



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

PRISCILA JANE ROMANO DE OLIVEIRA GONÇALVES

**DESENVOLVIMENTO DE INOCULANTE MICROBIANO
PROMOTOR DE CRESCIMENTO DE *Schizolobium
parahyba* (Vell.) Blake**

PRISCILA JANE ROMANO DE OLIVEIRA GONÇALVES

**DESENVOLVIMENTO DE INOCULANTE MICROBIANO
PROMOTOR DE CRESCIMENTO DE *Schizolobium
parahyba* (Vell.) Blake**

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

Orientador: Prof. Dr. Galdino Andrade

Londrina
2012

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

G635d Gonçalves, Priscila Jane Romano de Oliveira.

Desenvolvimento de inoculante microbiano promotor de crescimento de
Schizolobium parahyba (Vell.) Blake / Priscila Jane Romano de Oliveira
Gonçalves. – Londrina, 2012.

42 f. : il.

Orientador: Galdino Andrade Filho.

Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de
Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, 2012.

Inclui bibliografia.

1. Microbiologia agrícola – Teses. 2. Microorganismos do solo – Teses. 3. Fungos
micorrízicos – Teses. 4. Micorriza vesículo-arbuscular – Teses. 5. Reflorestamento – Paraná –
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

PRISCILA JANE ROMANO DE OLIVEIRA GONÇALVES

**DESENVOLVIMENTO DE INOCULANTE MICROBIANO PROMOTOR
DE CRESCIMENTO DE *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake**

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

BANCAS EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Galdino Andrade
UEL – Londrina – PR

Prof. Dr. Alex Carneiro Leal
IAPAR – Londrina - PR

Prof. Dr. Gerson Nakazato
UEL – Londrina - PR

Londrina, 07 de março de 2012.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus por iluminar meu caminho concedendo ricas oportunidades para o meu crescimento intelectual e por sempre me ajudar a prosseguir dando-me capacidade e forças em todos os momentos.

A minha querida família por sempre acreditar em mim, pelo apoio incondicional, pelas orações e pelo amor a mim devotado, em especial a minha mãe Jeanete que tanto lutou para me dar o melhor em prol deste sonho. Ao meu pai Osni, meu irmão Jonathan, minha preciosa vó Zira, meus tios e primos por vibrar comigo a cada conquista.

Ao meu namorado Leandro por todo amor, atenção, companheirismo em toda essa caminhada, pelas palavras motivadoras nas horas difíceis e pela ajuda na execução de algumas das etapas deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Galdino Andrade pela oportunidade de fazer parte de sua equipe orientando-me durante o mestrado e pelos conhecimentos adquiridos com as experiências alcançadas neste projeto.

Ao Dr. Alex Carneiro Leal pela seriedade e apoio durante este trabalho, preocupando-se com a instalação e toda a condução do experimento.

Aos colegas do Laboratório de Ecologia Microbiana que ajudaram não apenas na execução, mas também deram dicas valiosas a respeito deste experimento: Vanessa, Nathaly, Vivi, Júnior, Flávia, Marta, Eik e Lucilene.

A todos, o meu Muito Obrigada!!!

*“Os sonhos são apenas para
tornar-se realidade”.*

W. Disney

GONÇALVES, Priscila Jane Romano de Oliveira. **Desenvolvimento de inoculante microbiano promotor de crescimento de *Schizolobium parahyba* (vell.) Blake.** 2012. 42 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

RESUMO

No contexto do desmatamento ocorrido ao longo dos anos no Estado do Paraná com a perda drástica da cobertura vegetal nativa e a crescente demanda por projetos de recuperação da mata ciliar, o estudo do *Schizolobium parahyba* (guapuruvú) para avaliar o seu potencial como fonte de madeira e de cobertura vegetal incrementar seu uso por ser uma espécie arbórea nativa da mata atlântica de rápido crescimento. O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de inoculantes microbianos que promovam o crescimento do guapuruvú em substituição ao adubo químico. Como inoculantes foram utilizados 10 g de inóculo bruto do fungo micorrízico arbuscular (FMA) *Glomus clarum* e como fixador de N, 1 mL de suspensão de 10^7 UFC de uma cepa de *Rhizobium* sp. No controle positivo foi aplicado 100 g por cova de adubo químico formulado NPK 20-5-20. O experimento foi conduzido em condição de campo, na estação experimental do IAPAR no município de Xambê, PR. O delineamento experimental foi de blocos completos casualizados com cinco repetições e oito tratamentos (n = 800). A altura das plantas foi avaliada aos 30, 60, 120 180 e 240 dias. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Aos 30 dias as plantas não inoculadas com fungo MA apresentaram um maior crescimento quando comparadas com as inoculadas. O rizóbio e a micorriza não apresentaram efeito no crescimento das plantas. A alta concentração de P presente no solo pode ter influenciado negativamente o estabelecimento da simbiose com o FMA. Aos 60, 120, 180 e 240 dias, o guapuruvú respondeu significativamente ao tratamento com adubo em comparação com as plantas inoculadas. A sobrevivência foi maior no tratamento com adubo. Estes resultados demonstram que nos estádios iniciais a inoculação com microrganismos mostra-se pouco eficiente principalmente em plantas arbóreas nativas do grupo sucessional das pioneiras que apresentam uma alta taxa de crescimento como é o caso do guapuruvú quando cultivada em área de pastagem com *Brachiaria decumbens*.

Palavras-chave: Micorriza arbuscular. *Rhizobium*. *Schizolobium*. *Glomus*. Inoculante microbiano.

GONÇALVES, Priscila Jane Romano de Oliveira. **Development of microbial inoculant growth promoter of *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake**. 2012. 42 f. Dissertação (Master's degree in Microbiology) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

ABSTRACT

In the context of deforestation occurred in the last decades in the Paraná state, where occurred a drastic loss of native vegetation, and now increasing demand a project of restoration of riparian forest. *Schizolobium parahyba* (guapuruvu) has a potential to be used as a source of wood and revegetation program. *S. parahyba* is a native tree from Atlantic forest, that grow fast. The aim of this research was to develop microbial inoculants that promote the growth of guapuruvu replacing a chemical fertilizer. The plants were inoculated with 10 g of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) *Glomus clarum* and 1 mL of cell suspension (10^7 CFU/mL) of *Rhizobium* sp. and was considered as positive control 100 g of chemical fertilizer formula NPK 20-05-20 per plant. The experiment was carried out in field conditions, at the experimental station of IAPAR in municipality of Xambre, PR, Brazil. The experimental design was randomized complete blocks with five replications and eight treatments (n = 800). Plant height was measured at 30, 60, 120 180 and 240 days after planted. The results were analyzed by ANOVA and the Tukey test (p <0.05). At 30 days the plants not inoculated with AM fungi showed a higher growth when compared with inoculated. The rhizobia and mycorrhiza showed no effect on plant growth. The high concentration of P in soil may have negatively influenced the establishment of symbiosis with AMF. At 60, 120, 180 and 240 days, the fertilizer treatment increased plant growth when compared with inoculated plants. Survival was highest in the fertilizer treatment. These results demonstrated that in the early stages of growth, inoculation with microorganisms appeared to be not efficient especially in native woody plants of the successional group of pioneers that have a high rate of growth like the guapuruvu when cultivated in pasture area with *Brachiaria decumbens*.

Keywords: Arbuscular mycorrhiza. *Rhizobium*. *Schizolobium*. *Glomus*. Microbial inoculant.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1	ÁREAS DEGRADADAS E REFLORESTAMENTO	10
2.2	DESCRIÇÃO DE <i>SCHIZOLOBIUM PARAHYBA</i> (GUAPURUVÚ)	12
2.2.1	Taxonomia e Nomenclatura	12
2.2.2	Descrição Botânica	12
2.2.3	Aspectos Ecológicos	13
2.2.4	Importância Econômica	13
2.2.5	Importância Ambiental do Guapuruvú	14
2.2.6	Reflorestamento Comercial de <i>S. parahyba</i>	15
2.3	MICROORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE PLANTAS	15
2.3.1	Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA)	16
2.3.2	Rizobactérias Diazotróficas	18
2.3.3	Interação entre FMA e Rizobactérias em Leguminosas	20
2.4	ADUBAÇÃO QUÍMICA	21
3	OBJETIVOS	23
3.1	OBJETIVO GERAL	23
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
	REFERÊNCIAS	24
	ARTIGO: DEVELOPMENT OF PLANT GROWTH-PROMOTING MICROBIAL INOCULANT FOR <i>SCHIZOLOBIUM PARAHYBA</i> (VELL.) S. F. BLAKE VAR. <i>PARAHYBA</i>	29

1 INTRODUÇÃO

Os índices de desmatamento do Estado do Paraná indicam uma situação de perda drástica de cobertura florestal do início do século passado até a atualidade, onde se registram apenas 10,65% de remanescentes florestais (Fundação SOS Mata Atlântica, 2011). Diante deste contexto, surge a necessidade de se recuperar tais áreas degradadas (IPARDES, 2010).

Na proposição de recuperação de uma área está o retorno, mais rápido possível, da fitofisionomia florestal para a referida área. Com isso a revegetação tornou-se sinônimo de recuperação de áreas degradadas. Esta, normalmente, é feita diretamente com espécie (s) de hábito arbóreo (Silva; Reis, 2000).

Neste contexto, o estudo do *Schizolobium parahyba*, popularmente chamado de guapuruvú, poderá contribuir no aumento da cobertura vegetal da região, pelo uso em projetos de recuperação de áreas degradadas, por ser uma espécie arbórea de rápido crescimento nativa da mata atlântica. Além disso, suas características vão ao encontro dos anseios de ambientalistas e agricultores, que buscam alternativas de espécies florestais nativas que possam ser utilizadas em projetos de reflorestamento, sustentáveis ambientalmente, para o fornecimento de matéria-prima à indústria madeireira.

O uso da inoculação de microrganismos promotores de crescimento vai ao encontro de inovações tecnológicas aplicadas ao sistema de produção silvicultural que se tem utilizado de microrganismos fixadores de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares para melhorar o processo de produção florestal (Siqueira; Moreira, 1996; Schiavo; Martins, 2003; Siviero et al., 2008).

