

Avanços recentes na pesquisa em fixação biológica de nitrogênio no Brasil*

JOHANNA DÖBEREINER

A biologia do solo oferece inúmeras alternativas para o desenvolvimento de novas biotecnologias que visam substituir sistemas agrícolas tradicionais baseados no crescente uso de fertilizantes químicos e agrotóxicos. Devido ao alto custo dos fertilizantes nitrogenados (70% dos custos dos fertilizantes), a fixação biológica de nitrogênio que permite o uso, pelas plantas, do N₂ molecular da atmosfera, é o processo mais estudado na biologia do solo, e os desenvolvimentos da biotecnologia moderna em muito contribuíram para os progressos recentes neste campo. A agricultura tropical não só é sujeita à erosão e, portanto, menos apropriada para agrossistemas baseados em uso intensivo de fertilizantes; ela ainda oferece umidade e temperaturas ótimas durante todo o ano para a atividade microbiológica.

Na presente conferência, os avanços biotecnológicos mais recentes na pesquisa relacionada com fixação biológica de nitrogênio no Brasil (FBN) e as suas implicações com a agricultura tropical serão discutidos.

Fixação de N₂ em leguminosas

As leguminosas possuem o mecanismo simbiótico mais sofisticado e eficiente entre as associações de plantas superiores com bactérias fixadoras de N₂ e as leguminosas de grão e forrageiras têm papel importante na agricultura tropical. O sucesso da soja no Brasil se deve a um programa de melhoramento direcionado à obtenção de cultivares com alta produção sem adubação nitrogenada e ao desenvolvimento em paralelo de inoculantes contendo rizóbios adaptados às condições e solos brasileiros. O avanço da soja para os cerrados se deve, além da identificação e solução dos problemas de fertilidade, principalmente à obtenção de inoculantes novos capazes de competir com a microflora de um ecossistema perturbado após a conversão dos cerrados em terras de cultura. A adubação e calagem destes solos resulta numa multiplicação indiscriminada de actinomicetos produtores de antibióticos (COELHO e DROZDOWICZ, 1979) e a sobrevivência dos rizóbios inoculados nestes solos depende da resistência à streptomina e vários outros antibióticos (SCOTTI *et al.*, 1982).

* Conferência proferida pela professora Johanna Döbereiner, da Universidade Rural do Rio de Janeiro, no IEA em 16 de março de 1989.

QUADRO 1.

EFEITO DA ESTIRPE DE *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* NA NODULAÇÃO, NO N UREÍDEO, NA SEIVA E NO ÍNDICE DE COLHEITA DE N EM SOJA CRESCIDA EM VASOS COLOCADOS AO AR LIVRE (NEVES *et al.*, 1985).

Estirpe	Peso seco dos nódulos (mg por planta)	Eficiência relativa H ₂ (1 - (-----) C ₂ H ₄)	N ureídeo (xg N cm-3)	Índice de colheita de N (N na semente) x 100 N total
29W	230 ^a	0.74 ^b	323.3 ^b	58.9 ^b
DF 395	307 ^a	0.41 ^c	194.3 ^c	52.1 ^b
SM1b	233 ^a	0.30 ^c	209.5 ^c	55.9 ^b
965	97 ^b	0.97 ^a	580.0 ^a	68.8 ^a
CB 1809	83 ^b	0.98 ^a	627.1 ^a	69.0 ^a
DF 383	92 ^b	0.94 ^a	439.5 ^b	67.7 ^a

(a) Valores seguidos pela mesma letra não são diferentes com p = 0.05 (Duncan's teste).

