Universidade Estadual de Londrina

MARTHA VIVIANA TORRES CELY

USO DE MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO COMO TECNOLOGIA PARA INCREMENTAR A PRODUÇÃO DE MADEIRA E SEQUESTRO DE CARBONO DE *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (Paricá) EM CONDIÇÕES DE CAMPO

Londrina
2010

MARTHA VIVIANA TORRES CELY

USO DE MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO COMO TECNOLOGIA PARA INCREMENTAR A PRODUÇÃO DE MADEIRA E SEQUESTRO DE CARBONO DE *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (Paricá) EM CONDIÇÕES DE CAMPO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbilogia.

Orientador: Prof. Dr. Galdino Andrade

Londrina
2010

Catalogação elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

C394u Cely, Martha Viviana Torres.

Uso de microorganismos promotores de crescimento como tecnologia para incrementar a produção de madeira e sequestro de carbono de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (Paricá) em condições de campo / Martha Viviana Torres Cely. – Londrina, 2010.

48f. : il.

Orientador: Galdino Andrade Filho.

Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, 2010.

Inclui bibliografia.

1. Microbiologia agrícola – Teses. 2. Microorganismos do solo – Teses. 3. Fungos micorrízicos – Teses. 4. Micorriza vesiculo-arbuscular – Teses. 5. Nitrogênio – Fixação – Teses. 6. Reflorestamento – Amazônia – Teses. I. Andrade Filho, Galdino. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia. III.Título.

CDU 631.461

MARTHA VIVIANA TORRES CELY

USO DE MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO COMO TECNOLOGIA PARA INCREMENTAR A PRODUÇÃO DE MADEIRA E SEQUESTRO DE CARBONO DE *Schizolobium amazonicum* (Paricá) EM CONDIÇÕES DE CAMPO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia da UniversidadeEstadual de Londrina, como requisito à obtençãodo título de Mestre em Microbiologia.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Galdinho de Andrade Filho
UEL – Londrina – PR

Prof. Dr. Edmilson Bianchini
UEL – Londrina – PR

Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira
UEL – Londrina – PR

Londrina, 7 de Maio de 2010.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a Deus pelas oportunidades e todas as coisas que tem posto no meu caminho.

Ao Dr. Galdino Andrade em primeiro lugar pela oportunidade de fazer parte de sua equipe, que tem sido uma das experiências mais valiosa da minha vida, pela orientação neste trabalho, por todos os conhecimentos compartilhados e em especial pela amizade e apoio incondicional.

Aos professores Dr. Edmilson Bianchini, Dr. Waldemar Zangaro e Dr. Marco Antonio Nogueira pela disposição para a avaliação deste trabalho e as sugestões que contribuíram ao seu enriquecimento.

Ao Marco Antonio Siviero do Grupo Arboris pela disponibilização da área para a instalação deste experimento e toda a equipe de pessoas que fizeram parte da instalação e coleta de dados.

A todos os meus companheiros e amigos do Laboratório de Ecologia Microbiana: Marco, Junior, Luis, Eik, Renato, Cristiane, Flavia, Lucilene, Luciana, Daniel, Marina, Kellen, Dáfila, Carina, Cintia, Vivian, Nagomi, Jamile, Marta por seu apoio nos momentos que precisei e tantas jornadas de trabalho e lazer compartilhados.

Aos meus amigos e colegas da turma 2009 do Mestrado em Microbiologia pela amizade e os momentos de alegria e estudo compartilhados.

A minha tia Rosalba e meus avós Abrahan e Elisa pelo exemplo, motivação, formação e carinho, a minha irmã Sonia meu cunhado Manuel, meus sobrinhos Lina e Juan Manuel pelo carinho de sempre.

Por último, mais com todo meu coração, agradeço ao meu namorado Alexander por seu apoio, compreensão e paciência em todos os momentos.

CELY, Martha Viviana Torres. **Uso de Microrganismos Promotores de Crescimento como Tecnologia para Incrementar a Produção de Madeira e Sequestro de Carbono de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (Paricá) em Condições de Campo**. 2010 48 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

RESUMO

Schizolobium amazonicum Heber ex Ducke ocorre naturalmente na Amazônia e possui grande importância comercial devido ao seu rápido crescimento e ótimo desempenho nos sistemas de cultivo, o que tem gerado um interesse crescente pelo estudo de novas estratégias que tornem mais eficiente a produção de madeira. O uso de microrganismos do solo e seu potencial para a promoção do crescimento é uma importante ferramenta que pode ser utilizada em sistemas intensivos de cultivo do paricá. Neste trabalho foi avaliada a eficiência de duas espécies nativas de fungos micorrízico arbuscular (MA), *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp., duas cepas nativas de *Rhizobium* sp. e uma exógena de *Burkholderia sp* no crescimento de *S. amazonicum* em condições de campo, suplementados ou não com a adição de fertilizante químico em dois métodos de plantio por semeadura de sementes e plantio de mudas. A inoculação de MA e BFN com a adição das duas doses de fertilizantes apresentou respostas positivas sobre o crescimento de *S. amazonicum*. Foram observadas diferenças estatisticamente significativas para os inóculos de MA, BFN e fertilizante na analise de variância aos 180, 280 e 480 dias no diâmetro, altura total e biomassa nos dois métodos de plantio. Estas diferenças observadas variaram no tempo para os diferentes parâmetros de crescimento avaliados. A interação entre os fatores avaliados não foi muito significativa, porém, na analise multivariada ACP foram observadas as combinações entre MA, BFN e fertilizante que mais apresentaram relação positiva com os parâmetros de crescimento, tais como *Glomus etunicatum* - *Rhizobium* Rh1 no controle e a dose mais baixa de adubo, Acaulospora sp - *Rhizobium* Rh1 nas duas doses de fertilizante, e *Rhizobium* Rh1 nas duas doses de fertilizante na ausência de MA. Na produção de madeira com o inoculo de *Acaulospora* sp.-Rh1 foi estimada uma produção de 25 t ha^{-1}, com *Acaulospora sp.* na dose um e sem BFN 30 t ha^{-1} para o sementes; em mudas com *Acaulospora* sp.-Rh1 na D2 estimou se 22 t ha^{-1}. A quantidade de C de para os tratamentos anteriormente descritos foi entre 9 e de 12 t ha $^{-1}$ aos dois anos de idade. Estes resultados demonstram que a inoculação de microrganismos pode ser uma boa ferramenta para ser utilizada em sistema de cultivo de paricá, sendo que ambas as espécies de fungos MA estimularam o crescimento de paricá, quando em interação com a cepa Rh1 e utilizando a metade da dose de adubo recomendada.

Palavras-chave: Bacterias fixadoras de N. Micorriza arbuscular. Interação. Reflorestamento

CELY, Martha Viviana Torres. Uso de Microrganismos **Promotores de Crescimento como Tecnologia para Incrementar a Produção de Madeira e Sequestro de Carbono de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (Paricá) em Condições de Campo**. 2010.48 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

ABSTRACT

Schizolobium amazonicum Heber ex Ducke occurs naturally in Amazon and presents huge commercial importance due to its rapid growth and excellent performance on cropping systems – a fact that has been raising much interest in the study of new strategies to increase more efficiently the wood yield. The use of soil microorganisms and its growth-promoting potential is an important tool that may be used in intensive cropping systems of *paricá*. This work assessed the efficiency of both native species of arbuscular mycorrhizal fungi (AM) – *Glomus etunicatum* and *Acaulospora* sp –, two native strains of *Rhizobium* sp., and an exogenous strain of *Burkholderia sp* on the growth of *S. amazonicum* under field conditions, whether supplemented or not with chemical fertilizers on both methods – direct sowing and seedling plantation. The inoculation of AM and N-fixing bacteria (NFB) with addition of the two doses of fertilizers presented positive responses upon the growth of *S. amazonicum*. Statistically significant differences were observed for the inocula of AM, NFB, and fertilizers in the variance analyses on the 180th, 280th, and 480th days regarding the diameter, total height ,and biomass on both cropping methods. Such observed differences have varied along the time for the different growth parameters assessed. The interaction between the factors assessed was not much significative; however, the ACP multivariate analysis has shown combinations among AM, NFB, and fertilizers that presented positive relation for the growth parameters such *Glomus etunicatum-Rhizobium* Rh1 on the check and the lowest dose of fertilizer; Acaulospora sp-*Rhizobium* Rh1 on both doses of fertilizers; and *Rhizobium* Rh1 on both doses of fertilizers in the absence of AM. The expected wood yield for the inoculum of *Acaulospora* sp.-Rh1 was 25 t ha^{-1}; among 30 t ha^{-1} for *Acaulospora sp* in the dose 1 of fertilizer (D1) and without NFB for the seeds; and 22 t ha^{-1} for the seedlings of *Acaulospora* sp.-Rh1 in dose 2 of fertilizer (D2). The amount of C for the treatment previously described ranged between 9 and 12 t ha $^{-1}$ on two years of age. Such results show that the inoculation of microorganisms may be a good tool to be used in the *paricá* cropping system, since both species of AM fungus have stimulated the growth of *paricá*, when interacting with the strain Rh1 and using half of the dose of fertilizer recommended.

Keywords: N-fixing bacteria. Arbuscular mycorrhiza. Interaction. Reforestation

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 7

2 OBJETIVOS 8

2.1 GERAL 8

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 8

3 REVISÃO BIBLIOGRAFICA 9

3.1 DESCRIÇÃO DE *Schizolobium amazonicum* (paricá) 9

3.1.1 Taxonomia e Nomenclatura 9

3.1.2 Descrição Botânica 9

3.1.3 Aspectos Ecológicos 10

3.1.4 Importância Econômica 10

3.1.5 Reflorestamento Comercial de *S. amazonicum* 11

3.1.6 Desenvolvimento de Pesquisa na Cultura do Paricá 11

3.2 MICRORGANISMOS DO SOLO 13

3.2.1 Fungos Micorrízicos Arbusculares 13

3.3.1.1 *Princípios fisiológicos dos benefícios das MA sobre a nutrição, crescimento e desenvolvimento vegetal* 14

3.3.2 Fixação Biológica de N 15

3.4 SEQUESTRO DE CARBONO (C) 16

3.4.1 Sequestro de C Indireto ou Terrestre 17

REFERÊNCIAS 19

ARTIGO: Assessment of the action of Growth-Promoting Microorganisms upon the Schizolobium amazonicum Huber ex Ducke (paricá) for Wood Yield and Carbon Sequestration under field conditions. 22

1 INTRODUÇÃO

A diminuição das áreas de coberta florestal nativas é hoje uma problema em nível mundial. O desenvolvimento acelerado e desorganizado em muitos casos tem conduzido à destruição de vastas áreas de floresta nativa pela ocupação irregular e sem planejamento. A exploração irracional do setor madeireiro associada a atividade agropecuária são as atividades que mais contribuem para a devastação da floresta nativa, no Brasil segundo a FAO em 2006 foi destruído uma media de 3.1 milhões ha/ano de mata nativa. Frente a este cenário, a necessidade de diminuir a pressão sobre as florestas nativas tem aumentado o interesse regional pelo desenvolvimento de projetos orientados a exploração sustentável dos recursos madeireiros, mediante o uso de espécies florestais nativas em programas de reflorestamento, recuperação de áreas degradadas e cultivos comerciais.

O *Schizolobim amazonicum* Huber ex Ducke (paricá), uma espécie de leguminosa arbórea da Amazônia, tem sido amplamente utilizada nos Estados do Pará, Maranhão e Rondônia em projetos de reflorestamento e exploração comercial para o fornecimento de matéria prima para a indústria madeireira. As qualidades da madeira do paricá e seu crescimento rápido são fatores que têm motivado sua cultura extensiva. A importância atual desta espécie dentro do setor madeireiro e ambiental traz consigo uma ampla gama de pesquisa na área. Uma das áreas de concentração dessas pesquisas está orientada à promoção de crescimento do S. amazonucum com o objetivo de diminuir o custo de produção e o tempo de corte como também aumentar a produção de madeira; dentro desta linha, a inoculação de microorganismos promotores de crescimento constitui uma tecnologia importante, que se transferida com sucesso para o setor produtivo, pode trazer grandes benefícios na parte econômica e ambiental.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Otimizar a produção de *S. amazonicum* (paricá) através do desenvolvimento de um pacote tecnológico para a inoculação de bactérias fixadoras de N e fungos micorrízicos arbusculares, visando diminuir os custos e o tempo de produção.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito dos inoculantes de fungos MA e bactérias fixadores de N no crescimento do *S. amazonicum*, comparado com a adição ou não de adubo químico.

- Determinar a combinação de inoculantes mais eficiente para a produção de madeira e sequestro de C do paricá.

- Analisar o potencial de uso dos microrganismos promotores de crescimento como alternativa na nutrição do *S. amazonicum* em áreas de cultivo.