Não há estudos sobre a viabilidade comercial do guapuruvú, fato que limita o número de produtores que se interessam pela cultura. O presente projeto procura gerar tecnologia barata e de fácil acesso para os produtores rurais através do uso de microrganismos como biofertilizantes. Esta tecnologia poderá gerar um aumento na produtividade de sua madeira, podendo diminuir o tempo de corte, produzir árvores mais saudáveis e reduzir a mortalidade no campo. Poderá além de viabilizar sua produção em escala comercial ou em projetos de recuperação de áreas degradadas, promover a diminuição de pressões sobre as áreas de florestas

nativas da região, inclusive com uso em cultivos destinados a projetos de sequestro de carbono atmosférico.

Muitas indústrias madeireiras têm investido em espécies de rápido crescimento e elevado valor comercial. Dentre as inúmeras espécies economicamente viáveis destacam-se as do gênero *Schizolobium*, incluindo o guapuruvú e o paricá. O experimento desenvolvido no Pará por Siviero et al.(2008) com *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (paricá) em associação com fungos micorrízicos arbusculares e bactérias fixadoras de nitrogênio foi um sucesso, uma vez que a presença de microrganismos mostrou diferenças significativas quando comparada com plantas não inoculadas.

Espera-se que os resultados possam se refletir na redução dos custos de produção e aumento da qualidade da madeira do guapuruvú, podendo promover indicativos de precocidade na etapa de produção, com maiores índices de sobrevivência e desenvolvimento, em altura e diâmetro do tronco da planta. O seu plantio em escala poderá promover o estímulo do seu cultivo na região para o uso comercial em projetos silviculturais, constituindo-se numa fonte alternativa de geração de renda e enriquecimento de fragmentos florestais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ÁREAS DEGRADADAS E REFLORESTAMENTO

Segundo Madella (2004), área degradada refere-se a alterações de um ecossistema natural caracterizada por perdas ou excessos de materiais no ambiente. Conforme o mesmo autor, uma área perturbada pode ser recuperada sob ação antrópica ou natural, sendo que nesta última há necessidade de, na área, haver fragmentos da mata original. A preocupação em recuperar áreas degradadas está ligada a fatores como a recomposição da paisagem, a conservação de recursos hídricos, a fixação e a conservação da fauna e da flora, a preservação de encostas, a contenção da erosão, a prevenção de assoreamento dos cursos d'água e o cumprimento da legislação ambiental vigente (Glufke, 1999). Barbosa; Martins (2004) afirmam que para o sucesso de um processo de recuperação deve-se priorizar as espécies locais, pois estas já se encontram adaptadas ao ambiente, além de garantir a conservação da biodiversidade da região.

No Estado do Paraná, o processo de ocupação territorial desordenado resultou em significativas perdas de biodiversidade. Estima-se que, de um número aproximado de 7.000 espécies vegetais ocorrentes no estado, cerca de 70% (5.000) têm hoje seus ambientes alterados a ponto de colocar em risco os processos de interação ecossistêmica. A Lista Vermelha de Plantas Ameaçadas de Extinção no Estado do Paraná relaciona 593 espécies consideradas em situação crítica (SEMA, 1995).

Um acompanhamento dos índices de desmatamento do Estado do Paraná indica uma situação de perda drástica do início do século passado até o ano de 1980, quando se registrou somente 15% de área com cobertura vegetal nativa. Desta época até 2002, com uma porcentagem de 11,70%, o Paraná ainda perdeu áreas de florestas e campos naturais. No levantamento de 2010 da cobertura vegetal do Paraná (Fundação SOS Mata Atlântica, 2011) a área de remanescentes florestais é de 10,65%. Apesar de alguns desmatamentos recentes, vem ocorrendo uma tendência a reflorestamentos com espécies nativas e recuperação de áreas desmatadas (IPARDES, 2010).

Geralmente a transformação da cobertura vegetal ocorre pelo processo de colonização da região, no conflito do uso da terra entre a floresta e a

agropecuária. O norte do Estado do Paraná, por exemplo, sofreu intensa transformação em sua paisagem devido às atividades agropecuárias (Fajardo, 2007).

Devido ao aumento da necessidade da preservação ambiental, aliado ao avanço das leis que disciplinam a ação antrópica sobre as florestas de proteção, há crescente interesse em programas de revegetação de áreas degradadas, o que demanda conhecimentos técnico-científicos pelos potenciais executores desses programas (Requena et al., 2001).

A necessidade de recuperar áreas degradadas exige procedimentos técnicos e economicamente viáveis, como o emprego de espécies arbóreas nativas de crescimento rápido (pioneiras), de grande potencial para tal finalidade por apresentarem alta capacidade de absorver nutrientes, rápido crescimento e imobilização de carbono e nutrientes na fitomassa, evitando a sua transferência para fora do sistema e facilitando o reestabelecimento da ciclagem de C e nutrientes no sistema solo-planta. No Brasil, a revegetação com espécies arbóreas nativas é pequena comparada ao uso de espécies exóticas de interesse econômico, como o eucalipto, em parte por causa da falta de conhecimento sobre as espécies nativas em plantios artificiais, falta de tecnologia na implantação de áreas extensas e custo das mudas (Flores-Aylas et al., 2003).

O reflorestamento ou recomposição florística de áreas desmatadas com espécies nativas é de grande importância para reduzir o impacto ambiental e conservar a biodiversidade. O conhecimento das exigências nutricionais e das relações ecológicas das espécies facilita o desenvolvimento de tecnologias, a obtenção de mudas saudáveis, destinadas a programas de formação de mata, bem como a utilização econômica das espécies nativas para diversos fins (Gonçalves et al, 1992). As leguminosas de cobertura apresentam um enorme potencial de reabilitação de áreas degradadas, além da conservação e melhoria da fertilidade (Alvino-Rayol et al, 2011). A espécie *S. parahyba* apresenta papel de destaque em programas de reflorestamento para áreas degradadas, devido principalmente ao seu crescimento rápido no campo, podendo atingir dez metros de altura no período de dois anos (Pietrobon; Oliveira, 2004). A espécie *S. parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby (Lewis, 2010) , popularmente conhecida como paricá, é altamente valorizada pelas empresas madeireiras da região norte e nordeste do Brasil principalmente nos Estados do Pará e Maranhão. Esta árvore leguminosa tem

sido replantada em sistemas agroflorestais em áreas que foram desmatados de florestas tropicais primárias nos anos de 1970 e 1980 para formação de pastagens (Siviero et al, 2008).

2.2 DESCRIÇÃO DE *SCHIZOLOBIUM PARAHYBA* (GUAPURUVÚ)

2.2.1 Taxonomia e Nomenclatura

De acordo com o Sistema de Classificação de Cronquist (1981), a posição taxonômica de *Schizolobium parahyba* obedece à seguinte hierarquia:

Divisão: Magnoliophyta (Angiospermae)

Classe: Magnoliopsida (Dicotyledonae)

Ordem: Fabales

Família: Caesalpiniaceae (Leguminosae Caesalpinoideae)

Gênero: *Schizolobium*

Espécie: *Schizolobium parahyba* (Velloso) S. F. Blake var. *parahyba* (Lewis, 2010).

2.2.2 Descrição Botânica

Segundo Backes et al. (2002) o guapuruvú está presente na paisagem da Mata Atlântica, ao longo do litoral, com seu porte majestoso, seus longos troncos verdes, copas em guarda-chuva e sua intensa floração amarela. Espécie apícola e pioneira com uso principal em paisagismo.

Forma biológica: árvore semicaducifólia, com 10 a 40 m de altura e 30 a 120 cm de DAP, na idade adulta.

Tronco: cilíndrico, marcado por cicatrizes da afixação das folhas, podendo apresentar sapopemas. Fuste com até 15 m de comprimento.

Ramificação: cimoso. Copa muito ampla, umbeliforme característica.

Casca: com espessura de até 5 mm. A casca externa é quase lisa, cinzenta quando adulta e verde quando jovem, provida de marcas conspícuas transversais ovaladas, em relevo, deixadas pela queda das folhas, e com presença de lenticelas. A casca interna é esbranquiçada, com textura fibrosa.

Folhas: alternas, compostas, de até 1 m de comprimento, bipinadas, com até 22 pares de pinas e pecíolo de até 15 cm.

Flores: grandes, vistosas, de pétalas vivamente amarelas, reunidas em racemos terminais de até 30 cm de comprimento.

Fruto: criptosâmara deiscente, obovado-oblongo, séssil achatado, glabro, coriáceo ou sublenhoso, de coloração bege a marrom, quando completamente maduro e esverdeado quando imaturo, bivalvado, com valvas espatuladas, delgadas, lisas ou rugosas por fora e reticuladas na face interna, lembrando minúscula raquete de tênis, com 8,5 a 16 cm de comprimento e 3 a 6 cm de largura. Na maturidade, as valvas se abrem, liberando a semente envolta pelo meso-endocarpo alado (Oliveira; Pereira, 1984). Contém geralmente uma ou duas sementes.

Semente: lisa, brilhante, oblonga-achatada, com tegumento duro, geralmente solitária, apical, envolvida por envelope papiráceo de endocarpo (asa grande), medindo 2 a 3 cm de comprimento e 1,5 a 2 cm de largura.

Na parte basal-lateral, encontram-se o hilo, a micrópila, um pequeno estrofiolo e a rafe. As sementes, semelhantes a fichas, justificam o nome popular ficheira atribuído à árvore, em certas regiões do país (Marchiori, 1997).

2.2.3 Aspectos Ecológicos

Segundo Carvalho (2003), o guapuruvú é uma espécie heliófila, que ocorre naturalmente desde a Bahia até o Rio Grande do Sul, comum em vegetação secundária, especialmente em florestas de galeria, e com bom potencial para uso na recuperação de matas ciliares, em locais não sujeitos à inundação. Possivelmente, *S. parahyba* é uma das essências florestais de mais rápido crescimento nas regiões sudeste e sul do Brasil (Callado; Guimarães, 2010).

2.2.4 Importância Econômica

Uma das importâncias da produção do guapuruvú para uso econômico é a sua utilização como madeira para uso industrial. Richter et al. (1974) publicaram um estudo tecnológico sobre a espécie, no qual destacaram algumas características da madeira, como a alta durabilidade e baixa suscetibilidade ao

ataque de insetos, o que favorece a fabricação de tábuas para assoalho e caixas. Segundo Carvalho (2003) a madeira pode ser empregada na construção civil e para caixotaria em geral.

