por Faria & Lima (1998). Entretanto, quase não há estudos posteriores com relação à sua relação com bactérias fixadoras de N, exceto pelo trabalho de Okunomo et al. (2007), na África, onde foi visto que plântulas eram beneficiadas pela inoculação com rizóbios, com incremento de $\pm 48\%$ de massa radicular e $\pm 95\%$ na massa da parte aérea quando inoculadas com rizóbios. Na ocasião, os autores indicam que o uso de inoculação da espécie pode ajudar na retomada de ciclos de nutrientes em solos degradados e retomada das funções.

2.6 Objetivos da pesquisa

A pesquisa tem por objetivo investigar os efeitos (positivos, neutros ou negativos) da inoculação de mudas de *A. niopoides* com bactéria fixadora de N, a

estirpe BR 5611 de *Bradyrhizobium elkanii*. Essa estirpe foi escolhida por ser autorizada pela Instrução Normativa SDA nº13, do Ministério da Agricultura (DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, 2011) como inoculante para *Albizia lebbbeck* e *Falcataria moluccana*, espécies arbóreas usadas para reflorestamentos.

Também foram usadas doses crescentes de adubação nitrogenada, com o uso de ureia, durante o período de produção, a fim de verificar como o desenvolvimento da muda e a nodulação respondem a esse fator.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Para estudar os efeitos da inoculação com rizóbios e dos níveis de adubação nitrogenada na produção de mudas, foi feito um experimento com inoculação ou não com rizóbio e cinco níveis (doses) de nitrogênio mineral adicionados ao substrato, durante o período de cultivo.

3.1 Sementes e semeadura

Sementes de *A. niopoides* foram colhidas, em setembro de 2015, em Presidente Venceslau – SP, de uma matriz em boas condições de vigor e sanidade, e armazenadas em geladeira ($\sim 10^{\circ}\text{C}$) até a semeadura. Como tratamento pré-germinativo, foram aquecidas em água quente a 60°C durante 3 minutos, e resfriadas ao ar livre (DURIGAN, 1997). Estas foram semeadas em tubetes de 115cm^3 de volume, preenchidos com substrato comercial, em 02 de fevereiro de 2016. A composição do substrato foi a seguinte: turfa de *Sphagnum*, vermiculita expandida, casca de arroz carbonizada, calcário dolomítico, gesso agrícola e traços de fertilizante NPK; pH: $5,0 \pm 0,5$; condutividade elétrica: $0,7 \pm 0,3 \text{ mS cm}^{-1}$. A emergência começou após dois dias, e estendeu-se ao longo de 8 dias. Como havia plantas em diferentes níveis de vigor, foi feita uma homogeneização, de forma que todos os tratamentos ficassem em condições semelhantes em tamanho das plântulas. Foram separados dois grupos principais: um a ser inoculado com rizóbios e outro que permaneceria sem inoculação.

3.2 Inoculação

O microrganismo utilizado para a inoculação das mudas foi a estirpe BR 5611, de *Bradyrhizobium elkanii*, fornecida pela Embrapa Agrobiologia (Seropédica, RJ). Essa estirpe é recomendada como inoculante para *Albizia lebbbeck* (L.) Benth. (FRANCO & FARIA, 1997). É também autorizada para produção como inoculante pela Instrução Normativa nº 13, do Ministério da Agricultura (DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, 2011), para essa espécie e também *Falcataria moluccana* (Miq.) Barneby & J.W.Grimes.

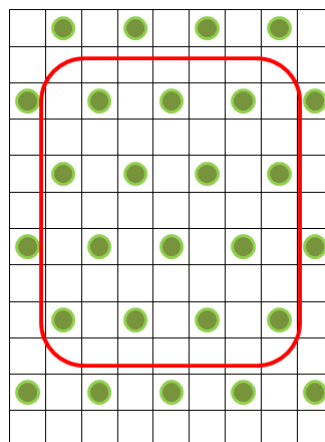
A bactéria foi cultivada em meio 79 sólido (FRED & WAKSMAN, 1928), e depois a cultura foi multiplicada por seis dias em meio 79 líquido sob agitação (URENHA et al., 1994). Esta última cultura serviu como inoculante direto a ser aplicado nas mudas.

A inoculação das plantas ocorreu aos 10 dias após a semeadura (12.02.2017), com a aplicação de 4ml da cultura bacteriana em cada tubete, na base do caule da plântula. Estes foram mantidos em sombra nos três dias seguintes, a fim de proporcionar maior sobrevivência das bactérias no substrato e chance de infecção das plantas.

3.3 Instalação em canteiros de cultivo e tratamentos de adubação

Aos 17 dias após a semeadura, os tubetes foram acomodados em um canteiro elevado de cultivo (cerca de 1m de altura), coberto com filme plástico de 150 micra e irrigado com lâmina diária de 3 a 8mm, de acordo com as condições climáticas ao longo do experimento. Foi usada a água fornecida pela companhia de saneamento básico no município (Sabesp). Esse canteiro não tinha temperatura e umidade do ar controladas, sendo sujeito a variações dessas condições de acordo com o clima externo. Os tubetes foram dispostos em bandejas plásticas com 108 células, com 25% de ocupação, ou seja, 27 plantas (figura 1).

Figura 1 - Ilustração da bandeja (108 células) com 27 mudas, sendo as 14 centrais utilizadas nas avaliações



Os tratamentos consistem então, de inoculação ou não com rizóbio; e cinco níveis de nitrogênio mineral aplicados ao longo do experimento (figura 2). Os tratamentos inoculados ficaram separados dos não inoculados, a fim de reduzir chances de inoculação cruzada com rizóbios, partindo-se do pressuposto que as condições ambientais do canteiro não poderiam causar padrões diferentes nos resultados.

Figura 2 - Esquema da disposição dos tratamentos no canteiro. As bandejas estão representadas na cor mais escura, com as doses de N em mg L⁻¹

Sem inoculação								Inoculado								
								<i>Bradyrhizobium elkanii</i> BR 5611								
	2000	1000	0	250	500	0	2000		500	2000	0	2000	1000	0	250	500
500	250	500	1000	2000	1000	250	0		0	250	1000	500	250	2000	1000	

Os níveis de adubação nitrogenada foram fornecidos via solução nutritiva adaptada de SILVA et al. (2013) contendo outros nutrientes, a saber: 88; 200; 168; 40; 52; 3; 3,9; 1,2; 0,6; 0,3 e 48 mg L⁻¹ de P, K, Ca, Mg e S, B, Mn, Zn, Cu, Mo e Fe, respectivamente. Foram utilizadas as seguintes fontes: monofosfato amônio, sulfato de magnésio, cloreto de potássio, cloreto de cálcio, sulfatos de manganês, zinco, cobre e ferro e ácido bórico. As doses de nitrogênio foram ajustadas através de adição de ureia nas soluções: 0; 250; 500; 1000 e 2000 mg L⁻¹ de N. Foi escolhida a ureia pela sua composição química, que não tem outros elementos minerais na molécula.

Reconhece-se aqui que mesmo os tratamentos com omissão de N continham na verdade um mínimo do elemento (40mg L⁻¹) devido ao uso do monofosfato amônio como fonte de fósforo. As adubações foram feitas semanalmente, em sistema de absorção por capilaridade (CIAVATTA et al., 2014). Neste sistema, os tubetes são parcialmente mergulhados na solução nutritiva, que é absorvida pela abertura inferior, umedecendo todo o conteúdo de modo homogêneo. Para cada tratamento, foram usadas três bandejas com 27 tubetes, sendo as 14 centrais consideradas nas avaliações.

Devido ao fato de as mudas permanecerem longo tempo com aparência bastante tenra, as adubações semanais começaram após um período relativamente longo, aos 55 dias após a semeadura (45 após a inoculação). As adubações eram feitas preferencialmente em um dia fixo na semana, durante a manhã ou à tarde.

A condutividade elétrica das soluções nutritivas ficou na faixa de 2,5 – 3,5 mS cm⁻¹. Esses valores são relativamente altos para aplicação via capilaridade, e suspeitou-se de redução do crescimento das mudas por essa causa. Devido a isso, o processo de adubação foi modificado aos 191 dias da semeadura (136 dias após o início dos tratamentos de adubação): a concentração dos fertilizantes na solução, incluindo os tratamentos com ureia, foi fracionada pela metade, com duas aplicações na semana, com dois ou mais dias de intervalo entre elas. Assim, por semana, as doses de N permaneceram as mesmas, porém em dias separados. A condutividade elétrica dessas soluções passou a variar de 1,7-1,9 mS cm⁻¹.

3.4 Avaliações e análises de dados

3.4.1 Coleta de dados

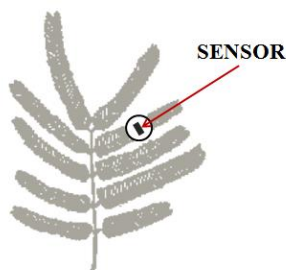
Ao longo do período de crescimento em viveiro, as plantas foram avaliadas em altura desde os 20 dias da semeadura até o final, e em diâmetro do colo a partir de 55 dias da semeadura, com régua e paquímetro, respectivamente. Esses dados foram usados para observação descritiva do desenvolvimento das mudas, ao longo do tempo.

Como critério para o término do período de crescimento em viveiro, inicialmente foi escolhida uma altura de cerca de 20cm (SOUZA JUNIOR; BRANCALION, 2016). No entanto, como as mudas não atingiram esse padrão, o critério usado foi o ponto onde o espaço interno do tubete aparentava ser limitante ao crescimento das mudas.

Em dezembro de 2016 (dez meses após a semeadura das plantas) foi feita uma avaliação do teor relativo de clorofila das folhas, com o uso do índice SPAD, pelo equipamento SPAD-502 (KONICA MINOLTA INC., 2016). Devido ao formato diminuto dos foliólulos da planta, adotou-se a seguinte metodologia para essa análise: o sensor de leitura do aparelho foi colocado no ponto central da largura do folíolo e aí tomada

a leitura, uma por folha, de cada folha de cada planta útil das repetições dos tratamentos (figura 3). Foi então calculada uma média de cada planta.

Figura 3 - Local de leitura de teor indireto de clorofila na folha, pelo SPAD-502. O sensor do aparelho é colocado no ponto central da de cada folíolo, entre as duas fileiras de foliólulos



Em janeiro de 2017, aos 350 dias da semeadura, foram feitas as avaliações finais, com medição da altura do caule, diâmetro do colo e contagem de nódulos em cada muda. Cada muda foi separada em parte aérea e radicular, e, juntamente com os nódulos correspondentes, foram secadas em estufa a 60°C até peso constante para pesagem em balança semi-analítica. Como as raízes apresentavam a formação de uma “estrutura tuberosa”, grossa, esta foi pesada separadamente das raízes finas. Os nódulos foram pesados em balança de precisão.

Para avaliar o efeito dos tratamentos na absorção e conteúdo de N nas mudas, as partes aérea e radicular foram moídas em moinho tipo “Willey”, em malha de 0,5mm e enviadas à análise química. Pequenas amostras de folhas foram analisadas separadamente para correlacionar com os valores obtidos de índice SPAD. O N foi determinado por digestão sulfúrica, em semi-microKjeldahl (MALAVOLTA et al., 1997).

Com os dados de matéria-seca das plantas e seus respectivos teores de N em seus tecidos, foi obtida a quantidade total do nutriente em cada planta.

Ao longo do crescimento da planta no viveiro, em alguns momentos foi feito um acompanhamento fotográfico, que também foi considerado importante na discussão dos resultados.

3.4.2 Análises estatísticas

Para os dados de altura e diâmetro do colo das mudas aos 350 dias, foram ajustados modelos de regressão não linear (RATKOWSKY, 1992) em função da concentração de nitrogênio, segundo a inoculação ou não com rizóbio.

$$y_i = \alpha + \beta x_i e^{\frac{x_i}{\gamma}} + u_i \quad (1)$$

Em que,

y_i é a i -ésima altura (cm) ou diâmetro do colo (mm) das mudas;

x_i é a i -ésima concentração de nitrogênio na solução nutritiva (mg L⁻¹);

α é o parâmetro relacionado ao deslocamento horizontal da curva;

β é o parâmetro relacionado à fase de crescimento da curva;

γ é o parâmetro que representa a concentração para o qual temos o máximo da altura ou diâmetro do colo;

u_i é o componente aleatório com distribuição normal (média zero e variância constante).

