

INTERAÇÃO DE *Bacillus* sp. COM A RIZOSFERA DE TRÊS ESPÉCIES DE PLANTAS FORRAGEIRAS

INTERACTION OF RHIZOBACTERIA *Bacillus* sp. WITH PASTURES RHIZOSPHERE

Fabio Fernando de ARAUJO¹; Ricardo Anderson Bizelli PEDROSO²

1. Professor, Doutor, Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, Presidente Prudente, SP, Brasil. fabio@unoeste.br ; 2. Graduando em Agronomia – UNOESTE, Presidente Prudente, SP, Brasil

RESUMO: Foi realizado um estudo para investigar a colonização da rizosfera de plantas forrageiras por rizobactérias do gênero *Bacillus*, como também avaliar se a fertilidade do solo interfere nesta colonização bacteriana. Para isto foram coletadas amostras da parte radicular de *Brachiaria decumbens*, *B. brizantha* e *Panicum maximum* em 18 propriedades rurais com atividade pecuária na região oeste paulista, SP. Durante a condução do trabalho foram efetivadas análises de fertilidade do solo nas áreas amostradas. A quantificação de *Bacillus* spp. na rizosfera das plantas foi efetivada com o emprego da técnica do choque térmico e diluição seriada, finalizando-se com plaqueamento em meio de cultura. A colonização de *Bacillus* na rizosfera de plantas forrageiras apresentou-se com baixos valores e não houve correlação da colonização da rizosfera com a maioria dos parâmetros de fertilidade do solo. Apenas a matéria orgânica no solo se correlacionou de forma negativa com a colonização bacteriana na rizosfera. Não houve diferença significativa na colonização de *Bacillus* encontrada na rizosfera das três espécies de plantas forrageiras avaliadas.

PALAVRAS-CHAVE: Rizobacteria. *Brachiaria*. *Panicum*.

INTRODUÇÃO

As gramíneas do gênero *Brachiaria* foram introduzidas no Brasil na década de 1950, porém, a verdadeira expansão ocorreu nas décadas de 1970 e 1980, principalmente nas regiões de clima mais quente (ZIMMER et al., 1988). A utilização da *Brachiaria* em pastagens no Brasil proporcionou aumento na produção animal de 20 kg para 180 kg de peso vivo/ha/ano, tornando-se a maior e mais ampla fonte de alimentação animal na produção de carne e de leite. Mais da metade das pastagens presentes no país hoje são baseados em braquiárias, uma área de aproximadamente 100 milhões de hectares (ANUALPEC, 2008). O gênero *Panicum* foi difundido pela cultivar Colômbio, depois pelas cultivares Tobiatã, Aruana, Tanzânia e Mombaça. Em pastagens com uso racional de adubos e corretivos, a resposta das forrageiras desse gênero é bastante acentuada; já em situações de baixa fertilidade a produção é reduzida, caracterizando-a como forrageiras exigentes em fertilidade do solo (SILVA, 1995).

As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) habitam o solo e com frequência são isoladas da rizosfera de diversas plantas cultivadas. Os efeitos desses microrganismos sobre o desenvolvimento das plantas são amplos, incluindo os efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência de plântulas e crescimento de plantas (LAZARETTI; BETTIOL, 1997). Dentro do grupo das rizobactérias o gênero *Bacillus* tem se destacado com algumas espécies de importância

agrícola que desenvolvem ações benéficas às plantas (KLOEPPER, 1999).

Entre os diversos mecanismos de ação para promover o crescimento de plantas impulsionado pelas rizobactérias está a produção de hormônios vegetais como auxinas (ASGHAR, et al., 2002). Sabe-se que as auxinas e as giberelinas, bem como seus precursores, têm sido os metabólitos de origem bacterianos que mais afetam o crescimento das plantas (BROWN, 1972). Entretanto, já foi relatado que rizobactérias, como as do gênero *Bacillus*, podem produzir concentrações de hormônios que proporcionam efeitos deletérios em plantas (KARADENIZ, et al., 2006).