Segundo Costa (2002), o guapuruvú também apresenta densidade lenhosa compatível à exigida para fabricação de chapas de partículas "strand" e maravalhas que poderia viabilizar a produção de OSB (Oriented Strand Board), composto por pequenas lascas de madeira orientadas segundo uma determinada direção, pelo seu rápido crescimento, além da importância do descobrimento de matérias-primas alternativas.

Segundo Lorenzi (1992), a espécie é vista como fonte promissora de pasta para celulose, a madeira é bastante utilizada na confecção de painéis, portas, brinquedos e caixas; para Júnior e Belini (2002) a madeira de guapuruvú tem potencial para produção de lâminas compensados. O compensado de guapuruvú tem potencial para uso em móveis, embalagens e caixotaria.

2.2.5 Importância Ambiental do Guapuruvú

A fragmentação da paisagem florestal é um dos grandes problemas ambientais causados pelo processo de colonização e produção agropecuária no Estado do Paraná (Fajardo, 2007).

Segundo Saunders et al. (1991), a paisagem herdada do processo desenvolvimentista produziu um padrão de fragmentação que se repete em várias partes do mundo, e também no Paraná, composta por áreas de vegetação nativa com remanescentes isolados dos mais diversos tamanhos, formatos e localização, cercadas por lavouras ou outros usos como áreas urbanizadas, estradas, lagos, etc.

Entretanto, para Ferreira et al. (2007), vastas áreas sob domínio da Mata Atlântica se encontram subutilizadas. Algumas ocupadas por pastagens pouco produtivas, que favorecem, em especial, a degradação dos recursos edáficos e hídricos. Estas áreas necessitam de uma ação silvicultural com essências florestais nativas da mata atlântica, com espécies adaptadas às condições atuais de tais sítios, como é o caso do guapuruvú, que poderia servir como uma alternativa florestal para a região, com benefícios ecológicos, econômicos e sociais.

2.2.6 Reflorestamento Comercial de *S. parahyba*

O cultivo do guapuruvú possibilitaria agir contra o cenário de desmatamento que reduziu a área de ricos habitats em biodiversidade, uma vez que a espécie desempenha papel de destaque em programas para o reflorestamento misto de áreas degradadas visando à preservação permanente, devido, principalmente, ao seu rápido crescimento no campo, podendo atingir dez metros de altura no período de dois anos Lorenzi (1992). O guapuruvú tem sido utilizado na restauração da Mata Atlântica e indicado para restauração florestal (Sereda et al., 2008).

2.3 MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE PLANTAS

No solo há várias espécies de microrganismos compondo a comunidade microbiana que agem nos ciclos biogeoquímicos e são importantes para a fertilidade do solo e crescimento das plantas (Andrade, 2004). Os ciclos biogeoquímicos sofrem interferências pela ação dos microrganismos nos diferentes tipos de solo que podem, também, mudar a diversidade biológica e a eficiência de um ecossistema (Matsumoto et al., 2004).

O efeito de inoculantes de populações bacterianas e fúngicas na rizosfera é decisivo para maximizar a disponibilidade de nutrientes das plantas, uma vez que a comunidade microbiana do solo na rizosfera desempenha um papel fundamental na nutrição das plantas (Marin et al., 2010).

As estratégias utilizadas para promover o crescimento de plantas de interesse comercial para o reflorestamento são variadas. Uma das tecnologias, por exemplo, trata da exploração da simbiose micorrízica através da inoculação das plantas com fungos capazes de promover o crescimento vegetal (Souza et al., 2006). Existem bactérias de vida livre no solo que também promovem o crescimento de plantas, sendo denominadas de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (do inglês, PGPR) (Artusoon et al., 2006). A inoculação de leguminosas com rizóbio ou outra bactéria promotora do crescimento da planta e um fungo micorrízico arbuscular podem aumentar o crescimento das plantas (Abd-Alla et al., 2000).

A relação entre plantas e microrganismos é discutida no campo científico como uma alternativa para o entendimento dos mecanismos moleculares e

simbióticos, fornecendo subsídios visando ao aumento da produção agrícola e a diminuição do uso de fertilizantes e/ou defensivos nas culturas.

2.3.1 Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA)

O termo micorriza foi de início, proposto pelo botânico alemão Albert Bernard Frank, em 1885, originado do grego em que “mico” significa fungo e “riza” raízes (Souza et al., 2006). Cerca de 90% das plantas terrestres formam associações micorrízicas, as quais foram estabelecidas há mais de 400 milhões de anos e hoje são encontradas em quase todos os habitats no mundo (Kistner; Parniske, 2002).

Micorrizas são associações mutualistas entre certos fungos do solo e as raízes absorventes das maiorias das espécies vegetais. Existem vários tipos de micorrizas, sendo as ectomicorrizas e as endomicorrizas do tipo arbuscular (MAs) as de maior importância (Siqueira, 1994). As ectomicorrizas são caracterizadas pelo crescimento intercelular, formando um manto de hifas ao redor da raiz, enquanto que as micorrizas arbusculares (endomicorrizas) possuem um crescimento inter e intracelular no córtex da raiz (Bertolazi et al., 2010).

A simbiose com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) aumenta a área de absorção da raiz, potencializando essa absorção. Um menor diâmetro das hifas permite que pequenos poros de solo sejam explorados e mais nutrientes sejam absorvidos. Plantas deficientes em P aumentam a exsudação radicular, promovendo assim, a proliferação das hifas e um aumento na colonização por fungos MA (Zangaro et al., 2007). As hifas externas de fungos MA se estendem além dos limites da rizosfera melhorando a capacidade da planta de explorar o P do solo. Algumas bactérias podem estimular a ramificação das hifas e, conseqüentemente, a quantidade de micélio infectante. Os esporos dos FMA podem ser colonizados por outros microrganismos tais como bactérias diazotróficas. Tanto FMAs quanto bactérias diazotróficas podem alterar as características morfológicas da raiz (Miyachi et al, 2008). Uma vez que a atividade microbiana no solo é estimulada por exsudatos de raiz, a colonização das raízes por fungos MA pode alterar o crescimento bacteriano pela mudança dos padrões de exsudação. Os fungos podem promover o crescimento bacteriano diretamente no solo, por exsudação de

nutrientes transferidos das raízes para microrregiões do solo que não estão acessíveis às raízes (Andrade et al., 1998).

Os fungos MA são amplamente disseminados e podem representar o estado natural da maioria das espécies de plantas tropicais, especialmente em grupos de sucessão, como pioneiras e secundária inicial. Além disso, as leguminosas podem estabelecer simbiose mútua com os fungos MA que pode resultar em transferência recíproca de P do fungo para a planta em troca de carbono da planta para o fungo e melhor crescimento das leguminosas lenhosas tropicais (Zangaro et al., 2003). Zangaro (2000) e Matsumoto (2004) afirmam que a dependência micorrízica de acordo com os grupos sucessionais diminui na seguinte ordem: pioneiras, secundárias iniciais, secundárias tardias, clímax.

Os fungos micorrízicos obtêm o carbono a partir das secreções radiculares, captando os minerais presentes no solo. Os fungos MA produzem substâncias que promovem o crescimento das plantas, induzindo alterações morfológicas nas raízes e estimulando a formação do estado de micorriza. O efeito benéfico que o fungo confere à planta é observado em solos pobres, onde apenas as plantas providas de micorrizas sobrevivem. As plantas contendo micorrizas apresentam vantagens competitivas por possuírem maior poder de absorção nutricional decorrente da maior área superficial fornecida pelo micélio fúngico. Além de auxiliar as plantas na absorção de nutrientes, as micorrizas também desempenham um importante papel no controle da diversidade vegetal (Souza et al., 2006).

A colonização radicular e a resposta do hospedeiro à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) dependem da interação do sistema simbiote e as mais variadas condições, tais como: as características do solo e a fase de desenvolvimento do hospedeiro. A disponibilidade de P é o fator edáfico que mais afeta as micorrizas arbusculares, havendo uma relação inversa com a dependência micorrízica (Nogueira; Cardoso, 2000; Cardoso-Filho et al., 2008).

A associação das plantas arbóreas com fixadores de nitrogênio e fungos MA que aumentam a capacidade de absorção de minerais impulsiona o desenvolvimento das plantas, criando condições no solo para o estabelecimento dos grupos sucessionais. As pioneiras são extremamente dependentes da associação com fungos MA, praticamente não crescendo na ausência destes fungos. A dependência desaparece nos demais grupos sucessionais, sugerindo que em

programas de revegetação as espécies pioneiras devam ser inoculadas com fungos MA para se acelerar o processo de recuperação da cobertura vegetal (Zangaro et al., 2000; Zangaro et al., 2003; Zangaro et al., 2007).

Os FMAs além de aumentar a absorção de água e nutrientes pela planta também aumentam a tolerância de plantas a estresses ambientais e culturais e desempenham um papel importante na interface da rizosfera. Aumentam o crescimento da planta, estimulam a atividade microbiana específica e induzem a síntese de enzimas oxidativas que aumentam a degradação de poluentes, podendo contribuir para o desempenho da planta (Hernández-Ortega et al, 2011). Estes fungos influenciam vários ciclos biogeoquímicos do solo: (1) o ciclo do carbono, devido a alterações no fluxo de compostos de carbono a partir de exsudatos, (2) o ciclo do fósforo, devido ao estímulo da atividade de bactérias de solubilização de fósforo e absorção de fósforo solúvel pela planta, (3) o ciclo de nitrogênio devido ao estímulo para fixação simbiótica e não-simbiótica de fixação e para o processo de amonificação da rizosfera, (4) o ciclo do enxofre também é influenciado por alterações na oxidação de enxofre autotrófico e redução do sulfato das populações de bactérias (Andrade, 2004).