Estudos mais recentes revelaram ainda que há rizóbios de soja muito mais eficientes que os atualmente usados nos cerrados e que transferem proporção maior do N fixado aos grãos (NEVES *et al.*, 1985). Estas estirpes possuem um mecanismo de reciclamento do H₂ liberado durante o processo da redução do N₂ (HUP⁺) que de forma ainda desconhecida é relacionado com a incorporação do N fixado em forma de ureídeos, que por sua vez transportam o N diretamente aos grãos (quadro 1), havendo menor perda com a caída das folhas. A inoculação com estas estirpes de rizóbios, em solos onde não foi plantada soja anteriormente com outros inoculantes, pode proporcionar aumentos de produção de grãos na ordem de 40% (quadro 2). Estas estirpes, entretanto, são pouco competitivas e ainda não foi possível estabelecê-las em campos de cerrado onde já foi plantada soja inoculada anteriormente.

Inter-relações semelhantes entre eficiência nodular, HUP, transporte de N em forma de ureídeos e índice de colheita foram também observadas em feijão (HUNGRIA e NEVES, 1986, NEVES e

QUADRO 2.

EFEITOS DA ESTIRPE DE *RHIZOBIUM* NA FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO DE SOJA CRESCIDA NO CAMPO (NEVES *et al.*, 1985).

Estirpe	N ₂ fixado (kg N ha-1)	Eficiência nodular (mg N ₂ fix.g-1 nod.)	Produção kg ha-1	Índice de colheita de Na
29W	343 ^b	426 ^c	1863 ^c	60.1 ^b
DF 395	214 ^b	543 ^b	1768 ^{cd}	61.1 ^b
SM1b	204 ^c	491 ^b	1398 ^{de}	56.0 ^b
965	278 ^a	899 ^a	2898 ^a	86.5 ^a
CB 1809	239 ^b	1005 ^a	2682 ^a	82.2 ^a
DF 383	242 ^b	851 ^a	2284 ^b	82.0 ^a
Control	0	—	948 ^f	49.1 ^{bc}

^a N na semente x 100 N total

HUNGRIA, 1987), onde, em vez de dois grupos distintos de eficiência nodular, etc., parece ter variações contínuas influenciadas também pelo genótipo da planta (figura 1). A fixação de N_2 em feijão tem problemas adicionais causados pela instabilidade genética das estirpes de rizóbios isoladas desta cultura, que é causada pelo rearranjo freqüente do DNA (MARTINEZ *et al.*, 1988), que ainda é acelerado sob temperaturas elevadas (35 a 40°C) que freqüentemente ocorrem em nossos solos. Estes autores observaram dois grupos de rizóbios capazes de nodular o feijão, o grupo I, que é específico para *Phaseolus vulgaris* e que é instável em relação a sua performance simbiótica, enquanto o grupo II, além do feijão, nodula várias leguminosas, principalmente arbóreas, e mostra características dos rizóbios destas espécies que são muito mais estáveis, nodulando e fixando N_2 com até 40°C (CUNHA e FRANCO, com. pess.). A seleção entre mais que 100 estirpes de rizóbio que nodulam leguminosas arbóreas resultou em um grupo de 11 que são capazes de nodular o feijão, metade dos quais fixando nitrogênio normalmente em regime de 8h/dia de 40°C (quadro 3) (HUNGRIA e FRANCO, 1988). Estes resultados recentes podem vir a solucionar o problema da fixação de N_2 em feijão até então sem solução à vista. Como no caso da soja, no entanto ainda há necessidade de adaptação destas estirpes às condições de solos ácidos e fazê-las mais competitivas com os rizóbios que ocorrem naturalmente em nossos solos.

