

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE SOLO
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA EM AGROBIOLOGIA**

**Associação de Bactérias Diazotróficas e Fungos Micorrízicos Arbusculares em
Mudas de Pupunheira (*Bactris gasipaes* H.B.K.) e de Dendezeiro
(*Elaeis guineensis* Jaquim.)**

ANDRÉ RICARDO VIEIRA DE CARVALHO

**COMITÊ DE ORIENTAÇÃO: ELIANE MARIA RIBEIRO DA SILVA
JOHANNA DOBEREINER**

Tese submetida como requisito
parcial para a obtenção do grau
Magister Scientie em Agronomia
Área de Concentração em Ciência
do Solo.

**Seropédica - Rio de Janeiro
Junho de 1997**

TÍTULO DA TESE

**Associação de Bactérias Diazotróficas e Fungos Micorrízicos Arbusculares em
Mudas de Pupunheira (*Bactrisgasipaes* H.B.K.) e de Dendezeiro
(*Elaeis guineensis* Jaquim.)**

AUTOR: ANDRÉ RICARDO VIEIRA DE CARVALHO

Aprovado em: 30 Junho de 1997.

Banca Examinadora:

ELIANE MARIA RIBEIRO DA SILVA *Eliane Maria Ribeiro da Silva*

JOHANNA DOBEREINER *Johanna Doberiner*

RICARDO LUIS LOURO BERBARA *Ricardo Louro Berbara*

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE SOLO
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA EM AGROBIOLOGIA**

**Associação de Bactérias Diazotróficas e Fungos Micorrízicos Arbusculares em
Mudas de Pupunheira (*Bactris gasipaes* H.B.K.) e de Dendezeiro
(*Elaeis guineensis* Jaquim.)**

ANDRÉ RICARDO VIEIRA DE CARVALHO

**Seropédica - Rio de Janeiro
Junho de 1997**

A minha mãe Janyr Vieira de Carvalho, pessoa que eu tanto amo e tenho todo o carinho e estimação do mundo, e de onde herdei esta força de vontade de querer vencer na vida; a meu pai, cujo o amor, carinho e dedicação para com a minha pessoa anulou qualquer barreira e a minha querida esposa, pela qual sou um eterno apaixonado Jucivalda Souza de Carvalho e por fim a minha filha Jéssika Souza de Carvalho que é a Razão da Minha Vida

AGRADECIMENTO ESPECIAL1

A minha eterna amiga, querida, e inesquecível Orientadora, **Dra Eliane Maria Ribeiro da Silva**, pelos seus ensinamentos e grande ajuda nos caminhos mais difíceis desta vitória, como também a minha Co-orientadora **Dra Johanna Dobereiner**, ao qual tenho muito muito respeito; pela grande ajuda, estima, dedicação e carinho pela minha pessoa durante todo o tempo desta trabalho.

AGRADECIMENTO ESPECIAL 2

Ao colega Kleber Cozzolino, pelos ensinamentos sobre bactérias diazotróficas, aos Pesquisadores da *Embrapa Agrobiologia* Francisco Adriano de Souza e Dra Vera Lúcia Divan Baldani pela imensa ajuda, estima, consideração, carinho e pelos momentos que necessitei de ajuda que nunca foram negados.

HOMENAGEM ETERNA

Ao meu Grande Querido e Amigo Andrey Cristian Ferreira, que seja lá onde estiver eu vou lembrar da sua grande consideração com a minha pessoa.

AGRADECIMENTOS

Ao Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia pela Infra-estrutura.

Ao Professor Gabriel Araújo de Souza, coordenador do Curso de Pós Graduação em Ciência do Solo da UFRRJ, por ter me aceitado neste curso.

A chefe deste Centro de Pesquisa Dra. Maria Cristina Prata Neves e em especial aos funcionários da Biblioteca Dorimar e Sérgio.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa Científica- CNPq, pelo aporte financeiro

A todos os Funcionários do Departamento de Solos em especial ao Nilson e ao Anselmo.

Aos Funcionários da *Embrapa Agrobiologia* Jair; Nilda; Rita; Vanderlei; Itamar; Geraldo Baeta, Carlinhos; Jorge da Biblioteca; Altiberto; Rodrigo; Vânia, Lúcia; Vanderlei Andrade; Ivan; Bolão; Mazinho; Adilson; Grejio; Moa, Alberto Frideen; Helvécio de Polli; Verônica Massena Reis; Danielle; Marcelo; Tereza Cristina; Dona Terezinha; Palmira; Jací; Sebastião; João; Vanderlei e Avílio Franco.

Aos Funcionários da Casa de Vegetação da *Embrapa Agrobiologia* José Vicente; Claudinho; Calico; Serginho; Naldo; Helinho; Jorge Carlos; João, Paulo do Terraço.

A minha Família em Especial às minhas irmãs Ana Carla Carvalho e Daniela Carvalho, como também às minhas Tias Margarida Carvalho e Helciana de Carvalho; Tio Reinaldo; Tio Jonas; Tio Raimundo e ao Tio Mirinho.

Aos meus colegas de turma José Roberto, Fabão; Jean; Stiil; José Geraldo; Marcos Vinícius; Severino, Júlio; Armando; Rosa Matos; Olmar Weber; Fabinho e Eide Simões.

Ao Sérgio e ao Edimilson (Vigilantes do Prédio Novo).

Aos professores da Pós Graduação do Curso de Ciência do Solo da UFRRJ.

Ao colegas do Alojamento e a Dona Luíza

Ao Pesquisador da PESAGRO Marco Antônio pela ajuda na Estatística

Em fim a todas as pessoas que me ajudaram nesta caminhada difícil.

