

EFEITO DA INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ENDOFÍTICAS EM ARROZ DE SEQUEIRO

SALOMÃO LIMA GUIMARÃES⁽¹⁾, JOSÉ IVO BALDANI⁽²⁾ & VERA LÚCIA DIVAN BALDANI⁽²⁾

1. Estudante do curso de Doutorado em Fitotecnia da UFRRJ; 2. Pesquisadores da Embrapa-Agrobiologia, CP:74505, CEP: 23851-970, Seropédica, RJ. E-mail: slguimaraes@hotmail.com

RESUMO

Em um experimento de casa de vegetação e outro de campo, foram inoculadas bactérias diazotróficas em plantas arroz de sequeiro da variedade Guarani. O experimento em casa de vegetação constou de quatro repetições com cinco plantas por vaso, em solo tipo Argissolo Vermelho-Amarelo. As estirpes utilizadas foram ZAE72, ZAE94 e ZAL152 de *Herbaspirillum seropedicae*, M4 de *Herbaspirillum rubrisubalbicans* e M130 de *Burkholderia brasilensis*. O controle foi inoculado com bactérias mortas por autoclavagem. As sementes de arroz foram desinfestadas superficialmente e germinadas em placas de ágar-água (1%) e transplantadas para tubos de ensaio contendo solução de Hoagland sem N e inoculados com 2 mL da bactéria crescida, sendo plantadas nos vasos após sete dias. Foram realizadas avaliações da matéria seca, N-total da parte aérea aos 40, 70 e 130 dias após o plantio (DAP), assim como a produção de grãos. Foram observados aumentos na produção de grãos de 19% devido à inoculação com a estirpe M130 (*B. brasilensis*) e de até 25% com estirpes de *H. seropedicae*. No experimento de campo, foram utilizadas as estirpes M130 e ZAE94. As parcelas foram de 2,20 m² com seis linhas, utilizando-se as quatro linhas centrais para a produção de grãos. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com quatro repetições. Foram observados aumentos na produção de grãos de até 50% com a inoculação da estirpe ZAE94 de *H. seropedicae* e aumentos de 38% decorrentes da inoculação da estirpe M130 de *B. brasilensis*.

Palavras-chave: Arroz, Inoculação, Bactérias Diazotróficas

ABSTRACT

THE EFFECT OF ENDOPHYTIC BACTERIA INOCULATED ON DRYLAND RICE PLANTS

Two inoculation experiments were carried out with diazotrophic bacteria in dryland rice crop, cultivar Guarani. The first experiment was carried out in pots under greenhouse conditions and the second one was carried out in the field. The strains used in the greenhouse conditions were ZAE72, ZAE94 and ZAL152 of *Herbaspirillum seropedicae*, M4 of *Herbaspirillum rubrisubalbicans* and M130 of *Burkholderia brasilensis*. The control was inoculated with dead cells. The greenhouse experiment consisted of 4 repetitions with 5 plants per pot, filled with Typic Hapludult soil type. The seeds were disinfected superficially and germinated in plates with water agar 1% and transferred to test tubes containing N-free Hoagland solution and inoculated with 2 mL of grown bacteria and transferred to the pots 7 days after. Evaluations of the dry matter and total N of aerial parts were done at 40, 70 and 130 days after planting (DAP), as well as the grains production. Increases of 19% and up to 25% were observed in grain production due the inoculation with strain M130 of *B. brasilensis* and *H. seropedicae* strains, respectively. In the field experiment, the strains M130 and ZAE94 were used. The plots area was 2,20m² with 6 lines and 4 central lines were used for the grain production. The experimental was in set up randomized blocks design, with 4 repetitions. Increases up to 50% and 38% were observed in the production of grains due to the inoculation with strain ZAE94 of *H. seropedicae* and M130 of *B. brasilensis* strain, respectively.