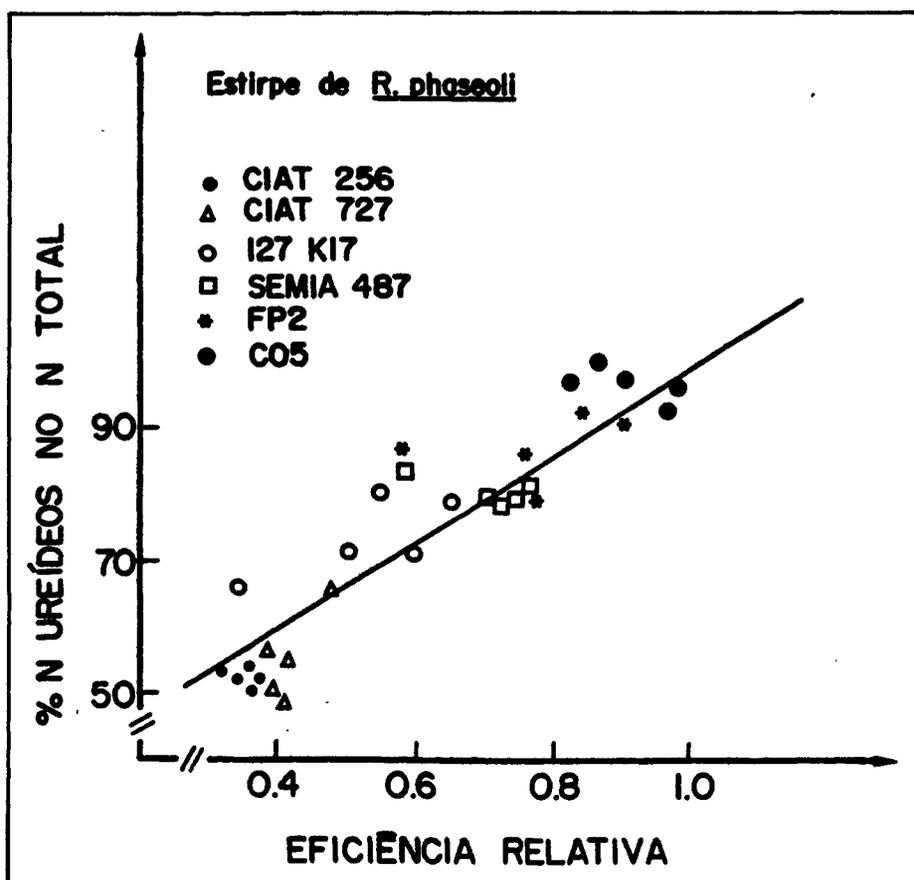


Figura 1. Correlação entre a eficiência relativa ($R.E. = 1 - (C_2H_4 \times 100)$) e a concentração de N ureídico na seiva ($r = 0.903$) (Hungria e Neves, 1986).

QUADRO 3.

NODULAÇÃO E FIXAÇÃO DE N₂ SOB TEMPERATURAS DO SOLO EXCESSIVAS (8H POR DIA À 40°C) DE FEIJÃO INOCULADO COM *RIZOBIUM* SP. ISOLADO DE LEGUMINOSAS ARBÓREAS (HUNGRIA e FRANCO, 1988).

Origem da estirpe	Nº estirpe	Nº nódulos por planta	N total (mg por planta)
Gliricidia sp.	Br 8801	8c	15d
	8802	20cd	22cd
	8803	12c	14d
Leucaena sp.	Br 814	46b	41ab
	816	40bc	41ab
	817	68a	52a
Lonchocarpus sp.	Br 6009	14de	28c
	5010	60ab	48ab
	6011	20cde	22cd
Phaseolus vulgaris	CNPAF 146	2c	12d
P. vulgaris + 90 mg N/planta		0	35bc

Fixação de nitrogênio em cereais e cana-de-açúcar:

A extensão da FBN aos cereais e à cana-de-açúcar representa um dos maiores desafios da pesquisa em biologia do solo, já que estas culturas representam a maior parcela nas culturas plantadas em nosso meio, usando mais que 90% dos fertilizantes nitrogenados vendidos no país. Gramíneas incluindo cereais e cana-de-açúcar não formam nódulos com bactérias fixadoras de N₂ como as leguminosas. Mas nos últimos 15 anos, foram descobertas 10 novas espécies de bactérias fixadoras de N₂ que vivem numa associação menos perfeita nas raízes das gramíneas, 7 delas descobertas no Brasil (quadro 4). Estas bactérias todas são microaeróbias quando dependentes da FBN, isto é, somente fixam N₂ quando não há acúmulo de oxigênio em torno delas. A chave para o descobrimento deste grupo novo de bactérias foi o uso de meios de cultura semi-sólidos onde, atraídas pela quimotactia, as bactérias se movem para a região no meio onde a taxa de difusão de O₂ é menor ou igual à taxa de respiração das bactérias.