As estimativas dos parâmetros e os respectivos intervalos de confiança aproximada foram utilizados como critério para comparação do efeito da inoculação.

Também para altura e diâmetro, e para as demais variáveis biométricas analisadas, foram utilizados modelos lineares generalizados, com distribuição gama e função de ligação logarítmica (NELDER & WEDDERBURN, 1972; DIGGLE et al., 2002). A análise de deviance (desvios) foi usada para verificar a qualidade dos ajustes. Para comparações entre as médias dos tratamentos foi usado o teste de Tukey-Kramer (WESTFALL et al., 1999). O mesmo foi feito com os dados de teores nutricionais e conteúdo de nutrientes nas partes aérea e radicular.

Para estudar a associação de algumas variáveis, foi aplicado o teste de correlação de Spearman.

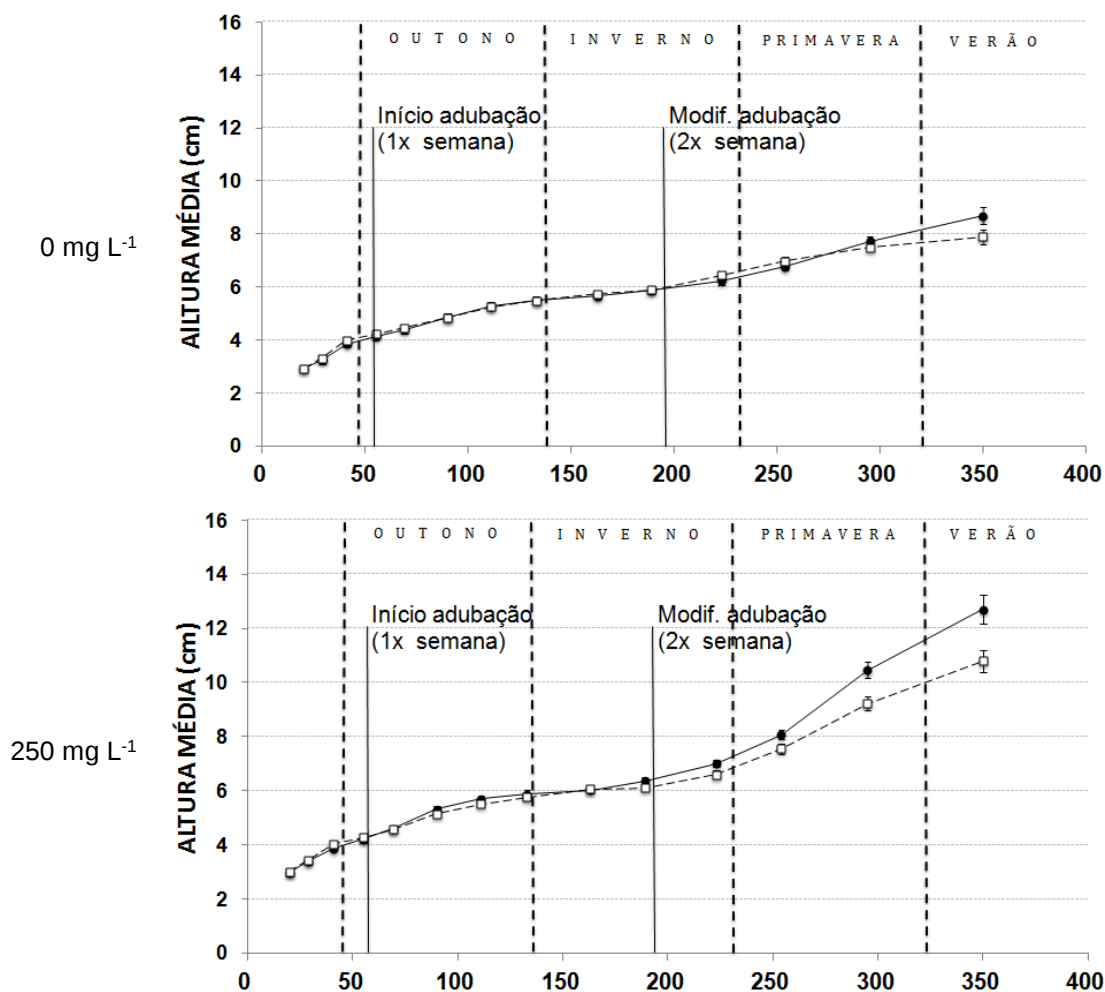
4 RESULTADOS

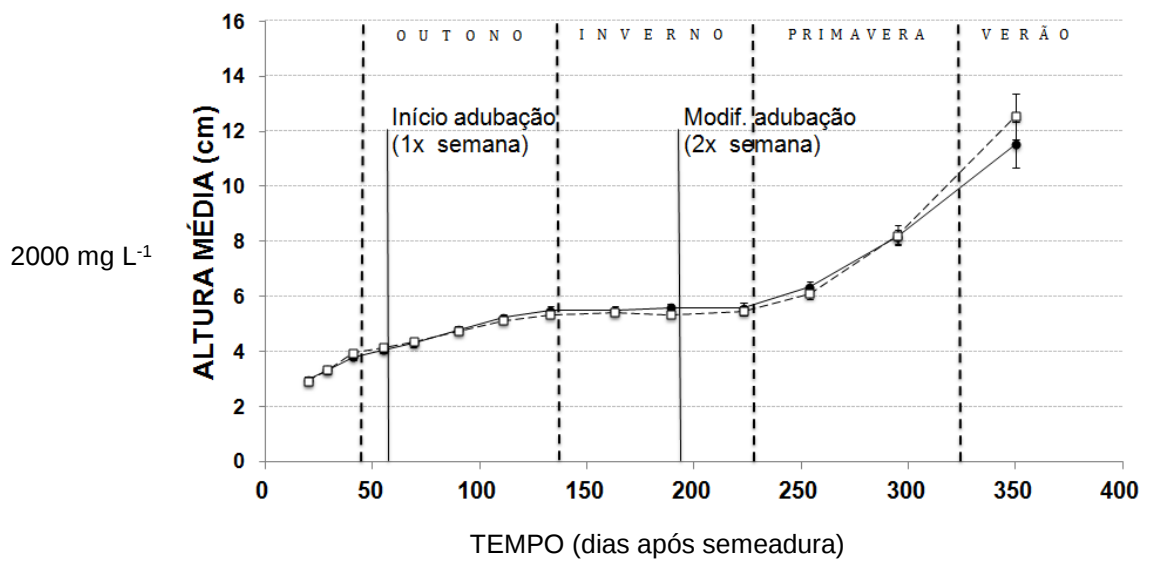
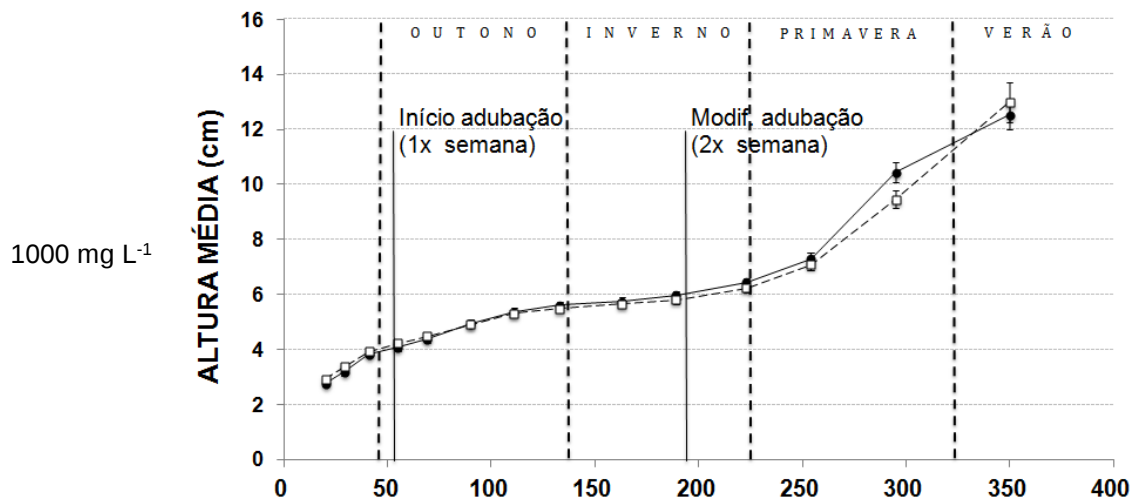
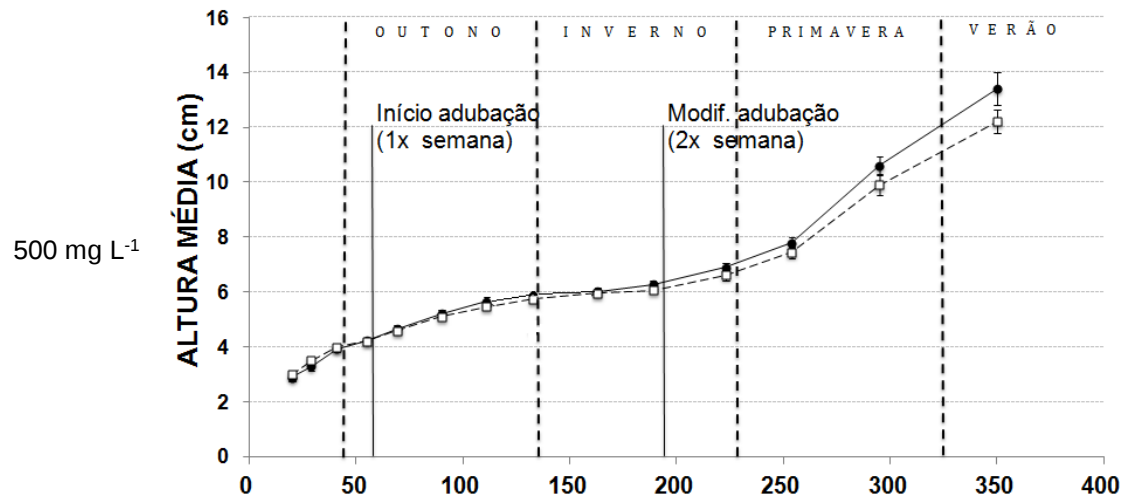
4.1 Desenvolvimento das mudas ao longo do tempo

O período de produção das mudas se estendeu por quase um ano, tempo muito superior ao esperado para a espécie, que é de aproximadamente quatro meses, segundo Carvalho (2003) e Lorenzi (2009).

Da semeadura até aproximadamente 100 dias, houve um crescimento regular das mudas; no entanto, a partir dessa data, há uma acentuada redução da taxa de crescimento, variável conforme os tratamentos (Figuras 4 e 5). A partir dos 200 dias há a recuperação do crescimento, até atingir os valores máximos de altura e diâmetro.