Os meus Agradecimentos

André Ricardo Vieira de Carvalho

BIBIOGRAFIA DO AUTOR

André Ricardo Vieira de Carvalho, filho de Antônio Cleber de Carvalho e Janyr Vieira de Carvalho, nasceu em Salvador-Bahia, em 2 de Julho de 1967.

Concluiu o 2º grau na Escola Média de Agropecuária da Ceplac em 1987 e fez o Curso de Engenharia Agrônômica na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, onde concluiu em 3 de Março de 1995. Após o término da Graduação ingressou de imediato no Curso de Pós Graduação em Ciência do Solo na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO GERAL.....	xvii
GENERAL ABSTRACTS.....	xxi
1.0 INTRODUÇÃO.....	01
2.0 OBJETIVOS.....	07
3.0 REVISÃO DE LITERATURA.....	08
3.1 Importância Econômica da Cultura do Dendezeiro.....	08
3.2 Exigências Nutricionais do Dendezeiro.....	10
3.3 Alguns Aspectos Edafoclimáticos do Dendezeiro.....	15
3.4 Importância Econômica da Cultura da Pupunheira.....	15
3.5 Exigências Nutricionais da Pupunheira.....	17
3.6 Condições Edafoclimáticas da Pupunheira.....	19
3.7 Associações de Bactérias Diazotróficas em Palmeiras e em algumas Culturas de Importância Econômica.....	19
3.8 Exigências Nutricionais do Dendezeiro.....	23
3.9 Associação de Bactérias Diazotróficas e FMA em não Leguminosas.....	28
3.10 Aspectos Ecofisiológicos e alguns Pontos Importantes do Manejo de Fungos micorrízicos Arbusculares.....	41
3.11 Aspectos Ecofisiológicos e alguns Pontos Importantes do Manejo de Bactérias Diazotróficas.....	49

4.0 MATERIAL E MÉTODOS.....	53
4.1 Aquisição de material de plantas de diferentes genótipos de dendezeiro e pupunheira adultas na região produtora de Una-BA para determinação de Bactérias Diazotróficas e de Fungos Micorrízicos Arbusculares.....	53
4.2 EXPERIMENTOS.....	57
4.2.1 Experimento N ° 1.....	57
4.2.2 Parâmetros avaliados do experimento 1.....	60
4.2.3 Experimento N ° 2.....	62
4.2.4 Parâmetros avaliados do experimento 2.....	66
5.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES DO EXPERIMENTO 1..... (MUDAS DE PUPUNHEIRA)	69
6.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES DO EXPERIMENTO 2..... (MUDAS DE DENDEZEIRO)	126
7.0 QUANTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS EM TRÊS GENÓTIPOS DE DENDEZEIROS E DE UM GENÓTIPO DE PUPUNHEIRA EM IDADE ADULTA NA REGIÃO DE UNA, NO SUL DO ESTADO DA BAHIA. (ÉPOCA DA COLETA: MEADOS DO OUTONO).....	203
8.0 LEVANTAMENTO E QUANTIFICAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM TRÊS GENÓTIPOS DE DENDEZEIROS E DE UM GENÓTIPO DE PUPUNHEIRA EM IDADE ADULTA NA REGIÃO DE UNA, NO SUL DO ESTADO DA BAHIA. (ÉPOCA DA COLETA: MEADOS DO OUTONO).....	211
9.0 CONCLUSÕES FINAIS.....	217
10.0 LITERATURA CITADA.....	219

ÍNDICES DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Diâmetro à altura do colo em mudas de pupunheira após 90 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares	107
Figura 2. Altura, medida do colo até a inserção da folha mais nova, em mudas de pupunheira, após 90 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares	108
Figura 3. Diâmetro à altura do colo em mudas de pupunheira após 180 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares	109
Figura 4. Altura, medida do colo até a inserção da folha mais nova, em mudas de pupunheira, após 180 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	110
Figura 5. Diâmetro à altura do colo em mudas de pupunheira após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares	111
Figura 6. Altura, medida do colo até a inserção da folha mais nova, em mudas de pupunheira, após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	112
Figura 7. Área Foliar de mudas de pupunheira após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	113
Figura 8. Peso de raízes secas de mudas de pupunheira após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	114
Figura 9. Peso de parte aérea seca de mudas de pupunheira após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	115
Figura 10. Nitrogênio total nas raízes de mudas de pupunheira, 270 dias após a inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	116
Figura 11. Nitrogênio total na parte aérea de mudas de pupunheira, 270 dias após a inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	117
Figura 12. Fósforo total nas raízes de mudas de pupunheira, 270 dias após a inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	118
Figura 13. Fósforo total na parte aérea de mudas de pupunheira, 270 dias após a inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	119
Figura 14. Potássio total nas raízes de mudas de pupunheira, 270 dias após a inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	120

Figura 15. Potássio total na parte aérea de mudas de pupunheira, 270 dias após a inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	121
Figura 16. Porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares em mudas de pupunheira, 270 dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	122
Figura 17. Número de esporos de <i>Glomus clarum</i> encontrados em 50 ml de solo de rizosfera de mudas de pupunheira após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	123
Figura 18. População total de bactérias diazotróficas nos meios Nfb, LGI, JMV e JNFb em raízes de mudas de pupunheira, 270 dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	124
Figura 19. População total de bactérias diazotróficas em parte aérea nos meios Nfb, LGI, JMV e JNFb de mudas de pupunheira, 270 dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	125
Figura 20. Diâmetro à altura do colo em mudas de dendezeiro após 90 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares	177
Figura 21. Altura, medida do colo até a inserção da folha mais nova, em mudas de dendezeiro, após 90 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares	178
Figura 22. Diâmetro à altura do colo em mudas de dendezeiro após 180 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares	179
Figura 23. Altura, medida do colo até a inserção da folha mais nova, em mudas de dendezeiro, após 180 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	180
Figura 24. Diâmetro à altura do colo em mudas de dendezeiro após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares	181
Figura 25. Altura, medida do colo até a inserção da folha mais nova, em mudas de dendezeiro, após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares	182
Figura 26. Área Foliar de mudas de dendezeiro após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	183
Figura 27. Peso de raízes secas de mudas de dendezeiro após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	184
Figura 28. Peso de parte aérea seca de mudas de dendezeiro após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	185