Outro mecanismo frequentemente estudado nas rizobactérias é o da ação solubilizadora de fosfatos minerais (FREITAS et al., 1997). Ganhos na nutrição mineral em plantas inoculadas com *Bacillus* spp. têm sido destacado como benefício adicional derivado da presença deste grupo de microrganismos na rizosfera (ARAUJO, 2008). Rodrigues E Fraga (1999) citaram que estirpes do gênero *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Rhizobium* estão entre as rizobactérias com maior poder de solubilização de fósforo. Richardson (2000) relatou que a maioria dos solos tropicais é pobre em fósforo disponível às plantas e que o fertilizante fosfatado representa um alto custo para o agricultor, desta forma é interessante desfrutar dos microrganismos do solo com potencial para solubilização de fósforo. Além disso, outros mecanismos proporcionados pelas RPCPs estão relacionados com a ciclagem de nutrientes no solo, sob influência de várias enzimas

como: nitrogenases, quitinases e glucanases (CATTELAN, et al., 1999).

Faz-se importante ressaltar que as RPCPs também são agentes potenciais para controle biológico de fitopatógenos (KLOEPPER, 1999). Algumas espécies podem suprimir doenças causadas por fungos, principalmente pela ação de antagonismo, relacionado à produção de antibióticos antifúngicos, como exemplo a iturina em *Bacillus subtilis* (ARAÚJO et al., 2005).

No entanto, embora haja inúmeros relatos positivos sobre as RPCPs quanto ao aumento na produção das culturas, crescimento de plantas e supressão de doenças, a utilização desses microrganismos como inoculante comercial nem sempre tem fornecido bons resultados o que tem dificultado a sua recomendação, pois comumente os isolados introduzidos apresentam dificuldades de se estabelecer e sobreviver nas diferentes condições edafoclimáticas (ATKINSON; WATSON, 2000). Salienta-se também que a interação de microrganismos com plantas podem ser úteis para o aumento da produtividade das pastagens evidenciando-se que as plantas forrageiras tiram pouco proveito dessas interações (MONTEIRO; COSTA, 1996).

Portanto, justifica-se estudar a ecologia desses microrganismos na rizosfera de diferentes culturas e obter informação sobre a colonização de raízes, em condições de solos tropicais, com influência de fatores ambientais e interações com elementos químicos no solo. Neste sentido o objetivo deste trabalho foi de verificar a colonização da rizosfera de *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria brizantha* e *Panicum maximum*, com bactérias do gênero *Bacillus* spp. como também a interação desta colonização com a fertilidade do solo.

MATERIAL E METODOS

O trabalho foi realizado durante o período de junho a outubro de 2009. Foram amostradas plantas adultas em 18 propriedades em cinco municípios da região Oeste de São Paulo. Em todas as propriedades visitadas buscou-se coletar plantas das espécies: *Brachiaria brizantha*, *B. decumbens* e *Panicum maximum*. Com base nas espécies vegetais encontradas nas propriedades o estudo foi realizado em oito locais de cultivo para cada espécie de gramínea com amostragem de cinco plantas em cada local, totalizando-se 24 locais onde foram coletadas 120 plantas. Em cada local de coleta de plantas procedeu-se também amostragem para coleta de solo (0-20 cm) visando efetivação da análise de

fertilidade de acordo com metodologia de Rajj et al. (2001).

No procedimento da coleta as plantas foram retiradas com um pouco de solo aderido as raízes, colocadas em sacos plásticos, identificadas e levadas imediatamente ao laboratório para se proceder a avaliação de bactérias na rizosfera, utilizando a técnica de diluição seriada. De cada local de coleta foram retiradas três amostra de plantas. Inicialmente, cada amostra de planta, constituída de uma raiz inteira separada previamente da parte aérea, foi agitada vigorosamente para o desprendimento do solo que estava mais frouxamente aderido a ela. Após isto o conjunto da raiz mais o solo que permaneceu aderido foi considerado ambiente rizosférico (COELHO et al. 2007). Posteriormente, foi pesado 10 gramas de fragmentos (5 cm) das raízes e adicionados em erlenmeyer (250 mL) com 90 mL de solução salina ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,01 M) esterilizada, visando-se facilitar o desprendimento das bactérias. Os erlenmeyers foram submetidos a três minutos de agitação, em agitador orbital mecânico (120 rpm). Para quantificação de bactérias do gênero *Bacillus* spp. foi retirado 1,0 ml da solução do erlenmeyer que foi colocado em tubo de ensaio com 9,0 mL de solução salina estéril e levado a banho Maria a 80°C por 20 minutos, objetivando-se selecionar as bactérias deste gênero (BETTIOL, 1995). Em seguida a partir deste tubo de ensaio foi preparada uma diluição seriada, na base 10, empregando-se cinco tubos com 9,0 mL de solução salina estéril.