O fungo micorrízico arbuscular usado neste trabalho, *Glomus clarum*, é um inoculante do solo comum na agricultura e horticultura. Os esporos de *Glomus clarum* se formam isolados ou agrupados no solo, frequentemente também são formados dentro das raízes. Sua coloração varia de branco amarelado a um amarelo-marrom. Possuem forma globosa a subglobosa. O tamanho varia de 100 a 202 µm. A parede do esporo é composta por três camadas que se unem estreitamente entre si. A característica típica desta espécie é a coloração amarelada da camada mais interna do esporo com um conteúdo de glóbulos lipídicos de tamanhos variados envolto por um halo transparente (Nicolson; Shenck, 1979).

2.3.2 Rizobactérias Diazotróficas

A maioria dos organismos e microrganismos exige formas combinadas de nitrogênio para incorporar em sua biomassa celular, mas a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico é restrita a um número limitado de bactérias e associações simbióticas. A fixação de nitrogênio atmosférico é um processo fundamental para a manutenção da biosfera. A nitrogenase é o complexo

enzimático responsável pela fixação de nitrogênio que requer grandes quantidades de energia para sua atividade. A fixação biológica não-simbiótica de nitrogênio é realizada por alguns gêneros de bactérias de vida livre que estão associadas com a rizosfera da planta. A associação simbiótica de microrganismos e legumes é a mais eficaz em termos de quantidade de nitrogênio fixado. A quantidade de nitrogênio fixado por ano por esses grupos de microrganismos é muito maior do que a dos fixadores de vida livre. A fixação biológica de nitrogênio é muito importante na introdução de moléculas de NH_3^+ na rizosfera (fixadores de N de vida livre) ou em plantas (fixadores de N simbióticos). Essas moléculas fixadas podem ser transformadas em NO_3^- ou usadas na biossíntese de aminoácidos que quando polimerizados irão formar as proteínas celulares e também como aceptoras finais de elétrons em alguns grupos de bactérias anaeróbicas facultativas (Andrade, 2004).

Muitas plantas podem se beneficiar das atividades de bactérias da rizosfera, como solubilização de minerais, fixação do N_2 , produção de hormônios de promoção do crescimento e repressão competitiva de patógenos (Andrade et al., 1997). Além disso, as bactérias diazotróficas também podem auxiliar na nutrição nitrogenada das culturas por meio de diversos mecanismos, como o aumento do processo da redução assimilatória de nitrato disponível no solo e alteração da morfologia das raízes, o que possibilita a exploração de maior volume de solo (Sala et al., 2007). Alguns desses microrganismos são bactérias chamadas de rizobactérias promotoras do crescimento da planta (PGPR – Plant Growth Promoting Rhizobacteria) e são capazes de estimular o crescimento da planta, principalmente devido à produção de fitormônios (Siviero et al., 2008). Muitos experimentos tem sido desenvolvidos no sentido de otimizar práticas agrícolas sustentáveis através de técnicas que melhorem a qualidade dos alimentos e do solo e a fixação biológica de N_2 se encaixa nesta finalidade. O alto custo de fertilizantes de N sintéticos limita a produção de alimentos nos países pobres. No entanto, muitas plantas, especialmente as leguminosas, podem se beneficiar do processo de fixação de nitrogênio, para isso, é muito importante detectar novas bactérias de vida livre fixadoras de N_2 com potencial para uso como inoculantes em plantas não-leguminosas (Albino et al., 2006).

Os rizóbios formam associações simbióticas com plantas leguminosas através da fixação de nitrogênio atmosférico em nódulos radiculares. Os cientistas sempre se perguntaram se as plantas não pertencentes à família

Fabaceae poderiam ser manipuladas para formar associações com rizóbios. No entanto, as interações rizóbio-leguminosa são muito específicas, fazendo com que linhagens de rizóbio específicas nodulem com leguminosas hospedeiras também específicas. Por outro lado, nem todos os membros da família das leguminosas formam nódulos. Das três subfamílias de leguminosas, *Caesalpinioideae*, *Mimosoideae* e *Papilionoideae*, a maioria dos membros da subfamília basal *Caesalpinioideae* não nodulam. Assim, a nodulação e presumivelmente a fixação biológica de nitrogênio, não são ubíquas dentro da família das leguminosas. Os sinais, em grande parte responsáveis por essas relações específicas hospedeiro-microrganismo, pertencem a uma classe de compostos denominados flavonóides. Mais de 4000 flavonóides diferentes têm sido identificados em plantas vasculares e um subconjunto específico delas está envolvido na mediação da especificidade do hospedeiro em leguminosas (Bais et al., 2006).

2.3.3 Interação entre FMA e Rizobactérias em Leguminosas

A interação entre bactérias fixadoras de N e FMA está sendo objeto de estudo, mas tem sido observado efeito sinérgico entre estes dois grupos de organismos. Acredita-se que os benefícios desta interação possam 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). A associação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e bactérias fixadoras de nitrogênio pode contribuir para a fertilidade do solo, produtividade e rendimento de culturas. Bem conhecidos, os efeitos dos FMA incluem a captação melhorada de água e de fósforo ou outros macro e microelementos em situações não ideais. Este sistema pode, portanto, ser adaptado para ajudar as plantas a se estabelecer e sobreviver em habitats deficientes de nutrientes, degradados ou durante períodos de estresse. Combinações entre bactérias fixadoras de nitrogênio e FMAs podem resultar em um efeito maior sobre o desenvolvimento das plantas (Biró et al, 2000). A colonização de bactérias diazotróficas para plantas pode estar relacionada à presença de FMA. As bactérias diazotróficas associadas a esporos de FMAs podem promover o aumento e rápida colonização pelo fungo, o que pode favorecer o desenvolvimento de um inoculante comercial de FMA (Bhowmik; Singh, 2004). Segundo Artursoon et al. (2006), os

benefícios da interação FMA-bactéria diazotrófica podem ocorrer em razão do incremento na absorção de P pelas plantas micorrizadas, o que propicia melhores condições para o estabelecimento da associação com diazotróficos, o que representa, por sua vez, alto custo energético. Essas interações podem ser de extrema importância para uma agricultura com menor emprego de insumos químicos, como os fertilizantes nitrogenados e fosfatados. Andrade et al (1998) concluíram que o status micorrízico do solo pode influenciar seletivamente a persistência de bactérias inoculantes, bem como afetar o número de outras bactérias nativas. Existem vários relatos dos efeitos benéficos propiciados pela interação FMA-bactéria diazotrófica (Bhowmik; Singh, 2004; Barea et al., 2005; Sala et al., 2007; Raimam et al, 2007; Siviero et al., 2008; Miyauchi et al., 2008; Biró et al., 2000).

2.4 ADUBAÇÃO QUÍMICA

Um fator de grande importância no desenvolvimento das comunidades vegetais é o solo. Com exceção do carbono, hidrogênio e oxigênio, os vegetais adquirem seus elementos como íons inorgânicos, e para plantas terrestres a principal fonte de íons minerais é o solo. Os vários tipos de solos têm diferentes composições químicas, e o crescimento vegetal é dependente da nutrição mineral, embora as exigências minerais variem qualitativa e quantitativamente conforme a espécie (Street; Öpik, 1984).

As plantas necessitam em sua nutrição de uma grande variedade de elementos químicos, os quais são provenientes dos minerais do solo ou do processo de mineralização das substâncias orgânicas. Aproximadamente 98% dos bioelementos no solo estão na forma de serapilheira, húmus, ligados ao material inorgânico de difícil solubilização ou ainda incorporados aos minerais. Essa grande porção atua como uma reserva, a qual por meio dos processos de decomposição e mineralização coloca lentamente os nutrientes em disponibilidade para o vegetal. Os 2% restantes estão adsorvidos nos colóides do solo (Larcher, 2000).

O fósforo é indispensável para todo o ciclo da planta, pois entra na fotossíntese, na respiração e principalmente na formação de raízes. Mas, nem sempre essa substância está disponível para ser absorvida pela planta, isso ocorre mais efetivamente se o solo apresentar um pH em torno de 5,5. Mas como uma

grande quantidade de P forma complexos insolúveis que não são absorvidos pelas plantas, deve-se adicioná-lo ao solo (Bennett, 1998).

É conhecida a importância do nitrogênio quanto às suas funções no metabolismo das plantas, participando como constituinte de moléculas de proteínas, coenzimas, ácidos nucleicos, citocromos, clorofila etc., além de ser um dos nutrientes mais relevantes para o aumento da produção. A adubação nitrogenada influencia não só a produtividade, mas também a qualidade do produto em consequência do teor de proteína nos grãos de milho (Ferreira et al., 2001). O teor de N nas folhas é muito influenciado pela adubação nitrogenada e, segundo Killorn; Zourarakis (1992), a concentração foliar de nitrogênio reflete sua disponibilidade no solo, sendo que a sua análise pode ser útil na detecção de deficiência de N e, conseqüentemente, na predição de produção de grãos.

O potássio também possui papel fundamental para a nutrição das plantas por ser o cátion em maior concentração, sendo um nutriente com relevantes funções fisiológicas e metabólicas como ativação de enzimas, fotossíntese, translocação de assimilados e também absorção de nitrogênio e síntese protéica, tornando-se, portanto, limitante em sistema de utilização intensiva do solo (Andrade et al., 2000).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste projeto é o desenvolvimento de inoculantes microbianos que promovam o rápido crescimento do guapuruvú (*Schizolobium parahyba* var. *parahyba*) inoculado com *Glomus clarum* e uma bactéria fixadora de N do gênero *Rhizobium* sp.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito dos inoculantes de fungo MA e bactéria fixadora de N no crescimento do *S. parahyba*, comparado com a adição ou não de adubo químico.
- Determinar a combinação de inoculantes mais eficiente para o crescimento das plantas de guapuruvú.