Key words: Rice, Inoculation, Diazotrophic Bacteria

INTRODUÇÃO

O arroz é utilizado como principal alimento por mais de um terço da população mundial (Elmerich, 1996), além de ser considerado, dentre os cereais de importância econômica, o mais importante do terceiro mundo (Boddey *et al.* 1997). O arroz cultivado em solos inundados é responsável por cerca de 86% de toda a

produção de grãos deste cereal (Ladha *et al.* 1997). Entretanto, o cultivo do arroz, nos últimos anos, tem se expandido para terras altas ou de sequeiro, principalmente no Brasil, onde existem cerca de 2,4 milhões de hectares plantados com a cultura nestas condições (Urquiaga & Zapata, 2000).

O nitrogênio é um dos nutrientes mais importantes para a obtenção de alta produtividade das culturas anuais,

devido à grande demanda deste nutriente pelas plantas. Assim, a baixa disponibilidade de nitrogênio no solo limita a produtividade das culturas, tanto em clima temperado como tropical, sendo um problema para 93% das regiões da América tropical (Sanchez & Salinas, 1982). O processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) em leguminosas desempenha um papel importante na agricultura, pois reduz o custo de produção das culturas, pela redução no uso de fertilizantes nitrogenados. Este processo pode ser relevante para plantas não leguminosas, uma vez que nos últimos anos, experimentos utilizando o método da diluição isotópica de ^{15}N demonstraram claramente o potencial de FBN para várias culturas não leguminosas, dentre elas o arroz (Urquiaga *et al.*, 1991).

O maior potencial de fixação de nitrogênio do ar é atribuído às bactérias diazotróficas de caráter microaerofílico, como por exemplo espécies dos gêneros *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, (Dobereiner, 1992) *Gluconacetobacter* (Yamada *et al.*, 1997), *Burkholderia* (Baldani, 1996) e *Azoarcus* (Reinhold-Hurek, *et al.*, 1993) que colonizam as partes internas das raízes e partes aéreas de gramíneas (Baldani *et al.*, 1997).

Experimentos de inoculação com *Herbaspirillum* spp. em solo não estéril sob condições de casa de vegetação, mostraram que este microrganismo pode ser introduzido dentro das plantas de arroz através de aplicação na forma de inoculante nas sementes antes da germinação (Olivares *et al.*, 1993). Dobereiner & Baldani (1995) observaram que estirpes de *Herbaspirillum* spp. quando inoculadas em plântulas de arroz cultivadas em solução de Hoagland contendo nitrogênio marcado, contribuíram com aumentos de cerca de 40% no N-total acumulado nas plântulas. Já em casa de vegetação, aumentos variando entre 17 e 19% do N incorporado à planta devido à FBN foram observados com a inoculação de estirpes de *H. seropedicae* e *B. brasilensis* (Baldani *et al.*, 2000).

Este trabalho teve por objetivo estudar o efeito da inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas em arroz de sequeiro, cultivado sob condições de casa de vegetação e campo.

MATERIAL E MÉTODOS

1 – Variedade utilizada

Foi utilizada a variedade Guarani, cedida pela Embrapa Arroz e Feijão, localizada na cidade de Santo Antônio de Goiás - GO. Esta é uma variedade melhorada e adaptada a solos pobres, podendo ser cultivada tanto em regime hídrico de sequeiro quanto de inundação.

2 - Desinfestação superficial das sementes de arroz

As sementes da variedade Guarani foram descascadas e desinfestadas superficialmente, utilizando-se a metodologia descrita por Baldani *et al.*, (2000). Inicialmente, foram imersas numa solução de estreptomicina 0,1% acrescida de 2 gotas de detergente

comercial e mantidas sob agitação em agitador horizontal a 100 rotações por minuto (rpm) durante 20 minutos. A seguir, as sementes foram lavadas três vezes com água estéril e em seguida imersas numa solução contendo HgCl_2 na proporção de 1:1000 e mantidas sob agitação a 100 rpm por 20 minutos. Após este período, as sementes foram lavadas oito vezes com água estéril, colocadas no agitador horizontal a 100 rpm, com intervalo de 10 minutos entre uma lavagem e outra.