Para a contagem das bactérias, alíquotas de 0,1 ml dos três últimos tubos da série de diluição foram transferidas para placa de petri com meio de cultura BDA (Batata 200g; dextrose: 20g; Agar) em duplicata e espalhadas com auxílio da alça de Drigalski. As placas foram incubadas em estufa a 28°C durante 72 horas. Após este período foram contadas as unidades formadoras de colônias em placas.

Para análise estatística, os dados foram transformados em log de x e utilizou-se o teste de Scott-Knott a 5% para comparação das medias obtidas em cada local e espécie de planta. Empregou-se também a correlação de Pearson para avaliação dos resultados obtidos nas contagens bacterianas e nos parâmetros de fertilidade do solo

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da fertilidade do solo nas áreas amostradas revelaram a predominância de solos ácidos com baixos valores de saturação por bases (Tabela 1). Apesar dos menores valores de

saturação por bases no solo ter sido encontrado nas áreas com cultivo de *Brachiaria brizantha*, Premazzi (1991) tinha observado baixa resposta desta gramínea à calagem encontrando-se maiores produções dessa forrageira quando a saturação por bases no solo atingiu 43%. Pode ser destacado também que as áreas com o cultivo de *B. brizantha* caracterizaram-se como de baixos teores de fósforo solúvel no solo. Com base nos resultados encontrados e de acordo com a recomendação de fertilidade de solo para cultivo de pastagens, apresentada em Spironello et al. (1997), pode-se inferir que a maioria das áreas de cultivo com *P. maximum* e *B. decumbens* atendem os padrões mínimos de recomendação da fertilidade do solo para o cultivo destas gramíneas no estado de São Paulo.

Com relação a colonização de *Bacillus* na rizosfera, em média, foram encontrados valores da

ordem de 10^4 a 10^5 bactérias por grama de raiz (Figura 1). Para fins de comparação não foram encontradas avaliações semelhantes em plantas forrageiras, disponíveis na literatura, contudo, estes valores são bem inferiores ao encontrado em estudo semelhante com avaliação da colonização de *Bacillus* em olerícolas (COELHO et al., 2007) o qual detectou valores da ordem de 10^7 bactérias por grama de raiz. Como também em estudo efetivado na rizosfera da gramínea *Aristida adscensionis* L., em condições de clima semi-árido, foram encontradas populações de bactérias gram positivas esporulantes da ordem de 10^6 a 10^7 células por g (GORLACH-LIRA; COUTINHO, 2007). Em estudo de quantificação de bactérias solubilizadoras de fosfatos em raízes de gramíneas na Amazônia também foram encontrados valores próximos a 10^7 bactérias por g de raiz (SYLVESTER-BRADLEY et al., 1982).

Tabela 1. Características químicas dos solos amostrados

Propriedade	Cultura ¹	pH	Mat. organica	P	K	Ca	Mg	CTC	Saturação por bases
Estancia São Geraldo	B	4.4	8	9	2.5	10	8	52	39
Sítio Caiabu	B	5.2	13	4	2.6	13	3	39	47
Sítio São Francisco	B	4.9	16	5	2.4	12	4	44	42
Sítio Santo Antonio	B	5.4	28	17	5.4	13	10	48	59
Sítio Indiana	B	5.0	19	52	2.9	12	6	46	45
Sítio Mazetti	B	4.9	27	5	2.7	15	11	67	43
Faz. Vale das Aguas	B	4.9	16	2	2.2	12	7	49	43
Sítio Santa Aurora	B	4.8	11	2	0.8	7	4	31	38
Sítio S. Antonio	D	5.2	12	22	3.4	7	5	34	45
Estancia São Geraldo	D	5.5	15	19	4.5	15	10	52	56
Sítio Santa Lourdes	D	4.9	20	12	4.5	8	5	43	41
Chacara Santa Tereza	D	5.6	12	50	2.6	17	4	41	57
Sítio Santa Clara	D	4.8	14	3	1.3	7	3	35	32
Recanto Primavera II	D	5.1	18	61	5.2	13	7	49	51
Recanto Primavera	D	4.9	18	13	2.8	14	4	45	46
Sítio Mazetti	D	4.9	22	5	2.9	10	10	56	41
Sítio S. Antonio	P	6.0	12	50	2.3	13	5	33	62
Faz. Santa Rita Mom.	P	5.9	24	65	1.0	21	9	48	65
Laticínio Pruden Leite	P	5.4	16	6	2.8	17	5	43	57
Sítio Mazetti	P	5.1	15	10	8.6	6	3	38	46
Estancia dos Pimenta	P	4.2	13	1	0.9	3	1	35	14
Chacara JS	P	5.4	16	27	4.2	10	5	39	49
Faz. Unoeste CII	P	5.4	17	18	2.4	11	7	41	50
Fazenda Santa Rita II	P	5.6	23	39	2.8	18	7	48	57