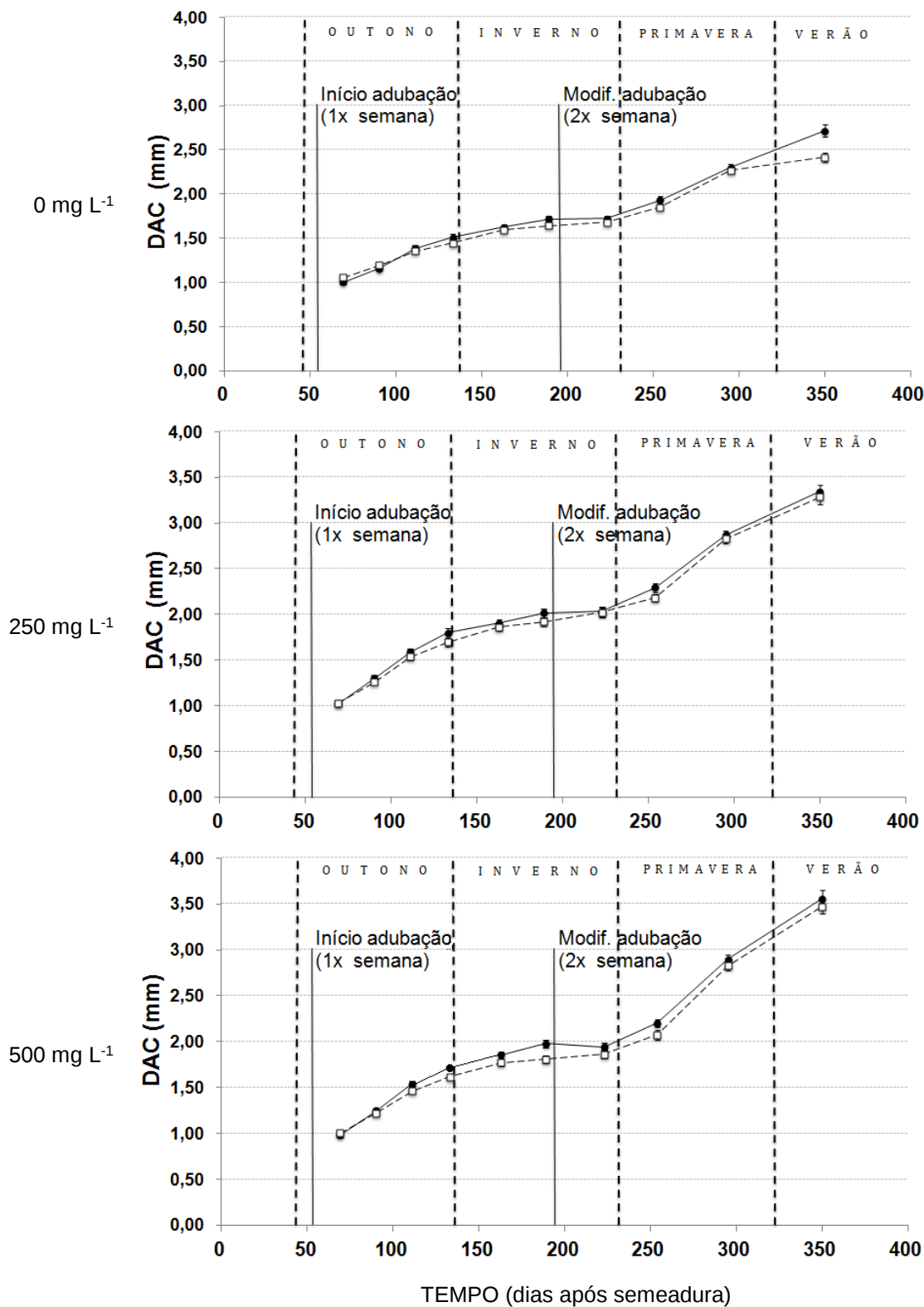
Figura 4 - Desenvolvimento das mudas (altura), ao longo do tempo, nas doses de 0 a 2000 mg L⁻¹ de N, aplicadas via ureia. Notar um período de redução do crescimento

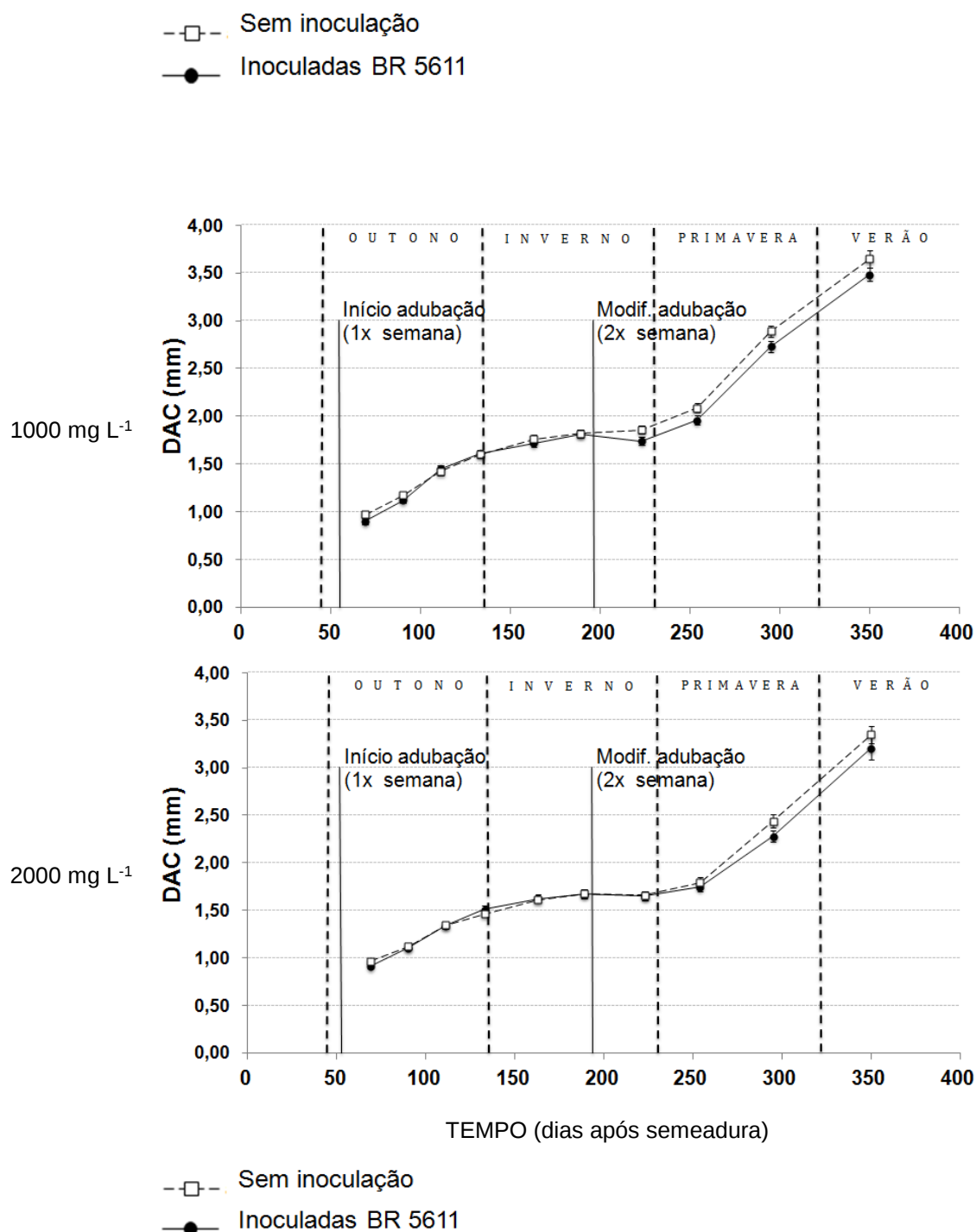




-□- Sem inoculação
 -●- Inoculadas BR 5611

Figura 5 - Desenvolvimento das mudas (diâmetro do colo), ao longo do tempo, nas doses de 0 a 2000 mg L⁻¹ de N, aplicadas via ureia. Notar um período de redução do crescimento





Dois fatores podem ajudar a explicar essas mudanças na taxa de crescimento ao longo do tempo. O primeiro é a adubação (semanal), que desde seu início (no 55º dia) até o 191º dia tinha uma concentração relativamente elevada ($CE = \pm 3,0 \text{ mS cm}^{-1}$), com possibilidade de efeito estressante nas plantas, reduzindo a taxa de crescimento. No entanto, o período de redução do crescimento é concomitante com as estações de outono e inverno, com temperaturas baixas e menor fotoperíodo. Além

disso, a retomada de crescimento pode estar relacionada tanto com a aplicação fracionada da adubação (2x na semana), como com a chegada da primavera, com aumento da radiação solar, fotoperíodo e temperaturas.

Faltando 15 dias para as avaliações finais, as mudas sofreram um forte estresse hídrico, devido a uma falha no sistema de irrigação. Em alguns tratamentos, as plantas perderam muitos folíolos das folhas, prejudicando a avaliação da massa da parte aérea. Por isso, durante a avaliação, foram pesadas separadamente as massas da haste e das folhas das mudas.

De modo geral, ao final do período de produção, as mudas de farinha-seca apresentaram um padrão singular de desenvolvimento (figura 6), com crescimento acentuado da raiz pivotante, principalmente em diâmetro. Na média geral de todo o experimento, a raiz pivotante representa cerca de 85% da massa seca total da planta.

Figura 6 - Padrão da raiz pivotante de mudas de farinha-seca, após 350 dias da sementeira, em tubetes de 115 cm³. Notar a proporção entre o diâmetro da raiz e do caule



4.2 Modelos de regressão não-linear para altura e diâmetro das mudas

No ajuste dos modelos não-lineares para altura, foi visto que nas curvas estimadas para as mudas inoculadas e não-inoculadas, os intervalos de confiança do parâmetro gama (γ) não se sobrepõem (tabela 1), revelando diferença estatística para esses dois grupos (figura 7).

Tabela 1 - Estimativas dos parâmetros do modelo não-linear para a altura das mudas inoculadas e não-inoculadas de farinha-seca, aos 350 dias após a semeadura. Os parâmetros gama (γ) dos dois modelos não se interceptam, indicando que os grupos são diferentes

Sem inoculação	Parâmetro	Estimado	Erro padrão da média	Intervalo de confiança (95%)
	Alfa (α)	8,0491	0,5018	7,0551 ; 9,0432
	Beta (β)	0,0126	0,00242	0,00783 ; 0,0174
	Gama (γ)	1136,3	143,7	851,7 ; 1420,9
Inoculadas BR 5611	Parâmetro	Estimado	Erro padrão da média	Intervalo de confiança (95%)
	Alfa (α)	9,1149	0,5246	8,0758 ; 10,1541
	Beta (β)	0,0183	0,0035	0,0113 ; 0,0252
	Gama (γ)	663,3	86,6013	491,7 ; 834,8

$$\text{Modelo ajustado: } y_i = \alpha + \beta x_i e^{\frac{x_i}{\gamma}}$$

No modelo ajustado para o diâmetro do colo, foi visto que os intervalos de confiança dos parâmetros se sobrepõem, indicando que não há diferença entre as curvas das plantas inoculadas e não inoculadas. Desse modo, foi estimado um modelo comum para as mudas inoculadas e não inoculadas, para essa variável (tabela 2).

Tabela 2 - Estimativas dos parâmetros do modelo não-linear para o diâmetro do colo das mudas de farinha-seca, aos 350 dias após a semeadura (inclui plantas inoculadas e não inoculadas)

Parâmetro	Estimado	Erro padrão da média	Intervalo de confiança (95%)
Alfa (α)	2,6132	0,0555	2,5039 ; 2,7225
Beta (β)	0,00335	0,000314	0,00273 ; 0,00397
Gama (γ)	837,1	49,4726	739,6 ; 934,6

$$\text{Modelo ajustado: } y_i = \alpha + \beta x_i e^{\frac{x_i}{\gamma}}$$

O formato das duas curvas mostra tendências diferentes (Figura 7): nas plantas não inoculadas, a altura aumenta gradativamente conforme as doses crescentes de N, até atingir o seu valor máximo estimado na dose de 1136 mg L⁻¹ de N, havendo ligeiro decréscimo até a dose máxima. Em mudas inoculadas com rizóbio, a altura

máxima estimada é alcançada já na dose de 663 mg L⁻¹ de N, decrescendo a partir daí, de forma mais acentuada que nas mudas sem inoculação.

A curva estimada para o diâmetro do colo mostra um formato intermediário entre as curvas de altura. O ponto máximo é estimado na dose de 837 mg L⁻¹ (figura 8).