- Transmitir os aportes deste trabalho aos produtores de paricá no Estado do Pará.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 DESCRIÇÃO DE *SCHIZOLOBIUM AMAZONICUM* HUBER EX DUCKE (PARICÁ)

3.1.1 Taxonomia e Nomenclatura

De acordo com o Sistema de Classificação APG III (Angiospermae Phylogeny Group), a posição taxonômica de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke obedece à seguinte hierarquia:

Divisão: Angiosperma
Classe: Eudicotylenidae
Ordem: Fabales
Família: Fabaceae (Leguminosae)
Subfamilia: Caesalpinoideae
Tribu: Caesalpinieae
Gênero: *Schizolobium*
Espécie: *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke

3.1.2 Descrição Botânica

As árvores maiores atingem dimensões próximas de 40 m de altura e 100 cm de DAP (diâmetro à altura do peito, medido a 1,30 m do solo), na idade adulta em torno dos 15 a 20 anos. Seu tronco é bem formado e reto. Nas árvores jovens, o tronco tem coloração verde acentuada e com cicatrizes transversais deixadas pela queda das folhas. Às vezes, apresenta sapopemas basais. O fuste mede até 25 m de altura. Suas folhas são longipecioladas, bipinadas, grandes (de 60 cm a 150 cm de comprimento), tem raque lenhosa. Flores de coloração amarelo-clara, de aroma doce, zigomorfas, medindo de 2 a 2,2 cm de comprimento. Apresenta frutos espatulados, oblanceolados, abertos até o ápice; medem de 6 a 10 cm de comprimento por 1,5 a 3 cm de largura; produz de uma a duas sementes por fruto. A semente é coberta com um endocarpo papiroso e unida apicalmente ao fruto, é anátropa, aplanada, ovalada, com ápice arredondado, base atenuada, cor de café, com o bordo mais escuro, medindo de 16 a 21 mm de comprimento por 11 a 14 mm de largura (RAMALHO, 2007).

3.1.3 Aspectos Ecológicos

É considerada dentro do grupo ecológico ou sucessional das espécies pioneiras. Ocorre naturalmente na Amazônia (Floresta tropical Amazônica) onde é árvore emergente; na Mata Atlântica (Floresta subcaducifólia) em formações submontanas (Rondon 2002) e em outras formações vegetais fora do Brasil, como Bosque úmido na Bolívia e na Amazônia Colombiana e Equatoriana (RAMALHO, 2007).

3.1.4 Importância Econômica

Tendo o seu potencial avaliado para plantio comercial na década de 70, o paricá mostrou ter viabilidade para reflorestamento em sistemas agroflorestais. As características da madeira, apropriadas para indústrias de laminados, compensados e madefelx (MDF), assim como, a possibilidade de produção mais rápida que outras espécies, atraíram a atenção de empresas madeireiras e produtoras de papel, fazendo do paricá atualmente, a espécie nativa mais cultivada nos diversos Estados da Amazônia. O Estado do Pará, especialmente, detém a maior área plantada com essa espécie, mas, é a sua versatilidade em se adaptar aos diversos sistemas que faz a diferença, já que sua viabilidade foi testada em reflorestamentos homogêneos, plantios mistos com outras espécies florestais como a teca, sistemas silviagrícolas (com pimenta-do-reino, com cacau ou cupuaçu) e sistemas silvipastoris (com diversas forrageiras), apresentando resultados promissores (ROSA, 2006).

3.1.5 Reflorestamento Comercial de *S. amazonicum*.

A ocupação desordenada da Amazônia brasileira tem causado grandes impactos sobre os recursos naturais, entre estes o desmatamento, o aumento da emissão de gases de efeito estufa como consequência das queimas e a erosão do solo, com poucos benefícios econômicos para a região. A recuperação de áreas degradadas por parte do setor produtivo mediante o desenvolvimento de projetos de reflorestamento ou agroflorestais tem contribuído de forma importante no aumento da oferta de madeira de alto custo, diminuindo a pressão sobre as áreas de floresta nativa (GALEÃO et al., 2006). O total de áreas plantadas com *S. amazonicum* nos Estados da Amazônia vem apresentando um acréscimo significativo nos últimos anos; segundo Ramalho (2007) um total de 20.000 ha foram plantados, no Acre, Mato Grosso, Pará e Rondônia. Em 2009 segundo os dados do Centro de Pesquisa do Paricá (Dom Eliseu/ PA), a área plantada do paricá no Brasil foi de 80.177 ha, aparecendo em terceiro lugar entre as espécies nativas com maior área plantada depois da acácia (*Acácia mearsii* de Willd) e a seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) e em quinto lugar depois de espécies de grande importância como o Eucalipto e o Pinus (ABRAF, 2009)

3.1.6 Desenvolvimento de Pesquisa na Cultura do Paricá

Os trabalhos relativos à silvicultura de *S. amazonicum* ainda são poucos, porém, nos últimos anos, tem havido um crescente interesse nesta espécie devido a sua importância comercial na região Amazônica. Na década de 90, vários projetos de silvicultura foram iniciados no sul do Pará, visando selecionar espécies arbóreas nativas com potencial para a obtenção de matéria prima para a indústria madeireira, principalmente a de laminação. De acordo com avaliações feitas por Rondon (2000) em 30 espécies florestais com 54 meses de idade, foi observado que o paricá se destacou pelo crescimento rápido nas áreas de cultivo. Marques et al. (2004) demonstraram que *S. amazonicum* apresenta alta exigência nutricional na fase de muda. Lima et al. (2003) avaliaram o comportamento de paricá quando submetido a diferentes concentrações de boro, definindo uma dose de 0,15 mg dm^{-3} de solo como a mais favorável para seu crescimento. O trabalho realizado por Carvalho (2005) sobre respostas de plantas de paricá à deficiência hídrica indicou que esta espécie apresenta uma boa capacidade de adaptação osmótica quando submetida a estresse hídrico. Quanto à produção de biomassa, Rondon (2002) considera um espaçamento de 4 x 4 m como o mais favorável para esta espécie em plantações. Na área de biometria, Tonini et al. (2005) realizaram a seleção de algumas equações dendrométricas, conseguindo adaptar uma fórmula para estimar a altura total, volume comercial e fator de correção de forma em plantios homogêneos no Estado de Roraima. Em estudos de sanidade da cultura de, Máfia et al. (2003) avaliaram o tombamento de mudas causado por *Fusarium solani*; Zanuncio et al. (2004) relataram a ocorrência de *Quesada gigas* (Hemiptera: Cicadidae) em áreas de plantio nos municípios dos Estados do Maranhão e do Pará, aonde o ataque trouxe prejuízo para os produtores, sendo uma das mais importantes pragas do cultivo.

As formas mais comuns de propagação até agora usadas nas áreas de plantio comercial são a semeadura direta ou plantio de mudas. No método de semeadura direta estudos têm revelado a necessidade de realizar tratamentos pré-germinativos para a quebra de dormência, visando diminuir o tempo e aumentar a eficiência da germinação. A produção de mudas geralmente é feita em sacos plásticos ou tubetes de polietileno e levadas a campo dois ou três meses após a semeadura. Contudo, a inexistência de sementes geneticamente melhoradas traz ao sistema de produção do paricá alguns inconvenientes pela heterogeneidade no crescimento, o que influencia altamente a produção final (ROSA, 2006). Na cultura do paricá se conhece até agora duas formas de propagação vegetativa, a propagação pelo método de estaquia (PINHEIRO, 2001), e a propagação *in vitro* ou micropropagação (CASTRO et al., 2002; CORDEIRO et al., 2004; REIS et al., 2009), técnicas que podem trazer melhoramento genético mediante clonagem de indivíduos com características de uniformidade no crescimento e no tamanho das toras de corte. Porém, esta tecnologia ainda está sendo padronizada e não está sendo usada diretamente pelos produtores. A adequação das áreas destinadas ao plantio do paricá requer geralmente adubação química ou orgânica por serem, na sua maioria, áreas degradadas. A adubação mineral destas áreas é geralmente feita com adição de nitrogênio, fósforo e potássio, sendo recomendadas doses entre 100 e 200 g (NPK 18:4:20) por cova (ROSA, 2006).

O efeito da inoculação de microrganismos na promoção do crescimento de paricá foi avaliada por Siviero et al. (2007), onde foi testada a inoculação de três fungos MA (*Glomus clarum, Glomus intrarradices* e *Glomus etunicatum*) em interação com bactérias fixadoras de nitrogênio (*Rhizobium sp* e *Brurkholderia sp*) sobre o crescimento a partir de mudas e semeadura direta condições de campo. Foi observado um efeito benéfico da interação MA e bactérias fixadoras de N no crescimento aos 390 dias, tanto em mudas como em sementes. O efeito positivo observado por estes autores utilizando microrganismos exógenos sugere que o uso dos inóculos nativos de fungo MA e rizóbio pode ser mais eficiente e potencializar o efeito benéfico de microrganismos sobre o crescimento e produção do paricá.

3.2 Microrganismos do Solo

3.2.1 Fungos Micorrízicos Arbusculares (MA)

A alta diversidade e o complexo processo de evolução da comunidade microbiana do solo têm contribuído ao enriquecimento das interações entre populações de microrganismos e destes com organismos superiores. Estas interações abrangem desde simbioses altamente específicas até relações mutualistas pouco específicas. Os fungos MA formam associações simbióticas com uma ampla gama de espécies vegetais incluindo angiospermas, gimnospermas, pteridófitos, alguns briófitos (FINLAY, 2008). A simbiose com MA é a mais conhecida interação entre microrganismos e plantas, e tem um papel muito importante na produtividade vegetal e na ciclagem dos nutrientes (ANDRADE, 2004; GIRI et al., 2005). Esta associação é desenvolvida nas raízes das plantas quando o fungo coloniza as células do córtex acessando aos produtos celulares das plantas. A contribuição do fungo à simbiose é complexa, mas em termos gerais, considera-se a transferência de nutrientes do solo a planta, especialmente fosfatos, como o aporte mais importante nesta relação (DEUBE; MERBACH, 2005). Por sua vez, a planta proporciona ao fungo simbionte (heterotrófico) compostos carbonados provenientes da fotossíntese, assim como um habitat protegido (HARRISON, 1999).

3.3.1.1 Princípios fisiológicos dos benefícios das MA sobre a nutrição, crescimento e desenvolvimento vegetal.

Dos benefícios que as MA produzem nas plantas hospedeiras, podem se destacar: ajudam na nutrição, crescimento e desenvolvimento; melhoram a sua tolerância frente ao estresse causado por deficiência hídrica e aos agentes patogênicos e facilitam sua adaptação em solos com baixa disponibilidade de nutrientes (SYLVIA et al., 1999). Estes benefícios são a base fundamental que permite às plantas uma melhor adaptação ao meio, maior competitividade e uma maior produtividade.

O benefício das MA no crescimento vegetal está relacionado com a facilidade de maior absorção de nutrientes minerais do solo. As MAs podem ajudar as plantas a incrementar a captação de nutrientes de forma direta ou indireta. De forma direta, as micorrizas aumentam a absorção de nutrientes e água do solo devido ao se micélio externo que explora um maior volume de solo além das raízes. O fungo estende o campo de absorção da raiz além da zona de influência radicular e permite incrementar a sua superfície de captação (BAREA et al, 2005). Além disso, a absorção mais eficiente das raízes micorrizadas é devida também a uma aceleração da dissociação de fosfatos insolúveis no solo, assim como outros elementos de baixa mobilidade. Os benefícios dos fungos micorrízicos na captação de Fósforo (P) são de essencial importância, pois este é um elemento limitante por sua baixa disponibilidade na forma solúvel no solo, especialmente em solos tropicais (CORREDOR, 2003).

Outros autores sugerem um efeito indireto mediante influencia destes na dinâmica de nutrientes na rizosfera (ANDRADE, 2004 ; ARTHURSON et al., 2006; BAREA et al., 2005), as MA podem interferir em vários ciclos biogeoquímicos, no aumento da eficiência de microrganismos fixadores de N, tais como *Rhizhobium, Azospirillum, Azotobacter*; que por sua vez, incrementam a disponibilidade de nitrogênio para as plantas; no ciclo do carbono devido a alterações no fluxo dos exsudados das raízes; no ciclo do fósforo mediante a estimulação da atividade de bactérias solubilizadoras de fosfatos e no ciclo do enxofre pela influencia nas alterações nas populações de bactérias autotróficas oxidadoras e redutoras de sulfatos.

3.3.2 Fixação Biológica de N

A fixação biológica N pode ser feita por vários gêneros de bactérias, algumas das quais podem estar associadas de em vida livre à rizosfera, ou ainda formar associações mutualistas com as plantas, como é o caso dos organismos do gênero *Rizobium.* A fixação biológica de N geralmente ocorre em resposta a baixos níveis de N mineral. Em ambientes terrestres, a fixação simbiótica de N é de grande importância na dinâmica deste nutriente, a qual pode chegar a ser três vezes maior que o aporte feito pelas bactérias de vida livre no solo (PHILIPPOT; GERMON, 2005). Embora as taxas de fixação de N por bactérias de vida livre no solo sejam relativamente baixas, estas têm uma função importante dentro da rizosfera, onde pela disponibilidade de compostos orgânicos provenientes dos exsudados das raízes, ajudam na ciclagem do N para as plantas (ANDRADE, 2004).