Todas estas bactérias, com exceção do *Acetobacter diazotrophicus*, em regiões tropicais e subtropicais ocorrem em números entre 10³ e 10⁶g⁻¹ no solo e, geralmente, em números maiores ainda na superfície de raízes de cereais e gramíneas forrageiras (MAGALHÃES *et al.*, 1983, BALDANI *et al.*, 1986). Foram ainda isoladas do interior das raízes (raízes tratadas com desinfetantes) e em alguns casos também dos colmos (quadro 4). *A. halopraeferans* é comum na superfície de raízes, mas não no interior de capim "Kallar", importante forrageira para solos áridos salinos no Paquistão (REINHOLD *et al.*, 1987). Esta espécie apresenta uma adaptação marcante às condições áridas, tendo, como temperatura ótima para crescimento e fixação de N₂, 41°C. Esta bactéria não foi encontrada em solos salinos do Rio de Janeiro ou em raízes de várias outras gramíneas colhidas na região semi-árida do Nordeste. Mas estirpes de *A. brasiliense*, isoladas de raízes destas gramíneas, mostram adaptação considerável a temperaturas elevadas e concentrações de sal quando comparadas às estirpes isoladas na região Centro-Sul do país (figura 2).

QUADRO 4.

COMPARAÇÃO DE NOVAS BACTÉRIAS FIXADORAS DE N₂ QUE OCORREM EM ASSOCIAÇÃO COM RAÍZES. (BALDANI *et al.*, 1986, BARRAQUIO *et al.*, 1983, CAVALCANTE e DÖBEREINER, 1988, REINHOLD *et al.*, 1988, SELDIN, *et al.*, 1984, TARRAND *et al.*, 1978 e WATANABE *et al.*, 1987).

	Azospirillum brasiliense, A. lipoferum	A. amazonense	A. halopraeferans	Herbaspirillum seropedicae	Acetobacter diazotrophicus	Bacillus azotofixans	Pseudomonas diazotrophicus
Crescimento sob ar	+	+	+	+	+	+	+
Crescimento com N ₂ como única fonte de N	+	+	+	+	+	+	-
Fixação de N ₂ não- afetada por 10 mMNO ₃	-	-	-	-	+	+	-
Usa sacarose	-	+	-	-	+	±	-
Temperatura ótima (C)	35	35	41	35	30	32	30
Isolada do interior de raízes	+	+	-	+	+	+	+
Isolada de colmos	+	+	-	-	+	-	+