1- B=*Brachiaria brizantha*; D=*Brachiaria decumbens*; P=*Panicum maximum*

O efeito local proporcionou mais diferenças significativas na colonização de *Bacillus* sp nas braquiárias enquanto que *Panicum maximum*

apresentou-se como de menor variação estatística no padrão de colonização da rizosfera dentro das diferentes localidades amostradas (Figura 1).

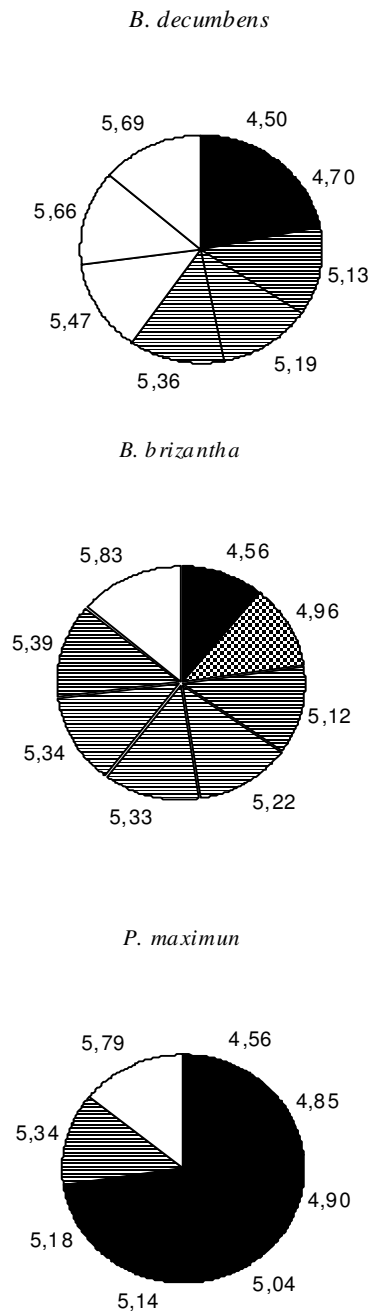


Figura 1. Colonização de *Bacillus* na rizosfera de *Brachiaria decumbens*, *B. brizantha* e *Panicum maximum*) em oito locais de cultivo. Valores expressos em log de células por grama de raiz. Valores com o mesmo padrão de cor não difere estatisticamente pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

No quesito de comparação da colonização por *Bacillus* entre as espécies analisadas, observou-se que não houve distinção estatística entre elas, as quais apresentaram, na média dos oito locais avaliados, colonização rizosférica em valores próximos de $2,0 \cdot 10^5$ (Tabela 2).

A análise de correlação revelou que apenas o teor de matéria orgânica proporcionou correlação negativa com a concentração de *Bacillus* na rizosfera, de forma significativa (Tabela 3). Sobre isto pode-se inferir que no solo o carbono orgânico é a principal fonte de C para diversos grupos de microrganismos

e de que além da matéria orgânica presente no solo os exsudatos radiculares, dependendo da sua composição, pode favorecer microrganismos

patogênicos ou benéficos a colonizarem a rizosfera (BADRI; VIVANCO, 2009).

Tabela 2. Comparativo da colonização da rizosfera por *Bacillus* sp. entre as três espécies de plantas forrageiras analisadas.

Espécies	Log de células g raiz ⁻¹
<i>Panicum maximum</i>	5.10 ^a
<i>Brachiaria decumbens</i>	5.21 ^a
<i>Brachiaria brizantha</i>	5.21 ^a

Tabela 3. Correlação de Pearson (r) entre a concentração de *Bacillus* na rizosfera das gramíneas e variáveis de fertilidade de solo nas amostras coletadas.