REFERÊNCIAS

- ABD-ALLA, M. H., OMAR, S. A., KARANXHA, S. The impact of pesticides on arbuscular mycorrhizal and nitrogen-fixing symbioses in legumes. **Appl. Soil Ecol.** 14, 2000.
- ALBINO, U.; SARIDAKIS, D. P.; FERREIRA, M. C.; HUNGRIA, M.; VINUESA, P.; ANDRADE, G. High diversity of diazotrophic bacteria associated with the carnivorous plant *Drosera villosa* var. *villosa* growing in oligotrophic habitats in Brazil. **Plant and Soil** 287:199–207, 2006.
- ALVINO-RAYOL, F. O.; ROSA, L. S.; RAYOL, B. P. Efeito do espaçamento e do uso de leguminosas de cobertura no manejo de plantas invasoras em reflorestamento de *Schizolobium amazonicum* Huber ex. Ducke (paricá). **Rev. Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 3, 2011.
- ANDRADE, A. C.; FONSECA, D. M.; GOMIDE, J. A.; ALVAREZ, V. H.; MARTINS, C. E.; SOUZA, D. P. H. Produtividade e Valor Nutritivo do Capim-Elefante cv. Napier sob Doses Crescentes de Nitrogênio e Potássio. **Rev. bras. zootec.**, 29(6):1589-1595, 2000.
- ANDRADE, G.; LINDERMAN, R. G.; BETHLENFALVAY, G. J. Bacterial associations with the mycorrhizosphere and hyphosphere of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. **Plant and Soil**, 202: 79–87, 1998.
- ANDRADE, G.; ESTEBAN, E.; VELASCO, L.; LORITE, M. J.; BEDMAR, E. J. Isolation and identification of N₂-fixing microorganisms from the rhizosphere of *Capparis spinosa* (L.). **Plant and Soil** 197: 19–23, 1997.
- ANDRADE, G. Role of functional groups of microorganisms on the rhizosphere microcosm dynamics. In: Varma, A.; Abbott, L.; Werne, D.; Hampp, R. **Plant Surface Microbiology**. New York: Springer-Verlag, p. 51-68, 2004.
- ARTUSOON, V., FINLAY, R. D., JANSSON, J. K. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. **Environ. Microbiol.** 8, 2006.
- BACKES, P., IRGANG, B. **Árvores do sul**. Guia de identificação & interesse ecológico, Instituto Souza Cruz, RS, 2002.
- BAIS, H. P.; WEIR, T. L.; PERRY, L. G.; GILROY, S.; VIVANCO, J. M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. **Annu. Rev. Plant Biol.** 57:233–66, 2006.
- BARBOSA, L. M.; MARTINS, S. E. (2004) [Online]. Bases técnicas e científicas para seleção de espécies adequadas ao reflorestamento heterogêneo em São Paulo. Disponível em: <http://www.adaltech.com.br/>
- BAREA, J. M.; POZO, M. J.; AZCÓN, R.; AZCÓN-AGUILAR, C. Microbial co-operation in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v.56, p.1761-1778, 2005.

BENNETT, P. **Terra uma incrível máquina de reciclagem.** In: O ciclo do fósforo. São Paulo: Moderna. p. 22-27.1998.

BERTOLAZI, A. A.; CANTON, G. C.; AZEVEDO, I. G.; CRUZ, Z. M. A.; SOARES, D. N. E. S.; CONCEIÇÃO, J. M.; SANTOS, W. O.; RAMOS, A. C. The role of ectomycorrhiza in heavy metals bioremediation in soil. **Natureza on line** 8 (1): 24-31, 2010.

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.

BIRÓ, B.; KOVES-PECHY, K.; VORS, I.; TAKACS, T.; EGGENBERG, P.; STRASSER, R. J. Interrelations between *Azospirillum* and *Rhizobium* nitrogen-fixers and arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of alfalfa in sterile, AMF-free or normal soil conditions. **Applied Soil Ecology**, v.15, p.159-168, 2000.

CALLADO, C. H.; GUIMARÃES, R. C. Estudo dos anéis de crescimento de *Schizolobium parahyba* (Leguminosae: Caesalpinioideae) após episódio de mortalidade em Ilha Grande, Rio de Janeiro. **Revista Brasil. Bot.**, v.33, n.1, p.85-91, 2010.

CARDOSO-FILHO, J. A.; LEMOS, E. E. P.; SANTOS, T. M. C.; CAETANO, L. C.; MARCO ANTONIO NOGUEIRA, M. A. Mycorrhizal dependency of mangaba tree under increasing phosphorus levels. **Pesq. agropec. bras.**, v.43, n.7, p.887-892, 2008.

CARVALHO, C. J. R. Respostas de plantas de *Schizolobium amazonicum* (*S. parahyba* var. *amazonicum*) e *Schizolobium parahyba* (*Schizolobium parahybum*) à deficiência hídrica. **Revista Árvore**. v. 29, n.6. Viçosa, 2003.

COSTA, M. C. R. Avaliação da contaminação ambiental por metais pesados em áreas rurais próximas a uma indústria de reciclagem de chumbo no vale do rio Paraíba do Sul - SP. Tese Doutorado em Ciência do Solo na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2002.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants.** Columbia University Press, Nova York, 1981.

FAJARDO, S. Aspectos da ocupação, da formação da estrutura produtiva e das transformações na paisagem rural no território paranaense. **Caminhos de Geografia** v. 7, n. 20. Uberlândia, 2007.

FERREIRA, A. F., OLIVEIRA, L. M.; TONETTI, A. O.; DAVIDE, A. C. Comparação da viabilidade de sementes de *Schizolobium parahyba* (vell.) blake - leguminosae caesalpinioideae, pelos testes de germinação e tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**. v. 29, n.3. Pelotas, 2007.

FERREIRA, A. C. B.; ARAÚJO, G. A. A.; PEREIRA, P. R. G.; CARDOSO, A. A. Características agronômicas e nutricionais do milho adubado com nitrogênio, molibdênio e zinco. **Scientia Agricola**, v.58, n.1, p.131-138, 2001.

FLORES-AYLAS, W. W.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J.; SIQUEIRA, J. O.; DAVIDE, A. C. Efeito de *Glomus etunicatum* e fósforo no crescimento inicial de espécies arbóreas em semeadura direta. **Pesq. agropec. bras.**, v. 38, n. 2, p. 257-266, 2003.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. **Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica: Período 2008-2010**. Relatório Parcial. São Paulo, 2011. Disponível em: <<http://www.sosma.org.br>>. Acesso em: 14/02/2012.

GLUFKE, C. **Espécies florestais recomendadas para recuperação de áreas degradadas**. Porto Alegre, Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul. 48p, 1999.

GONÇALVES, J. L. M.; KAGEYAMA, P. Y.; FREIXÊDAS; GONÇALVES, J. C.; GERES, W.L.A. **Capacidade de absorção e eficiência nutricional de algumas espécies arbóreas tropicais**. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2, São Paulo, 1992. Anais. São Paulo: Instituto Florestal, 1992. p. 463-46

HERNÁNDEZ-ORTEGA, H. A.; ALARCÓN, A.; FERRERA-CERRATO, R.; ZAVALETA-MANCERA, H. A.; LÓPEZ-DELGADO, H. A.; MENDOZA-LÓPEZ, M. R. Arbuscular mycorrhizal fungi on growth, nutrient status, and total antioxidant activity of *Melilotus albus* during phytoremediation of a diesel-contaminated substrate. **Journal of Environmental Management** xxx 1-6, 2011.

IPARDES. Instituto paranaense de desenvolvimento econômico e social. **Indicadores ambientais por bacias hidrográficas do Estado do Paraná / Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social**. Curitiba : IPARDES, 2010. 223 p.

JÚNIOR, G. B.; BELINI, U. L. Produção de lâminas e manufatura de compensados a partir da madeira de guapuruvu (*Schizolobium parayba* blake.) proveniente de um plantio misto de espécies nativas. **Revista Cerne**, v.8, n.2, p.1-16, 2002.

KILLORN, R.; ZOURARAKIS, D. Nitrogen fertilizer management effects on corn grain yield and nitrogen uptake. **Journal of Production Agriculture**, v.5, p.142-148, 1992.

KISTNER, C.; PARNISKE, M. Evolution of signal transduction in intracellular symbiosis. **Trends in Plant Science**. 7: 511-518, 2002.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: RIMA, p.183-230, 2000.

LEWIS, G. P. 2010. *Schizolobium* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB023142>).

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992.

MADELLA, C. R. 2004 [Online]. **Recuperação de áreas degradadas**. Acesso: <http://www.institutopaubrasil.org.br/>

MARCHIORI, J. N. C. **Dendrologia das angiospermas: leguminosas**. Santa Maria: Ed. da Universidade Federal de Santa Maria, 1997.

MARIN, M.; MENA, J.; FRANCO, R.; PIMENTEL, E.; SÁNCHEZ, I. Effects of the bacterial-fungal interaction between *Tsukamurella paurometabola* C 924 and *Glomus fasciculatum* and *Glomus clarum* fungi on lettuce micorrhizal colonization and foliar weight. **Biotechnologia Aplicada** 27:48-51, 2010.

MATSUMOTO, L. S., MARTINES, A. M., AVANZIA, M. A., ALBINO, U. B., BRASIL, C. B., SARIDAKI, D. P., RAMPAZO, L. G. L., ZANGARO, W., ANDRADE, G. Interactions among functional groups in the cycling of carbon, nitrogen and phosphorus in the rhizosphere of three successional species of tropical Wood trees. **Applied Soil Ecology** 28:57-65, 2004.

MIYAUCHI, M. Y. H.; LIMA, D. S.; NOGUEIRA, M. A.; LOVATO, G. M.; MURATE, L. S.; CRUZ, M. F.; FERREIRA, J. M.; ZANGARO, W.; ANDRADE, G. Interactions between diazotrophic bacteria and mycorrhizal fungus in maize genotypes. **Sci. Agric.** (Piracicaba, Braz.), v.65, n.5, p.525-531, 2008.

NICOLSON T. H., SCHENCK N. C. Endogonaceous mycorrhizal endophytes from Florida. **Mycologia** 71: 178-198, 1979.

NOGUEIRA, M. A.; CARDOSO, E. J. B. N. Produção de micélio externo por fungos micorrízicos arbusculares e crescimento da soja em função de doses de fósforo. **R. Bras. Ci. Solo**, 24:329-338, 2000.

OLIVEIRA, E. C.; PEREIRA, T. S. Morfologia dos frutos alados em Leguminosae-Caesalpinioideae – *Martiodendron Gleason*, *Peltophorum* (Vogel) Walpers, *Sclerolobium Vogel*, *Tachigalia Aublet* e *Schizolobium Vogel*. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 60, p. 35-42, 1984.