Figura 29. Nitrogênio total nas raízes de mudas de dendezeiro, 270 dias após a inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	186
Figura 30. Nitrogênio total na parte aérea de mudas de dendezeiro, 270 dias após a inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	187
Figura 31. Fósforo total nas raízes de mudas de dendezeiro, 270 dias após a inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	188
Figura 32. Fósforo total na parte aérea de mudas de dendezeiro, 270 dias após a inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	189
Figura 33. Potássio total nas raízes de mudas de dendezeiro, 270 dias após a inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	190
Figura 34. Potássio total na parte aérea de mudas de dendezeiro, 270 dias após a inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	191
Figura 35. Porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares em mudas de dendezeiro, 270 dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	192
Figura 36. Número total de esporos de <i>Glomus clarum</i> , <i>S.heterogama</i> e <i>S. gregaria</i> encontrados por 50 ml de substrato oriundo de rizosfera de mudas de dendezeiro após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	193
Figura 37 . Número total de esporos de <i>Glomus clarum</i> encontrados por 50 ml de substrato oriundo de rizosfera de mudas de dendezeiro após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	194
Figura 38. Número total de esporos de <i>S. heterogama</i> encontrados por 50 ml de substrato oriundo de rizosfera de mudas de dendezeiro após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	195
Figura 39. Número total de esporos de <i>S. gregaria</i> encontrados por 50 ml de substrato oriundo de rizosfera de mudas de dendezeiro após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	196
Figura 40. Número total de esporos de <i>Glomus clarum</i> , <i>S.heterogama</i> e <i>S. gregaria</i> encontrados por 50 ml de substrato oriundo de rizosfera de mudas de dendezeiro após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares no tratamento 5	197
Figura 41. Número total de esporos de <i>Glomus clarum</i> , <i>S.heterogama</i> e <i>S. gregaria</i> encontrados por 50 ml de substrato oriundo de rizosfera de mudas de dendezeiro após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares no tratamento 6.	198

Figura 42. Número total de esporos de <i>Glomus clarum</i> , <i>S.heterogama</i> e <i>S. gregaria</i> encontrados por 50 ml de substrato oriundo de rizosfera de mudas de dendezeiro após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares no tratamento 7.	199
Figura 43. Número total de esporos de <i>Glomus clarum</i> , <i>S.heterogama</i> e <i>S. gregaria</i> encontrados por 50 ml de substrato oriundo de rizosfera de mudas de dendezeiro após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares no tratamento 8 (FMA + N-mineral sem inoculação de bactérias diazotróficas).	200
Figura 44. População total de bactérias diazotróficas nos meios JNFb, LGI, JMV e NFb em raízes de mudas de dendezeiro, 270 dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	201
Figura 45. População total de bactérias diazotróficas nos meios JNFb, LGI, JMV e NFb em parte aérea de mudas de pupunheira, 270 dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.	202
Figura 46. Número de esporos por 50 ml de solo rizosférico, oriundo de 3 genótipos diferentes de dendezeiro adultos.	214
Figura 47. Porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares em 3 diferentes genótipos de diferentes de dendezeiro adultos.	215
Figura 48. Número de esporos por 50 ml de solo rizosférico e porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por FMA colonização oriundo do genótipo alaranjado (Pupunheira).	216

RESUMO GERAL

A Pupunha (*Bactris gasipaes* H.B.K.) e do Dendê (*Elaeis guineensis* Jaquim.), são duas palmeiras de grande importância na atividade agrícola, principalmente nos países tropicais. O dendezeiro pelo seu potencial na produção e rendimento de óleo de alto poder calorífico como também para uso na Indústria Alimentícia. Quanto à Pupunha, esta pode produzir precocemente palmito de boa qualidade e frutos ricos em beta carotenos e amido, além de possuir uma quantidade satisfatória de óleos insaturados. Para comprovar a eficiência das bactérias diazotróficas endofíticas e dos fungos micorrízicos arbusculares na contribuição da nutrição nitrogenada e fosfática para as mudas destas palmeiras, foram conduzidos em casa de vegetação dois experimentos de inoculação com estes microrganismos. O experimento com as mudas de Pupunheira, teve como substrato, 70% de solo do horizonte B de Podzólico Vermelho-amarelo (Alfissol); 20 % de areia lavada, 10 % de Fosfato de rocha Patos de Minas e 2,11g de FTE Br 12 para cada 3 kg da mistura. O ensaio foi conduzido em blocos ao acaso, utilizando recipientes de polietileno contendo 3 kg de substrato com 10 repetições e 8 tratamentos representados pela Testemunha (T1); 14 mg de N por planta a cada 25 dias (T2); inoculação com uma mistura de 3 bactérias diazotróficas, isoladas de raízes de pupunheira e de dendezeiro, sendo 2 espécies de *Herbaspirillum* e uma espécie de *A. brasilense* sem o *G. clarum* (T 3); inoculação de uma mistura de estirpes padrões de *Azospirillum lipoferum* (260), *Herbaspirillum seropedicae* (Z 67) e *Burkholderia* sp (M130) sem a inoculação do *G. Clarum* (T4); inoculação do fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum* sem bactérias diazotróficas (T5); tratamento 3 com a inoculação conjunta do *Glomus clarum* (T6); tratamento 4 com a inoculação conjunta do *Glomus clarum* (T 7) e o tratamento 8, onde as plantas eram fertilizadas com nitrogênio (14 mg de N por planta a cada 25 dias) e inoculadas com o *Glomus clarum*. As mudas foram mantidas nestas condições por 270 dias após a inoculação. Utilizou-se para este ensaio plântulas pré germinadas de pupunheiras sem espinhos, oriundas de Santa Maria Madalena-RJ. As bactérias diazotróficas foram inoculadas no