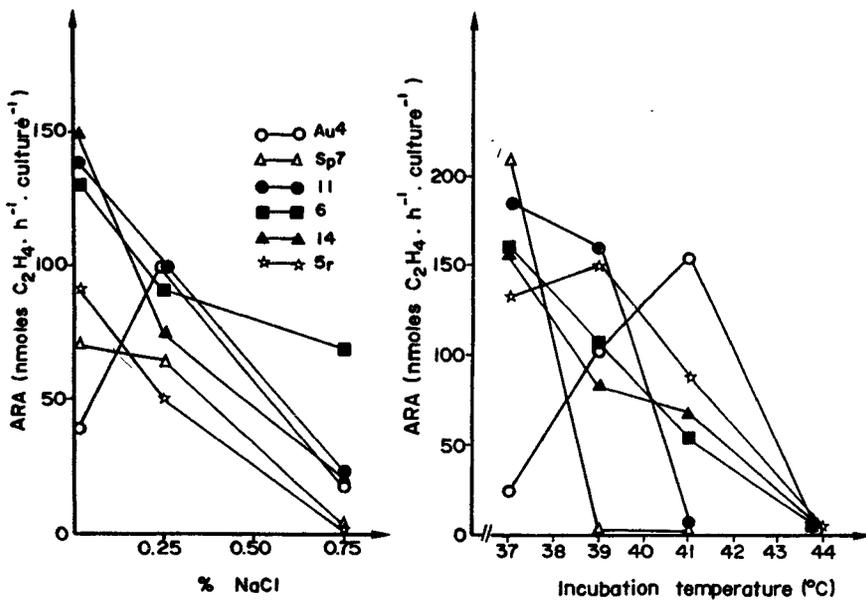


Figura 2. Tolerância ao sal e temperaturas excessivas de *Azospirillum halopraeferans* (Au4), *A. brasiliense* (Sp 7) isolado do solo e três espécies de *A. brasiliense* (11, 6, 14) e uma de *A. lipoferum* (5r) isoladas de raízes de gramíneas forrageiras no Nordeste (Reinhold, 1988).

Como no caso das leguminosas, o efeito da inoculação de cereais com estas bactérias depende do estabelecimento delas sob condições de campo. Um exemplo do efeito da inoculação de sorgo é apresentado no quadro 5. Os resultados mais consistentes até agora foram obtidos com trigo no sul do Brasil (BALDANI *et al.*, 1987). O quadro 6 dá um exemplo de um experimento onde *Azospirillum brasilense* Sp7 isolado do solo não se estabeleceu nas raízes do trigo, enquanto *A. amazonense* XTr, isolado de raízes lavadas de trigo, foi intermediário e *A. brasilense* Sp 245, isolado de raízes esterilizadas, se estabeleceu bem e teve o efeito mais pronunciado no crescimento do trigo. Este efeito da estirpe Sp 245, entretanto, não pode ser atribuído à fixação de N₂, mas sim a um efeito da bactéria na eficiência do uso do fertilizante nitrogenado (BODDEY *et al.*, 1986). Isto foi confirmado em cultura monoxênica com mutantes nitrato-redutase negativas desta estirpe (FERREIRA *et al.*, 1987), indicando papel importante da nitrato-redutase da bactéria na associação destas bactérias com a planta. Por outro lado, duas das bactérias citadas no quadro 4 não possuem nitrato-redutase, o que lhes permite de fixar N₂, mesmo na presença de altas concentrações de nitrato no solo ou na planta, fato que favorece a complementação da fertilização nitrogenada com FBN.

A bactéria nova mais recente, o *Acetobacter diazotrophicus*, apresenta características extraordinárias que provêm de seu *habitat*, as raízes e colmos do cana-de-açúcar (CAVALCANTE e DÖBEREINER, 1988, GILLIS *et al.*, 1988). A bactéria foi isolada em grandes números de cana de Pernambuco, Alagoas, Minas Gerais e São Paulo e não foi encontrada no solo mesmo no canavial, nem em doze espécies de ervas daninhas colhidas entre e dentro das fileiras da cana (REIS *et al.*, 1988). Isto indica que não se trata de bactéria do solo, mas sim de bactéria cujo *habitat* é a planta e que sua propagação se dá com o plantio dos toletes da cana. Como outras bactérias acéticas, ela é um pequeno bastonete Gram negativo, aeróbio que cresce melhor com altas concentrações de açúcar (10%) em meio ácido, mostrando

QUADRO 5.

INOCULAÇÃO DE SORGO CRESCIDO NO CAMPO COM BACTÉRIAS
FIXADORAS DE N₂ (PEREIRA *et al.*, 1988).