PIETROBOM, R. C. V., OLIVEIRA, D. M. T. Morfoanatomia e ontogênese do pericarpo de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Fabaceae, Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Botânica**. v. 27, n.4. São Paulo, 2004.

RAIMAM, M. P.; ALBINO, U.; 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. Interaction among free-living N-fixing bacteria isolated from *Drosera villosa* var. *villosa* and AM fungi (*Glomus clarum*) in rice (*Oryza sativa*). **Applied Soil Ecology** 35, p 25–34, 2007.

REQUENA, N.; PEREZ-SOLIS, E.; AZCÓN-AGUILAR, C.; JEFFRIES, P.; BAREA, J. M. Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. **Applied and Environmental Microbiology**, 67: 495-498, 2001.

RICHTER, H. G., TOMASELLI, I. MORESCHI, J. C. Estudo tecnológico do guapuruvu (*Schizolobium parahybum*). **Revista Floresta**, Curitiba, n.5, p.26-30, 1974.

SALA, V. M. R.; FREITAS, S. S.; SILVEIRA, A. P. D. Interação entre fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas em trigo. **Pesq. agropec. bras.**, v.42, n.11, p.1593-1600, 2007.

SAUNDERS D. A., HOBBS R. J., MARGULES C. R. Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review. **Conservations Biology** 5(1):18-32.1991.

SCHIAVO, J.; MARTINS, M. A. Produção de mudas de acácia colonizadas com micorrizas e rizóbio em diferentes recipientes. **Pesq Agropecuária Bras.** 38:173-178, 2003.

SEMA. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. **Lista vermelha de plantas ameaçados de extinção no Estado do Paraná.** Curitiba: SEMA/GTZ, 1995.

SEREDA, F.; REISSMANN, C. B.; MARQUES, R.; BRITZ, R. M. Aspectos nutricionais de sementes e plântulas de Guapuruvú desenvolvidas em dois substratos. **Scientia Agraria.** v.9, n.4. Curitiba, 2008.

SILVA, G. R.; REIS, A. Recuperação da resiliência ambiental em áreas degradadas: a relevância do hábito, floração e frutificação no processo. **Revista Saúde e Ambiente,** v.1, n.1. Florianópolis, 2000.

SIQUEIRA, J. O. **Micorrizas Arbusculares.** In: ARAUJO, R. S; HUNGRIA, M. (Eds). Microrganismos de importância agrícola. EMBRAPA: SPI, p. 151-194, 1994.

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Microbiologia do solo e sustentabilidade agrícola: enfoque em fertilidade do solo e nutrição vegetal. In: Reunião Brasileira em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, 22, 1996, Manaus: SBCS,1996, p.1-42.

SIVIERO, M. A.; MOTTA, A. M.; LIMA, D. S.;BIROLI, R. R.; HUH, S. Y.;SANTINONI, I. A.; MURATE, L. S.; CASTRO, C. M. A.;MIYAUCHI, M. Y. H.; ZANGARO, W. NOGUEIRA, M.A.; ANDRADE, G. Interaction among N-fixing bacteria and AM fungi in Amazonian legume tree (*Schizolobium amazonicum*) in field conditions. **Applied soil ecology** 39 , 144–152, 2008.

SOUZA, V. C.; SILVA, R. A.; CARDOSO, G. D.; BARRETO, A. F. Estudos sobre fungos micorrízicos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.** 10: 612-618, 2006.

STREET, H. E.; ÖPIK, H. O. **The physiology of flowering plants: their growth and development.** 3. ed. London:Edward Arnold Publishers, 1984.

ZANGARO, W.; BONONI, V. L. R.; TRUFEN, S. B. Mycorrhizal dependency, inoculum potential and habitat preference of native woody species in South Brazil. **Journal of Tropical Ecology,** Cambridge, v. 16, n. 4, p. 603-622, 2000.

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

ZANGARO,W.; NISHIDATE,F. R.; VANDRESEN, J.; ANDRADE, G.; NOGUEIRA, M. A. Root mycorrhizal colonization and plant responsiveness are related to root plasticity, soil fertility and successional status of native woody species in southern Brazil. **Journal of Tropical Ecology** 23:53–62, 2007.

ARTIGO**DEVELOPMENT OF PLANT GROWTH-PROMOTING MICROBIAL INOCULANT
FOR *SCHIZOLOBIUM PARAHYBA* (VELL.) S.F. BLAKE VAR. *PARAHYBA*.**

**Priscila Jane Romano de Oliveira Gonçalves, Vanessa Fogaça Freitas, Nathaly
Desirre Andreoli Chiari¹, Martha Viviana Torres Cely, Alex Carneiro Leal,
Galdino Andrade*.**

**DEVELOPMENT OF PLANT GROWTH-PROMOTING MICROBIAL INOCULANT
FOR *SCHIZOLOBIUM PARAHYBA* (VELL.) S.F. BLAKE VAR. *PARAHYBA*.**

**Priscila Jane Romano de Oliveira Gonçalves¹, Vanessa Fogaça Freitas¹,
Nathaly Desirre Andreoli Chiari¹, Martha Viviana Torres Cely¹, Alex Carneiro
Leal², Galdino Andrade^{1*}.**

Abstract

Schizolobium parahyba (guapuruvu) has potential to be used as source of wood and in revegetation program. The aim of this research was test microbial inoculants, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and *Rhizobium* sp., that promote plant growth. Plants were inoculated with 10 g of AMF *Glomus clarum* and 1 mL of cell suspension (10^7 CFU/mL) of *Rhizobium* sp. and 100 g of chemical fertilizer NPK 20-05-20 per planting hole. Experiment was carried out at the experimental station of IAPAR in Xambre, Brazil. Experimental design was randomized complete blocks with five replications and eight treatments (n = 800). Plant height and stem diameter was measured. Results were analyzed by ANOVA and Tukey test ($p < 0.05$). Rhizobia and mycorrhiza showed no effect on plant growth. High concentration of P in the soil may have negatively influenced the establishment of symbiosis with AMF. Guapuruvu treated with fertilizer increased plant growth and survival when compared with inoculated plants. These results demonstrated that in the early stages of growth inoculation with microorganisms appeared to be not efficient, especially in native trees of the successional group of pioneers that have a high rate of growth like the guapuruvu when cultivated in pasture area with *Brachiaria decumbens*.

Keywords: Arbuscular mycorrhiza. *Rhizobium*. *Schizolobium*, *Glomus*, microbial inoculant.

Introduction

A drastic loss of native vegetation cover of Parana state (Brazil) has been occurring since the past century until today, in a recent survey of 2010, the area of Atlantic Forest remnants recorded 10.65% (Fundação SOS Mata Atlântica, 2011). Fragmentation of vegetation usually occurs by the colonization process of the region

¹ Department of Microbiology, CCB, Laboratory of Microbial Ecology, State University of Londrina, Londrina, CEP 86051-990, Brazil. * **Corresponding author:** Galdino Andrade, Department of Microbiology, Laboratory of Microbial Ecology, State University of Londrina, Londrina, CP 6001, CEP 86051-990, Brazil. Phone/Fax: +55-43-3371-4791; E-mail: andradeg@uel.br.

² Agronomic Institute of Paraná (IAPAR) , Area of Fitotecnia , Rod Celso Garcia Cid, km 375, Londrina, CEP 86001-970, Brazil.

and land use. Northern state of Paraná, for example, suffered intense transformation in the landscape due to agricultural activities (Fajardo, 2007). Despite some recent deforestation, has been occurring a tendency to reforestation with native species and recovery of deforested areas (IPARDES, 2010).

Leguminous have enormous potential for rehabilitation of degraded areas, in addition to conservation and fertility improvement (Alvino-Rayol et al, 2011). *Schizolobium parahyba* (Vell.) S.F. Blake var. *parahyba* (Lewis, 2010), commonly known as guapuruvu, is a leguminous that has a prominent role in programs for reforestation of degraded areas, mainly due its rapid growth in field (Pietrobon & Oliveira, 2004; Callado & Guimarães, 2010; Sereda et al., 2008).

The use of inoculation of microorganisms growth-promoters is consistent with technological innovations applied to silvicultural production system that uses nitrogen-fixing microorganisms and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) to improve the process of forest production (Schiavo & Martins, 2003; Siviero et al., 2008). On soil there are several species of microorganisms composing the microbial community that act in biogeochemical cycles and are important to soil fertility and plant growth, including those of commercial interest for reforestation (Andrade, 2004; Hernández-Ortega et al, 2011).

Leguminous plants may establish symbiosis with fungi, which can result in reciprocal transfer of fungus P to the plant in exchange to the plant carbon for the better growth of the fungus and tropical leguminous (Zangaro et al., 2003). There are free-living bacteria soil that also promote growth of plants, called Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) (Artusoon et al., 2006). Inoculation of leguminous plants with a bacterial promoter of plant growth and AM fungi can increase plant growth (Abd-Alla et al., 2000; Marin et al., 2010), there are several reports of beneficial effects offered by the interaction AMF - diazotrophic bacteria (Bhowmik & Singh, 2004; Barea et al.,2005; Sala et al., 2007; Raimam et al, 2007; Siviero et al., 2007; Miyauchi et al., 2008; Biró et al., 2000).

The aim of this work was to develop microbial inoculants that promote growth of guapuruvu (*S. parahyba*) grown under field conditions, inoculated with AM fungi *Glomus clarum* and *Rhizobium* sp.

Materials and methods

Experimental Design

The experiment was carried out at Agronomic Institute of Paraná, Xambrê – Paraná State (lat. 23° 47' 27" S and long. 53° 35' 45" W) from March to December 2011. The climate in the region was humid subtropical. The mean rainfall was about 1.4 m (IAPAR, 2000). The soil was a red Oxisol and the study area (120 m X 60 m) was pasture covered with *Brachiaria decumbens*.

The experimental design was a randomized complete block design arranged in factorial treatment combinations with five replications with the treatments as follow: N-fixing bacteria (*Rhizobium* sp.), AM fungi (*Glomus clarum*), fertilize NPK (Treatments: 1. Control; 2. *Rhizobium*; 3. *Glomus clarum*; 4. Fertilizer; 5. *Rhizobium* + fertilizer 6. *Rhizobium* + *Glomus clarum*; 7. *Glomus clarum* + fertilizer; 8. *Rhizobium*+ *Glomus clarum* + fertilizer). Each block was composed by eight parcels that corresponded to the eight treatments and each parcel had twenty plants arranged in spacement of 3 m X 3 m.