Figura 7 - Modelo de regressão não linear para a altura (cm) das mudas de farinha-seca em função das doses de nitrogênio, segundo os níveis de inoculação (inoculadas e não-inoculadas). As doses que proporcionam maiores alturas estão indicadas no gráfico. Modelo ajustado: $y_i = \alpha + \beta x_i e^{\frac{x_i}{\gamma}}$

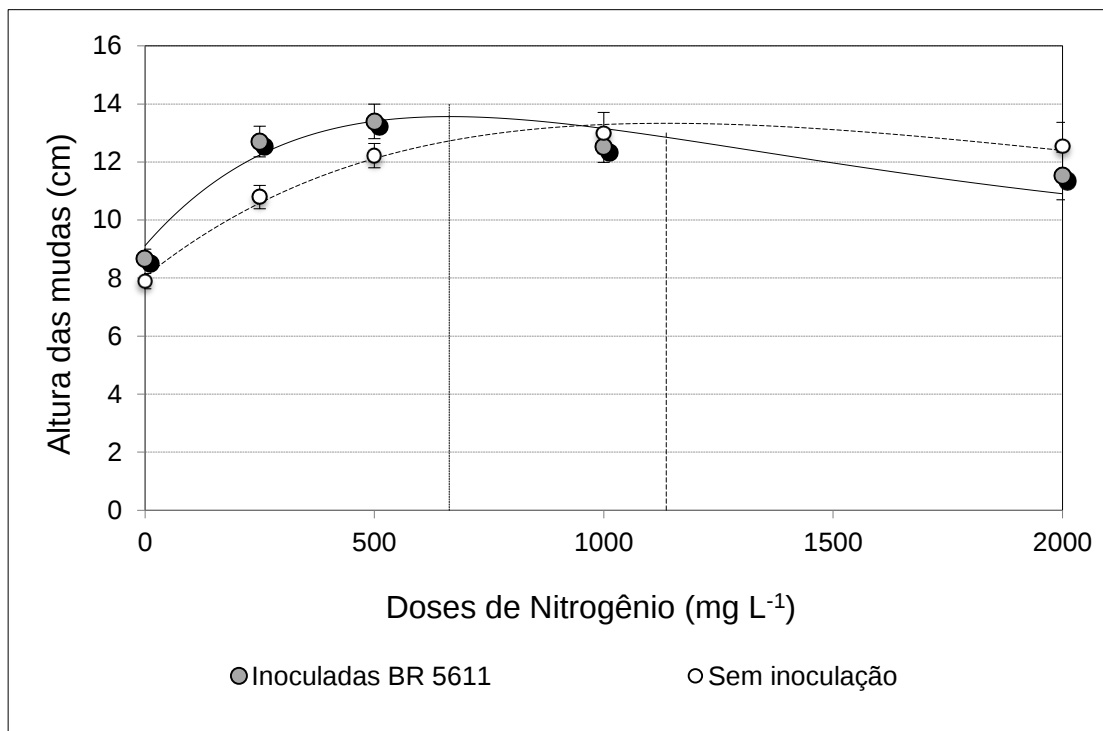
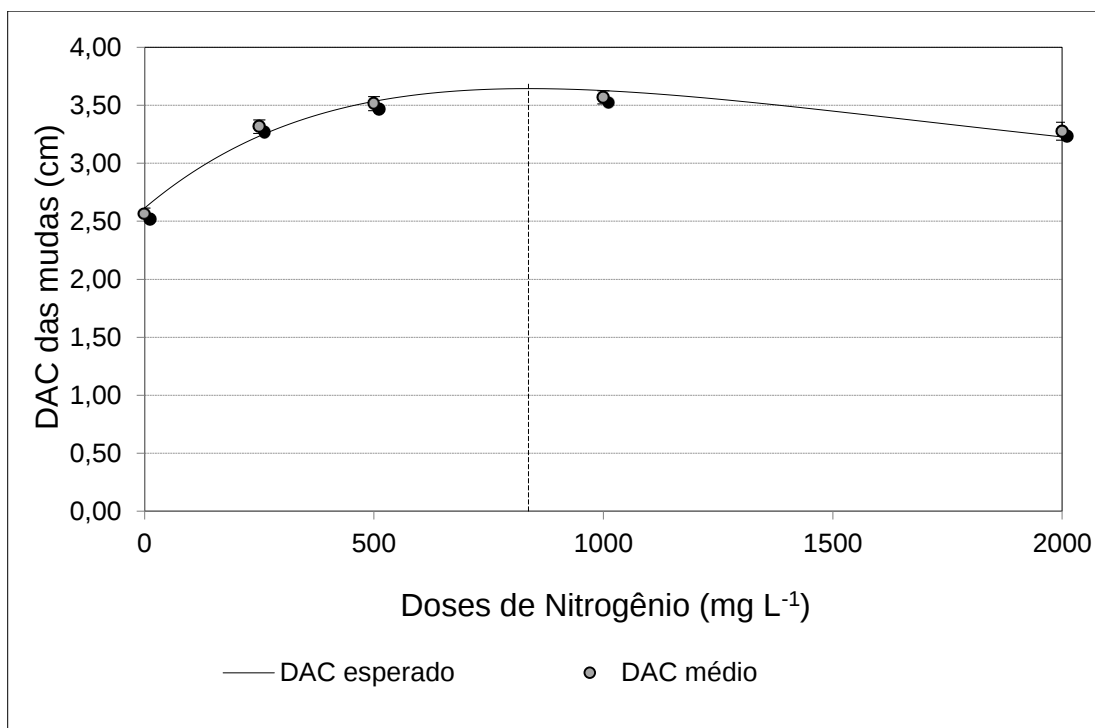


Figura 8 - Modelo de regressão não linear ajustado para o diâmetro do colo (DAC) das mudas de farinha-seca, aos 350 dias da semeadura. Inclui as plantas inoculadas e não-inoculadas. Modelo ajustado: $y_i = \alpha + \beta x_i e^{\frac{x_i}{\gamma}}$



4.3 Análise de Deviance

Para as variáveis biométricas, a análise de deviance encontrou efeito significativo da interação entre os fatores inoculação e aplicação de nitrogênio em quase todas as variáveis, exceto para massa da parte aérea (efeito independente de cada fator) e relação altura/diâmetro (efeito apenas das doses de N) (tabela 3).

Tabela 3 - Resumo da análise de deviance para as variáveis biométricas

Variável	Fonte de variação	GL	Qui ²	Pr > Qui ²
Altura	Inoculação	1	2,17	0,1410
	Dose de N	4	101,65	< 0,0001
	Inoc x Dose	4	11,01	0,0265
Diâmetro	Inoculação	1	0,95	0,3287
	Dose de N	4	148,52	0,001
	Inoc x Dose	4	14,49	0,0059
Relação altura/diâmetro	Inoculação	1	1,23	0,2669
	Dose de N	4	14,33	0,0063

	Inoc x Dose	4	7,15	0,1279
Biomassa	Inoculação	1	17,42	< 0,0001
Aérea	Dose de N	4	12,05	0,0170
(g planta ⁻¹)	Inoc x Dose	4	4,79	0,3091
Massa da haste	Inoculação	1	2,84	0,0919
(g planta ⁻¹)	Dose de N	4	111,00	< 0,0001
	Inoc x Dose	4	13,39	0,0095
Biomassa radicular	Inoculação	1	0,00	0,9738
(g planta ⁻¹)	Dose de N	4	139,74	< 0,0001
	Inoc x Dose	4	25,76	< 0,0001
Biomassa total	Inoculação	1	0,57	0,4499
(g planta ⁻¹)	Dose de N	4	124,7	< 0,0001
	Inoc x Dose	4	23,54	< 0,0001
Relação MPA/MRZ	Inoculação	1	14,10	0,0002
	Dose de N	4	150,65	< 0,0001
	Inoc x Dose	4	10,10	0,0388
Índice de Dickson	Inoculação	1	0,26	0,6077
	Dose de N	4	103,39	< 0,0001
	Inoc x Dose	4	21,61	0,0002
Número de nódulos planta ⁻¹	Inoculação	1	250,57	< 0,0001
	Dose de N	4	99,33	< 0,0001
	Inoc x Dose	4	12,05	0,0170
Massa de nódulos (mg planta ⁻¹)	Inoculação	1	9,15	0,0025
	Dose de N	4	156,46	< 0,0001
	Inoc x Dose	4	4,10	0,0428

Em altura e diâmetro, o tratamento 0 mg L⁻¹ de N aplicado se mostrou inferior às outras doses aplicadas de N (Tabela 4). Entre as doses 250 e 2000 mg L⁻¹, não houve diferença estatística. Na dose de 0 mg L⁻¹ de N, as mudas inoculadas tiveram diâmetro 13% superior ao tratamento sem inoculação (Tabela 4, figura 9).

Tabela 4 - Efeito das doses de nitrogênio aplicadas via ureia e da inoculação com *B. elkanii* BR 5611 nas variáveis altura e diâmetro de mudas de farinha-seca, aos 350 dias após semeadura

Doses	Altura (cm)		Diâmetro (mm)	
	Não inoculadas	Inoculadas <i>B. elkanii</i>	Não inoculadas	Inoculadas <i>B. elkanii</i>
0	7,89 B a (0,27)	8,7 B a (0,33)	2,42 B b (0,05)	2,74 B a (0,07)
250	10,79 A a (0,40)	12,7 A a (0,53)	3,28 A a (0,09)	3,34 A a (0,08)
500	12,35 A a (0,41)	13,4 A a (0,60)	3,48 A a (0,08)	3,56 A a (0,1)
1000	13,0 A a (0,71)	12,52 A a (0,53)	3,65 A a (0,09)	3,48 A a (0,07)
2000	12,7 A a (0,84)	11,52 A a (0,82)	3,34 A a (0,10)	3,21 A a (0,12)

Diferentes letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas indicam diferença estatística ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey-Kramer.

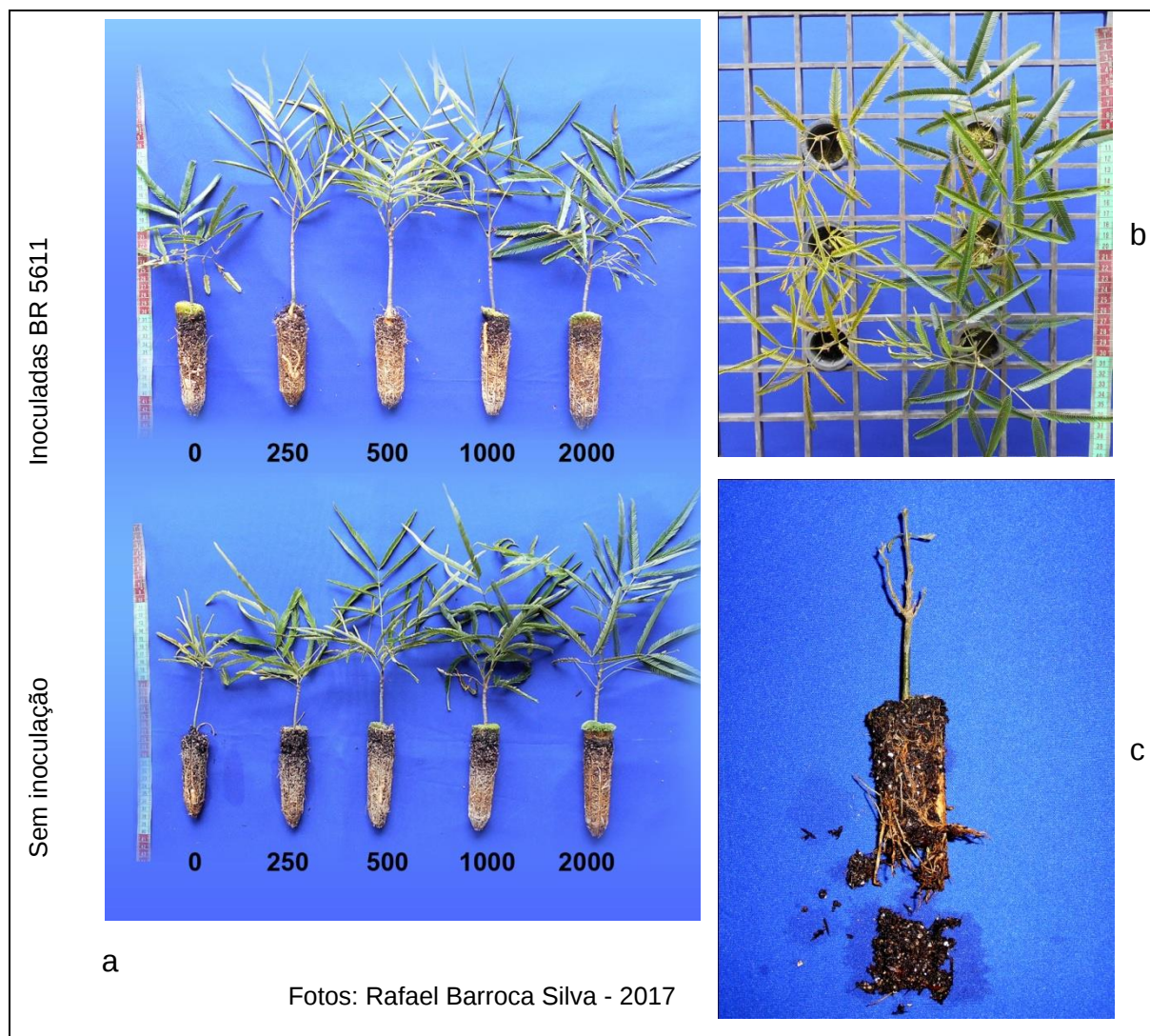
Não houve interação dos fatores na massa aérea total. As mudas inoculadas apresentaram valor médio bastante superior às mudas sem inoculação (tabela 5). Com relação às doses, apenas a de 250mg L⁻¹ foi inferior às demais. Como houve perda de folíolos de várias mudas (com intensidade variável conforme os tratamentos) duas semanas antes das avaliações finais, a massa da haste também foi considerada um indicador de incorporação de biomassa aérea (tabela 6). As aplicações de N aumentaram a massa da haste, e na ausência da adubação nitrogenada, as plantas inoculadas tiveram média superior às sem inoculação.