Procedida a desinfestação superficial, as sementes foram colocadas para pré-germinar em placas de ágar-água (1%) por um período de 48 horas.

3 - Experimento em casa de vegetação

Após a pré-germinação, as plântulas foram transplantadas para tubos de ensaio com capacidade de 12 mL, contendo 5 mL de solução de Hoagland sem N (Hoagland, 1950) agarizada com 5g/L e inoculada com 2 mL da bactéria crescida no meio Dygs por 24 horas. As plântulas permaneceram nos tubos de ensaio durante sete dias. Após este período, foram transplantadas para os vasos em casa de vegetação. Foi utilizado o delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições e cinco plantas por vaso. O experimento constou de seis tratamentos de inoculação com as bactérias diazotróficas ZAE72, ZAE94 e ZAL153 de *Herbaspirillum seropedicae*, M4 de *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, M130 de *Burkholderia brasilensis*, e o controle (inoculado com as bactérias mortas por autoclavagem).

Foi utilizado o material superficial (0-20cm) proveniente de um Argissolo Vermelho-Amarelo, e os vasos foram adubados com 10 mL da solução de sulfato de zinco e 10 mL de fosfato monobásico, de acordo com a análise do solo, e misturados após 48 horas.

Foram feitas amostragens das plantas aos 40, 70, e 130 dias após o transplantio para os vasos (DAT), em que se avaliaram a matéria seca e o N-total da parte aérea, além da produção e N-total dos grãos com casca (Urquiaga *et al.*, 1991).

4 - Experimento de campo

O experimento de campo foi conduzido no campo experimental da Embrapa Agrobiologia, em Seropédica - RJ. As sementes da variedade Guarani foram peletizadas com turfa contendo as bactérias previamente crescidas no meio DYGS por 24 horas, sob agitação de 100 rpm. O experimento constou de três tratamentos de inoculação com as estirpes: M130 (*B. brasilensis*), ZAE94 (*H. seropedicae*), e o controle (inoculação com as bactérias mortas por autoclavagem), com quatro repetições e distribuídos em delineamento de blocos ao acaso, numa área total de 1100 m². Utilizou-se parcelas de 2,20 m², com seis linhas, utilizando-se as quatro linhas centrais para a produção de grãos. Foram plantadas 65 sementes por metro linear, com espaçamento 0,30m entre as linhas.

A adubação no solo foi feita mediante a análise do solo, juntamente com a calagem, aplicando-se por hectare 110kg de calcário dolomítico aos 30 dias antes

do plantio assim como 24 kg de superfosfato simples que foram distribuídos por toda a área. O nitrogênio (20 kg/ha, na forma de sulfato de amônio) foi aplicado em cobertura, 20 dias após a germinação das sementes. O Zinco e o Bórax (1,65 kg.ha⁻¹ e 25,9g.ha⁻¹ respectivamente) foram aplicados 96 dias após o plantio. Os parâmetros avaliados foram a matéria seca e o N-total da parte aérea, assim como a produção e N-total dos grãos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 – Experimento em casa de vegetação

Na coleta realizada aos quarenta dias após o transplantio (DAT), houve diferenças no acúmulo de matéria seca da parte aérea devido à inoculação de bactérias diazotróficas. As estirpes ZAE72, ZAE94 e ZAL152 (*H. seropedicae*) contribuíram com um aumento de até 111% em relação ao tratamento inoculado com a bactéria morta (Tabela 1). Resultado semelhante foi observado no tratamento inoculado com a estirpe M130 (*B. brasilensis*). Por outro lado, não

foram observadas diferenças significativas no N-total acumulado na parte aérea, embora o N-total acumulado pelas estirpes M130 e ZAE72 tenha sido quase o dobro do N total acumulado no tratamento controle (Tabela 1).