Variáveis	Mat. Orgânica	pH	P	K	Ca	MG	Sat. de bases (V%)	CTC
<i>Bacillus</i> sp. na rizosfera	-0,401*	0,014 ^{NS}	-0,142 ^{NS}	0,080 ^{NS}	-0,316 ^{NS}	0,083 ^{NS}	-0,002 ^{NS}	-0,224 ^{NS}

*Significativo (P<0,05); Não significativo (^{NS})

A escolha do nicho ecológico para as rizobactérias no solo tem influencia direta dos exsudatos radiculares pois a liberação dessas substâncias orgânicas pelas plantas hospedeiras tem importância fundamental para efetivação da maior ou menor colonização bacteriana na rizosfera (BAIS et al., 2004). No caso dos gêneros *Brachiaria* e *Panicum* foram descritos, em estudos recentes, que estas gramíneas produzem substâncias no sistema radicular que inibem o desenvolvimento de diversos grupos de bactérias, processo este conhecido como inibição da nitrificação biológica (SUBBARAO et al., 2009).

A ausência de correlação encontrada na maioria das variáveis químicas analisadas permitem inferir que a fertilidade do solo não interferiu na colonização de *Bacillus* sp. na rizosfera das gramíneas avaliadas. Em análise semelhante efetivada na rizosfera de alfaca, Coelho et al. (2007) relataram que são necessários mais estudos para determinar como as características do solo interferem na seleção de bactérias pela planta hospedeira.

A constatação de baixa colonização por *Bacillus* spp. na rizosfera das plantas forrageiras analisadas neste estudo, pode apontar para algum efeito inibitório relacionado a substâncias liberadas pelas raízes das plantas (SUBBARAO et al., 2009). O fato da correlação negativa entre a colonização

bacteriana e o teor de matéria orgânica no solo indica que a maior disponibilidade deste substrato orgânico no solo seja mais atrativo para as bactérias, em situações desfavoráveis na rizosfera. Sobre este fato é importante ressaltar que o favorecimento de um gênero bacteriano em uma determinada rizosfera é uma importante característica que pode confirmar o sucesso de um inoculante bacteriano (ATKINSON; WATSON, 2000). Os resultados apresentados aqui permitem sugerir que as rizosferas das plantas forrageiras avaliadas não favoreceram a colonização de bactérias do gênero *Bacillus*, sendo esta constatação importante para ser considerada em programas de seleção de rizobactérias promotoras de crescimento para estas culturas.

CONCLUSÕES

A colonização de *Bacillus* na rizosfera de *Brachiaria decumbens*, *B. brizantha* e *Panicum maximum* apresentou-se com baixos valores e semelhantes entre as espécies.

Dentre as características químicas do solo pela análise de rotina, apenas o teor de matéria orgânica apresentou correlação negativa com a concentração de *Bacillus* na rizosfera das três espécies de plantas forrageiras avaliadas.

ABSTRACT: A study was conducted to investigate whether the rhizosphere of pastures promotes root colonization by rhizobacteria of the *Bacillus* genus, as also the fertility of this soil interferes with bacterial colonization. For this we collected samples of the root system of *B. decumbens*, *B. brizantha* and *Panicum maximum* in 18 farms with

cattle ranching in western Sao Paulo, Brazil. While driving to work were effective analysis of soil fertility in the sampled areas. Quantification of *Bacillus* spp. in the rhizosphere of plants was performed by employing the technique of thermal shock and dilution ending with plating on culture media. Colonization of *Bacillus* in the rhizosphere of pasture were considered low and there was no correlation between rhizosphere colonization with most of the parameters of soil fertility. Just organic matter in the soil correlated negatively with bacterial colonization in the rhizosphere. No significant difference was found in the colonization of *Bacillus* in the rhizosphere of three grassland species assessed.

KEYWORDS: Rhizobacteria. *Brachiaria*. *Panicum*.

REFERÊNCIAS

ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: FNP, 2008. 385p.

ARAÚJO, F. F.; HENNING, A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Dordrecht, v. 21, p. 1639-1645, 2005.

ARAÚJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, p. 456-462, 2008.

ASGHAR, H. N.; ARSHAD, M; KHALIQ, A. Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. **Biology Fertility of Soils**, Berlin, v. 35, p. 231-237, 2002.

ATKINSON, D. C.; WATSON, A. The beneficial rhizosphere: A dynamic entity. **Applied Soil Ecology**, Dublin, v. 15, p. 99-104, 2000.