Tabela 5 - Efeito das doses de nitrogênio aplicadas via ureia e da inoculação com *B. elkanii* BR 5611 na massa aérea de mudas de farinha-seca, aos 350 dias após semeadura

Doses (mg L ⁻¹)	0	250	500	1000	2000
Massa aérea (g planta ⁻¹)	0,48 AB (0,03)	0,47 B (0,04)	0,57 AB (0,04)	0,54 AB (0,03)	0,49 AB (0,04)
Inoculação	Sem inoculação		Inoculadas BR 5611		
Massa aérea (g planta ⁻¹)	0,46 B (0,03)		0,75 A (0,04)		

Letras diferentes significam médias diferentes estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey-Kramer. Desvio padrão indicado entre parênteses.

Figura 9 - Mudanças de farinha-seca no final do experimento: (a) Comparação do aspecto geral das plantas segundo a inoculação e as doses de N (mg L^{-1}); (b) Mudanças que não receberam adição de ureia no viveiro, sem inoculação à esquerda e inoculadas com rizóbio à direita; (c) Muda que recebeu maior dose de N (2000 mg L^{-1}) em viveiro



A aplicação de doses intermediárias de ureia favoreceu a massa radicular das mudas, e no tratamento inoculado as plantas sem adubação nitrogenada já apresentavam massa de raízes semelhantes às mudas adubadas com N (tabela 6). As concentrações de 1000 e 2000 mg L^{-1} de N prejudicaram a massa radicular, com mais intensidade nas mudas inoculadas com rizóbios (figura 9c). O mesmo padrão de resposta aos tratamentos foi observado na biomassa total das mudas (tabela 6), já que esta foi fortemente influenciada pela massa de raízes, com alto índice de correlação (tabela 7).

Tabela 6 - Efeito das doses de nitrogênio aplicadas via ureia e da inoculação com *B. elkanii* BR 5611 nas biomassas (aérea, radicular e total) e índice de Dickson em mudas de farinha-seca, aos 350 dias após semeadura

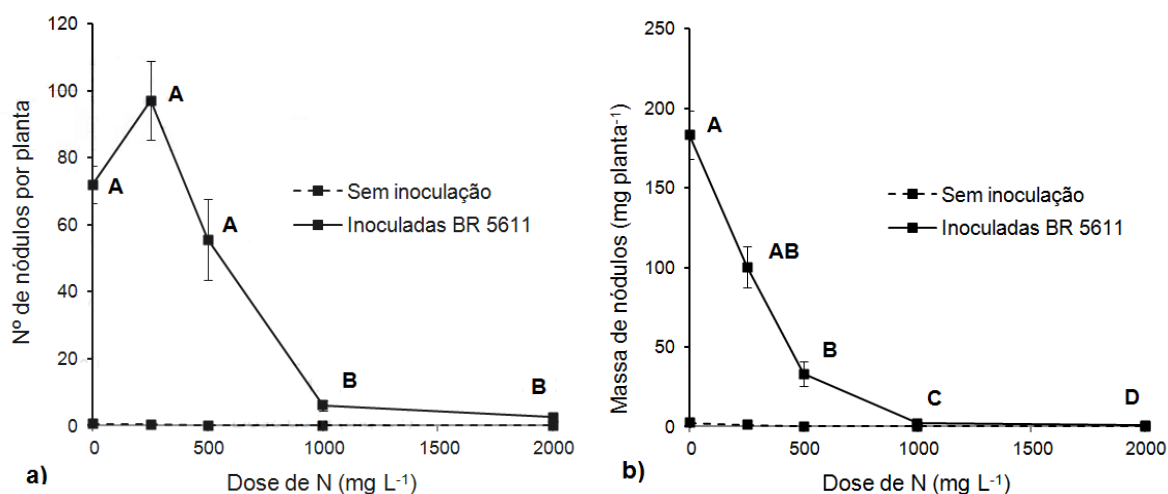
Doses N (mg L ⁻¹)	Massa da haste (g planta ⁻¹)		Massa radicular (g planta ⁻¹)	
	Não inoculadas	Inoculadas <i>B. elkanii</i>	Não inoculadas	Inoculadas <i>B. elkanii</i>
0	0,182 B b (0,007)	0,256 B a (0,018)	1,93 B b (0,11)	2,95 AB a (0,16)
250	0,354 A a (0,022)	0,415 A a (0,032)	3,72 A a (0,26)	4,0 A a (0,29)
500	0,440 A a (0,031)	0,466 A a (0,039)	3,85 A a (0,30)	3,63 AB a (0,27)
1000	0,480 A a (0,025)	0,462 A a (0,032)	3,18 A a (0,22)	2,74 B a (0,20)
2000	0,396 A a (0,037)	0,343 AB a (0,037)	1,79 B a (0,20)	1,33 C a (0,12)
Doses N (mg L ⁻¹)	Massa total (g planta ⁻¹)		Índice de Dickson	
	Não inoculadas	Inoculadas <i>B. elkanii</i>	Não inoculadas	Inoculadas <i>B. elkanii</i>
0	2,33 B b (0,12)	3,50 AB a (0,18)	0,07 B b (0,003)	0,11 A a (0,008)
250	4,15 A a (0,28)	4,51 A a (0,31)	0,13 A a (0,01)	0,12 A a (0,008)
500	4,34 A a (0,33)	4,18 AB a (0,29)	0,12 A a (0,009)	0,12 A a (0,011)
1000	3,70 A a (0,23)	3,32 B a (0,21)	0,11 A a (0,001)	0,10 A a (0,008)
2000	2,27 B a (0,23)	1,84 C a (0,14)	0,06 C a (0,06)	0,05 B a (0,005)

Letras maiúsculas diferentes na coluna e minúsculas nas linhas indicam diferença estatística ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey-Kramer.

A nodulação (quantidade e massa de nódulos) foi fortemente influenciada pela inoculação e também pelas doses de nitrogênio aplicadas. Nas mudas não inoculadas, foi encontrada uma quantidade irrisória de nódulos (menos que cinco em algumas plantas) apenas nas doses de 0 e 250 mg L⁻¹. Nas plantas inoculadas, como já era esperado, há elevado número de nódulos nas doses 0 e 250 mg L⁻¹, mas ocorre

um declínio a partir de 500 mg L⁻¹, com pouquíssimos nódulos observados nas doses 1000 e 2000 mg L⁻¹ de N (figura 11). A massa de nódulos seguiu padrão semelhante, mas com acentuada redução já na dose de 500 mg L⁻¹.

Figura 11 - Nodulação das mudas de farinha-seca, avaliada aos 350 dias após semeadura. Média do (a) número de nódulos por planta; e (b) massa de nódulos por planta



Nas plantas inoculadas, letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste de Tukey-Kramer ($p < 0,001$).

Tabela 7 - Matriz de correlações para as variáveis biométricas das mudas de farinha-seca, após 350 dias de cultivo em viveiro

	ALT	DAC	MR	MA	MT	IQD	NN
MSN	ns	ns	0,19	0,20	0,21	0,20	0,98
NN	ns	ns	0,21	0,22	0,23	0,21	
IQD	ns	0,45	0,90	0,38	0,90		
MT	0,39	0,51	0,99	0,47			
MA	0,45	0,49	0,46				
MR	0,36	0,51					
DAC	0,68						

Correlações significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Spearman; n.s.: correlação não significativa. ALT: altura; DAC: diâmetro do colo; MR: massa radicular; MA: massa aérea; MT: massa total; IQD: índice de qualidade de Dickson; NN: número de nódulos; MSN: massa de nódulos.

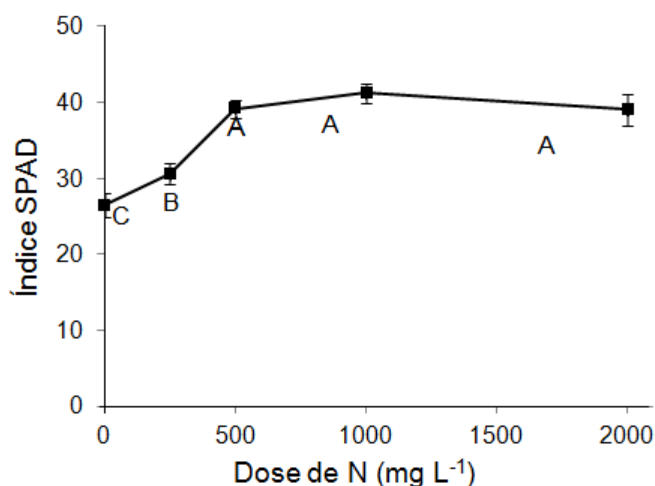
4.4 Índice SPAD

Não houve interação entre os fatores no índice SPAD. A aplicação de doses maiores de N proporcionou valores maiores do índice (figura 12), e as mudas inoculadas tiveram um valor ligeiramente maior do que as não inoculadas (35,72 contra 34,06), com diferença estatística ($p < 0,001$) (tabela 8).

Tabela 8 - Análise de deviance para o índice SPAD em folhas de mudas de farinha-seca

Variável	Fonte de variação	GL	Qui ²	Pr > Qui ²
Índice SPAD	Inoculação	1	49,15	< 0,0001
	Dose de N	4	104,49	< 0,0001

Figura 12 - Índice SPAD obtido em folhas de mudas de farinha-seca, de acordo com as doses de N aplicadas em viveiro, 315 dias após a semeadura. Não houve interação entre os fatores inoculação e dose de N



As letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste de Tukey-Kramer ($p < 0,001$).

4.5 Teores de N nos tecidos

Os tratamentos aplicados tiveram efeito nas concentrações e quantidade de nitrogênio das mudas (tabela 9).

Tabela 9 - Resumo e médias da análise de deviance para os teores e conteúdo de N na parte aérea e raízes de mudas de farinha-seca

Variável	Fonte de variação	GL	Qui ²	Pr > Qui ²
Teor de N nas raízes	Inoculação	1	10,44	0,0012
	Dose de N	4	255,03	<0,0001
	Inoc x Dose	4	7,74	0,1014
Quantidade de N nas raízes	Inoculação	1	4,90	0,0269
	Dose de N	4	46,39	<0,0001
	Inoc x Dose	4	10,75	0,0295
Teor de N na parte aérea	Inoculação	1	202,16	<0,0001
	Dose de N	4	490,68	<0,0001
	Inoc x Dose	4	228,53	<0,0001
Quantidade de N na parte aérea	Inoculação	1	67,32	<0,0001
	Dose de N	4	106,35	<0,0001
	Inoc x Dose	4	41,39	<0,0001

O conteúdo de N foi influenciado pelas doses aplicadas via fertilização. Nas plantas sem inoculação, a omissão de ureia resultou em conteúdo menor do nutriente na raiz e na parte aérea. Já nas plantas inoculadas, não há diferença desse conteúdo em qualquer dos níveis de ureia aplicados (tabela 8). A inoculação também proporcionou conteúdos maiores na parte aérea de mudas inoculadas, nas doses menores (até 500 mg L⁻¹) de adubação nitrogenada.

Foi observado um padrão crescente de concentração de nitrogênio de acordo com o aumento das doses de ureia aplicadas, tanto na raiz como na parte aérea. A inoculação também aumentou o teor de N nas raízes e, na parte aérea, quando houve pouca ou nenhuma aplicação de N (tabela 10).