momento do plantio destas plântulas nos recipientes com turfa na quantidade de 9,53 g . recipiente⁻¹, contendo 10⁸ . cél . g⁻¹ . A inoculação do FMA foi feita utilizando 1 ml de suspensão contendo aproximadamente 30 esporos de *Glomus clarum* por planta. Quanto ao experimento com as mudas de Dendezeiro, este teve como substrato 45% de solo do horizonte B de um Podzólico Vermelho-amarelo (Alfissol); 45 % de areia lavada e 10 % de Fosfato de rocha Patos de Minas e 2,11g de FTE Br 12 para cada 3 kg da mistura. O experimento foi conduzido em blocos ao acaso, utilizando recipientes de polietileno contendo 3 kg de substrato, constando de 12 repetições e 9 tratamentos: testemunha (T1); 14 mg de N na forma de (NH₄)₂SO₄ a cada 25 dias (T2); inoculação com uma mistura de 3 bactérias diazotróficas, isoladas de raízes de pupunheira e de dendezeiro, sendo 2 espécies de *Herbaspirillum* e uma espécie de *A. brasilense* sem o *G. clarum* (T3); inoculação de uma mistura de estirpes padrões de *Azospirillum* spp (260 e Br 17), *H. seropedicae* (Z 67) e a estirpe M130 de *Burkholderia* sp (T4), mistura dos FMA *Scutellospora heterogama*, *S. gregaria* e *Glomus clarum* (T5), tratamento 3 mais os FMA (T6), tratamento 4 mais os FMA (T7), 14 mg de N a cada 25 dias mais o tratamento cinco (T8); os tratamentos 3 e 4 sem os FMA (T9). As mudas ficaram 270 dias após a inoculação. Foram utilizadas plântulas de dendezeiro com 45 dias após a germinação, retiradas de plantas adultas do genótipo Dupey oriundas da CEPLAC-Bahia. As bactérias diazotróficas foram inoculadas no momento do plantio das plântulas nos recipientes, utilizando-se 2 ml . recipiente⁻¹ de uma suspensão bacteriana, contendo 10⁸ cél . ml⁻¹. A inoculação dos FMAs foi feita com 3 ml de suspensão de esporos. Sendo 1 ml contendo 100 esporos de *S. heterogama*, 1 ml com 100 esporos de *S. gregaria* e 1ml contendo 100 esporos de *G. clarum*. Tanto no ensaio de inoculação com mudas de pupunheira, como também com as mudas de dendezeiro o tratamento micorrizado nitrogenado foi o que apresentou o comportamento mais satisfatório dentre os demais tratamentos impostos. As duas espécies de palmeiras utilizadas neste trabalho expressaram um grau elevado de dependência ao nitrogênio em estágio de mudas. A interação individualmente de estirpes padrões ou de isolados de palmeiras, não se mostrou satisfatória para a maioria dos parâmetros analisados em ambos os experimentos. A interação de ambos os grupos de bactérias diazotróficas utilizadas nos ensaios, com os fungos micorrízicos não evidenciou um comportamento satisfatório para a maioria dos parâmetros analisados, sendo, no entanto, nunca inferiores à testemunha. As estirpes padrões, quando inoculadas conjuntamente com as bactérias diazotróficas oriundas de palmeiras contribuíram para uma melhoria de área foliar, conteúdo total de nitrogênio nas raízes, peso da parte aérea seca, como também do diâmetro e

altura das mudas de dendezeiro ao final do ensaio. O tratamento com o fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum* utilizado no ensaio com a pupunheira em nenhum momento mostrou-se inferior a testemunha, sendo em alguns parâmetros superiores a esta. As três espécies de fungos micorrízicos arbusculares utilizadas no ensaio com o dendezeiro, quando não eram inoculadas conjuntamente com as diazotróficas contribuíram para a melhoria da nutrição fosfática, como também para a nutrição potássica.