In this experiment the parameters evaluated were total height (cm) at 30, 60, 120, 180 and 240 days after the experiment's installation, stem diameter (10 cm above the soil) in cm at 180 and 240 days and survival (%). Data were evaluated by analyses of variance (ANOVA). The Tukey's Honest significant difference tests were performed at $p \leq 0.05$.

Soil and plant

The chemical soil analysis was: pH (CaCl₂) 4.5; Al³⁺ 0.26 cmol_c dm⁻³; H + Al 4.60 cmol_c dm⁻³; Ca²⁺ 0.86 cmol_c dm⁻³; Mg²⁺ 0.35 cmol_c dm⁻³; K⁺ 0.26 cmol_c dm⁻³; P 24.0 mg dm⁻³; C 7.37 g dm⁻³.

Seeds of *S. parahyba* were collected at the campus of the State University of Londrina, Londrina, PR, Brazil. After seeds were mechanically scarified, they were sown in tubettes in substrate red Oxisol mixed with vermiculite of a medium particle size in the ratio 4:1. Following 30 days, the seedlings were taken to the experimental station of IAPAR.

Bacteria inoculum

The bacterial strain used as inoculum was *Rhizobium* sp. isolated from nodules of *Acacia* sp., a leguminous, provided by the collection of the Laboratory of Microbial Ecology (LEM). *Rhizobium* sp. was inoculated in Petri dishes with YMA media (Vincent, 1970) plus Congo red (0,25%) and incubated at 28 °C 48 h⁻¹. Bacteria was re-suspended in sterile saline solution (NaCl 0.85%). The final cell concentration for bacteria inoculum was approximately 10⁷ colony forming unit (CFU mL⁻¹) adjusted by visual comparison between CaCO₃ solution standard. The seeds were inoculated with 1 mL of bacterial suspension around seedling after appeared the first pair of leaves.

AM Fungi inoculum

The inoculum of *G. clarum* was from LEM collection and was maintained in pots with *Brachiaria decumbens*. Ten grams of inoculum containing 53 spores g⁻¹, colonized roots and mycelia were added in tubettes. After inoculation, a thin layer of soil covered was added (around 2 cm) and then the seeds were sowed. The number of spores was evaluated on 10 g of rhizosphere soil.

Soil and *Brachiaria* sp. roots that were present in the area before the establishment of experiment were collected and analyzed for the number of spores and root colonization. Analyses for number of spores and root colonization were also performed at the end of experiment for soil and guapuruvu roots.

Fertilizer

Treatment with chemical fertilization occurred with addition of 100 g of NPK fertilizer 20-5-20 per planting hole.

Results

Total height

The measures of total height made until 180 days after sowed revealed plants not inoculated with AM fungi showed higher growth compared with inoculated. At 30 days after sowing no treatment presented significant differences. However from 60 days to 240 days, plants fertilized with NPK fertilizer showed greater total height when compared with others treatments (Table 1).

Table 1 – Effects of AM fungi (*Glomus clarum*), PGPR *Rhizobium* sp., fertilizer NPK 20-5-20 and their interactions on total height (cm) of *Schizolobium parahyba* at 30 , 60, 120, 180 and 240 days after seedling planting. AMF: Arbuscular mycorrhizal fungi; *Rhi*: *Rhizobium*; Fert. : Fertilizer. Means in the column sharing the same letter are not significantly different according to Tukey test ($P < 0.05$).

Treatment	30 days	60 days	120 days	180 days	240 days
AM fungi	23.94 a	31.15 a	37.32 a	48.87 a	78.73 a
AMF control	25.21 a	32.79 a	39.03 a	51.30 a	75.36 a
<i>Rhizobium</i>	24.20 a	32.05 a	38.21 a	49.78 a	75.27 a
<i>Rhi</i> control	24.96 a	31.89 a	38.14 a	50.39 a	79.43 a
Fertilizer	24.78 a	33.97 b	41.82 b	55.43 b	84.10 b
Fert. control	24.38 a	29.97 a	34.53 a	44.74 a	68.65 a
ANOVA (p values)					
AM fungi	0.0567	0.1183	0.1986	0.3261	0.2882
<i>Rhizobium</i>	0.2442	0.8804	0.9605	0.8088	0.6411
Fertilizer	0.5363	0.0005	0.0001	0.0002	0.0069
AMF* <i>Rhi</i>	0.5465	0.5201	0.9303	0.7850	0.9020
AMF*Fert.	0.6758	0.6316	0.9061	0.7063	0.1818
<i>Rhi</i> *Fert.	0.2098	0.3429	0.0825	0.8548	0.6836
AMF* <i>Rhi</i> *Fert.	0.6758	0.5078	0.2063	0.4926	0.7952

Stem diameter

The same total height results were observed to stem diameter (10 cm above the soil), both at 180 and 240 days, plants treated with fertilizer showed bigger diameter when compared with other treatments (Table 2). Presence of *G. clarum* and *Rhizobium* sp. did not show any effect on total height and diameter of the guapuruvu.

Table 2 – Effects of AM fungi (*Glomus clarum*), PGPR *Rhizobium* sp., fertilizer NPK 20-5-20 and their interactions on steam diameter - 10 cm above the soil - (cm) of *Schizolobium parahyba* at 180 and 240 days after seedling planting. AMF: Arbuscular mycorrhizal fungi; *Rhi*: *Rhizobium*; Fert.: Fertilizer. Means in the column sharing the same letter are not significantly different according to Tukey test ($P < 0.05$).

Treatment	180 days	240 days
AM fungi	1.33 a	2.27 a
AMF control	1.30 a	2.28 a
<i>Rhizobium</i>	1.33 a	2.18 a
<i>Rhi</i> control	1.31 a	2.38 a
Fertilizer	1.51 b	2.58 b
Fert. Control	1.12 a	1.89 a
ANOVA (<i>p</i> values)		
AM fungi	0.7173	0.7151
<i>Rhizobium</i>	0.7994	0.3822
Fertilizer	0.0001	0.0017
AMF* <i>Rhi</i>	0.6653	0.6702
AMF*Fert.	0.7378	0.3227
<i>Rhi</i> *Fert.	0.4770	0.8856
AMF* <i>Rhi</i> *Fert.	0.5780	0.6776

Survival (%)

All treatments had more survival when compared with control that presented just 17% of survival at the end of experiment. Plants inoculated with *Rhizobium* sp. and *G. clarum* presented 40 and 37% of survival, respectively.

However, plants inoculated just with fertilizer showed 73% of survival, the better among the treatments. The others treatments corresponding to interactions between *Rhizobium* sp., *G. clarum* and fertilizer presented survival ranging from 50 to 60%.

The experimental area has suffered some external influences, such as pests, rabbits attack and frost on June, in addition, the seedlings were planted out of rainy season, in the fall, thus there was a decrease in sample size of 60%.

Number of spores and root colonization

Soil collected before establishment of experiment presented 28 spores / g, but *Brachiaria* sp. roots were 83% colonized by internal hyphae.

At the end of the experiment we found 28 spores / g of in mycorrhizal plants of guapuruvu and 50% of colonized roots, little differing of the control that presented 19 spores / g of soil and 30% of colonized guapuruvu roots.

Discussion

At the end of experiment, soil with plants colonized by AM fungi presented the same number of spores that soil of experiment beginning and they did not present large difference for number of spores in soil when compared with control, revealing low colonization at the end of experiment. Root colonization by AM fungi can be slow, resulting on limited plant response to mycorrhization. Depression of the inoculated plant growth can occur on the early stages of colonization mainly in native trees from succession group of the pioneers which have a high growth rate, as guapuruvu (Nogueira & Cardoso, 2000; Zangaro et al., 2003; Zangaro et al., 2007). From 60 days, guapuruvu showed significant responses to treatment with fertilizer compared to inoculated plants. The results showed that in the inicial stages the inoculation with microorganisms appears to be inefficient.

The high concentration of P in experimental soil (24.0 mg dm⁻³) may have influenced the establishment of the symbiosis between AMF and guapuruvu, since the AMF is subject to the inhibitory effects of high doses of P (Nogueira & Cardoso, 2000; Smith & Read, 1997; Kiriachek et al., 2009; Bressan & Vasconcellos, 2002). Flores-Aylas et al. (2003) observed that the growth of tree seedlings decreased a response by inoculation when P level was low. The seedlings showed a

moderate dependence of mycorrhiza for their development, not responding to the AMF in high P. The increased availability of phosphorus generally leads to a reduction of colonization in roots. It can be attributed to a higher cost of nutrient uptake by mycorrhiza root and/or a low efficiency of nutrients use by increasing of nutrients availability (Grandcourt et al., 2004). Moreover, P can affect the root exudate (Graham et al., 1981), phytohormones balance (Lambais & Mehdy,1993) and sugar in roots, expression of plant defense genes and molecular signaling during infection and colonization (Lambais & Mehdy,1995; Kiriachek et al., 2009). Aidar et al. (2004) found a decrease in root colonization by fungi in the Atlantic Forest from southeastern Brazil and suggested that the AM fungi colonization decreases with increasing soil fertility. Carneiro et al. (1998) found a low incidence of arbuscular mycorrhiza in *Schizolobium parahyba*.

In some cases, several species or fungal isolates exhibit high capability of colonization, but can be little effective in benefiting the plant. This arises from the particularity of the fungus or the plant, which, even with symbiosis, does not benefit of the relationship in terms of growth (Helgason, 2002).

Several factors influence the symbiotic effectiveness of *Rhizobium* strains under field conditions such as temperature, soil acidity, nutrient concentration and plant to be inoculated. These factors together can promote loss of response to inoculation, decreasing efficiency of plant to establish a symbiotic relationship with bacteria (Moraes et al., 2010). Both Oliveira (1999) and Barberi et al. (1998) analyzing rhizobia of leguminous did not detect the presence of nodules on plants of the subfamily Caesalpinioideae such as *Schizolobium parahyba*. The absence of nodulation in Caesalpinioideae may be related to the fact of this subfamily contain genera of tree species more archaic in the scale of evolution of species and they are unable to nodulate. Nodulation appears to be a feature that was established after and because of it, is widely distributed in the most advanced leguminous (Barberi et al., 1998).