Tabela 10 - Teor e conteúdo total de N na raiz e parte aérea de mudas de farinha-seca

Teor de N nas raízes (g kg ⁻¹)				Quantidade de N nas raízes (mg planta ⁻¹)		
Inoculação		Doses		Doses	Sem inoculação	Inoculadas BR 5611
Sem inoculação	22,57 B (1,23)	0	18,28 E (1,67)	0	37 C b (7)	52 A a (3)
		250	14,30 D (0,43)	250	46 BC b (3)	63 A a (4)
		500	18,45 C (0,21)	500	64 AB b (5)	72 A a (5)
Inoculadas BR 5611	25,71 A (0,53)	1000	17,14 B (1,04)	1000	79 A a (4)	76 A a (4)
		2000	42,37 A (1,05)	2000	68 AB a (8)	61 A a (5)

Teor de N na parte aérea (g kg ⁻¹)			Quantidade de N parte aérea (mg planta ⁻¹)		
Doses	Sem inoculação	Inoculadas BR 5611	Doses	Sem inoculação	Inoculadas BR 5611
0	17,85 E b (0,2)	31,85 C a (0,16)	0	7,1 C b (0,4)	17,8 A a (1,5)
250	21,54 D b (0,73)	30,57 C a (0,56)	250	9,2 C b (0,7)	15,8 B a (1,3)
500	28,44 C b (0,56)	30,91 C a (0,70)	500	13,9 B b (0,9)	19,8 A a (1,3)
1000	36,70 B a (0,74)	37,79 B a (0,33)	1000	18,7 AB a (0,7)	21,8 A a (1,5)
2000	44,93 A a (0,48)	44,28 A a (0,54)	2000	21,2 A a (1,5)	22,4 A a (1,8)

Letras maiúsculas diferentes nas colunas e minúsculas nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey-Kramer. (*). Não houve interação entre os fatores nesse caso.

5 DISCUSSÃO

Em mudas não adubadas com ureia, a inoculação com rizóbio proporcionou valores de biomassa iguais àqueles de plantas que receberam doses de 250 a 500 mg L⁻¹ de N-mineral, indicando boa eficiência da simbiose na incorporação de biomassa. Isso pode estar relacionado com o teor e conteúdo de N na raiz e parte aérea, que foram similares em quase todos os níveis de N aplicados, inclusive o controle. Dianda & Chalifour (2002), analisando mudas de *Faidherbia albida*, leguminosa arbórea do noroeste africano, observaram que em plantas sem adubação nitrogenada, a inoculação com determinada estirpe de *Bradyrhizobium* levou a um aumento do teor de N na parte aérea, em relação a plantas não inoculadas. Porto et al. (2015) também verificaram que mudas de *Inga edulis* foram beneficiadas pela inoculação com rizóbio.

Entretanto, há uma alta variabilidade nos benefícios da FBN às plantas. Por exemplo, para uma mesma espécie arbórea, existem espécies e estirpes de bactérias com grande “ranking” de eficiência simbiótica (PRIMIERI et al., 2016), que muitas vezes são inferiores à adubação nitrogenada (AIAZZI, 1996; GROSS et al., 2002). Mesmo em casos desse tipo, a inoculação de plantas com rizóbios não deixa de ser recomendada, uma vez que, quando não houver fornecimento de N via adubação, as plantas terão uma possibilidade de obtê-lo pela FBN (GÓES et al., 2015).

O estabelecimento e o funcionamento da FBN foram afetados pelos níveis crescentes de adubação nitrogenada, evidenciado pela redução de número e massa de nódulos. O mesmo evento já foi observado em diferentes espécies e locais (MREMA et al., 1997; DIANDA & CHALIFOUR, 2002; UDDIN et al., 2008). Contudo, propõe-se que a simbiose seja beneficiada por uma certa dose mínima de N-mineral (um “nível de ‘start’”), necessária para a formação da primeira área foliar da plântula (MARSHNER, 1987). No caso do presente trabalho, essa “dose start” pode ter sido fornecida pelo monofosfato amônio, usado como fonte de fósforo na solução nutritiva padrão, que contém cerca de 12% de N.

A massa radicular foi mais sensível aos tratamentos de adubação aplicados do que outras variáveis, como altura e diâmetro, principalmente nos níveis mais elevados de ureia. Isto certamente ocorreu por toxicidade do nutriente aplicado, prejudicando o metabolismo vegetal, embora as folhas não apresentassem sintomas de estresse.

Contudo, o modelo de regressão estimado para altura das plantas inoculadas sugere uma menor necessidade de aplicação de nitrogênio para atingir uma altura máxima, em relação àquelas sem inoculação.

O índice SPAD mede indiretamente a clorofila das folhas, através de análise dos comprimentos de onda da luz fotossinteticamente ativa. É usado também para avaliar o teor de nitrogênio em plantas (SILVEIRA & GONZAGA, 2017). Entretanto, neste experimento, não houve uma correlação muito forte (apesar de ser significativa) do teor foliar de N com os índices avaliados pelo aparelho. Provavelmente, isso se deve ao tamanho diminuto dos foliólulos da planta, e a metodologia aplicada pode ter sido insuficiente para contornar o problema. Jesus et al. (2008) recomendam que para cada espécie sejam realizados testes de calibração do aparelho com os teores de N-foliar.

As mudas de farinha-seca alocaram muito mais biomassa nas raízes do que nos outros tecidos, devido ao desenvolvimento expressivo em diâmetro da raiz pivotante. Em várias espécies de regiões com pouca precipitação ocorre a formação de estruturas chamadas “lignotuber”, por vezes semelhantes às que foram desenvolvidas pela farinha-seca neste experimento. O lignotuber é uma estrutura que pode armazenar água e nutrientes de reserva, podendo ser uma estratégia de reprodução para as plantas, especialmente brotação após queimadas (SCHUTTE et al., 1995). É possível que as mudas de *A. niopoides* tenham desenvolvido essa estrutura como uma forma de acumular substâncias de reserva, como ocorre em outras espécies, como *Pterocarpus erinaceus*, leguminosa nativa das savanas do Sudão, na África (ZIDA et al. 2008). Provavelmente, essa é uma característica própria de algumas espécies da família, já que outras leguminosas apresentam estruturas semelhantes da raiz pivotante, como o angico-do-cerrado, observado por Gross et al. (2002).

No entanto, é possível que o volume do recipiente, combinado com o tempo de cultivo em viveiro, tenha influenciado nesse crescimento relevante das raízes. Em um ensaio com farinha-seca na África, com recipientes maiores e usando solo, as mudas, apesar de ter uma biomassa radicular significativa, também tinham a parte aérea bem desenvolvida, com altura e área foliar expressivas, em tempo bem menor (OKUNOMO et al., 2007).

Dos índices de qualidade avaliados, o índice de Dickson foi o que mais respondeu coerentemente aos tratamentos. Este índice, proposto para mudas de espécies temperadas (DICKSON et al., 1960) é bastante usado em avaliação de qualidade de mudas de variadas espécies e locais. O valor do índice é favorecido por relações altura/diâmetro e massa aérea/radicular mais baixas. Por isso os tratamentos aplicados tiveram correlação alta com a biomassa radicular e total, neste experimento. Este padrão também foi observado por Binotto et al. (2010), em mudas de eucalipto e pinus. A altura das mudas não teve correlação muito forte com as variáveis de biomassa e o índice de Dickson.

Durante todo o período do experimento em viveiro, as mudas de farinha-seca estiveram em condições diferentes de seu ambiente natural: luminosidade (filme plástico no canteiro), regime hídrico, temperatura, umidade do ar, fertilizações e volume do recipiente, por exemplo. Assim, é possível que o crescimento da planta tenha sido limitado por algum fator. Também é provável que eficiência da simbiose rizóbio-leguminosa tenha tido grande variação ao longo do tempo e das condições do ambiente do tubete. Um dos fatores que pode afetar a fixação de N rapidamente é o encharcamento do sistema radicular das plantas, que, de modo geral, bloqueia o transporte de oxigênio ao interior dos nódulos (JUSTINO & SODEK, 2013).

A simbiose rizóbio-leguminosa não é a única interação mutualística que as plantas podem estabelecer com microrganismos. Muitas espécies vegetais estabelecem simbiose com fungos micorrízicos arbusculares, que podem promover a absorção de fósforo e o crescimento das plantas (GUPTA & JANARDHANAN, 1991). A farinha-seca é capaz de estabelecer simbiose com fungos micorrízicos (ZANGARO et al., 2002), mas não se sabe o quanto pode ser beneficiada por essa simbiose. É possível também que a interação com os fungos micorrízicos exerçam efeitos benéficos na simbiose com os rizóbios, como em outras plantas. Outros elementos químicos, como o fosforo, são importantes para o funcionamento da simbiose (MARSHNER, 1987). A adubação fosfatada tem o potencial de exercer grande efeito no crescimento de mudas e na nodulação de plantas leguminosas (COLONNA et al., 1991).

O microrganismo utilizado na inoculação (*Bradyrhizobium elkanii* BR 5611) foi selecionado e recomendado para *A. lebbbeck*, árvore nativa da Ásia, introduzida no Brasil há várias décadas. Desse modo, é possível que essa estirpe não expresse seu

total potencial de fixação com *A. niopoides*. No entanto, foi observada bastante nodulação nas pequenas doses de N, aumento expressivo de biomassa (principalmente radicular) em relação às plantas não-inoculadas, indicando que a prática obteve bom êxito dentro do que era esperado.

Porém, como é escasso o conhecimento sobre as relações de *A. niopoides* com seus microssimbiontes, seria interessante mais pesquisa no intuito de conhecer o grau de especificidade e potencial de fixação de N da árvore, inclusive com identificação e seleção de estirpes mais eficientes para a espécie (PORTO et al., 2017). Algumas pesquisas têm sido feitas em outros continentes nesse intuito, com espécies leguminosas de potencial de cultivo (LESUEUR et al., 2010; TEIXEIRA & RODRÍGUEZ-ESCHEVERRÍA, 2016).

6 CONCLUSÕES

De modo geral, as plantas de farinha-seca foram beneficiadas pela inoculação com rizóbios. No entanto, as doses elevadas de N aplicadas em solução nutritiva resultaram em perda da qualidade das plantas e drástica redução do funcionamento da simbiose. Assim, para produção de mudas em viveiros, é interessante a inoculação das plântulas com rizóbios, com aplicação de doses moderadas de N.

No entanto, é preciso conhecer mais a relação da espécie com as interações simbióticas, uma vez que ocorre em ampla área da América Latina e provavelmente tenha influência em processos importantes, como ciclagem de nutrientes e potencial para aplicações diversas.

REFERÊNCIAS

- AIAZZI, M. T.; ARGÜELLO, J. A.; ABRIL, A. Nodulated and non-nodulated *Prosopis chilensis* (Mol) St. seedlings: economy of carbon and nitrogen. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 89, n. 1, p. 25-29, 1996.
- ANDRADE, C. M. S.; SALMAN, A. K. D.; OLIVEIRA, T. K. **Guia Arbopasto**: Manual de identificação e seleção de espécies arbóreas para sistemas silvipastoris. Brasília: Embrapa, 2012.
- ARCE, M. L. R.; GALE, S. L.; MAXTED, N. A taxonomic study of *Albizia* (Leguminosae: Mimosoideae: Ingeae) in Mexico and Central America. **Anales del Jardín Botánico de Madrid**, Madrid, v. 65, n. 2, p. 255-305, 2008. Disponível em <https://rjb.revistas.csic.es/index.php/rjb/issue/view/22>. Acesso em 10 jan. 2017.
- BARKER, A. V.; BRYSON, G. M. Nitrogen. In: BARKER, A. V.; PILBEAM, D. J. (eds.) **Handbook of plant nutrition**. Boca Ratón: CRC Press, 2007. p.21-50.
- BAYALA, J.; DIANDA, M.; WILSON, J.; OUÉDRAOGO, S. J.; SANON, K. Predicting field performance of five irrigated tree species using seedling quality assessment in Burkina Faso, West Africa. **New Forests**, Dordrecht, v. 38, n. 3, p. 309-322, 2009.
- BINOTTO, A. F.; LÚCIO, A. D. C.; LOPES, S. J. Correlations between growth variables and the Dickson quality index in forest seedlings. **Cerne**, Lavras, v. 16, n. 4, p. 457-464, 2010.
- BRAGA, F. A.; VALE, F. R.; VENTORIM, N.; AUBERT, E.; LOPES, G. A. Exigências nutricionais de quatro espécies florestais. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 19, n. 1, p. 18-31, 1995.
- BRYAN, J. A.; BERLYN, G. P.; GORDON, J. C. Toward a new concept of the evolution symbiotic nitrogen fixation in the Leguminosae. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 186, n. 1, p.151-159, 1996.
- BUDOWSKI, G.; KASS, D. C. L.; RUSSO, R. O. Leguminous trees for shade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19 (s/n), p. 205-222, 1984.
- BUNDERSON, T. W.; EL WAKEEL, A.; SAAD, Z. A.; HASHIM, I. Agroforestry practices and potentials in Western Sudan. In: BUDD, W. W.; DUCHHART, I.; HARDESTY, L. H.; STEINER, F. **Planning for agroforestry**. Amsterdam: Elsevier, 1990.
- BURKART, A. E. *Albizzia hassleri* (Chodat), nov. comb. **Darwiniana**, Buenos Aires, v. 7, n. 4, p. 517-518, 1947.
- CARNEIRO, J. G. A. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1995.
- CARVALHO, P. E. R. Resultados experimentais de espécies madeireiras nativas do Estado do Paraná. **Silvicultura em São Paulo**, São Paulo, v. 16, p. 747-765, 1982.
- CARVALHO, P. E. R. Farinha seca (*Albizia niopoides*). In: CARVALHO, P.E.R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2003.