Na coleta feita aos 70 DAT, não foram observadas diferenças significativas entre os parâmetros avaliados, embora tenham sido verificadas diferenças em termos absolutos. A estirpe M130 promoveu um aumento no acúmulo de matéria seca ao redor de 24% em relação ao tratamento controle, enquanto que os tratamentos inoculados com *Herbaspirillum seropedicae* (ZAE72, ZAE94 e ZAL152) promoveram aumentos de até 13,5%.

Em relação ao acúmulo de nitrogênio, a inoculação com a estirpe M130 (*B. brasilensis*) apresentou uma contribuição de 32% superior ao tratamento controle, ao passo que os tratamentos inoculados com *H. seropedicae* (ZAE72, ZAE94 e ZAL 152) contribuíram em média com 35%. Já o tratamento M4 (*H. rubrisubalbicans*) contribuiu com 59% acima do controle (Tabela 1). Na coleta realizada aos 130 DAT, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, e as diferenças absolutas não foram marcantes.

Tabela 1– Efeito da inoculação de bactérias diazotróficas no acúmulo de matéria seca e N-total pela parte aérea do arroz, variedade Guarani, sob condições de casa de vegetação (médias de 4 repetições).

Estirpes	40 DAT		70 DAT	
	Matéria seca g.planta ⁻¹	N-total mg.planta ⁻¹	Matéria seca g.planta ⁻¹	N mg.
ZAE94	2,73 ab	86,02 a	5,77 a	62
ZAE72	3,40 a	94,11 a	8,40 a	90
ZAL152	2,40 ab	78,28 a	8,47 a	92
M4	1,83 ab	58,05 a	8,35 a	100
M130	3,37 a	96,16 a	6,90 a	82
Controle	1,14 b	51,05 a	5,55 a	62
CV (%)	25,0	24,0	23,0	23,0

Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância 0,05; DAT – dias após o transplantio; ZAE94, ZAE72 e ZAE152 – *H. seropedicae*; M4 – *H. rubrisubalbicans*; M130 – *B. brasilensis*.

Em estudos de inoculação com bactérias diazotróficas em 4 variedades de arroz (Metica-1, Cica-9, IAC-859 e Cica-8), Oliveira (1992) não observou diferenças no acúmulo de matéria seca da parte aérea em todas as variedades estudadas na fase de enchimento de grãos. Este autor também observou que não houve diferenças no acúmulo de nitrogênio na parte aérea dos tratamentos estudados quando comparados à testemunha.

De acordo com Baldani & Dobereiner (1980), a inoculação com bactérias diazotróficas mostrou que tanto no arroz de sequeiro quanto no irrigado, não houve diminuição no acúmulo de nitrogênio durante o ciclo. Já com a inoculação de estirpes homólogas na cultura do trigo, estes autores observaram que houve um maior acúmulo de matéria seca, sugerindo que a

associação planta-estirpe homóloga seja mais eficiente no acúmulo de matéria seca, ou talvez responsável por um aumento na produção dos grãos.

Trabalhos conduzidos por Campos (1999), mostraram que algumas variedades de arroz são muito eficientes quanto ao índice de colheita de nitrogênio, contribuindo com até 60%. Este autor ressaltou também que quanto maior o índice de colheita de N, maior é a proporção de nitrogênio acumulado nos grãos em relação à parte aérea.

Com relação à produção de grãos, os tratamentos que melhor responderam à inoculação, em valores absolutos, foram a M130 (*B. brasilensis*), com aumento de 19% e os tratamentos inoculados com estirpes de *H. seropedicae* (ZAE72 e ZAL152) que resultaram em aumentos de 25% e 22%, respectivamente na

produção de grãos. Já no N-total dos grãos, estas estirpes (de *H. seropedicae*) promoveram aumentos de até 15% (Tabela 2).