Coletou-se também amostras de tecido de raízes, folhas e de frutos (endosperma da semente e mesocarpo) para quantificação e isolamento de bactérias diazotróficas em plantações adultas de Dendê (*Elaeis guineensis* Jaquim.) e de Pupunha (*Bactris gasipaes* H.B.K.), na Estação Experimental da CEPLAC “Lemos Maia”, na cidade de Una-BA. Amostras estas, de três genótipos de Dendê (Dura Comum, Dura Dupey e Tenera), e de um genótipo de Pupunha (Alaranjada), sendo cinco amostras simples escolhidas ao acaso para formar cada amostra composta. Sendo que de cada parte da planta de cada genótipo amostrada se obteve uma amostra composta. No momento desta coleta também procedeu-se a coleta de solo de rizosfera e raízes finas destas palmeiras para quantificação e levantamento da ocorrência das principais espécies de FMA que se encontravam na área, sendo 4 repetições para cada média obtida. Foi detectada a presença de bactérias diazotróficas em raízes, colmo, endosperma da semente e mesocarpo do fruto de plantas adultas dos 3 genótipos de dendezeiro e no único genótipo de pupunheira analisado, sendo que essas bactérias não foram encontradas na parte aérea destas plantas. As principais espécies de fungos micorrízicos arbusculares observadas foram *Glomus macrocarpum*; *Glomus* sp 1 e *Acaulospora* sp 1 na rizosfera dos genótipos Dupey e Dura Comum. Quanto as principais espécies de FMA encontradas na rizosfera do genótipo Tenera foram *Glomus* sp 1, *Acaulospora* sp 1 e *Acaulospora* sp 2, como também a espécie *Glomus macrocarpum*. As espécies que predominaram na rizosfera do genótipo alaranjada (Pupunha), foram *Acaulospora* sp 2, *Glomus* sp 1 e *Glomus macrocarpum*. A porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares de todas os genótipos de dendezeiro, como também do genótipo de pupunheira alaranjada foi muito baixa, sendo que entre os três genótipos de dendezeiro estudados não havia diferenças marcantes. O número de esporos encontrados para cada 50 cm³ de solo de rizosfera nas plantas não diferia estatisticamente entre si nos três genótipos de dendezeiro analisados. Este variou de 357 no genótipo Dupey a 485 no genótipo Dura Comum.

GENERAL ABSTRACT

The oil palms *Bactris gasipaes* H.B.K. (Pejibaye) and *Elaeis guineensis* Jaquim. (Oil palm), are of great agronomic importance for tropical agriculture. The selection of Oil Palms is due to its high production and yield of oil with large calorific value. The Pejibaye can produce palmhearts of very good quality and fruits of high contents in B - carotene and starch besides low saturated oils for human consumption. Two green house experiments were conducted to evaluate effects of inoculation with diazotrophic and arbuscular mycorrhizae fungi. In experiments with Pejibaye the treatments consisted of absolute control (T1); 14 mg of N per pot without arbuscular mycorrhizae fungi (T2); inoculation with diazotrophic isolates from Pejibaye *Azospirillum brasilense* (23 B) and two isolates of *Herbaspirillum* sp (8 A e 7 C) without *Glomus clarum* (T3); *Azospirillum lipoferum* (260), *Herbaspirillum seropedicae* (Z 67) and *Burkholderia brasilense* (M 130) without arbuscular mycorrhizae fungi *Glomus clarum* (T4); *Glomus clarum* without N application (T5); inoculation with diazotrophic isolates from Pejibaye *Azospirillum brasilense* (23 B) and two isolates of *Herbaspirillum* sp (8 A e 7 C) with *Glomus clarum* (T6); *Azospirillum lipoferum* (260), *Herbaspirillum seropedicae* (Z 67) and *Burkholderia brasilense* (M 130) with arbuscular mycorrhizae fungi *Glomus clarum* (T7); 14 mg of N per pot with arbuscular mycorrhizae fungi *Glomus clarum* (T8). The plant seedlings were grown in pots containing 70% red-podzolic soil (Alfissol), 20% washed sand, 10% rock phosphate from Patos de Minas and 2,11g per pot of FTE Br 12. This substrate was fumigated three times with methyl bromate with an interval of one week. The inoculation was done with 9,53 g of sterilised turf containing 10^8 cells of each diazotrophic strain. The inoculation with arbuscular-mycorrhizae was done with 1 ml suspension

containing 30 spores of *Glomus clarum* per pote. The experiment was set up in randomized blocks with 10 replicates where the following analyses were done 90, 180 and 270 days after planting: N, P and K total in shoots and roots, leaf area, hight and diameter of stems. In experiments with Oil Palms the treatments consisted of of absolute control (T1); 14 mg of N without arbuscular mycorrhizae fungi per pot (T2); inoculation with diazotrophic isolates from Pejibaye *Azospirillum brasilense* (23 B) and two isolates of *Herbaspirillum* sp (8 A e 7 C) without arbuscular mycorrhizae fungi (T3); *Azospirillum lipoferum* (260 and Br 17), *Herbaspirillum seropedicae* (Z 67) and *Burkholderia brasilense* (M 130) without arbuscular mycorrhizae fungi (T4); *Glomus clarum*, *Scutellospora heterogama* and *Scutellospora gregaria* without N application (T5); inoculation with diazotrophic isolates from Pejibaye *Azospirillum brasilense* (23 B) and two isolates of *Herbaspirillum* sp (8 A e 7 C) with arbuscular mycorrhizae fungi *Glomus clarum*, *Scutellospora heterogama* and *Scutellospora gregaria* (T6); *Azospirillum lipoferum* (260 and Br 17), *Herbaspirillum seropedicae* (Z 67) and *Burkholderia brasilense* (M 130) with arbuscular mycorrhizae fungi *Glomus clarum*, *Scutellospora heterogama* and *Scutellospora gregaria* (T 7) ; 14 mg of N with arbuscular mycorrhizae fungi *Glomus clarum*, *Scutellospora heterogama* and *Scutellospora gregaria* (T8) and mixture of T3 + T4 (T9). The plant seedlings were grown in pots containing 45% red-podzolic soil (Alfissol), 45% washed sand and 10 % rock phosphate from de Patos de Minas and 2,11g . pot⁻¹ of FTE Br 12. This substrate was fumigated three times with methyl bromate with an interval of one week. The inoculation was done suspensions of bacteria containing 10⁸ cells of each diazotrophic strain. The inoculation with arbuscular-mycorrhhyzae was done with 1 ml suspension containing 100 spores of *Glomus clarum*, *Scutellospora heterogama* and *Scutellospora gregaria* per pot. The experiment was set up in randomized blocks with 12 replicates the following analyses were done 90, 180 and 270 days after planting: total N, P and K in shoots and roots, leaf area, stem diameter and stem height.