Inoculante	Estabelecimento das estirpes inoculadas ^a			Peso seco da planta g pl-1	N total na espiga mg pl-1
	Superfície da raiz	Interior da raiz	Colmo		
Testemunha	0(12) ^b	0(50) ^b	11(22) ^b	15.7 ^b	41 ^c
Test. + 75 kg N/ha-1		—	—	19.6 ^{ab}	98 ^a
<i>Azospirillum lipoferum</i> S82	80	75	75	21.5 ^a	68 ^{ab}
<i>Azospirillum amazonense</i> S91	50	29	30	19.6 ^{ab}	78 ^{ab}
<i>Herbaspirillum seropedicae</i> H25	0	0	0	15.6 ^b	57 ^{bc}

^a Percentagem dos frascos de diluição mais alta (NMP) contendo a estirpe inoculada; controles foram testados para todos os inoculantes.

QUADRO 6.

INOCULAÇÃO DE TRIGO COM *AZOSPIRILLUM* SPP MARCADO COM RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS (BALDANI *et. al.*, 1986, BODDEY *et. al.*, 1986).

Estirpe	% estirpe inoculada a		N total na planta	Produção de grãos
	Superfície raízes	Interior raízes		
Testemunha	0	0	0.66c	23.2c
A. brasilense				
Sp 7	50	0	0.87c	27.0c
Sp 246	94	27	1.29b	35.1b
Sp 245	100	67	1.57a	41.5a
A. amazonense				
YTr	56	11	1.26b	31.9b

^a Percentagem dos frascos de diluição mais altos (NMP) contendo a estirpe inoculada.

fixação de N₂ e crescimento sem outra fonte de N em pH abaixo de 3 durante vários dias (TEIXEIRA *et al.*, 1987). Etanol é completamente oxidado a CO₂ e H₂O, formando o brilho nacreo típico de *Acetobacter* em placas com CaCO₃.

O potencial de fixação de N₂ em gramíneas pôde ser melhor avaliado pela diluição isotópica de ¹⁵N aplicado ao solo em forma de uréia e cuja relação com ¹⁴N na planta, proveniente do N₂ gasoso, permite calcular a contribuição da FBN, a nutrição nitrogenada da planta. Experimentos deste tipo mostraram fixação de N₂ de 20 a 40% do N total incorporado em certas cultivares de capim-colônião (*Panicum maximum*) e espécies de *Brachiaria*. Os dados mais promissores foram

QUADRO 7.

FIXAÇÃO DE N₂ EM DIFERENTES GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR ESTIMADA EM UM TANQUE DE 80 CM DE PROFUNDIDADE PELO N TOTAL ACUMULADO E PELA DILUIÇÃO ISOTÓPICA DE ¹⁵N (URQUIAGA, S., BODDEY, R.M. e DÖBEREINER, J., EM PREPARAÇÃO).

Genótipo	N total acumulado (kg ha ⁻¹)		15N átomos % em excesso	Contribuição da FBN na soca (kg ha ⁻¹)		
	Cana planta	Soca		Soca	15N dil.	Diferença
<i>Saccharum officinalis</i>	265ab	209bc	0.108bc	41	166	
	CB 47-89	246ab	188cd	0.126ab	11	145
	NA 56-79	245abc	216b	0.109bc	40	173
	Sp 70-1143	294a	452a	0.097c	125	409
<i>Saccharum spontaneum</i>	152c	119bcd	0.124ab	9	76	
	Krakatau	189bc	43cd	0.134a	0	0
<i>Saccharum barberi</i>						
Chunee						
<i>Brachiaria radicans</i>						
Tanner						

recentemente obtidos com a cana-de-açúcar, usando a mesma metodologia e comparando variedades de cana cultivadas em um tanque grande preenchido com solo marcado com ^{15}N (quadro 7). Resultados semelhantes foram também obtidos num experimento de vasos grandes (50 litros), onde os cálculos pela diluição isotópica ainda foram confirmados por balanços de N e onde a variedade de cana CB 47-89 obteve 70% do nitrogênio através da fixação biológica (LIMA *et al.*, 1987), enquanto outras variedades como a NA 56-79 recebeu pouco N da FBN. Estas diferenças entre genótipos de gramíneas em relação a FBN mostram um grande potencial para a sua melhor exploração através de melhoramento vegetal.