Estudos realizados por Baldani *et al.* (2000) mostraram que, em experimentos conduzidos em casa de vegetação, estirpes de *B. brasilensis* promoveram aumentos na produção de grãos de arroz que variaram entre 11% e 20%. Estes autores também observaram aumentos de até 19% nos tratamentos inoculados com estirpes de *H. seropedicae*.

Tabela 2 – Efeito da inoculação de bactérias diazotróficas na produção e acúmulo de N nos grãos de arroz, variedade Guarani, sob condições de vasos em casa de vegetação (médias de 4 repetições).

Estirpes	Grãos secos (g.planta ⁻¹)	N-total dos grãos (mg.planta ⁻¹)
ZAE94	5,90 a	83,30 a
ZAE72	8,00 a	102,70 a
ZAL152	7,80 a	97,70 a
M4	7,00 a	94,00 a
M130	7,60 a	94,20 a
Controle	6,40 a	89,00 a
CV (%)	17,5	19,0

Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância 0.05; ZAE94, ZAE72 e ZAE152 – *H. seropedicae*; M4 – *H. rubrisubalbicans*; M130 – *B. brasilensis*

Experimento de campo

Os resultados obtidos no experimento de campo mostraram que na primeira coleta, realizada aos 40 dias após o plantio (DAP), houve diferenças no acúmulo de matéria seca da parte aérea devido à inoculação (Figura 1). A inoculação com a estirpe ZAE94 (*H. seropedicae*) apresentou um acúmulo de matéria seca superior a 100% em relação ao controle inoculado com a bactéria morta. Já a inoculação com a estirpe M130 de *B. brasilensis* contribuiu com um aumento de apenas 26%. Porém, não foram observadas diferenças significativas no N-total acumulado na parte aérea das plantas, embora em termos absolutos tenha sido observado um aumento de 86% com a inoculação da estirpe ZAE94 (Figura 2).

Foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos devido à inoculação aos 75 DAP (Figuras 1 e 2). A estirpe ZAE94 aumentou em até 43% a matéria seca da parte aérea. Esta estirpe também se mostrou eficiente no acúmulo de N na parte aérea, que apresentou um aumento de 28% (Figura 2).

Diferenças significativas tanto no acúmulo de matéria seca, quanto na produção de grãos foram observados na coleta feita aos 130 DAP. Em relação à matéria seca da parte aérea, houve um aumento de 6% decorrente da inoculação com a estirpe ZAE94 (Figura 2). Esta estirpe aumentou a produção de grãos em 50%

em relação ao controle. Aumentos em torno de 38% na produção de grãos também foi obtido para a estirpe M130 de *B. brasilensis* (Figura 3).

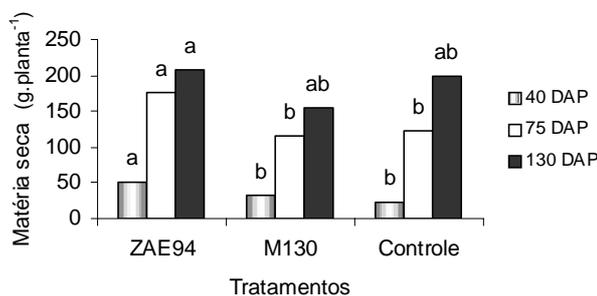


Figura 1- Matéria seca da parte aérea de arroz, variedade Guarani sob condições de campo (médias de quatro repetições).

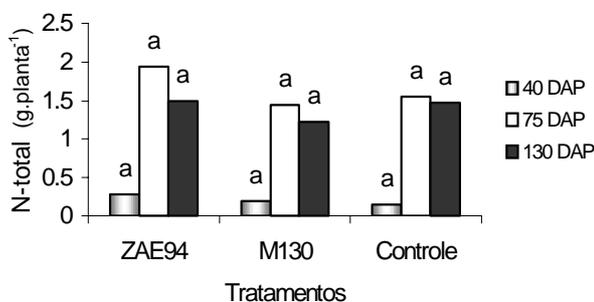


Figura 2-N-total na parte aérea de arroz, variedade Guarani sob condições de campo (médias de quatro repetições).