With both palm species the treatment with mineral N showed the best growth and inoculation of diazotrophs had very little effect. The only significant effect was observed by a mixture of palm isolates with classical diazotrophic bacteria (treatments 9 in experiment Oil Palm), on stem height, stem diameter, height of the first leaf, leaf area and weight of dry shoot of plants after 270 days of planting, as well as total N in roots, in plants and total number of diazotrophs within plants.

1.0 INTRODUÇÃO

Desde que o homem aprendeu a cultivar o solo ele passou a interferir na ciclagem natural dos nutrientes minerais, no equilíbrio da população microbiana do solo, como também em algumas reações bioquímicas de substancial importância para a nutrição e a produtividade satisfatória dos vegetais. Com a “Revolução Verde”, a agricultura passou a apresentar um grau elevado de dependência aos fertilizantes minerais e das reservas de matéria prima para a sua fabricação. Com o passar do tempo a escassez destas reservas têm levado os países em desenvolvimento a buscarem alternativas mais eficientes para o uso dos fertilizantes, corretivos e insumos agrícolas em geral. Em contrapartida, a degradação do meio ambiente e a demanda do mercado têm obrigado os países desenvolvidos a racionalizarem o uso destes insumos como também da matéria prima para a sua fabricação. Um exemplo de escassez destas matérias primas são os adubos fosfáticos, cuja matéria-prima “Apatita”, se encontra em quantidades escassas, só possuindo reservas disponíveis para os próximos 100 anos. Isto sem falar dos adubos nitrogenados que requerem energia oriunda do petróleo para serem fabricados, como é o caso da Uréia. Este combustível fóssil no futuro, tende a gerar uma crise energética de alto impacto na economia mundial, pois as suas reservas, correm o risco de muito rapidamente serem esgotadas, devido ao intenso consumo, além de na queima destes combustíveis retornar para a atmosfera, em poucas décadas, boa parte do carbono que foi acumulado no subsolo durante milhares de anos, provocando com isso, aumento das taxas de gás carbônico na atmosfera, levando ao efeito estufa. Este fato vem contabilizando nos últimos anos, conseqüências bastante nocivas ao equilíbrio do meio ambiente, como a elevação do nível dos mares e oceanos e da temperatura média anual de algumas regiões do planeta. Advém daí, a necessidade de se encontrar fontes alternativas de energia renovável, para que no momento em que a substituição dos combustíveis fósseis se fizer inadiável, a comunidade científica ter uma nova matéria prima a altura do petróleo. Assim gradativamente a população

mundial vai consolidando um caminho em potencial para a auto sustentabilidade energética do planeta, conferindo a este e aos seres vivos que o habitam uma maior qualidade de vida. Dentre as alternativas viáveis, o aproveitamento da energia solar através do uso de plantas com mecanismos fotossintetizantes eficientes (Plantas C 4), desponta como uma alternativa economicamente e ecologicamente viável. Pesquisas com a cana de açúcar, por exemplo, levaram a criação do PROÁLCOOL, que atualmente pela falta de ações políticas, escassez de subsídios, como também pelas poucas pesquisas para a melhoria da eficiência deste combustível e da adaptabilidade do motor, têm levado este programa à decadência com a desvalorização dos automóveis a álcool em relação aos movidos à gasolina e a escassez de postos de abastecimento que comercializam este combustível. Isto aumenta ainda mais a dependência do país ao petróleo, causando consequências desfavoráveis à balança comercial brasileira com o aumento de importações deste combustível fóssil. Uma outra alternativa importante para amenizar o problema energético no país, surge de uma área de pesquisa que pode vir a representar uma saída importante, do ponto de vista da utilização dos biocombustíveis no Brasil. No caso específico o óleo proveniente do Dendzeiro, que entraria no mercado como alternativa ao Diesel de petróleo.

PURSEGLOVE (1968), salientou que o Dendzeiro (*Elaeis guineensis* Jaquim), apresenta uma produção bastante satisfatória do ponto de vista de rendimento de óleo, quando comparado a outras oleaginosas como a Mamona, a Soja e o Girassol. Esta palmeira pode produzir até 38 toneladas de cachos . ha⁻¹. ano⁻¹, com um rendimento de óleo de 20 a 22 % e uma produção que pode chegar a patamares de 5 a 8,4 toneladas deste produto . ha⁻¹ . ano⁻¹, óleo este que é extraído do mesocarpo das sementes. BODDEY (1993), mencionou que 5 a 6 milhões de hectares cultivados com Dendzeiros (apenas 1,2 % da área territorial, ou 18 % da área desflorestada no país), seriam suficientes para suprir 460.000 barris de óleo diesel consumidos diariamente no Brasil. DOBEREINER et al., (1992), salientaram que no Brasil existem condições edafo-

climáticas bastante satisfatórias principalmente nas regiões norte, centro-oeste e na zona da mata nordestina, tanto para o cultivo do Dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jaquim), como também para o cultivo da Pupunheira (*Bactris gasipaes* H.B.K.). Esta última apresenta importância agrônômica, por produzir precocemente palmito de boa qualidade e que não possui vulnerabilidade à oxidação, pós colheita, como é o caso do palmito oriundo do Açaizeiro (*Euterpe oleraceae*), além de produzir frutos com um teor satisfatório de amido, proteína, vitamina A e de beta caroteno, como também de um teor de óleos insaturados próprios para o consumo humano, pelo baixo teor de colesterol. O cultivo destas palmeiras nestas regiões proporcionaria, segundo a autora, uma série de vantagens, dentre as quais a geração de empregos e renda para a população destas áreas, além de tornar o uso e o aproveitamento destes solos mais eficiente e mais produtivos.