A maioria das plantas leguminosas tem a capacidade de formar associações simbióticas com microrganismos dos gêneros *Rhizobium* e Bradyrhizobium que formam estruturas chamadas nódulos nas raízes, os quais provêm o ambiente adequado para o processo de fixação de N. A fixação do N é um processo auxiliado por um complexo enzimático que envolve duas proteínas (MoFe dinitrogenase e Fe dinitrogenase redutase) altamente conservadas nos genes nifD, nifK e nifH; sua atividade é altamente regulada pelo O_2, razão pela qual a fixação de N é feita só no interior das células vegetais ou em ambientes com baixa pressão de O_2. *Rhizobium* pode crescer como uma bactéria saprofítica em vida livre, mas não realiza fixação de N nessa condição. A inoculação de bactérias diazotróficas em sementes de leguminosas é uma tecnologia capaz de reduzir consideravelmente a adubação mineral nitrogenada e em alguns casos substituí-la totalmente, pois o N fixado pode alcançar em média 1500 kg/ha, resultando em expressiva redução do custo de produção da cultura (REES et al., 2005).

A interação entre bactérias fixadoras de N e FMA está sendo objeto de estudo, mas tem sido observado um efeito sinérgico entre estes dois grupos de organismos. Acredita se que os benefícios desta interação possa ocorrer em razão ao incremento na absorção de P pelas plantas micorrizadas, o que proporciona melhores condições para o estabelecimento de associações com diazotróficos (BHOWMIK; SINGH, 2004).

3.4 Sequestro de Carbono

Nos últimos anos tem se chamado muito a atenção a respeito do impacto das ações antrópicas e a sua influência no aumento do acúmulo de gases do efeito estufa na atmosfera. Algumas das atividades mais relacionadas à liberação destes gases são a queima de combustíveis fósseis, a agricultura e a combustão de biomassa. Os principais gases associados ao efeito estufa são: óxido nitroso (N_2O), metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2), assim como vapor de água (H_2O), ozônio (O_3), gases clorofluorcarbono (CFC) e hidroclorofluorocarbono (HCFC).

Entre os ditos gases efeito estufa, o dióxido de carbono (CO_2) é considerado um dos que mais efeitos danosos ocasiona no meio ambiente devido à alta velocidade com que está sendo liberado na atmosfera nos últimos anos e à sua relação direta com o aquecimento global. Frente a este problema, a comunidade internacional tem promovido iniciativas e incentivos orientados na diminuição das emissões de CO_2, por exemplo, o desenvolvimento de alternativas de produção energia mais limpas e processos para mitigar o acúmulo de CO_2 na atmosfera (CUNHA et al., 2008). Uma medida proposta é a captura do carbono mediante processos de armazenamento Geológico (seqüestro de carbono direto) e reflorestamento (seqüestro de carbono indireto). O seqüestro de carbono direto faz referência à captura do carbono a partir de processos industriais mediante os quais o CO_2 é removido diretamente dos sistemas de geração de energia, campos de exploração de petróleo e gás, refinarias e siderúrgicas, sendo armazenado em formações geológicas nos oceanos, em forma de carbonatos minerais ou utilizados em processos industriais. Já o seqüestro de carbono indireto ou terrestre faz referência ao processo de fixação do C pela vegetação em forma de biomassa e a estocagem de C no solo (PACALA; SOCOLOW, 2004).

3.4.1 Seqüestro de C Indireto ou Terrestre

A fixação indireta do carbono na biomassa vegetal e no solo pode ser dada pelo aumento da fixação fotossintética e redução da decomposição da matéria orgânica nos solos, assim como, pela diminuição das emissões de CO_2 na Terra. Isto é realizado mediante o armazenamento de carbono no subsolo, nos troncos das árvores e na cobertura vegetal do solo nas florestas; nas plantações e pastagens das áreas agrícolas e também com a recuperação de áreas degradadas e desérticas. Na área florestal têm sido sugeridas algumas medidas para uma efetiva e significativa diminuição do carbono na atmosfera, as quais estão relacionadas com o aumento na densidade da biomassa de plantas por unidade de área, aumento do tempo de vida da biomassa vegetal, assim como também a utilização desta biomassa na fabricação de produtos duráveis

No Brasil alguns estudos na área florestal têm quantificado o estoque de carbono em áreas de plantio. Sette et al. (2005) quantificaram o estoque de C em florestas de *Pinus* sp. em valores de 6,5 (Mg C ha^{-1}) aos 5 anos, 82,2 (Mg C ha^{-1}) aos 12 anos, 41,8 (Mg C ha^{-1}) aos 14 anos, 109,9 (Mg C ha^{-1}) aos 18 anos, 91,4 (Mg C ha^{-1}) aos 25 anos e 91,9 (Mg C ha^{-1}) aos 26 anos. Concluiram que a captura total de carbono orgânico por hectare foi influenciada diretamente pela densidade básica da madeira da espécie e pelo volume de madeira dos indivíduos avaliados. Soares e Oliveira (2002) ajustaram equações para determinar a quantidade de carbono na parte aérea de árvores de Eucalipto, determinando que o fuste seja a parte da planta que apresenta maior estoque de carbono, pois encontraram uma relação exponencial positiva entre o conteúdo de C e as dimensões dos fustes das arvores expressadas pelo DAP e a altura total. A determinação do estoque de carbono em florestas mediante métodos indiretos, isto é, mediante a estimativa da biomassa usando parâmetros de crescimento, é em alguns casos questionada, mais constitui a forma mais prática e econômica de trabalhar neste campo, comparado com a complexidade e alto custo que implicam determinações diretas que incluem o corte definitivo das árvores. Estes modelos estão sendo sempre objeto de estudo e fica ao critério do pesquisador sua aplicação nas avaliações (SILVEIRA et al., 2008)

REFERÊNCIAS

ABRAF. **Anuário Estatístico da ABRAF 2009**. Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas, Brasília, 2009.

ANDRADE, G. Role of functional groups of microorganisms on the rhizosphere microcosm dynamics. In: VARMA, A. et al. **Plant Surface Microbiology**. New York: Springer-Verlag, 2004. p. 51-68.

APGIII. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.161, p.105-121, 2009.

ARTURSSON, V.; FINLAY, R.D.; JANSSON, J.K. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. **Environmental Microbiology**. v. 8, n. 1, p. 1–10. 2006.

BAREA, J.M.; AZCÓN, R.; AGUILAR, A.C. Interactions between mycorrhizal fungi and bacteria to improve plant nutrient cycling and soil structure. In: BUSCOTAND, F; VARMA, A. **Soil Biology**. New York: Springer-Verlag, 2005. v. 3, p.195-208.

BAREA, J.M.; AZCÓN, R.; AGUILAR, A.C. Mycorrhizal Fungi and plant growth promoting rhizobacteria. In: VARMA, A. et al. **Plant Surface Microbiology**. New York: Springer-Verlag, 2004. p. 351-362.

BHOWMIK, S.N.; SINGH, C.S. Mass multiplication of AM inoculum; effect of plant growth-promoting rhizobacteria and yeast in rapid culturing of Glomus mosseae. **Current Science**,v.86, n. 5, p.705- 709, 2004.

CARVALHO, C.J. Respostas de plantas de *Schizolobium amazonicum* (*S. parahyba* var. amazonicum) e *Schizolobium parahyba* (*Schizolobium parahybum*) a deficiência hídrica. **Revista Árvore**, v. 29, n.6, p.907-914, 2005.

CASTRO, C.I.M. et al. Germinação in vitro de paricá *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.1, n.27, p.58-61, 2002.

CORDEIRO, C.C.I.M. et al. Efeito de BAP sobre a proliferação de brotos in vitro de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (paricá). **Cerne. Lavras**, v.10, n.1, p. 118-124, 2004.

CORREDOR, G. Micorrizas arbusculares: aplicación para el manejo sostenible de los agroecosistemas. Programa Nacional de Recursos Biofísicos. Bogotá: Corpoica, 2003. p.12-17.

CUNHA, P.; SARTORI, C.; LOVATO, C. Desenvolvimento Tecnológico do Seqüestro de Carbono na PETROBRAS. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE SEQÜESTRO DE CARBONO E MUDANÇAS CLIMÁTICAS, 2. Maceió. **Anais**… Maceió, 2008.

DEUBE, A.; MERBACH, W. Influence of microorganisms on phosphorus bioavailability in soils. In: BUSCOTAND, F.; VARMA, A. **Soil Biology**. Springer-Verlag, 2005. v.3, p.177-189.

FINLAY, R.D.; Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: withs pecial emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n.5, p.1115-1126, 2008.

GALEÃO, R.R. et al. Diagnóstico dos projetos de reposição florestal no estado do Pará. **Revista Ciência Agrária**, n. 45, p.101-120, 2006.

GIRI, B. et al. Microorganisms in soils: roles in genesis and functions. In: BUSCOTAND, F; VARMA, A. **Soil Biology**, Springer-Verlag, 2005. v.3, p.19-43,.2005.

HARRISON, M.J. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Annual Reviews. **Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, n. 50, p. 361-389, 1999.

LIMA, S.F. et al. Comportamento do paricá (*Schizolobium amazonicum* Herb.) submetido à aplicação de doses de boro. **Cerne**, v.9, n.2, p.192-204, 2003.

MAFIA, R.G. et al. Tombamento de mudas causado por *Fusarium solani*: uma nova doença do paricá no Brasil. **Fitopatologia brasileira**, v.28, n.4, p.540-542, 2003.

MARQUES, L.T.C. et al. Exigências nutricionais do paricá (S*chizolobium amazonicum,*Herb.) na fase de muda. **Cerne**, v. 10, n.2, p.167-183, 2004.

PACALA, S.; SOCOLOW, R. Stabilization wedges: solving the climate problem for the next 50 years with current technologies. **Science,** v.30, n.5, p. 968-972, 2004.

PHILIPPOT, L.; GERMON, J.C. Contribution of bacteria to initial input and cycling of nitrogen in soils. In: Buscotand, F.; Varma, A. **Soil Biology**. Springer-Verlag, 2005. v.3, p160-175.

PINHEIRO, K.A.O. Propagação vegetativa de estacas de paricá (Schizolobium amazonicum Huber ex Ducke), obtidas de material juvenil e imersas em ácido indol-3-butírico. **Revista de Ciências Agrárias**, v.35, p. 79-88, 2001.

RAMALHO, P. Paricá (*Schizolobium amazonicum).* **Embrapa.Circular Técnica,** n. 142. Embrapa Florestas, p 1-8, 2007.

REES, D.C. et al. Structural basis of biological nitrogen fixation. **Royal Society Publishing,** v.363, p 971-984, 2005.

REIS, I.N.R.S. et al. Cultivo *In Vitro* de eixos embrionários de paricá. **Ciência e Agrotecnología**, v.33, n.1, p. 60-66, 2009.

RONDON, E.V. Comportamento de essências florestais nativas e exóticas no norte de Mato Grosso. In: CONGRESSO E EXPOSIÇÃO INTERNACIONAL SOBRE FLORESTAS. **Resumos Técnicos.** Rio de Janeiro: Instituto Ambiental Biosfera, p. 68, 2000.

RONDON, V.E. Produção de biomassa e crescimento de árvores de *Schizolobium amazonicum* (Huber) Ducke sob diferentes espaçamentos na região de mata. **Revista Árvore**, v.26, n.5, p.573-576, 2002.

ROSA, S.L. Ecologia e silvicultura do paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber ex ducke) na Amazônia brasileira. **Revista de Ciências Agrárias**, n.45, p.121-134, 2006.

SETTE, C.R.; NAKAJIMA, N.Y.; GEROMINI, M.P. Captura de carbono orgânico em povoamentos de *Pinus taeda L*. na região de rio negrinho, Sc. **Floresta**, v. 36, n.1, p. 33-44, 2006.

SILVEIRA, P. et al. O estado da arte na estimativa de biomassa e carbono em formações florestais. **Floresta,** v. 38, n.1, p 185-205, 2008.

SIVIERO, M.A. et al. Interaction among N-fixing bacteria and AM fungi in Amazonian legume tree (*Schizolobium amazonicum*) in field conditions. **Applied Soil Ecology**, v.39, n.2, p 144-152, 2008.

SOARES, C.P.B; OLIVEIRA, M.L.R. Equações para estimar a quantidade de carbono na parte aérea de árvores de eucalipto em Viçosa, MG. **Árvore**, v.26, p.533-539, 2002.

SYLVIA, D. et al. **Principles and applications of soil microbiology.** New: Jersey: Prentice Hall, 1999. p 550.

TONINI, H. et al. Seleção de equações para o paricá (*Schizolobium amazonicum Huber ex Ducke)*, no Estado de Roraima. **Embrapa Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento,** n. 4, Roraima, 2005.

ZANUNCIO, J.C. et al. Ocorrência de *Quesada gigas* em *Schizolobium amazonicum* em municípios do Maranhão e do Pará. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.9, p.943-945, 2004.

ARTIGO: Assessment of the action of Growth-Promoting Microorganisms upon the *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (paricá) for Wood Yield and Carbon Sequestration under field conditions.