Os resultados recentes com cana-de-açúcar podem vir a, parcialmente, solucionar o problema dos subsídios do álcool, já que a substituição da fertilização nitrogenada nesta cultura reduzirá os insumos sem perda de produtividade. Além disso, em função dos elevados custos também energéticos dos adubos nitrogenados, a sua substituição contribuirá para o aumento do balanço energético.

Bibliografia

- BALDANI, J.I., BALDANI, V.L.D., SELDIN, L. e DÖBEREINER, J. 1986. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a root-associated nitrogen-fixing bacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 36:86-93.
- BALDANI, V.L.D., ALVAREZ, M.A.B., BALDANI, J.I. e DÖBEREINER, J. 1986. Establishment of inoculated *Azospirillum* spp. in the rhizosphere and in roots of field grown wheat and sorghum. *Plant & Soil* 90:35-45.
- BALDANI, V.L.D., BALDANI, J.I. e DÖBEREINER, J. 1987. Inoculation of field grown wheat with *Azospirillum* spp. in Brazil. *Biol. Fert. Soils* 4:37-40.
- BARRAQUIO, W.L., LADHA, J.K. e WATANABE, I. 1983. Isolation and identification of N_2 -fixing *Pseudomonas* associated with wetland rice. *Can. J. Microbiol.* 29(8): 867-873.
- BODDEY, R.M., BALDANI, V.L.D., BALDANI, J.I. e DÖBEREINER, J. 1986. Effect of inoculation of *Azospirillum* spp on the nitrogen assimilation of field grown wheat. *Plant & Soil* 95:109-121.
- CAVALCANTE, V.A. e DÖBEREINER, J. 1988. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugar cane. *Plant & Soil* 108:23-31.
- COELHO, R.R.R. e DROZDOWICZ, A. 1979. The occurrence of actinomycetes in a cerrado soil in Brazil. *Revue de Ecologie et Biologie du Sol* 15:459-73.
- DÖBEREINER, J. 1966. *Azotobacter paspali* sp.n., uma bactéria fixadora de nitrogênio na rizosfera de *Paspalum*. *Pesq. Agropec. Bras.* 1:357-365.
- FERREIRA, M.C.B., FERNANDES, M.S. e DÖBEREINER, J. 1987. Role of *Azospirillum* nitrate reductase in nitrate assimilation by wheat plants. *Biol. Fert. Soils* 4: 47-53.
- GILLIS, M., JANSSENS, D., HOSTE, J., KERSTERS, J., DÖBEREINER, J. e DE LEY, J. 1988. Genotypic and phenotypic characterization of new, nitrogen-fixing *Acetobacter* sp. associated with sugar cane. In: *International Congress on Nitrogen Fixation*, 7, Köln, 1988. Abstracts... Köln (Cologne), University of Cologne/Max Planck Institute for Plant Breeding. Session 8-17. n.p.
- HUNGRIA, M. e FRANCO, A.A. 1988. Obtenção de estirpes de *Rhizobium* para inoculação do feijoeiro em condições de temperaturas elevadas. In: *Congresso e Feira Nacional de Biotecnologia*, 1, Rio de Janeiro. Programa e resumos... Rio de Janeiro, Secretaria de Ciência e Tecnologia do Estado do Rio de Janeiro. Área focal, 4: Biotecnologia Vegetal e Agrícola. p. 15.
- HUNGRIA, M. e NEVES, M.C.P. 1986. Interação entre cultivares de *Phaseolus vulgaris* e estirpes de *Rhizobium* na fixação e transporte de nitrogênio. *Pesq. Agropec. Bras.* 21:127-140.