- CHAER, G. M.; RESENDE, A. S.; CAMPELLO, E. F. C.; FARIA, S. M.; BODDEY, R. M. Nitrogen-fixing legume tree species for the reclamation of severely degraded lands in Brazil. **Tree Physiology**, Oxford, v. 31, p.139-149, 2011.
- CHAVES, L. L. B. C.; CARNEIRO, J. G. A.; BARROSO, D. G. Crescimento de mudas de *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan (angico-vermelho) em substrato fertilizado e inoculado com rizóbio. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 6, p. 911-919, 2006.
- ClAVATTA, S. F., SILVA, M. R.; SIMÕES, D. Fertirrigação na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* nos períodos de inverno e verão. **Cerne**, Lavras, v. 20, n. 2, p. 217-222, 2014.
- COLONNA, J. P.; THOEN, D.; DUCOUSSO, M.; BADJI, S. Comparative effects of *Glomus mosseae* and P fertilizer on foliar mineral composition of *Acacia senegal* seedlings inoculated with *Rhizobium*. **Mycorrhiza**, Heidelberg, v. 1, p. 35-38, 1991.
- CORTINA, J.; VILAGROSA, A.; TRUBAT, R. The role of nutrients for improving seedling quality in drylands. **New Forests**, Dordrecht, v. 44, n. 5, p. 719-732, 2013.
- CRESTANA, M. S. M (org).; FERRETTI, A. R.; TOLEDO FILHO, D. V.; ÁRBOCZ, G. F.; SCHMIDT, H. A. P.; GUARDIA, J. F. C. **Florestas**: Sistemas de recuperação com essências nativas, produção de mudas e legislações. 2ªed. Campinas: CATI (Coordenadoria de Assistência Técnica Integral), 2006.
- DAN, T. H.; BRIX, H. Growth responses of the perennial legume *Sesbania sesban* to NH_4 and NO_3 nutrition and effects on root nodulation. **Aquatic Botany**, Amsterdam, v. 91, p. 238-244, 2009.
- DAVIS, A. S.; JACOBS, D. F. Quantifying root system quality of nursery seedlings and relationship to outplanting performance. **New Forests**, Dordrecht, v. 30, n. 2-3, p. 295-311, 2005.
- DIANDA, M.; CHALIFOUR, F. P. Effets du N minéral et du genotype de la plante sur la croissance et la nodulation de *Faidherbia albida*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 80, p. 241-254, 2002.
- DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO. Instrução Normativa SDA nº 13, de 24 de março de 2011. Diário Oficial da União, n. 58, 25 de março de 2011. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/fertilizantes/legislacao/in-sda-13-de-24-03-2011-inoculantes.pdf>
- DIAS, P. F.; SOUTO, S. M.; RESENDE, A. S.; URQUIAGA, S.; ROCHA, G. P.; MOREIRA, J. F.; FRANCO, A. A. Transferência do N fixado por leguminosas arbóreas para o capim *Survenola* crescido em consórcio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 2, p. 352-356, 2007.
- DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of White Spruce and White Pine seedling stock in nurseries. **The Forest Chronicle**, v. 36, p. 10-13, 1960.
- DIGGLE, P. J.; HEAGERTY, P. J.; LIANG, K. Y.; ZEGER, S. L. **Analysis of longitudinal data**. 2ªed. Oxford: Oxford University Press, 2002.
- DÖBEREINER, J. Nodulação e fixação de nitrogênio em leguminosas florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19 (s/n), p. 83-90, 1984.

DUAN, M.; CHANG, S. Nitrogen fertilization improves the growth of lodgepole pine and white spruce seedlings under low salt stress through enhancing photosynthesis and plant nutrition. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 404, p. 197-204, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.08.045>. Acesso em 15 jul. 2017.

DUMROESE, R. K.; DAVIS, A. S.; JACOBS, D. F. Nursery response of *Acacia koa* seedlings to container size, irrigation method, and fertilization rate. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 34, n. 6, p. 877-887, 2011.

DURIGAN, G.; FIGLIOLIA, M. B.; KAWABATA, M.; GARRIDO, M. A. O.; BAITELLO, J. B. **Sementes e mudas de árvores tropicais**. São Paulo: Páginas & Letras Editora e Gráfica, 1997.

FARIA, S. M.; FRANCO, A. A.; MENANDRO, M. S.; JESUS, R. M.; BAITELLO, J. B.; AGUIAR, O. T.; DÖBEREINER, J. Levantamento da nodulação de leguminosas florestais nativas na região Sudeste do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19 (s/n), p. 143-153, 1984.

FARIA, S. M.; LEWIS, G. P.; SPRENT, J. I.; SUTHERLAND, J. M. Occurrence of nodulation in the Leguminosae. **New Phytologist**, Oxford, v. 111, n. 4, p. 607-619, 1989.

FARIA, S. M.; LIMA, H. C. Additional studies of the nodulation status of legume species in Brazil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 200, n. 2, p. 185-192, 1998.

FERGUSON, B. J.; INDRASUMUNAR, A.; HAYASHI, S.; LIN, M. H.; LIN, Y. H.; REID, D. E.; GRESSHOFF, P. M. Molecular analysis of legume root nodule development and autoregulation. **Journal of Integrative Plant Biology**, Beijing, v. 52, n. 1, p. 61-76, 2010.

FRANCO, A. A.; FARIA, S. M. The contribution of N₂-fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 5, p. 897-903, 1997.

FRED, E. B.; WAKSMAN, S. A. **Laboratory manual of general microbiology**. New York and London: McGraw-Hill Book Company, Inc., 1928.

GALIANA, A.; GNAHOUA, G. M.; CHAUMONT, G.; LESUEUR, D.; PRIN, Y.; MALLET, B. Improvement of nitrogen fixation in *Acacia mangium* through inoculation with rhizobium. **Agroforestry Systems**, Dordrecht, v. 40, n. 3, p. 297-307, 1998.

GALVÃO, A. P. M. Árvores fixadoras de nitrogênio no Programa Nacional de Pesquisa Florestal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19 (ed. especial), p. 13-20, 1984.

GEURTS, R.; XIAO, T. T.; REINHOLD-HUREK, B. What does it take to evolve a nitrogen-fixing endosymbiosis? **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 21, n. 3, p. 199-208, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.012>. Acesso em 21 jun. 2016.

GIRALDO, V. D.; DEL VALLE, J. I. Modelación del crecimiento de *Albizia niopoides* (Mimosaceae) por métodos dendrocronológicos. **Revista de Biología Tropical**, San José, v. 60, n. 3, p. 1117-1136, 2012.

GÓES, G. S.; GROSS, E.; BRITO-ROCHA, E.; MIELKE, M. S. Efeitos da inoculação com bactérias diazotróficas e da adubação nitrogenada no crescimento e na qualidade de mudas de *Inga laurina* (SW.) Willd. (Fabaceae). **Revista Árvore**, Viçosa, v.39, n. 6, p. 1031-1038, 2015.

GONÇALVES, J. L. M.; NOGUEIRA JUNIOR, L. T.; DUCATTI, F.; Recuperação de solos degradados. In: KAGEYAMA, P. Y.; OLIVEIRA, R. E.; MORAES, L. F. D.; ENGEL, V. L.; GANDARA, F. B. (org). **Restauração ecológica de ecossistemas naturais**. Botucatu: FEPAF, 2003, p. 111-163.

GROSS, E.; CORDEIRO, L.; CAETANO, F. H. Nodule ultrastructure and initial growth of *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. var. *falcata* (Benth.) Altschul plants infected with rhizobia. **Annals of Botany**, Oxford, v. 90, p. 175-183, 2002.

GROSSNICKLE, S. C.; MACDONALD, J. E. Why seedlings grow: influence of plant attributes. **New Forests**, Dordrecht, v. 49, p. 1-34, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11056-017-9606-4>. Acesso em 21 ago. 2017

GUPTA, M. L.; JANARDHANAN, K. K. Mycorrhizal association of *Glomus aggregatum* with palmarosa enhances growth and biomass. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 131, n. 2, p. 261-263, 1991.

HAHN, C. M.; OLIVEIRA, C.; AMARAL, E. M.; RODRIGUES, M. S.; SOARES, P. V.; SILVA, M. R. **Recuperação florestal**: da semente à muda. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente, 2006.

HOEHNE, F. C. **Frutas Indígenas**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1946.

IGANCI, J. R. V. 2015. *Albizia* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB82616>.

ILDIS (International Legume Database and Information Service). **Information about the family Leguminosae**. 2006. Disponível em <<http://www.ildis.org/Leguminosae/>> Acesso em 20 out. 2016.

JACKSON, D. P.; DUMROESE, R. K.; BARNETT, J. P. Nursery response of container *Pinus palustris* seedlings to nitrogen supply and subsequent effects on outplanting performance. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 265, p. 1-12, 2012.

JUSTINO, G. C.; SODEK, L. Recovery of nitrogen fixation after short-term flooding of the nodulated system of soybean. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 170, p. 235-241, 2013.

KASS, D. C. L.; SYLVESTER-BRADLEY, R.; NYGREN, P. The role of nitrogen fixation and nutrient supply in some agroforestry systems of the Americas. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 5-6, pp. 775-785, 1997.

KONICA MINOLTA, INC. **Chlorophyll Meter SPAD-502Plus: a lightweight handheld meter for measuring the chlorophyll content of leaves without causing damage to plants**. KONICA MINOLTA INC, Japan, 2016. Disponível em<http://www.konicaminolta.com/instruments/download/catalog/color/pdf/spad502plus_catalog_eng.pdf> Acesso em 20 jan. 2017.

KOZEN, E. R.; NAVROSKI, M. C.; FRIEDERICH, G.; FERRARI, L. H.; PEREIRA, M. O.; FELIPPE, D. The use of hydrogel combined with appropriate substrate and fertilizer improve quality and growth performance of *Mimosa scabrella* Benth. Seedlings. **Cerne**, Lavras, v. 23, n. 4, p. 473-482, 2017.

LEDGARD, S. F. Transfer of fixed nitrogen from white clover to associated grasses in swards grazed by dairy cows, estimated using ^{15}N methods. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.131, n.2, p.215-223, 1991.

LEITE, T. S.; DOMBROSKI, J. L. D.; FREITAS, R. M. O.; LEITE, M. S.; RODRIGUES, M. R. O. Produção de mudas de *Enterolobium contortisiliquum* e partição de assimilados em resposta à adubação fosfatada e inoculação com fungos micorrízicos. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 27, n. 4, p. 1157-1166, 2017. Disponível em <https://doi.org/10.5902/1980509830293>. Acesso em 20 nov. 2017.

LESUEUR, D.; FOUNOUNE, H.; LEBONVALLET, S.; SARR, A. Effect of rhizobial inoculation on growth of *Calliandra* tree species under nursery conditions. **New Forests**, Dordrecht, v.39, p.129-137, 2010.

LEWIS, G. P.; SCHRIRE, B.; LOCK, M. **Legumes of the World**. London: Royal Botanic Gardens Kew, 2005.