Martha Viviana Torres Cely[1], Dáfila dos Santos Lima[1], Eik Hamada Sorgi[1], Marco Antonio Siviero[2], Waldemar Zangaro[3], Marco Antonio Nogueira[1], Galdino Andrade[1,*]

[1] Departamento de Microbiologia, CCB, Laboratório de Ecologia Microbiana, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, CEP 86051-990, Brazil
[2] Grupo Arboris, Rua Gonçalves Dias, 919 Centro, 68633-000 Dom Eliseu, PA, Brazil
[3] Departamento de Biologia Animal e Vegetal, CCB, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, CEP 86051-990, Brazil

* Corresponding author: Galdino Andrade, Departamento de Microbiologia, Laboratório de Ecologia Microbiana, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Caixa Postal 6001, CEP86051-990, Brasil;
Phone/Fax: +55-43-3371-4791; E-mail: andradeg@uel.br

ABSTRACT

Schizolobium amazonicum Heber ex Ducke occurs naturally in Amazon and presents huge commercial importance due to its rapid growth and excellent performance on cropping systems – a fact that has been raising much interest in the study of new strategies to increase more efficiently the wood yield. The use of soil microorganisms and its growth-promoting potential is an important tool that may be used in intensive cropping systems of *paricá*. This work assessed the efficiency of both native species of arbuscular mycorrhizal fungi (AM) – *Glomus etunicatum* and *Acaulospora* sp –, two native strains of *Rhizobium* sp., and an exogenous strain of *Burkholderia sp* on the growth of *S. amazonicum* under field conditions, whether supplemented or not with chemical fertilizers on both methods – direct sowing and seedling plantation. The inoculation of AM and N-fixing bacteria (NFB) with addition of the two doses of fertilizers presented positive responses upon the growth of *S. amazonicum*. Statistically significant differences were observed for the inocula of AM, NFB, and fertilizers in the variance analyses on the 180th, 280th, and 480th days regarding the diameter, total height ,and biomass on both cropping methods. Such observed differences have varied along the time for the different growth parameters assessed. The interaction between the factors assessed was not much significative; however, the ACP multivariate analysis has shown combinations among AM, NFB, and fertilizers that presented positive relation for the growth parameters such *Glomus etunicatum-Rhizobium* Rh1 on the check and the lowest dose of fertilizer; Acaulospora sp-*Rhizobium* Rh1 on both doses of fertilizers; and *Rhizobium* Rh1 on both doses of fertilizers in the absence of AM. The expected wood yield for the inoculum of *Acaulospora* sp.-Rh1 was 25 t ha^{-1}; among 30 t ha^{-1} for *Acaulospora sp* in the dose 1 of fertilizer (D1) and without NFB for the seeds; and 22 t ha^{-1} for the seedlings of *Acaulospora* sp.-Rh1 in dose 2 of fertilizer (D2). The amount of C for the treatment previously described ranged between 9 and 12 t ha $^{-1}$ on two years of age. Such results show that the inoculation of microorganisms may be a good tool to be used in the *paricá* cropping system, since both species of AM fungus have stimulated the growth of *paricá*, when interacting with the strain Rh1 and using half of the dose of fertilizer recommended.

Keywords: N-fixing bacteria, arbuscular mycorrhiza, interaction, reforestation, Amazon

1 INTRODUCTION

The negative impact on the agroindustrial development and the wood exploitation under areas of native forest has been encouraging the development of projects regarding the sustainable use and conservation of the Brazilian biological diversity. *Shizolobium amazonicum* Huber ex Ducke is a arboreal leguminous species native from Amazon and is considered as an ecologically and economically important species due to its huge wood potential. Its commercial potential was assessed since 1970’s, being today the most planted native species in the Brazilian states of Amazonia, Pará, Maranhão, and Rondonia – 80.177 ha. Due to its rapid growth, *S. amazonicum* can reach annual yield of 38 m^3 ha^{-1} $year^{-1}$ on six years of age (Carvalho, 2007). It is also considered an important species for the Carbon sequestration as it presents high levels of biomass in short period of time (SIVIERO et al., 2008). The qualities of its wood are high for the furniture and plywoods, ensuring the transformation of Carbon fixed into durable products. Local studies (CARVALHO 2005; CASTRO et al., 2002; LIMA et al., 2003; MÁFIA et al., 2003; MARQUES et al., 2004; RONDON, 2002; TONINI et al., 2005; ZANUNCIO et al., 2004) have been approaching, generally, some most important aspects regarding *S. amazonicum*. However, despite the increasing economical importance of this species, its cropping system is not much technified, being supported by little information concerning its nutrition and growth-promotion.

The microbial community in the soil presents an important role in the sustainability of the plant communities (ANDRADE, 2004). The interaction between the microorganisms and plants, specifically in the roots, supplements important nutritional requirements for plants as for the microorganisms associated. Thus, as the roots affect directly the surrounding microbial populations, the microorganisms present at the rhizosphere may influence the plant growth (GIRI et al., 2005). The bacterial species that colonize the roots and promote the plant growth are called growth-promoting rhizobacteria (PGPR). Among them, there are the N-fixing bacteria that can establish symbiosis or not with leguminous species – resulting in a beneficial interaction for their growth. The dizatrophic bacteria may help the nutrition of the plants through the biological fixation of N_2, the production of phyto-hormones, and the changes in the root morphology (VESSEY, 2003). Other important group of microorganisms that acts in the plant growth-promotion is the arbuscular mycorrhizal fungi (AM). Associated with the root, the AM favours the plants through the increase of the absorption ability of P and the tolerance to the states of stress. Such benefits allow the plants to better adapt to the environment and to reach higher productivity (MOLINA et al., 2005). The interaction among both groups of microorganisms is still under study; however, it is believed that the benefits from the interaction between the AM and the diazotrophic bacteria may occur in function to the increment of the absorption of P by the mycorrhized plants, which proportionate better conditions to the establishment of the association with diazotrophics, what represents a high energetic cost (BHOWMIK; SINGH, 2004). The compatible combinations between N-fixing bacteria and AM fungi are inoculated in the forest and agricultural systems and may result a significative increase of the growth-promoting effects (BIRÓ et al., 2000). The use of growth-promoting microorganisms in *S. amazonicum* was assessed by Siviero et al. (2008), demonstrating that such species presents a positive response to the inoculation with AM with interaction with N-fixing bacteria isolated from other species of plant. This work aimed at the assessment of the effect of two AM fungi under interaction with three strains of N-fixing bacteria isolated from the root of *S. amazonicum* and complemented with two levels of chemical fertilizer NPK (10: 20: 20) upon the growth under field condition.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 EXPERIMENTAL AREA

The experiment was set in the municipality of Dom Eliseu – PA, Brazil (4º 17’ 36” S and 47º 33’ 15” W). The cropping area presented humid moseothermic climate, with annual temperature of 25º C, with rainfall of 2,500 mm, presenting period of extensive rain between January and June, with a relative humidity around 85%. The vegetation from the municipality corresponds to the subtype dense jungle. However, the constant deforestation has damaging the original vegetation, promoting the emergence of large areas of secondary forest, occurring many times the savanization of such areas (SEPOF, 2007).

2.2 EXPERIMENTAL DELINEATION

Two cropping methods were used: direct sowing and seedling plantation. In each cropping method, there were inoculated two species of AM fungus (*G. etunicatum* and *Acaulospora* sp.); three N-fixing bacteria, being two native isolated from the root of *S. amazonicum (Rhizobium* Rh1 and *Rhizobium* Rh2); and one endogenous strain of *Burkholderia* sp. (Albino et al., 2007). Additionally, in combination with the inocula, there were tested two doses of chemical fertilizer NPK 10: 20: 20 (D1: 75g plant $^{-1}$ and D2: 150 g plant $^{-1}$). The experimental delineation was set on completely randomized block with factorial arrangement of 3x4x3. Thirty-six treatments were organized into three blocks with six rows; each row presented six treatments and each treatment presented ten plants with spacing of 2 x 3 m.

2.3 SUBSTRATE

The experimental area presents a soil of type Xanthic Ferralsol with the following chemical characterization: pH ($CaCl_2$) 4.8, H+Al 2.9 $cmol_c$ dm^{-3}, Al^{3+} 0.2 $cmol_c$ dm^{-3}; Ca^{2+} 3.3 $cmol_c$ dm^{-3}, Mg^{2+} 1.0 $cmol_c$ dm^{-3}, K^+ 0.24 $cmol_c$ dm^{-3}; P 10.0 mg dm^{-3}, C19.0 g dm^{-3}; S-SO_4 $^{2-}$ 4.2 mg dm^{-3}, Na^+ 4.0 mg dm^{-3}, B 0.3 mg dm^{-3}, Fe^{2+} 99.0 mg dm^{-3}, Mn 7.3 mg dm^{-3}, Cu 0.2 mg dm^{-3}, and Zn 3.0 mg dm^{-3}.

2.4 INOCULUM.

2.4.1 N-fixing Bacteria (NFB)

The N-fixing bacteria were isolated from roots of *S. amazonicum* from the municipality of Dom Eliseu, Pará state, Brazil, through the TY medium for *Rhizobium sp.* (Beringer, 1974) at 28º C / 72 hours. For the inoculation in field, the selected bacteria were grown into the respective medium of culture and resuspended in saline (NaCl 0.85%) until reaching the final concentration of approximately 10^{10} cells mL^{-1} for each strain. The seeds were submersed in the bacterial suspension, adding 0.1% of carboxymethylcellulose before the sowing. In the seedlings, there were inoculated 10 mL of the bacterial suspension in the soil around the plant.

2.4.2 Mycorrhizal Fungus (AM)

Spores of AM (*Glomus etunicatum* and *Acaulospora sp*) were isolated from the rhizosphere of *S. amazonicum* and multiplied in vases with *Brachiaria decumbens* as the host plant. In the field, 10 grams of the inoculum from the vases of multiplication containing spores, colonized roots and hyphae were inoculated in each hole, being the inoculum covered with a soil layer of 2 cm on which the seeds were planted. For the seedlings, the inoculation was done in the same way when sowing the seeds in the plastic bags.

2.4.3 Fertilizer

In combination with the inoculation of NFB and AM, there were assessed two doses of chemical fertilizer NPK (10: 20: 20) – D1: 75 g per plant; D2: 150 g per plant. The fertilizer was mixed with the soil previously to the sowing or the seedling plantation.

2.5 Assessments

2.5.1 Plant growth

On 180th, 280th, and 480th days, there were assessed the plant growth parameters such the diameter (the soil surface diameter – SSD) on the first months; the diameter at the breast height (DBH) after one year; the total height (TH); the height until the first leaf (HFL); and the number of leaves (NL). The data were analysed through the analysis of variance and the test of Tukey (HSD) at the level of probability of $p \leq 0.05$. The multivariate analysis of the main components (PCA) was carried between the treatments and measured parameters with the corresponding data of two years.

2.5.2 Estimate of biomass, wood production and Carbon stock

The data of the diameter (DBH) and the height until the first leaf (HFL) were used to calculate the biomass yield (BIO) in the shaft, commercial volume (produced wood) and Carbon sequestration. The biomass was calculated per individual based on the volume of the trunk according to Brow (1997) and multiplied by the correction factor suggested by Colpini et al. (2009) for *S. amazonicum*

$$BIO = (\pi\ (DBH/2) \times HFL) \times (0.7)$$

For the wood yield, there was considered the level of biomass multiplied by the wood specific mass of *S. amazonicum* determined by Matsubara (2003) and considered the number of individuals per hectare according to the spacing used on the experiment.

$$Wood\ (m^3\ ha^{-1}) = BIO \times (0.39) \times (Individual\ ha^{-1}).$$

The amount of Carbon was calculated using the following equation:

$$C = (V) \times (Wd) \times (Bf) \times (Cf)$$

Where V: volume in m^3; Wd: wood basic density of *S. amazonicum* in t/ m^3; Bf: correction factor of the biomass volume; Cf: factor for determining the Carbon in the dry matter (% of C in the dry matter determined by the method Yeomans & Bremner, 1988).

3 RESULTS

3.1 PLANT GROWTH

The analysis of variance carried with the growth data of *S. amazonicum* through the direct sowing method (Table 1) has shown the effect of inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi (AM) upon the development of the diameter on the 280th and 480th days, as well as the total height on the 280th day and biomass on the 480th day. Such differences were observed for the treatments without AM; according to the test of Tukey, *Glomus etunicatum* has shown better results regarding the diameter on the 480th day (Figure 1 A.a), and total height on the 280th day (Figure 2 A.a); *Acaulospora* sp. favoured more the development of the diameter on the 280th day (Figure 1 A.a). Regarding the biomass, both fungi have presented equal effect concerning the check (Figure 3 A.a). The N-fixing bacteria (NFB) have presented effect upon the diameter, total height and biomass on the 480th in seeds (Table 1). The differences observed between the inocula of NFB have shown better results for the check without NFB and the plants inoculated with *Rizobium* Rh1 (Figures 1 A.b, 2 A.b, 3 A.b). The effect of the addition of fertilizer on the development of the diameter and the biomass production of *S. amazonicum* was observed on the three periods of time analysed (Table 1). The effect of this factor upon the total height was only significant on the 180th and on the 280 days; no difference for the fertilizer doses was noticed; but, both have presented difference regarding the check for the mentioned variables (Figures 1 A.c, 2 A.c,3 A.c). The effect of the interaction of the analysed factors was just significant between the inoculum of NFB and the fertilizer for the stem diameter in the three periods of time and the biomass on the 480th day (Table 1).