Atualmente, no país, grande parte dos solos utilizados com Dendezeiro e a Pupunheira, pertencem à ordem dos Oxissolos, que é caracterizada pela baixa saturação de bases, elevada toxidez de alumínio (Al^{+++}), pH baixo, baixa reserva de minerais primários e elevada fixação do Fósforo (P), fato este que requer o uso de corretivos e adubos fosfáticos e outros fertilizantes para atenuar o problema. Entretanto, isto traz um aumento nos custos do cultivo destas palmeiras, principalmente em regiões como a Amazônia, onde os preços do transporte elevam demasiadamente o custo final de insumos agrícolas. Embora sendo cultivadas no Brasil e em outras regiões tropicais e subtropicais do planeta, são bastante escassos os estudos sobre o requerimento nutricional, curvas de resposta à adição de nutrientes, efeitos na adição da matéria orgânica e da biota do solo no crescimento e produção de ambas as palmáceas.

Racionalizar o manejo destas palmeiras utilizando alternativas auto-sustentáveis, como o uso de bactérias diazotróficas se faz necessário. A fixação biológica do nitrogênio representa a forma mais econômica do fornecimento deste nutriente, que é o mais caro e o requerido em maior quantidade pela maioria das culturas. Espécies de leguminosas como a *Sesbania* spp e a

Aeschynomene spp , por exemplo, podem chegar a valores máximos de 600 kg de N . ha⁻¹ ano⁻¹ . Valores estes que são indiscutivelmente muito superiores às necessidades da maioria das plantas cultivadas (DE-POLLI et al., 1988). Estas bactérias possuem um aparato enzimático (Nitrogenase) que usa o nitrogênio atmosférico e o transforma em amônio, forma esta disponível para a planta. KAPULNIK et al., (1985) e PACOVSKY (1989 a), relataram também, que as bactérias diazotróficas podem promover efeitos benéficos ao crescimento da planta, através da liberação de hormônios como a auxina, citocinina e giberelina. A inoculação de bactérias diazotróficas, reduz os custos com transporte e com a aplicação de adubos nitrogenados não poluindo desta forma o meio ambiente.

Há também os FMA (fungos micorrízicos arbusculares), que aumentam a área de absorção do sistema radicular do vegetal, de tal forma que favorece o melhor aproveitamento de um elemento de extrema importância para as plantas como Fósforo. As plantas micorrizadas toleram mais o “déficit hídrico”, e, quando estressadas (murchas), recuperam a turgidez mais rapidamente, se o nível ótimo de água no solo for restabelecido (PAULA & SIQUEIRA, 1987). AE et al., (1993), utilizaram modelos cinéticos de absorção e verificaram que para cada 1 % de aumento na superfície de absorção do sistema radicular de uma planta que possui hifas de fungos micorrízicos arbusculares, têm-se um aumento de 150 % no influxo de fósforo. ASMI et al., (1980), evidenciaram que a absorção de fósforo e nitrogênio constitui o principal efeito benéfico conferido pela micorrização. A fixação biológica do nitrogênio, especialmente, em leguminosas, é também favorecida pela micorrização, o que parece ser devido a uma melhor nutrição fosfática das plantas. BOLAN (1991), evidenciou em trabalho sobre os efeitos positivos da micorrização, que a maior eficiência na absorção de fósforo, por plantas micorrizadas, se deve basicamente, à exploração de um maior volume de solo e ao transporte do P ser mais eficiente no interior das hifas fúngicas do que a difusão deste elemento no solo. Plantas micorrizadas favorecem um melhor aproveitamento

de fontes pouco solúveis como fosfatos de Fe e Al e rochas fosfáticas, pelo aumento da absorção do fósforo solúvel. COOPER (1984); ALLEN et al., (1981) e NELSON (1987), constataram que os fungos micorrízicos arbusculares intensificam e incrementam a nutrição inorgânica dos vegetais micotróficos, além de propiciarem a estes uma maior taxa fotossintética e uma menor vulnerabilidade ao ataque de pragas e de fitopatógenos. Dentre estas grandes vantagens, os autores também mencionaram que a translocação de nutrientes entre plantas através de hifas interconectadas de fungos micorrízicos arbusculares, têm sido comprovada utilizando-se elementos marcados HEAP & NEWMAN (1980 a) e (1980 b); WHITINGAM & READ (1982); FRANCIS & READ, (1984). Estes autores também constataram que as hifas de fungos micorrízicos arbusculares podem se estender a um volume de solo maior do que aquele da zona de absorção de nutrientes das raízes da planta hospedeira efetivamente explorado. Igualmente, como o raio das hifas é menor do que o das raízes, microporos nos quais as raízes não entrariam podem ser explorados pelos fungos, ajudando à planta a absorver nutrientes de baixa mobilidade na solução do solo como o fósforo, zinco e o cobre (BAREA, 1991). Existem também relatos que os FMA poderiam estar envolvidos na absorção de nitrogênio. AMES et al., (1983), por exemplo, demonstraram que 30 dias depois da adição de amônio ou resíduos de sorgo marcados com N^{15} , 25 e 5,1% do N^{15} aplicado, respectivamente, foram recuperados por plantas micorrizadas. Enquanto que nas plantas não inoculadas, os autores relataram que apenas 6,4 e 2,6 % do N^{15} aplicado foram recuperados. Conseqüentemente, pode-se esperar, maior produtividade do viveiro com maior eficiência na utilização da mão de obra especializada e da infra-estrutura montada, além da redução nos gastos com fertilizantes e aumento na eficiência da adubação fosfática. Tecnologia esta que tem potencialidade de uso em mudas de café, cacau, citros e fruteiras em geral, leguminosas arbóreas, e ornamentais, dendezeiros, pupunheiras e outras culturas de importância econômica.