LIM, C. W.; LEE, Y. W.; LEE, S. C.; HWANG, C. H. Nitrate inhibits soybean nodulation by regulating expression of CLE genes. **Plant Science**, Ireland, v.229, p.1-9, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.08.014>. Acesso em 14 jan. 2016.

LOPEZ, J. A.; LITTLE JUNIOR, E. L.; RITZ, G. F.; ROMBOLD, J. S.; HAHN, W. J. **Árboles comunes del Paraguay**, 2ªed., Cuerpo de Paz, 2002.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Vol. 03, 3ªed. Nova Odessa: Plantarum, 2009.

MALAVOLTA, E. **Manual de Química Agrícola: adubos e adubação**, 2ª ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1967.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2ª ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997.

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

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2ª ed. London: Academic Press, 1995.

MASSON-BOIVIN, C.; GIRAUD, E.; PERRET, X.; BATUT, J. Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes: how many rhizobium recipes? **Trends in Microbiology**, London, v. 17, n. 10, p. 458-466, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.07.004>. Acesso em 14 jan. 2016.

MENDES, M. M. C.; CHAVES, L. F. C.; PONTES NETO, T. P.; SILVA, J. A. A.; FIGUEIREDO, M. V. B. Crescimento e sobrevivência de mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) inoculadas com micro-organismos simbiotes em condições de campo. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, n. 2, p. 309-320, 2013.

MOREIRA, F. M. S. Bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam espécies de Leguminosae. In: MOREIRA, F. M. S.; HUISING, E. J.; BIGNELL, D. E. **Manual de biologia dos solos tropicais**. Lavras: Ed. UFLA, 2010.

MOURA, G. G. D.; ARMAS, R. D.; MEYER, E.; GIACHINI, A. J.; ROSSI, M. J.; SOARES, C. R. F. S. Rhizobia isolated from coal mining areas in the nodulation and growth of leguminous trees. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 40, e0150091, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/18069657rbcs20150091>. Acesso em 20 jan. 2017.

MREMA, A. F.; GRANHALL, U.; SENNERBY-FORSSE, L. Plant growth, leaf water potential, nitrogenase activity and nodule anatomy in *Leucaena leucocephala* as affected by water stress and nitrogen availability. **Trees**, Berlin, v. 12, n. 1, p. 42-48, 1997.

MÜLLER, S. PEREIRA, P. A. A.; MARTIN, P. Effect of different levels of mineral nitrogen on nodulation and N₂ fixation of two cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 152, n. 1, p. 139-143, 1993.

MUNIZ, A. S.; SILVA, M. A. G. Exigências nutricionais de mudas de peroba-rosa (*Aspidosperma polyneuron* Muller Argoviensis) em solução nutritiva. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 19, n. 2, p. 263-271, 1995.

MIYAWAKI, A. Restoration of native forests from Japan to Malaysia. In: LIETH, H; LOHMANN, M. **Restoration of tropical forest ecosystems**: Proceedings of the Symposium held on October 7-10, 1991. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. **Tropical legumes: Resources for the future**. Washington D.C., 1979.

NELDER, J. A.; WEDDERBURN, R. N. Generalized linear models. **Journal of the Royal Statistical Society Series A**, Hoboken, v. 135, n. 3, p. 370-384, 1974.

NICOLOSO, F. T.; FOGAÇA, M. A. F.; ZANCHETTI, F.; MISSIO, E. Nutrição mineral de mudas de grápia (*Apuleia leiocarpa*) em ARGISSOLO VERMELHO distrófico arênico: (1) efeito da adubação NPK no crescimento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 6, p. 991-998, 2001.

ODEE, D. W.; SUTHERLAND, J. M.; KIMITI, J. M.; SPRENT, J. I. Natural rhizobial populations and nodulation status of woody legumes growing in diverse Kenyan conditions. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 173, n. 2, p. 211-224, 1995.

OKUNOMO, K.; BOSAH, B. O.; OFUOKU, A. U.; OKUNOMO, J. N. Effect of rhizobium inoculation on seedling growth of *Albizia niopoides* (Spruce ex Benth.) Burkart. **Research Journal of Biological Sciences**, v. 2, n. 1, p. 45-50, 2007.

ORWA et al. **Agroforestry Database 4.0**. World Agroforestry Centre, Kenya, 2009. Disponível em <<http://www.worldagroforestry.org/treedb/index.php>>. Acesso em 03 fev.2017.

PATREZE, C. M.; CORDEIRO, L. Nitrogen-fixing and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbioses in some tropical legume trees of tribe Mimoseae. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 196, n. 2-3, p. 275-285, 2004.

PATREZE, C. M.; CORDEIRO, L. Nodulation, arbuscular mycorrhizal colonization and growth of some legumes native from Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 527-537, 2005.

POKHAREL, P.; CHANG, S. X. Exponential fertilization promotes seedlings growth by increasing nitrogen retranslocation in trembling aspen planted for oil sands reclamation. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 372, p. 35-43, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.03.034>. Acesso em 21 jun. 2017.

PORTO, D. S.; FARIAS, E. N. C.; CHAVES, J. S.; SOUZA, B. F.; MEDEIROS, R. D.; ZILLI, J. E.; SILVA, K. Symbiotic effectiveness of *Bradyrhizobium ingae* in promoting growth of *Inga edulis* Mart. seedlings. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 41, e0160222, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/18069657rbcS20160222>. Acesso em 24 jun. 2017.

POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas do Pantanal**. Brasília: Embrapa, SPI, 1994. 320p.

PRIMIERI, S.; COSTA, M. D.; STROSCHEIN, M. R. D.; STOCCO, P. SANTOS, J. C. P.; ANTUNES, P. M. Variability in symbiotic effectiveness of N₂ fixing bacteria in *Mimosa scabrella*. **Applied Soil Ecology**, v. 102, p. 19-25, 2016.

RATKOWSKY, D. A. **Handbook of nonlinear regression models**. New York: Marcel Deckers Inc, 1990.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**, 7ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2007.

REMIGI, P.; ZHU, J.; YOUNG, J. P. W.; MASSON-BOIVIN, C. Symbiosis within symbiosis: evolving nitrogen-fixing legume symbionts. **Trends in Microbiology**, London, v. 24, n. 1, p. 63-75, 2016.

RESENDE, A. V.; FURTINI NETO, A. E.; CURI, N. Mineral nutrition and fertilization of native tree species in Brazil: Research progress and suggestions for management. **Journal of Sustainable Forestry**, v. 20, n. 2, p. 45-81, 2005.

ROCHA, G. P. E.; BORGES, L. M.; ROMERO, R. Mimosoideae (Leguminosae) na Reserva Ecológica do Panga, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 65, n. 3, p. 735-750, 2014.

RODRIGUES, L. A.; MARTINS, M. A.; SALOMÃO, M. S. M. B. Uso de micorrizas e rizóbio em cultivo consorciado de eucalipto e sesbânia. I – Crescimento, absorção e transferência de nitrogênio entre plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 583-591, 2003.

RODRIGUES, L. A.; MARTINS, M. A.; SALOMÃO, M. S. M. B. Uso de micorrizas e rizóbio em cultivo consorciado de eucalipto e sesbânia. II – Absorção e eficiência de utilização de fósforo e frações fosfatadas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 593-599, 2003.

SCHERR, S. J. The diagnosis and design approach to agroforestry project planning and implementation: Examples from Western Kenya. In: BUDD, W. W.; DUCHHART, I.; HARDESTY, L. H.; STEINER, F. **Planning for agroforestry**. Amsterdam: Elsevier, 1990.

SCHROTH, G.; KOLBE, D.; PITTY, B.; ZECH, W. Root systems characteristics with agroforestry relevance of nine leguminous tree species and a spontaneous fallow in a semi-deciduous rainforest area of West Africa. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 84, n. 1-3, p. 199-208, 1996.

SCHUTTE, A. L.; VLOK, J. H. J.; VAN WYK, B. E. Fire-survival strategy: a character of taxonomic, ecological and evolutionary importance in fynbos legumes. **Plant Systematics and Evolution**, v. 195, p. 243-259, 1995.

SCHOTT, K. M.; SNIVELY, A. E. K.; LANDHÄUSSER, S. M.; PINNO, B. D. Nutrient loaded seedlings reduce the need for field fertilization and vegetation management on boreal forest reclamation sites. **New Forests**, Dordrecht, v. 47, n. 3, p. 393-410, 2016.

SILVA, R. B. G. **Manejo hídrico sobre o desenvolvimento e a qualidade de mudas florestais nativas em ambientes protegidos**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2013. 119f.

SILVA, M. A. G.; MUNIZ, A. S. Exigências nutricionais de mudas de cedro (*Cedrela fissilis* Velloso) em solução nutritiva. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 19, n. 3, p. 415-425, 1995.

SILVEIRA, P. M.; GONZAGA, A. C. O. Portable chlorophyll meter can estimate the nitrogen sufficiency index and levels of topdressing nitrogen in common bean. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 47, n. 1, p. 1-6, 2017.

SOUZA JUNIOR, C. N.; BRANCALION, P. H. **Sementes e mudas**: guia para propagação de árvores brasileiras. São Paulo: Oficina de Textos, 2016.

SPRENT, J. I.; PARSONS, R. Nitrogen fixation in legume and non-legume trees. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, n. 2-3, p. 183-196, 2000.

SPRENT, J. I.; ARDLEY, J.; JAMES, E. K. Biogeography of nodulated legumes and their nitrogen-fixing symbionts. **New Phytologist**, Cambridge, v. 215, p. 40-56, 2017. Disponível em <https://doi.org/10.1111/nph.14474>. Acesso em 20 mai. 2017.

SPRUCE, R. *Pithecellobium niopoides*. **Transactions of Linnean Society of London**, Oxford, v. 30, n. 3, p. 591-592, 1875.

TEIXEIRA, H.; RODRÍGUEZ-ESCHEVERRÍA, S. Identification of symbiotic nitrogen-fixing bacteria from three African leguminous trees in Gorongosa National Park. **Systematic and Applied Microbiology**, Munich, v. 39, p. 350-358, 2016.

THRALL, P. H.; MILLSOM, D. A.; JEAUVONS, A. C.; HARVEY, G. R.; BAGNALL, D. J.; BROCKWELL, J. Seed inoculation with effective root-nodule bacteria enhances revegetation success. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 42, n. 4, p. 740-751, 2005.

TRUBAT, R.; CORTINA, J.; VILAGROSA, A. Nursery fertilization affects seedling traits but not field performance in *Quercus suber* L. **Journal of Arid Environments**, London, v. 74, n. 4, p. 491-497, 2010.

TSAI, S. M.; BONETTI, R.; AGBALA, S. M.; ROSSETTO, R. Minimizing the effect of mineral nitrogen on biological nitrogen fixation in common bean by increasing nutrient levels. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 152, n. 1, p. 131-138, 1993.

UCHOA CAVALCANTI, A. B. A vacinação do solo. **Boletim do Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo**, Campinas, v. 9, n. 2, 1898.

UDDIN, M. B.; KHAN, M. A. S. A.; MUKUL, S. A.; HOSSAIN, M. K. Effects of inorganic fertilizers on biological nitrogen fixation and seedling growth of some agroforestry trees in Bangladesh. **Journal of Forestry Research**, Heidelberg, v. 19, n. 4, p. 303-306, 2008.

URENHA, L. C.; PRADELLA, J. G. C.; OLIVEIRA, M. S.; BONOMI, A. Produção de biomassa celular de rizóbio. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa, DF, 1994.

WESTFALL, P. H.; TOBIAS, R. D.; ROM, D.; WOLFINGER, R. D.; HOCHBERG, Y. **Multiple comparisons and multiple tests using the SAS System**. Cary, NC: SAS Institute, 1999.

ZANGARO, W.; NISIZAKI, S. M. A.; DOMINGOS, J. C. B.; NAKANO, E. M. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas nativas da bacia do Rio Tibagi, Paraná. **Cerne**, Lavras, v. 8, n. 1, p. 77-87, 2002.

ZIDA, D.; TIGABU, M.; SAWADOGO, L.; ODÉN, P. C. Initial seedling morphological characteristics and field performance of two Sudanian savanna species in relation to nursery production period and watering regimes. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 255, n. 7, p. 2151-2162, 2008.