In the seedling plantation method, there was observed the effect of the mycorrhiza inoculation upon the total height on the 280th day (Table 2); in this mean time, *Glomus etuniatum* presented significant differences regarding the check without AM (Figure 2 B.a). The inoculum of NFB has presented differences upon all parameters assessed on the 180th, 280th, and 480th days (Table 2). In the same way as in the direct sowing method, the significant differences according the test of Tukey were observed on plants without NFB and with inoculum of *Rizobium* Rh1 (Figures 1 B.b, 2 B.b, 3 B.b). The application of fertilizer in seedlings has stimulated the development of plant regarding their diameter, total height, and biomass on the three periods of times analysed (Table 2). The significant differences in diameter and total height were observed for both doses on the 180th and 280th; only the D1 has presented significant effect on the 480th regarding this variable (Figures 1 B.c, 2 B.c); with regard to the biomass, there was observed a better effect of D2 on 180th day and of D1 on the 480th day (Figure 3 B.c). The interaction between AM and NFB was significant for the diameter on the 180th; the inoculation of AM with the addition of fertilizer has also presented significant differences for the total height and biomass on the 480th day; the inoculation of NFB with the employment of fertilizer has presented statistically significant differences in the three periods of time and on the total height and biomass on the 180th and 280th days (Table 2).

The multivariate analysis of the main components (PCA) of the data sampled on the second years of age of the plants allowed the identification of the combinations of the three analysed factors (AM, NFB, and fertilizer), which were related with the development of the variables measured. In the direct sowing method, the treatments without AM (Figure 4 A) were distributed as follow: on the axis 1, representing 60.2% of the data, the treatments with D1 and D2 presented greater relation with the variables diameter (D), height until the first leaf (HFL), and biomass (Biomass). In this same axis, the treatments with Rh1 with D1 and D2 have presented greater relation with the total height (TH); the treatment with *Rhizobium* Rh2 and D1 has presented effect upon the NL. In the treatments with AM, with representativeness of 65% in the axis 1, *G. etunicatum* with D2 of fertilizer has presented greater relation with the variable HFL e biomass and at D1, there was presented greater relation with TH and D (Figure 4 B). With regard to the treatments with AM, the *Acaulospora sp*, on the axis 1, represented by 63.8% of the data, have presented greater relation with the variables HFL and biomass in the treatments without NFB and fertilizer (Figure 4 C); in the presence of the two doses of fertilizers, the *Acaulospora sp*. is more related with TH, whereas the diameter and NL presented greater relation with the treatment in which were inoculated the strains Rh1 and Rh2 with D1.

In seedlings, the treatment without AM have shown, in the axis 1 with 65.8% of representativeness, greater influence of the doses of fertilizers without the inoculum of NFB and of the treatments with *Burkholderia sp* and *Rhizobium Rh1* in D1 upon all the variable measured (Figure 5 A). In the analysis of the treatment with the inoculum of *G. etunicatum* (Figure5 B), the variables HFL and biomass have presented greater influence of the treatment with D1 on the axis 1 with 66.2% of the data. The treatment with *Rhizobium* Rh1 without fertilizer has also shown relation with TH and D. With regard of the treatments with *Acaulospora* sp. on the axis 1 with 58.9 % of the data, there was observed an effect of the treatments with the inoculum of fungus without NFB at the doses of fertilizers with the variables biomass, TH, D; other treatments which have presented effect on the variables were those with the inoculum of *Burkholderia* sp. and *Rhizobium* Rh1 with D1 (Figure 5 C).

3.2 Wood Yield and Carbon Sequestration

The estimate of the wood yield on the second year of age, carried regarding the parameters of DBH and height in the direct sowing, was higher in the treatment with two doses of fertilizers without the inoculum of AM and without bacteria, which presented a production between 20 and 25 t ha $^{-1}$ (Figure 6 A). With regard to the treatments with AM, the best results were obtained with *Acaulospora* sp*.* on both doses of fertilizer and without the inoculum of NFB, reaching values between 25 and 30 t ha $^{-1}$. The treatments with *G. etunicatum* has also presented good results under interaction with *Rhizobium* Rh1 with D1, presenting an estimate of 31 t ha $^{-1}$ of wood, what demonstrate the viability to increase the production of wood through *S. amazonicum* using the growth-promoting microorganisms when compared to the production of the check, which reached only 17 t ha $^{-1}$.

The determination of the amount of organic C presented in the wood of *S. amazonicum* has demonstrated that it presents among 52.2 and 60.2% of C per weight unit. Thus, the potential fixation of Carbon based on the wood production estimation would be favoured by the inoculation of *Acaulospora* sp. and the employment of fertilizer, presenting values between 9 and 12 t h $^{-1}$ on the second year of age. *G. etunicatum* under interaction with *Rhizobium* Rh1 has promoted also the fixation around 12 t ha $^{-1}$(Figure 6 B).

With regard to the seedlings, the wood production has presented important values – between 19.6 and 20.1 t ha^{-1} – in the treatments without AM and with D1, with the strain Rh1 without fertilizer (Figure 7 A). *Acaulospora* sp. has presented important results for the treatments with D2 of fertilizer without NFB and with *Rhizobium* Rh1 shown by the production estimates (20 t ha^{-1}). The treatments with *G. etunicatum* have presented good results – between 14 and 19 t ha^{-1} – in interaction with *Rhizobium* Rh1.

The Carbon sequestration estimate for the plantation of seedlings ranged between 9 and 12.2 t ha^{-1} for the best treatments with the inoculum of *Acaulospora sp.* in interaction with Rh1 and Rh2 with D2. The effect of *G. etunicatum* increased the wood production and the C sequestration with D1 and D2 without NFB, presenting values between 8 and 11 t ha^{-1} on the second year of age (Figure 7 B).

4 DISCUSSION

Fast-growth species such as *S. amazonicum* present high rate of nutrient absorption per plant and high increase in the absorption rate in response to the increase of external concentrations of nutrients, when compared with slow-growth species (CHAPIN, 2000). This fact may be related to the positive response of *S. amazonicum* to the addition of fertilizers. Viégas et al. (2007), in studies regarding the NPK fertilizing effect on young plants of *S. amazonicum* under field conditions, observed that the triple superphosphate addition stimulated the development of the plants of *paricá* with regard to their diameter, height, and the volume of the wood produced. Doses between 255 and 272 g of phosphate per plant were suggested as optimum for such species in the cropping areas.

The combined effect of rhizobium and AM has promoted the growth of many leguminous species. However, the biochemical and physiological mechanisms by which the interactions of AM fungi-Rhizobium could promote the productivity of this group of plants has been considerably discussed. It is believed that the main effect of the mycorrhizae on the increase of the effectiveness rate of *Rhizobium* is mediated by the general stimulation in the nutrition of the host plant, and may present other localized effects on the roots such variation of their morphology (BAREA et al., 2002). In the present experiment, the interaction between the strains of *Rhizobium* Rh1 with *G. etunicatum* and *Acaulospora sp*. has stimulated the growth of *S. amazonicum* on both cropping methods. Considering that *S. amazonicum* is a non-nodulus leguminous, it is possible to assume that the *Rhizobium* has been acting as growth-promoting bacteria (PGPR) (VALDENEGRO et al., 2001). The rhizobium's availability to act as endophyte PGPR in non-N-fixing plants has been confirmed by several studies (Spencer et al., 1994). However, the mechanisms by which the strains of *Rhizobium* stimulate the growth of the plants are still unknown, as well as the mechanisms of infection, location and environment where the microsymbionts develop (HOSSAIN; MARTENSSON, 2008). In many endophyte interactions between plants and growth-promoting plants where is not formed specialized structures such nodules, some microorganisms from the soil – such the AM – act like vectors to reach the host intercellular spaces (VESSEY, 2003).

It is known that the symbiotic association between plants and AM fungi is highly influenced by the availability of phosphate where high concentrations of P can inhibit the colonization of the roots by AM (NOGUEIRA; CARDOSO 2007; SCHROEDER; JANOS, 2004; ZANGARO et al., 2003). The inoculation with AM in *S. amazonicum* was apparently influenced by the addition of fertilizer. When analysed the effect of *G. etunicatum* and *Acaulospora sp,* they presented better results upon the development of the diameter, total height, and biomass on the treatments without fertilizer or treatments with lower dose for both cropping methods. The effect of the inoculation of AM was observed after 280 days when the influence of the fertilizer addition could have decreased. In experiments carried by Siviero et al. (2008) with AM and NFB without the addition of chemical fertilizers, the inoculation effect with AM on the growth of *S amazonicum* was more evident. The influence of the addition of mineral P on the mycorrhizal colonization was also observed by Patreze & Cordeiro, (2004) on both arboreal leguminous species – *Anadenanthera colubrina* and *Mimosa bimucronata* – which shown a decrease in the colonization and on the effect of AM. Still, the combination between the inoculation of NFB with AM and the employment of fertilizers may be considered efficient. Taking into account that doses of phosphate fertilizers (255 and 272 g per plant) – established as optimum by Viegas et al. (2007) for *S. amazonicum,* the highest used in the present work (D1: 15g P D2: 30g P plant $^{-1}$) – suggest a favourable synergic action between the fertilization and the inoculation of NFB and AM, since the values of the diameter, height and wood yield achieved by *S. amazoniucum* in this experiment on the 480th day in some treatments – on both cropping methods – were superior or equal to those reported by Viegas et al. (2007).

As previously mentioned, the *S. amazonicum* presents rapid growth reaching a volumetric production up to 13 t ha^{-1} year^{-1} on the age of six years in Dom Eliseu, Para state, Brazil (CARVALHO, 2007). The production was stimulated with the inoculation of microorganisms and reached 15.5 t ha^{-1} year^{-1} on the second year of age in the best treatment, what could be considered a good result for the yield incrementation. The amount of C increases as the wood production increases, therefore C could be stocked in *paricá* plantations. The Carbon stock estimated for the best treatments is around 5 t ha^{-1} year^{-1}, not much different from the values estimated by Sousa (2008) for *Eucalyptus sp.* on the age of 7 years (7.1 t ha^{-1} year^{-1}).

Thus, the inoculation of growth-promoting organisms in agricultural and agroforestry systems to increase the yield must be carefully studied to understand more about the ecological complexity of the interactions between the microorganisms and the plants as well as the factors that could influence their performance under field conditions such species nutritional requirements, since the establishment of the symbiosis or the association between plants and microorganisms occurs in response to the plant nutritional demand (SANGINGA et al., 1989); Furthermore, it is also important to considered the inoculation methods and the origin of the inoculum among others factors (KHAN, 2006).

Briefly, the inoculation combined of AM and NFB isolated from the root of *S. amazonicum* with addition of the fertilizers has presented good results in the growth promotion of such species, allowing the identification of better combinations between the three factors assessed in the experiment, which could increase the yield of the cropping system of this species. The results of this experiments regarding the interrelation between AM and the N-fixing bacteria – more specifically the genus *Rhizobium* as PGPR – and the doses of fertilizer encourage researches to identify the mechanisms by which the growth-promotion occurs in this and other non-nodulated species of economical importance, aiming at the generation of new alternatives for the agricultural and forestry sectors.

REFERENCES

ALBINO, U., RAIMAM, M.P., CRUZ M.F., LOVATO, G.M., SPAGO, F., FERRACIN, T.P., LIMA, D.S., GOULART, T., BERNARDI, C.M., MIYAUCHI, M., NOGUEIRA, M.A., ANDRADE, G., 2007. Interaction among free-living N-fixing bacteria isolated from *Droseravillosa var. villosa* and AM fungi (*Glomus clarum*) in rice (*Ory zasativa*). **Agric., Ecosyst. Environ., Appl. Soil Ecol**,. 35, 25-34.

ANDRADE, G. 2004. Role of functional groups of microorganisms on the rhizosphere microcosm dynamics, in: VARMA, A., ABBOTT, L.; WERNE, D.; HAMPP, R. (Ed.). **Plant Surface Microbiology,** Springer-Verlag., New York, p. 51-68.

BAREA, J.M., AZCON, R., AZCON-AGUILAR, C. Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. **Antonie Van Leeuwenhoek**,. 81, 2002, 343-351.

BERINGER, J.E.R., 1974. Factor transfer in *Rhizobium leguminosarum*. **J Gen Microbiol.** 84, 188-198.

BHOWMIK, S.N., SINGH, C.S., 2004. Mass multiplication of AM inoculums, effect of plant growth-promoting rhizobacteria and yeast in rapid culturing of *Glomus mosseae*. **Curr Sci.** 86, 705-709.

BIRÓ, B., KÖVES-PÉCHY, K., VÖRÖS, I., TAKÁCS, T., Eggenberge, P., Strasser, R.J., 2000. Interrelations between *Azospirillum* and *Rhizobium* nitrogen-fixers and arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of alfalfa in sterile, AMF-free or normal soil conditions. Agric., Ecosyst. Environ., **Appl. Soil Ecol**. 15, 159-168.

BROW, S., 1997. **Estimation biomass and biomass change of tropical forest, a primary. forestry paper** No 134. FAO, Roma.

CARVALHO, C.J., 2005. Respostas de plantas de *Schizolobium amazonicum* (*S. parahyba* var. amazonicum) e *Schizolobium parahyba (Schizolobium parahybum)* a deficiência hídrica. **Rev. Árvore**. 29, 907-914.