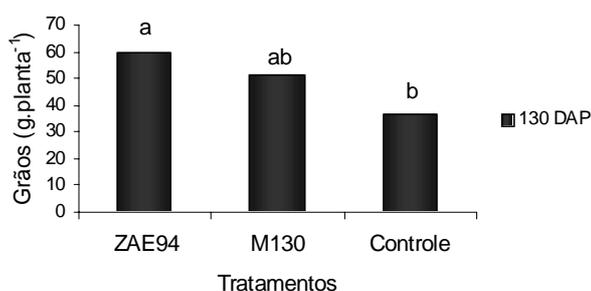


Figura 3-Produção de grãos de arroz, variedade Guarani sob condições de campo (médias de quatro repetições).

Estudos de inoculação com a estirpe ZAE94 de *H. seropedicae* em diferentes variedades de arroz crescidas em condições de campo sob diferentes doses de N e molibdênio, e em regime hídrico de sequeiro, mostraram um incremento de até 37% na produção de grãos deste cereal (Sundin, 2001).

Experimentos de inoculação em trigo, com estirpes de *Azospirillum* spp. no campo, revelaram que não houve efeito da inoculação sobre a produção de grãos. No entanto, foi observado que o teor de nitrogênio nos

grãos aumentou significativamente nos tratamentos com bactérias e sem a adição de nitrogênio. Foi observado que cerca de 70% do nitrogênio acumulado foi translocado das partes vegetativas para os grãos (Rodrigues *et al.*, 2000).

CONCLUSÕES

A inoculação com bactérias diazotróficas endofíticas contribuiu para o aumento da matéria seca, N-total e produção de grãos da cultivar Guarani, crescidas sob condições de casa de vegetação.

Entre as estirpes estudadas, a ZAE94 de *H. seropedicae* foi a que promoveu maior aumento (50%) na produção de grãos da variedade Guarani, crescida sob condições de campo, mostrando assim grande potencial para futuros estudos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Embrapa Agrobiologia, UFRRJ, PRONEX II e ao CNPq pelo suporte financeiro na execução deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALDANI, V. L. D. & DOBEREINER, J. Host-plant specificity in the infection of cereals with *Azospirillum*. *Soil Biology Biochemistry*. v.12, p.433-439, 1980.
- BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; DOBEREINER, J. Inoculation of rice plants with the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp. *Biology Fertility of Soils*. v. 30, p.485-491, 2000.
- BALDANI, V. L. D.; OLIVEIRA, E.; BALOTA, E.; BALDANI, J. I.; KIRCHHOF, G.; DOBEREINER, J. *Burkholderia brasiliensis* sp. nov., uma espécie de bactéria diazotrófica endofítica. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. v. 69, p.116-166, 1997.
- BALDANI, V.L.D. *Efeito da inoculação de Herbaspirillum spp no processo de colonização e infecção de plantas de arroz e, ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica*. Tese de Doutorado, UFRRJ, 290 p. 1996.
- BODDEY, R.M., ALVES, B.J.R. e URQUIAGA, S. Quantificação da fixação biológica de nitrogênio associada a plantas utilizando o isótopo ¹⁵N. In: *Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola*. Ed: HUNGRIA, M. e ARAÚJO, R.S. Embrapa. Cap. 24, p: 472-494, 1994.
- BODDEY, R.M.; SÁ, J.C.M.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. The contribution of biological dinitrogen fixation for sustainable agricultural systems in the tropics. *Soil Biology Biochem.*, v.29, p.787-799, 1997.
- CAMPOS, D. V-B. *Identificação de genótipos de arroz irrigado com potencial para fixação biológica do nitrogênio*. Seropédica, UFRRJ, 94p. 1999, Tese de Mestrado.
- DOBEREINER, J. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. *Symbiosis*, Rehovot, v.13, p.1-13, 1992
- DOBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D. Endophytic diazotrophs other than rizobia. In 7th. *International Symposium on Microbial Ecology*. Abstracts. Santos, São Paulo, 1995
- ELMERICH, C. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum*, a root associated diazotroph. In: 7th *International Symposium on Nitrogen Fixation with Non-legumes*. Abstracts. October, p. 16-21. NIBGE, Faisalabad. Pakistan, 1996.
- HOAGLAND, D. R., ARNON, D. T., Circular 37, *Agriculture Experiment Station*. University of California, Berkely, U.S.A, 1950.
- LADHA, J. K.; BRUIJN, F. J. and MALIK, K. A. Introduction: assessing opportunities for fixation in rice – a frontier project. In: *Opportunities for Biological Nitrogen Fixation in rice and other non-legumes*. Eds.: LADHA, J.K.; BRUIJN, F.J. and MALIK, K.A. *Developments in Plant and Soil Sciences*, v.75, p.1-10, 1997
- OLIVARES, F. L.; JANES, E. K.; REIS, V. M.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; DOBEREINER, J. Colonization of vascular tissue by *Herbaspirillum* spp. in sorghum and sugar cane, *Fitopatologia Brasileira*, v. 8, p. 313, Suplemento n. 290, 1993.
- OLIVEIRA, E. *Estudo da associação entre bactérias diazotróficas e arroz irrigado*. Itaguaí-RJ, 96p., 1992, Tese de Mestrado.
- REINHOLD-HUREK, T.; GILLIS, M.; HOSTE, B.; VANCANNEY, M.; KERSTERS, K.; DELEY, J. *Azoarcus* gen. nov.; nitrogen-fixing proteobacteria