- LIMA, E., BODDEY, R.M. e DÖBEREINER, J. 1987. Quantification of biological nitrogen fixation associated with sugar cane using on ^{15}N aided nitrogen balance. *Soil Biol. Biochem.* 19:165-170.
- MAGALHÃES, F.M.M., BALDANI, J.I., SOUTO, S.M., KUYKENDALL, J.R. e DÖBEREINER, J. 1983. A new acid-tolerant *Azospirillum* species. *An. Acad. Bras. Ciên.* 55:417-430.
- MARTINEZ, E., FLORES, E., BROM, S., ROMERO, D., DAVILA, G. e PALACIOS, R. 1988. *Rhizobium phaseoli* a molecular genetics view. *Plant & Soil* 108:179-184.
- NEVES, M.C.P., DIDONET, A.D., DUQUE, F.F. e DÖBEREINER, J. 1985. *Rhizobium* strain effects on nitrogen transport and distribution in soybean. *J. Exp. Bot.* 36:1179-1192.
- NEVES, M.C.P. e HUNGRIA, M. 1987. The physiology of nitrogen fixation in tropical grain legumes. *CRC Critical Rev. Plant Sci.* 6:267-321.
- PEREIRA, A.R., CAVALCANTE, V.Á., BALDANI, J.I. e DÖBEREINER, J. 1988. Field inoculation of sorghum and rice with *Azospirillum* spp. and *Herbaspirillum seropedicae*. *Plant & Soil* (in press).
- REINHOLD, B.J., HUREK, T., BALDANI, J.I. e DÖBEREINER, J. 1988. Temperature and salt tolerance of *Azospirillum* spp. from salt-affected soils in Brazil. In: Klingmüller, W., ed. *Azospirillum IV: Genetics, physiology, ecology*. Berlin, Springer Verlag. p. 234-41.
- REINHOLD, B.J., HUREK, T., FENDRIK, I., POT, B., GILLIS, M., KERSTERS, K., THIELEMANS, D. e DE LEY, J. 1987. *Azospirillum jalopraeferans* sp. nov., a nitrogen fixing organism associated with roots of Kallar grass (*Leptochloa fusca* L. Kuntz). *Int. J. Syst. Bacteriol.* 37:43-51.
- REIS, V.M., LAZARINI, A.C. e DÖBEREINER, J. 1988. Ocorrência de nova bactéria fixadora de N_2 em raízes e colmos de cana-de-açúcar. In: *Congresso e Feira Nacional de Biotecnologia*, 1, Rio de Janeiro. Programa e resumos... Rio de Janeiro, SCTRJ/MCT/ABRABI, 1988. n.p.
- SCOTTI, M.R.M.M.L., SÁ, N.M.H., VARGAS, M.A.T. e DÖBEREINER, J. 1982. Streptomycin resistance of *Rhizobium* isolates from Brazilian Cerrados. *An. Acad. Brasil. Ciênc.*, 54(4):733-738.
- SELDIN, L., VAN ELSAS, J. D. e PENIDO, E.G.C. 1984. *Bacillus azotofixans* sp. nov. a nitrogen-fixing specie from Brazilian soils and grass roots. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 34:451-456.
- TARRANT, J.J., KRIEG, N.R. e DÖBEREINER, J. 1978. A taxonomic study of the *Spirillum* lipoferum group with description of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. *Can. J. Microbiol.* 24:967-980.
- TEIXEIRA, K.R.S., STEPHAN, M.P. e DÖBEREINER, J. 1987. Physiological studies of *Saccharobacter nitrocaptans* a new acid tolerant N_2 fixing bacterium. In: *International Symposium on Nitrogen Fixation with Non-Legumes*, 4. Rio de Janeiro, EMBRAPA. p. 149.
- WATANABE, I., SO, R., LADHA, J.K., FUJIMURA-KATAYAMA, Y. e KURAIISHI, H. 1987. A new nitrogen-fixing species of pseudomonad: *Pseudomonas diazotrophicus* sp. nov. isolated from the root of wetland rice. *Can. J. Microbiol.* 33(8):670-678.

Johanna Döbereiner, pesquisadora da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) e conferencista do mês de março/1989 do IEA.