CARVALHO, R.P.E., 2007. Paricá *Schizolobium amazonicum*, **Embrapa. Circular Técnica** 142.. Embrapa Florestas, Colombo.

CASTRO, C.I.M., LAMEIRA, A.O., LOPES, DA C.S., RIOS, S.M., 2002. Germinação in vitro de paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber). Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento. 27, 58-61.

CHAPIN, F.S., 2000. The mineral nutrition of wild plants. Revisited: A re-evaluation of processes and patterns. **Adv. Ecol. Res**. 30, 1-67.

COLPINI, C., TRAVAGIN, D.P., SOARES, T.S., SILVA, V.S.M., 2009. Determinação do volume, do fator de forma e da porcentagem de casca de árvores individuais em uma floresta ombrófila aberta na região noroeste de Mato Grosso. **Acta amazônica**. 39, 97-104.

GIRI, B., GIANG, P.H., KUMARI, R., PRASAD, R., VARMA, A., 2005. Microorganisms in soils: roles in genesis and functions. In: BUSCOTAND, F., VARMA, A. (Ed.), **Soil Biology**. Springer-Verlag., New York, pp 19-43.

HOSSAIN, M.D.S., MARTENSSON, A., 2008. Potential use of *Rhizobium spp*. to improve fitness of non-nitrogen-fixing plants. **Acta Agric. Scand. A Anim. Sci.**, 58, 352-358.

KHAN, A.G., 2006. Mycorrhizoremediation an enhanced form of phytoremediation. **J Zhejiang Univ Sci B**., 7, 503-514.

LIMA, S.F., CUNHA, R.L., CARVALHO, J.G., SOUZA, C.A.S., CORRÊAS, F.L.O., 2003. Comportamento do paricá (*Schizolobium amazonicum Herb*.) submetido à aplicação de doses de boro. **Cerne,** Lavras, 9, 192-204.

MAFIA, R.G., ALFENAS, A.C., ANDRADE, G., ZAUZA, E., PFENNING, L.H., JOILSON, R., 2003. Tombamento de Mudas Causado por *Fusarium solani*: uma nova doença do paricá no Brasil. **Fitopatol. Brás**, 28, 450-452.

MARQUES, L.T.C., CARVALHO, J., LACERDA, C.M., FERREIRA, P.E., 2004. Exigências nutricionais do paricá (*Schizolobium amazonicum,Herb*.) na fase de muda. **Cerne,** Lavras, 10, 167-183.

MATSUBARA, R. K., 2003. **Caracterização dendrológica e física de cinco espécies arbóreas de ocorrência no estado de Mato Grosso**. Dissertação (Especialização em Produtos Florestais) _ Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Mato Grosso. Cuiabá, 85 p.

MOLINA, M., MAHECHA, L., MEDINA, M., 2005. Importancia del manejo de hongos micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas silvopastoriles. **Revista Colombiana Ciencias Pecuarias,**18, 162-175.

NOGUEIRA, M.A., CARDOSO, E.J.B.N., 2007. Phosphorus availability changes the internal and external endomycorrhizal colonization and affects symbiotic effectiveness. **Scientia Agricola**, 64, 295-300.

PATREZE, M.C., CORDEIRO, L., 2004. Nitrogen-fixing and vesicular arbuscular mycorrhizal symbioses in some tropical legume trees of tribe Mimoseae. **For Ecol Manage,**196, 275-285.

RONDON, E.V., 2002. Produção de biomassa e crescimento de árvores de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke sob diferentes espaçamentos na região de mata. **Revista Árvore,** 26, 573-576.

SANGINGA, N., MULONGOY, K., AYANABA, A., 1989 Effectivity of indigenous rhizobia for nodulations and early nitrogen fixation with *Leucaena leucocephala* grown in Nigerian soils. **Siol Biol Biochem**, 21, 231-35.

SCHROEDER, M.S., JANOS, D.P., 2004. Phosphorus and intraspecific density alter plant responses to arbuscular mycorrhizas. **Plant Soil,** 264, 335–348.

SEPOF., 2007. Secretaria de estado de planejamento, orçamento e finanças. estatística municipal. Dom Eliseu, Governo do Estado do Pará.Disponível em: <http://www.sepof.pa.gov.br/.>

SIVIERO, M.A., MAREGA, A., LIMA DOS SANTOS, D., ROSSELLI, B.R., HUH, Y.S., SANTINONI, I., MURATE, S.L., CASTRO ,C., HORTA, M.M., ZANGARO, W., NOGUEIRA, M.A., ANDRADE, G., 2008. Interaction among N-fixing bacteria and AM fungi in amazonian legume tree (*Schizolobium amazonicum*) in field conditions. **Agric., Ecosyst. Environ., Appl. Soil Ecol,** 39, 144-152.

SOUSA, J.T., 2008. **Balaço da emissão de carbono em uma unidade de carvoejamento no município de Seropédica, RJ**. Dissertação _ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Instituto de Florestas. 60 p.

SPENCER, D., JAMES, E.K., ELLIS, G.J., SHAW, J.E., SPRENT, J.I., 1994. Interaction Between rhizobia and potato tissues. **J Exp Bot**., 45, 1475-1482.

TONINI, H., PEREIRA, N.M.R., ARCO-VERDE, F.M., MOURÃO, de O.M., 2005. Seleção de equações para o paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke), no Estado de Roraima. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, n. 4. Embrapa, Roraima.

VALDENEGRO, M., BAREA, J.M., AZCÓN, R., 2001. Influence of arbuscular-mycorrhizal fungi, Rhizobium meliloti strains and PGPR inoculation on thegrowth of *Medicago arborea* used as model Legume for revegetation and biological reactivation in a semiarid Mediterranean area. **Plant Growth Regul**. 34, 233 -240.

VESSEY, J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant Soil.**, 255, 571–586.

VIÉGAS, M.I., AZEVEDO, R.E.J., ALVEZ, T.M.A., SATO, T., 2007. Efeito da adubação NPK em plantas jovens de paricá (*Schizolobium amazonicum*, Huber Ducke). **Embrapa. Comunicado Técnico**, n. 193, Belém.

YEOMANS, J.C., BREMNER, J.M.A, 1988. Rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. **Commun Soil Sci Plant Anal**., 19, 1467-1476.

ZANGARO, W.; NISIZAKI, S.M.A.; DOMINGOS, J.C.B.; NAKANO, E.M., 2003. Mycorrhizal response and sucessional status in 80 woody species from south **Brazil. J. Trop. Ecol.,** 19, 315-324.

ZANUNCIO, J.C., PEREIRA, F.F., ZANUNCIO, V.T., MARTINELLI, N.M., PINON, M.T.B., GUIMARÃES, M.E., 2004. Ocorrência de *Quesada gigas* em *Schizolobium amazonicum* em municípios do Maranhão e do Pará. **Pesq. agropec. bras**. 39,943-945.

Table 1 – Analyses of variance for growth parameters of *Sizolobium amazoicum* Huber ex Ducke at 180th, 280 th and 480 th days after of seeds sowing. AM: arbuscular micorrizal fungi inoculum; NFB: N-fixing bacteria inoculum; Fert: fertilizer formulations. *Show significantly different according Anova ($p < 0.05$).

ANOVA (*p* values)	Shoot Diameter			Total Height of Plant			Biomass		
	180 days	280 days	480 days	180 days	280 days	480 days	180 days	280 days	480 days
AM	0.167	0.016*	0.046	0.072	0.030*	0.514	0.718	0.118	0.030*
NFB	0.167	0.240	0.000*	0.371	0.873	0.001*	0.734	0.434	0.000*
Fert.	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.001*	0.843	0.000*	0.000*	0.000*
AM*NFB	0.211	0.405	0.396	0.641	0.897	0.628	0.469	0.315	0.474
AM*Fert.	0.167	0.493	0.745	0.211	0.324	0.993	0.069	0.326	1.000
NFB*Fer.	0.032*	0.019*	0.015*	0.303	0.192	0.513	0.057	0.021*	0.092
AM*NFB*Fert.	0.569	0.919	0.360	0.914	0.921	0.861	0.430	0.637	0.400

Table 2 – Analyses of variance for growth parameters of *Sizolobium amazoicum* Huber ex Ducke at 180, 280 and 480 days after of seedling planting. p< 0.05. AM: arbuscular micorrizal fungi inoculum; NFB: N-fixing bacteria inoculum; Fert: fertilizer formulations. *Show significantly different according Anova (p< 0.05).

ANOVA (*p* values)	Shoot Diameter			Total Height of Plant			Biomass		
	180 days	280 days	480 days	180 days	280 days	480 days	180 days	280 days	480 days
AM	0.856	0.890	0,424	0.384	0.027*	0,225	0.246	0.799	0,368
NFB	0.000*	0.000*	0,000*	0.000*	0.000*	0,035*	0.000*	0.000*	0,000*
Fert.	0.000*	0.000*	0,009*	0.000*	0.000*	0,001*	0.000*	0.001*	0,037*
AM*NFB	0.030*	0.456	0,066	0.222	0.383	0,114	0.101	0.641	0,055
AM*Fert.	0.128	0.153	0,044*	0.112	0.139	0,012*	0.542	0.151	0,015*
NFB*Fer.	0.000*	0.001*	0,029*	0.020*	0.000*	0,684	0.031*	0.004*	0,061
AM*NFB*Fert	0.606	0.489	0.095	0.975	0.580	0,066	0.881	0.694	0,259

Figure 1.

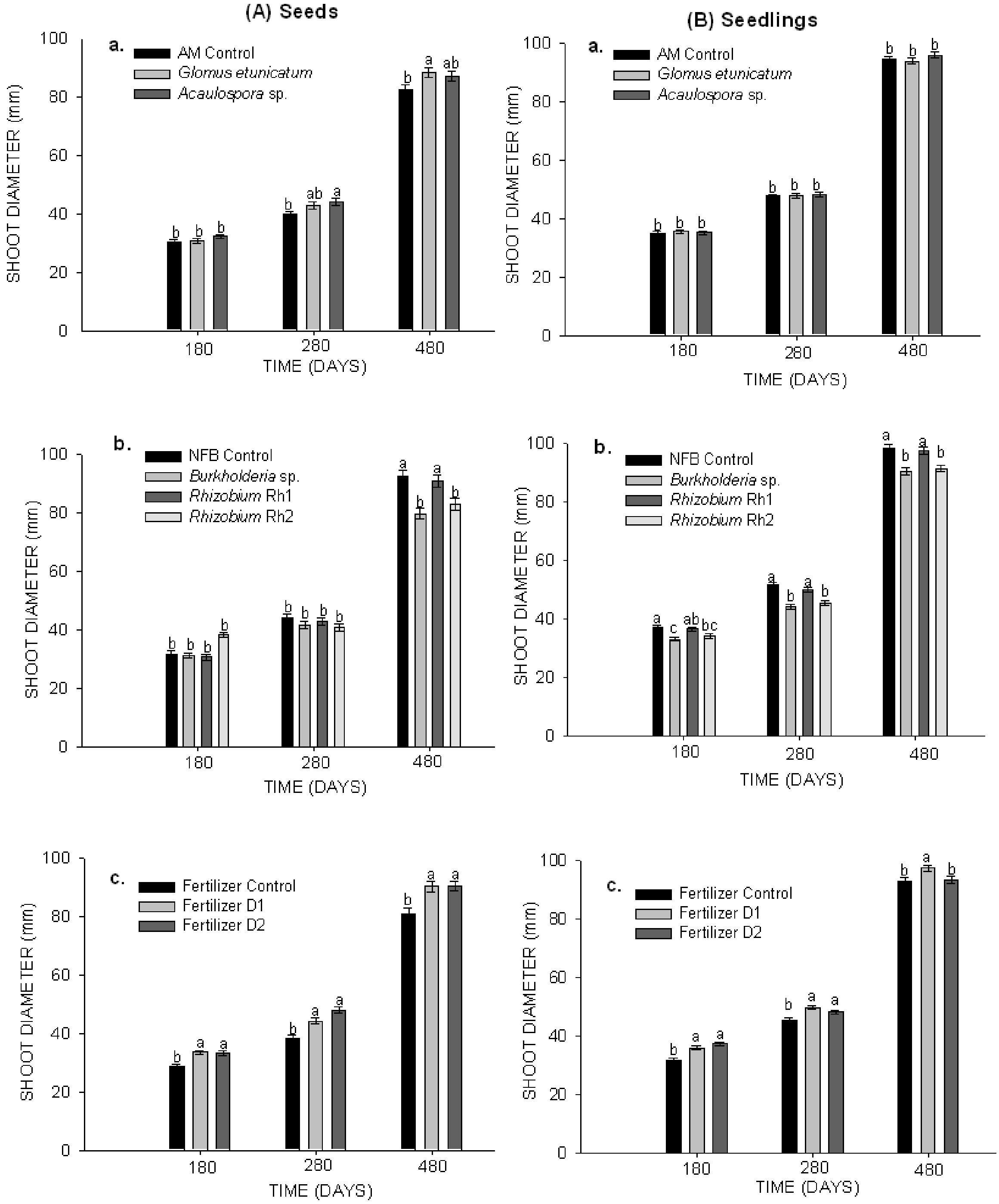


Figure 1 – Effect on shoot diameter of *Schizolobium amazonicum* after 180th, 280th and 480th days of seeds sowing (A) and seedling planting (B). (a) Arbuscular mycorrhiza fungi (AM) *G. etunicatum* and *Acaulospora* sp.; (b) N-free living bacteria strains (NFB) *Burkholderia* sp., *Rhizobium* Rh1, and *Rhizobium* Rh2; (c) two formulations of fertilizer NPK (D1: 75g plant^{-1} and D2: 150g plant^{-1}). Bars sharing the same letter are not significantly the according to Tukey test ($p < 0.05$).