- associated with roots of kallar grass (*Leptochla fusca* (L) Kunth) and description of two species: *Azoarcus indigens* sp. nov. and *Azoarcus communis* sp. nov. *International Journal of Systematic bacteriology*. V.43, p.574-584, 1993.
- RODRIGUES, O., DIDONET, A. D., GOUVEIA, J. A., SOARES, R. C. Nitrogen translocation in wheat inoculated with *Azospirillum* and fertilized with nitrogen. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 35, n.7, Brasília, p.1473-1481, 2000.
- SANCHEZ, P. A.; SALINAS, J. G. Low-input technology for managing oxisols and ultisols in tropical America. *Advances in Agronomy*, New York, v.34, p.279-406, 1982.
- SUDIN, M. F. C. A. M. *Efeito do molibdênio associado ao nitrogênio mineral e Herbaspirillum seropedicae em cultivares de arroz (Oryza sativa L.)*. Tese de Doutorado. UFRRJ, Seropédica-RJ, 183p., 2001.
- URQUIAGA, S. ; DOBEREINER, J. El papel de la fijación biológica de nitrógeno y de las micorrizas vesículo-arbusculares en la agricultura de América Latina. In: *XXIII Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo*. Salamanca, Setembro, de 1993.
- URQUIAGA, S., LOPES, H. F.; QUINTERO, F. O.; BODDEY, R. M.; DOBEREINER, J. Identificação de genótipos de arroz irrigado com sistema de fixação biológica de N₂ altamente eficiente. In: *Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, XXIII*, Porto Alegre; Soc. Bras. Ciência do Solo, p.86, 1991.
- URQUIAGA, S.; ZAPATHA, F. Manejo Eficiente de la Fertilización nitrogenada de Cultivos Anuales en América Latina y el Caribe. Porto Alegre: *Genesis*; Rio de Janeiro: Embrapa-Agrobiologia, p.39-43, 2000
- YAMADA, Y.; HOSHINO, K.; ISHIKAWA, T. The phylogeny of acetic acid bacteria based on the partial sequences of 16s ribosomal RNA: The elevation of the subgenus *Gluconoacetobacter* to generic level. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, v.61, p. 1244-1251, 1997.