Souza et al. (2011) verified that guapuruvu is very susceptible to frost and obtained 100% of tested plants damaged suffering losses in height growth. Carvalho (2003) also concluded that *S. parahyba* not tolerate low temperatures. The highest survival rates observed in the plants of fertilizer treatment suggests that the greater development provided by fertilizer conferred certain weather resistance by plant.

The planting carried out in autumn and therefore out of rainy season, and frost occurred on June affected plant development and decreased the sample population. However, we found that *Schizolobium parahyba* var. *parahyba* responds very well to fertilization, because plant growth and survival were increased by fertilizer when compared with unfertilized plants.

However, we suggest a longer period of experimental evaluation for guapuruvu begin to respond to the associations with microorganisms, because inoculation is less efficient in the first months after planting in fast-growing species such as *Schizolobium*. We also suggest some sensibility of *S. parahyba* by high levels of P in soil, since there were no large quantities of spores and roots colonized in plants with AM fungi and their treatments were not significantly different.

REFERENCES

- Abd-alla MH, Omar SA & Karanxha S. 2000. The impact of pesticides on arbuscular mycorrhizal and nitrogen-fixing symbioses in legumes. *Applied Soil Ecology* 14 : 191-200.
- Aidar MPM, Carrenho R & Joly CA. 2004. Aspects of arbuscular mycorrhizal fungi in an Atlantic Forest chronosequence. *Biota Neotropica* 4:1–15.
- Alvino-Rayol FO, Rosa LS & Rayol BP. Effect of spacing and of the use of cover legumes in the management of weed in *Schizolobium amazonicum* Huber ex. Ducke plantation. 2011. *Revista Árvore* 35: 391-399.
- Andrade G. 2004. Role of functional groups of microorganisms on the rhizosphere microcosm dynamics. Pp 51-68 in: Varma, A.; Abbott, L.; Werne, D.; Hampp, R (Eds). *Plant Surface Microbiology*. Springer-Verlag, New York.
- Artusoon V, Finlay RD & Jansson JK. 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental Microbiology* 8: 1-10 .
- Barberi A, Carneiro MAC, Moreira FMS & Siqueira JO. 1998. Nodulation in leguminous forest species in nursery conditions at south Minas Gerais state. *Cerne* 4: 145-153.
- Barea JM, Pozo MJ, Azcón R & Azcón-Aguilar C. 2005. Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 56: 1761-1778.
- Bhowmik SN & Singh CS. 2004. Mass multiplication of AM inoculum; effect of plant growth-promoting rhizobacteria and yeast in rapid culturing of *Glomus mosseae*. *Current Science* 86 : 705- 709.
- Biró B, Koves-Pechy K, Vors I, Takacs T, Eggenberg P & Strasser RJ. 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. *Applied Soil Ecology* 15: 159-168.
- Bressan W & Vasconcellos CA. 2002. Morphological alterations on root system of maize induced by mycorrhizal fungi and phosphorus. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37: 509-517.
- Callado CH & Guimarães RC. 2010. Tree-ring study of *Schizolobium parahyba* (Leguminosae: Caesalpinioideae) after a mortality episode in Ilha Grande, Rio de Janeiro state. *Revista Brasileira de Botânica* 33: 85-91.
- Carneiro MAC, Siqueira JO, Moreira FMS, Carvalho D, Botelho SA & Saggin-Junior OJ. 1998. Occurrence of the arbuscular mycorrhiza in native woody species in southeastern Brazil. *Cerne* 4: 129-144.
- Carvalho PER. 2003. Brazilian tree species. *Brasília: Embrapa technological information; Colombo – Paraná: Embrapa Florestas* 1: 1039.

- Fajardo S. 2007. Aspects of the occupation, formation of the productive structure and transformations in the agricultural landscape in Paraná State Territory (Brazil). *Caminhos de Geografia* 20: 89-101.
- Flores-Aylas WW, Saggin-Júnior OJ, Siqueira JO & Davide AC. 2003. Effects of *Glomus etunicatum* and phosphorus on initial growth of woody species at direct seeding. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 38: 257-266.
- Fundação SOS Mata Atlântica. 2011. Atlas of the Atlantic Forest Remnants: Period 2008 - 2010 (Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica: Período 2008 - 2010). *Partial Report*. In: <<http://www.sosma.org.br>>.
- Graham JH, Leonard RT & Menge JA. 1981. Membrane mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *Plant Physiology* 68: 548-552.
- Grandcourt A, Epron D, Montpied P, Louisanna E, Béreau M, Garbaye J & Guehl JM. 2004. Contrasting responses to mycorrhizal inoculation and phosphorus availability in seedlings of two tropical rainforest tree species. *New Phytologist* 161: 865-875.
- Helgason T, Merryweather JW, Denison J, Wilason P, Young JP & Fitter AH. 2002. Selectivity and functional diversity in arbuscular mycorrhizas of co-occurring fungi and plants from a temperate deciduous woodland. *Journal of Ecology* 90:371-384.
- Hernández-Ortega HA, Alarcón A, Ferrera-Cerrato R, Zavaleta-Mancera HA, López-Delgado HA & Mendoza-López MR. 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi on growth, nutrient status, and total antioxidant activity of *Melilotus albus* during phytoremediation of a diesel-contaminated substrate. *Journal of Environmental Management* 95: 319-324.
- IAPAR. Agronomic Institute of Paraná (Instituto Agrônômico do Paraná). 2000. *Cartas climáticas do Estado do Paraná*. In: <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=677>
- IPARDES. Paraná Institute of Economic and Social Development (Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social). 2010. Environmental indicators for river basins of the State of Paraná. Pp 223. *Technical Note IparDES*. Curitiba, Brazil.
- Kiriachek SG, Azevedo LCB, Peres LEP & Lambais MR. 2009. Regulation of arbuscular mycorrhizae development. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 33:1-16.
- Lambais MR & Mehdy MC. 1993. Suppression of endochitinase, b-1-3-endoglucanase, and chalcone isomerase expression in bean vesicular arbuscular mycorrhizal roots under different soil phosphate conditions. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 6: 75-83.
- Lambais MR & Mehdy MC. 1995. Differential expression of defense-related genes in arbuscular mycorrhiza. *Canadian Journal of Botany* 73: 533-540.

- Lewis GP. 2010. *Schizolobium* in List of Species of Flora from Brazil (*Schizolobium* in Lista de Espécies da Flora do Brasil). Botanical Garden of Rio de Janeiro. In: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB023142>.
- Marin M, Mena J, Franco R, Pimentel E & Sánchez I. 2010. Effects of the bacterial-fungal interaction between *Tsukamurella paurometabola* C 924 and *Glomus fasciculatum* and *Glomus clarum* fungi on lettuce microrrhizal colonization and foliar weight. *Bioteecnología Aplicada* 27:48-51.
- Miyauchi MYH, Lima DS, Nogueira MA, Lovato GM, Murate LS, Cruz MF, Ferreira JM, Zangaro W & Andrade G. 2008. Interactions between diazotrophic bacteria and mycorrhizal fungus in maize genotypes. *Scientia Agricola* 65: 525-531.
- Moraes WB, Martins Filho S, Garcia GO, Caetano PS, Moraes WB & Cosmi FC. 2010. Evaluation of biological fixation of nitrogen in *Rhizobium* under water deficit. *Idesia* 28: 61-68.
- Nogueira MA & Cardoso EJBN. 2000. External mycelium production by arbuscular mycorrhizal fungi and growth of soybean fertilized with phosphorus. *Revista Brasileira de Ciência Solo* 24: 329-338.
- Oliveira DMT. 1999. Morphology of seedlings and saplings of 30 tree species of Leguminosae. *Acta Botanica Brasilica* 13: 263-269.
- Pietrobon RCV & Oliveira DMT. 2004. Morphology, anatomy and development of *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Fabaceae, Caesalpinioideae) pericarp. *Revista Brasileira de Botânica* 27: 767-779.
- Raimam MP, Albino U, Cruz MF, Lovato GM, Spago F, Ferracin TP, Lima DS, Goulart T, Bernardi CM, Miyauchi M, Nogueira MA & Andrade G. 2007. Interaction among free-living N-fixing bacteria isolated from *Drosera villosa* var. *villosa* and AM fungi (*Glomus clarum*) in rice (*Oryza sativa*). *Applied Soil Ecology* 35: 25–34.
- Sala VMR, Freitas SS & Silveira APD. 2007. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and diazotrophic bacteria in wheat plants. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 42: 1593-1600.
- Schiavo J & Martins MA. 2003. Production of Acacia plants colonized with mycorrhizas and rhizobium in different recipients. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 38: 173-178.
- Sereda F, Reissmann CB, Marques R & Britez RM. 2008. Nutritional aspects of seeds and plantule of guapuruvu developed in two substrates. *Scientia Agraria* 9: 579-575.
- Siviero MA, Motta AM, Lima DS, Birolli RR, Huh SY, Santinoni IA, Murate LS, Castro CMA, Miyauchi MYH, Zangaro W, Nogueira MA & Andrade G. 2008. Interaction among N-fixing bacteria and AM fungi in Amazonian legume tree (*Schizolobium amazonicum*) in field conditions. *Applied soil ecology* 39: 144–152.

- Smith SE & Read DJ. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. Pp 605. 2.ed. Academic Press, New York.
- Souza VQ, Caron BO, Schmidt D, Behling A, Bamberg R, Vian AL. 2011. Resistance of arboreal species submitted to extreme frost in different agroforestry systems. *Ciência Rural* 41: 972-977.
- Vincent JM. 1970. *A manual for the practical study of root-nodules bacteria*. Pp 159. Brackwell Science Publication, Oxford.
- Zangaro W, Nisizaki SMA, Domingos JCB & Nakano EM. 2003. Mycorrhizal response and successional status in 80 woody species from south Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 19: 315–324.
- Zangaro W, Nishidate FR, Vandresen J, Andrade G, Nogueira MA. 2007. Root mycorrhizal colonization and plant responsiveness are related to root plasticity, soil fertility and successional status of native woody species in southern Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 23:53–62.