Figure 2.

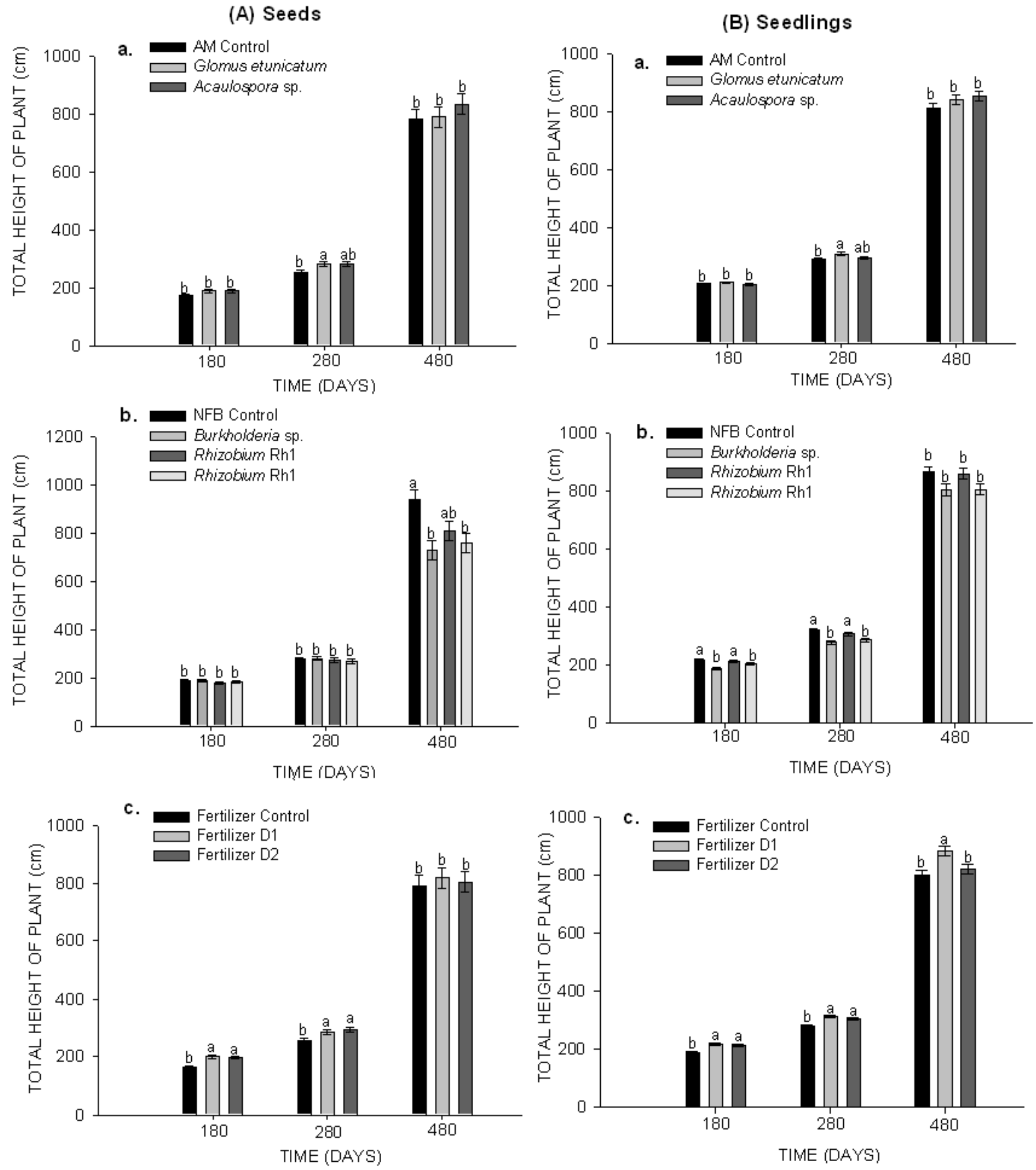


Figure 2 – Effect on total height of *Schizolobium amazonicum* after 180th, 280th and 480th days of seeds sowing (A) and seedling planting (B). (a.) Arbuscular mycorrhiza fungi (AM) *G. etunicatum* and *Acaulospora* sp.; (b.) N-free living bacteria strains (NFB) *Burkholderia* sp., *Rhizobium* Rh1, and *Rhizobium* Rh2; (c.) two formulations of fertilizer NPK (D1: 75g plant^{-1} and D2: 150g plant^{-1}). Bars sharing the same letter are not significantly the according to Tukey test ($p < 0.05$).

Figure 3.

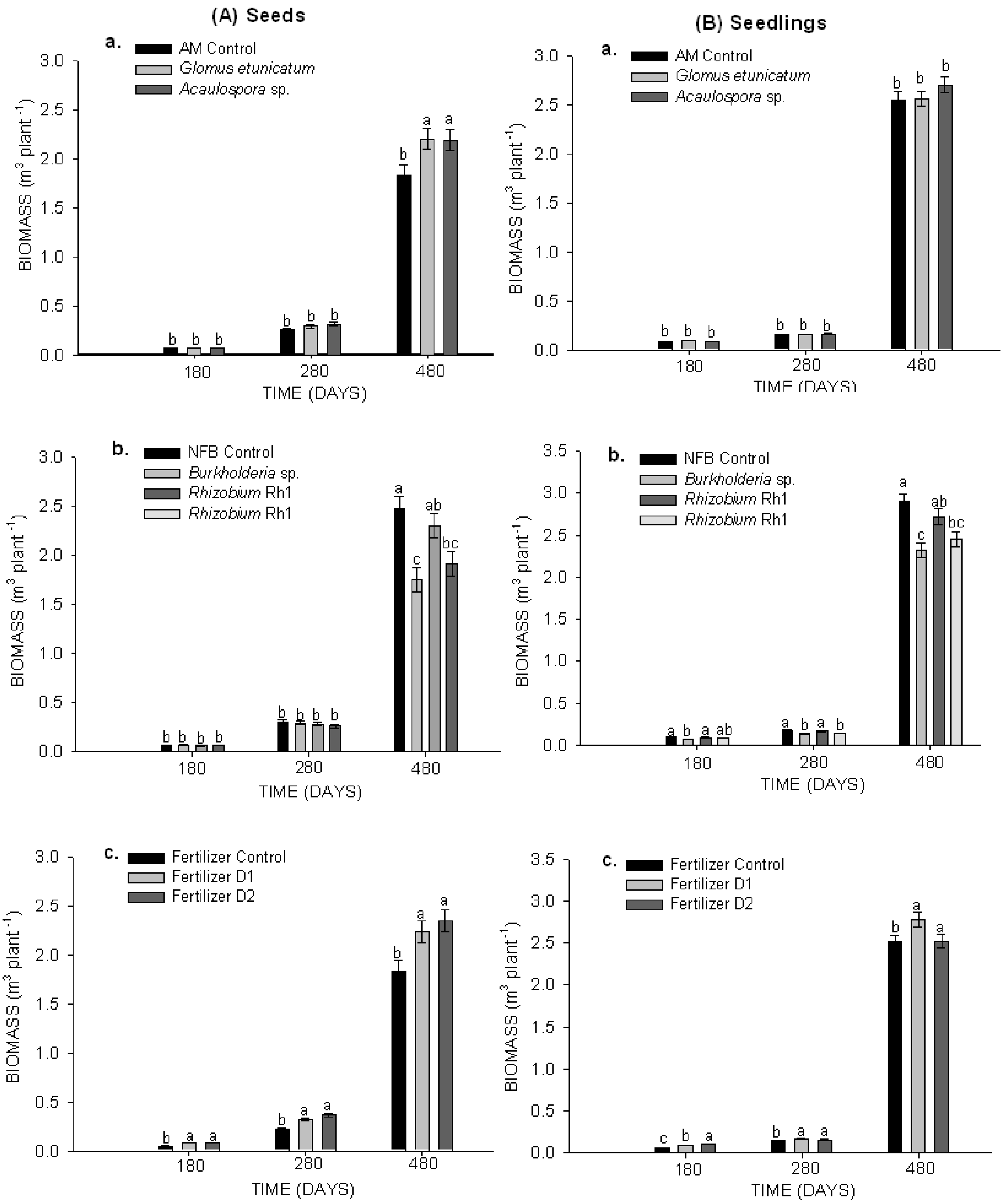


Figure 3 – Effect on biomass production of *Schizolobium amazonicum* after 180^{th}, 280^{th} and 480^{th} days of seeds sowing (A) and seedling planting (B). (a.) Arbuscular mycorrhiza fungi (AM) *G. etunicatum* and *Acaulospora* sp.; (b.) N-free living bacteria strains (NFB) *Burkholderia* sp., *Rhizobium* Rh1, and *Rhizobium* Rh2; (c.) two formulations of fertilizer NPK (D1: 75g plant^{-1} and D2: 150g plant^{-1}). Bars sharing the same letter are not significantly the according to Tukey test ($p < 0.05$).

Figure 4.

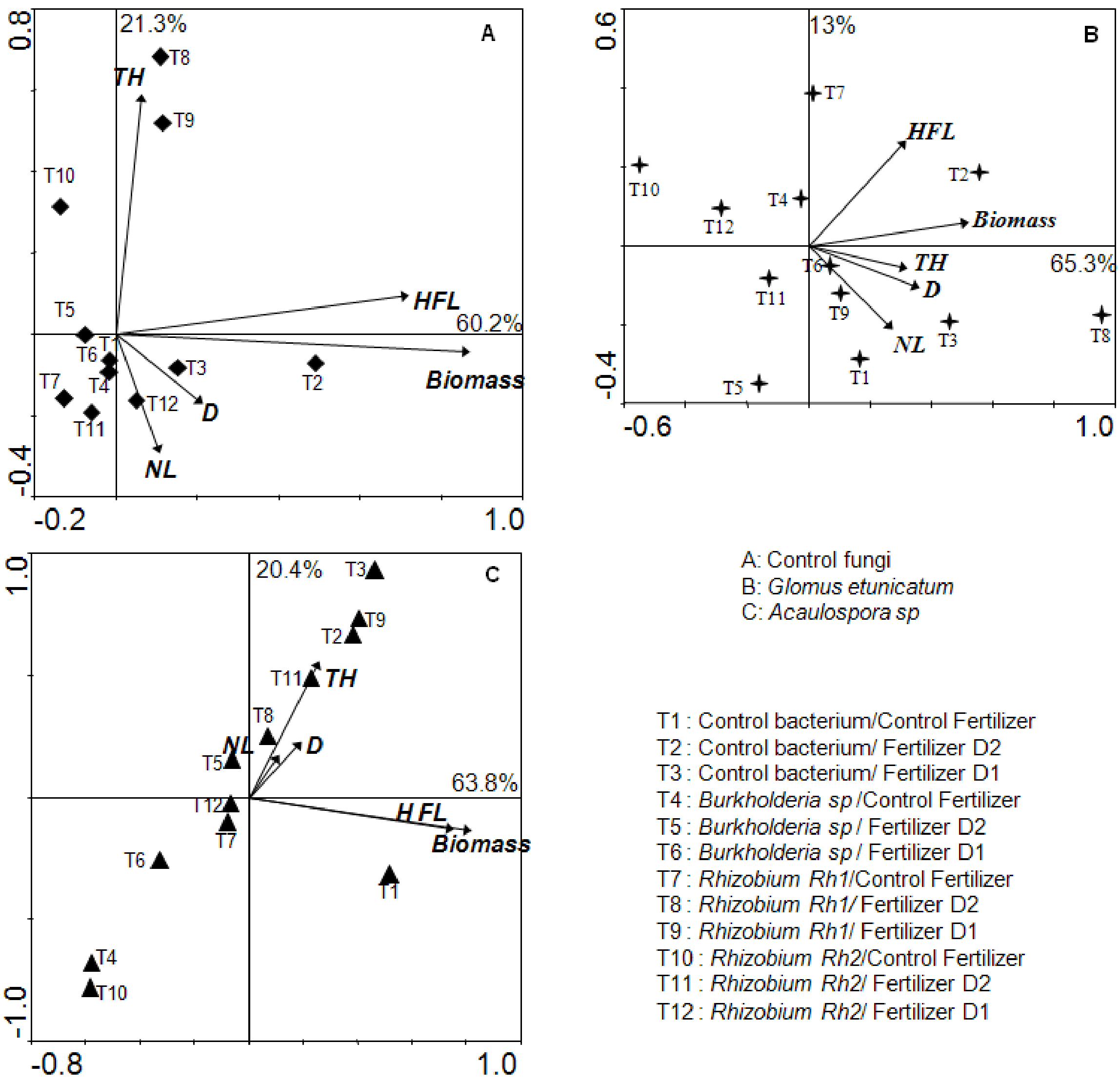
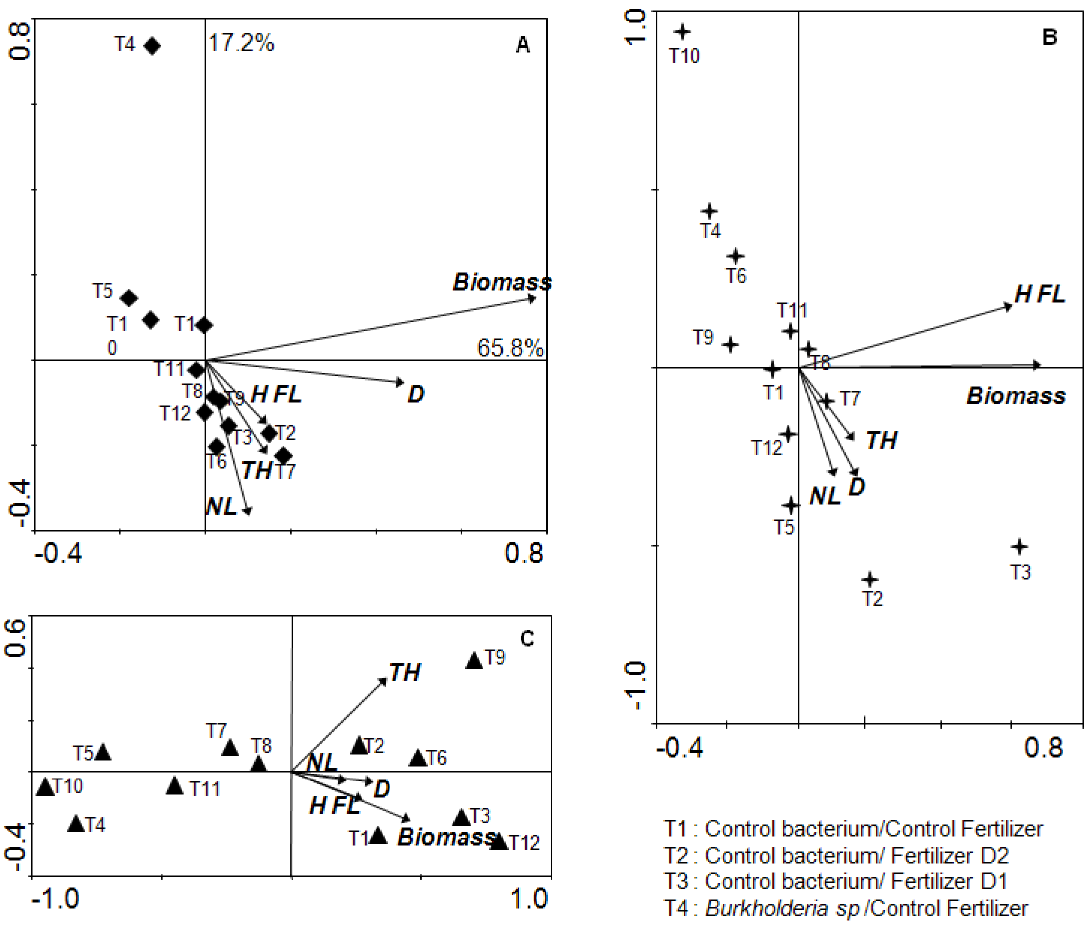