BADRI, D. V.; VIVANCO J. M. Regulation and function of root exudates. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 32, p. 661-681, 2009

BAIS, H. P.; PARK, S. W.; WEIR, T. L; CALLAWAY, R.M.; VIVANCO, J. M. How plants communicate using the underground information superhighway. **Trends Plant Science**, London, v. 9, p. 26-32, 2004.

BETTIOL, W. Isolamento seletivo de *Bacillus*. In: MELO, I.S.; SANHUEZA, R.M.V., coords. **Métodos de seleção de microrganismos antagônicos a fitopatógenos**. Jaguariúna, Embrapa-CNPMA, 1995. p.35-36. (Manual Técnico)

BROWN, M. E. Plant growth substances produced by microorganism of soil and rhizosphere. **Journal Applied Bacteriology**, Washington, v. 35, p. 443-450. 1972.

CATTELAN, A. J.; HARTEL, P. G.; FUHRMANN, J. J. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v. 63 p.1670-1680, 1999.

COELHO, L. F.; FREITAS, S. S.; MELO, A. M. T.; AMBROSANO, G. M. B. Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e de *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 1413-1420, 2007.

FREITAS, J. R.; BANERJEE, M. R.; GERMIDA, J. L. Phosphate solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.). **Biology Fertility of Soils**, Berlin, v. 24, p. 358-364, 1997.

GORLACH-LIRA, K.; COUTINHO, H. D. M. Population dynamics and extracellular enzymes activity of mesophilic and thermophilic bacteria isolated from semi-arid soil of northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, Brasília, v. 38, p. 135-141, 2007.

- KARADENIZ, A.; TOPCUOGLU, S. F.; INAN, S. Auxin, gibberellin, cytokinin and abscisic acid production in some bacteria. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Dordrecht, v. 22, p. 1061-1064, 2006.
- KLOEPPER, J. W. Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. **Australasian Plant Pathology**, Rockhampton, v. 28, p. 21-26, 1999.
- LAZZARETI, E.; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado a base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 54, p. 89-96, 1997.
- MONTEIRO, A. L. G.; COSTA, C. Relações Benéficas Entre Microorganismos e Plantas Forrageiras. Fixação de Nitrogênio e Micorriza Vesículo-Arbuscular. **Unimar Ciências**, Marília, SP, v. 5, n. 1, p. 50-58, 1996.
- PREMAZZI, L. M. **Saturação por bases como critério para recomendação de calagem em cinco forrageiras tropicais**. 1991. 215 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1991.
- RAIJ, B. V.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. 285 p.
- RICHARDSON, A. E. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. **Australian Journal of plant Physiology**, Canberra, v. 28, p. 897-906, 2000.
- SILVA, S. C. Condições edafo-climáticas para a produção de *Panicum* sp. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, TEMA: O CAPIM COLONIAÇÃO, 12, Piracicaba, 1995. **Anais...** Piracicaba: Fealq, 1995. p.129-146.
- SUBBARAO, G. V.; NAKAHARA K.; HURTADO M. P.; ONO, H.; MORETA D. E.; SALCEDO A. F.; YOSHIHASHI A. T.; ISHIKAWA T.; ISHITANI M.; OHNISHI-KAMEYAMA M.; YOSHIDA M.; RONDON M.; RAO I. M.; LASCANO C. E.; BERRY W. L.; ITO O. Evidence for biological nitrification inhibition in *Brachiaria* pastures. **Proceedings of the National Academy of Science**, New York, v. 106, p. 17302-17307, 2009.
- SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; LATORRACA, S.; MAGALHÃES, F. M. M.; OLIVEIRA, L. A.; PEREIRA, R. M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfato na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na amazônia. **Acta Amazonica**. Manaus, v. 12, p. 15-22, 1982.
- SPIRONELLO, A.; RAIJ, B. van.; PENATTI, C. P.; CANTARELLA, H.; MORELLI, J. L. M.; ORLANDO FILHO, J.; LANDELL, M. G. A.; ROSSETO, R. **Pastagens**. In: RAIJ, B. van.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. 2.ed. Campinas: Instituto Agrônomo, 1997. p.237-239. (Boletim técnico, 100)
- ZIMMER, A. H.; EUCLIDES, V. P. B.; MACEDO, M. C. M. Manejo de plantas forrageiras do gênero *Brachiaria*. In: PEIXOTO, A. M.; MOURA, J. C.; FARIA, V. P. (eds.). **IV Simpósio Sobre Manejo De Pastagens**. Piracicaba: FEALQ, 1988 p. 141-183.