Figure 4 – Principal components analysis (PCA) among AM fungi (*Glomus etunicatum* and *Acaulospora sp.*) and free living N-fixing bacteria (*Burkholderia sp, Rhizobium Rh1* and *Rh2)* on the shoot diameter (D), total height (TH), height at the first leave (HFL), number of leaves (NL) and biomass (Biomass) 2 years after seeds sowing.

Figure 5.



A: Control fungi
B: *Glomus etunicatum*
C: *Acaulospora sp*

T1 : Control bacterium/Control Fertilizer
T2 : Control bacterium/ Fertilizer D2
T3 : Control bacterium/ Fertilizer D1
T4 : *Burkholderia sp* /Control Fertilizer
T5 : *Burkholderia sp* / Fertilizer D2
T6 : *Burkholderia sp* / Fertilizer D1
T7 : *Rhizobium Rh1*/Control Fertilizer
T8 : *Rhizobium Rh1*/ Fertilizer D2
T9 : *Rhizobium Rh1*/ Fertilizer D1
T10 : *Rhizobium Rh2*/Control Fertilizer
T11 : *Rhizobium Rh2*/ Fertilizer D2
T12 : *Rhizobium Rh2*/ Fertilizer D1

Figure 5 – Principal components analysis (PCA) among AM fungi (*Glomus etunicatum* e *Acaulospora sp.*) and free living N-fixing bacteria (*Burkholderia sp, Rhizobium Rh1* and *Rh2)* on the shoot diameter (D), total height (TH), height at the first leave (HFL), number of leaves (NL) and biomass (Biomass) 2 years after seedling planting.

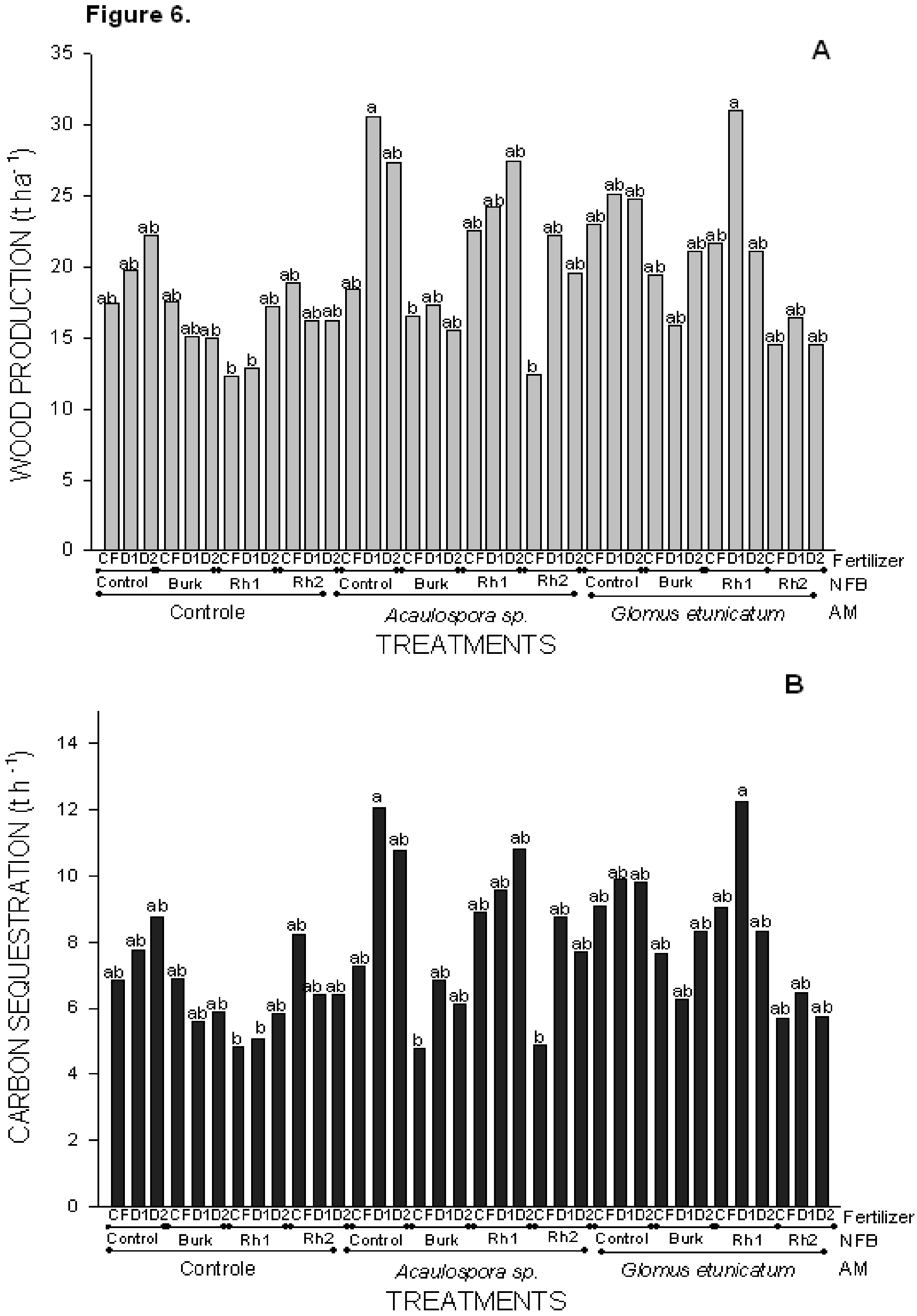


Figure 6 – Effect of AM fungi (*Glomus etunicatum* e *Acaulospora sp.*) and free living N-fixing bacteria (*Burkholderia sp, Rhizobium Rh1* and *Rh2)* on woody production (A) and carbon sequestration (B) at 2 years after seeds showing. Bars sharing the same letter are not significantly according to Tukey test ($p < 0.05$).

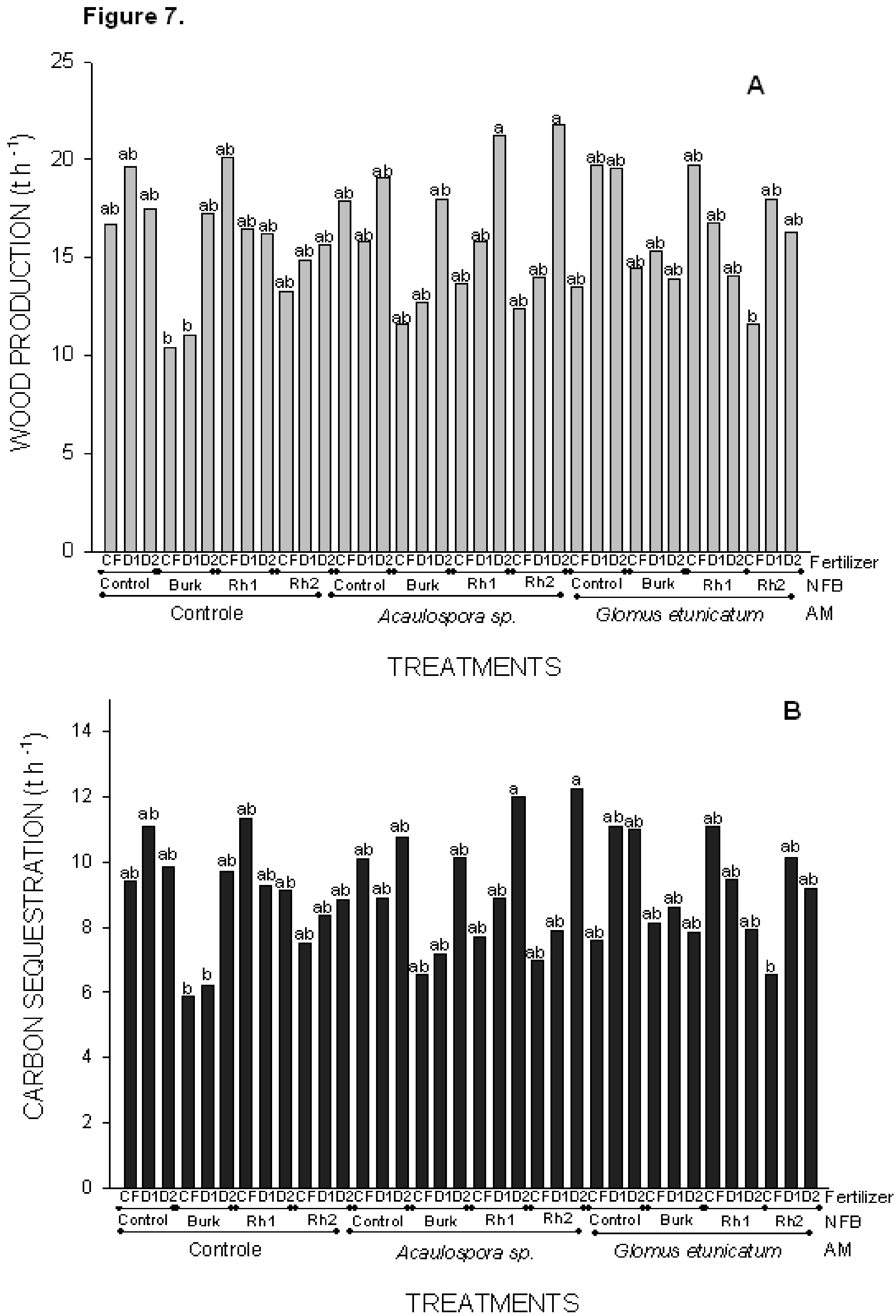


Figure 7 – Effect of AM fungi (*Glomus etunicatum* e *Acaulospora sp.*) and free living N-fixing bacteria (*Burkholderia sp, Rhizobium Rh1* and *Rh2)* on woody production (A) and carbon sequestration (B) at 2 years after seedling plantation. Bars sharing the same letter are not significantly according to Tukey test ($p < 0.05$)