2.0 OBJETIVOS

O período de tempo que compreende a passagem das plantas pelo viveiro é tido como o período mais importante e crucial na fenologia de plantas perenes, como é o caso da pupunheira e do dendezeiro. Assim, para que estas palmeiras possam expressar melhor desenvolvimento, precocidade, resistência a fitopatógenos, vigor e uma produção satisfatória em condições de campo, é necessário que tenham atendidas às suas necessidades fisiológicas e nutricionais neste período de sua fenologia. Neste enfoque uma perspectiva a ser considerada na nutrição destas palmeiras, nesta fase da sua fenologia é o uso de alternativas biotecnológicas, como a inoculação conjunta de bactérias diazotróficas e de fungos micorrízicos arbusculares.

Este presente estudo visa abrir precedentes para que se pesquise a ocorrência e o sinergismo entre bactérias diazotróficas e os fungos micorrízicos arbusculares em mudas destas palmeiras, com a justificativa de que isto pode contribuir para a redução das adubações nitrogenadas e conferir a estas uma melhoria na absorção, utilização de nutrientes e de água, trazendo assim, avanços no estabelecimento de estratégias de manejo e utilização de elementos indispensáveis para a nutrição vegetal como é o caso do nitrogênio e do fósforo, além de melhorar a aplicabilidade biotecnológicas destes microrganismos aqui citados.

3.0 REVISÃO DE LITERATURA

As palmeiras são plantas monocotiledôneas da família das palmáceas (Palmaceae ou Palmae na nomenclatura técnica). A palavra palma é de origem recente. Os povos itálicos aplicavam-na à tamareira (*Phoenix dactilifera*) da África Mediterrânea e do Oriente Médio. Os gregos a chamavam de *fóinix*, palavra de origem fenícia. Essa palavra por influência árabe e aramaica foi

aplicada a antiga cidade turca Palmira, com o significado de “cidade onde haviam palmas”. Hoje esta família de plantas é representada por cerca de 3.500 espécies reunidas em mais de 240 gêneros. Algumas são conhecidas por nomes vulgares, entretanto muitas não os possuem ou se possuem dão origem a uma grande confusão por serem aplicados a plantas totalmente diferentes. As palmeiras estão entre as plantas mais antigas do globo, sendo que existem vestígios desta família de plantas a mais de 120 milhões de anos atrás. As palmeiras nem sempre foram tropicais, pois, no oligoceno e mioceno, estas que hoje estão limitadas às regiões da Ásia Tropical ocorriam na Europa Ocidental e atualmente diversas espécies ainda são encontradas fora das regiões subtropicais (LORENZI et al.,1996). Dentre as palmeiras de maior importância econômica, destacam-se a Pupunheira e o Dendezeiro. A Pupunheira tem a sua origem na América Central e Região Amazônica e o Dendezeiro é originário da região tropical da África Central.

3.1 Importância econômica da cultura do dendezeiro.

O Dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jaquim) constitui-se dentre as palmeiras oleaginosas, na de maior produtividade, alcançando nos grandes centros produtores até 7 toneladas . hectare⁻¹ . ano de óleo. O óleo de Dendê possui uma série de vantagens, entre os quais destacam-se: o seu alto valor nutritivo; ser rico em vitamina “E” e beta-carotenos; ser um óleo não poluente; possuir baixa hidrogenação; possuir baixa tendência na formação de polímeros e gomas; não apresentar instabilidade química; possuir excelentes propriedades para a produção de margarinas; além de ser bem apreciado na culinária e ter um alto valor comercial. A sua aplicação é a mais variada possível, com o uso comum na fabricação de sabões, esteres alcoólicos, ácidos graxos, aditivos, na composição de borrachas, como secadores para tintas, para flutuação de minerais, como detergentes industriais, como aditivo de lubrificantes, como emulsões industriais, como aditivos anti-estáticos, como ingredientes de cosméticos, na fabricação de bactericidas e de lubrificantes (BERGER & ONG , 1985).

Estudos e experimentos já mostraram ser o Dendê uma das mais promissoras fontes de energia alternativa renovável. O seu mais nobre produto, o óleo de Dendê, é uma alternativa ao Diesel de petróleo. Em motores de ciclo Diesel, pode ser usado “*in natura*” ou transformado. Na primeira opção, pode ser usado em mistura binária com o Diesel comum, na proporção de até 20 % sem afetar a performance do motor, ou mesmo puro mediante o emprego de alguns recursos técnicos. Esta alternativa talvez, a mais econômica, já foi comprovada por alguns pesquisadores, mas carece ainda de estudos e ensaios complementares para a avaliação do comportamento do motor em regime contínuo de trabalho queimando, somente, o óleo de Dendê “*in natura*”. Este óleo transformado pode dar origem a dois combustíveis quimicamente distintos; um éster ou um hidrocarboneto, a depender do processo de transformação escolhido.

Visando o aproveitamento do potencial energético desta palmeira, dois projetos pioneiros estão em curso no Brasil, ambos apresentando resultados animadores e confirmando que este óleo possui propriedades energéticas bastante satisfatórias que o credenciam a apresentar-se como uma alternativa ao Diesel de origem fóssil, no momento em que a sua participação no cenário energético brasileiro se fizer inadiável. São dois os processos ora em estudo no Brasil, cada um seguindo uma rota diferente e conseqüentemente, gerando produtos quimicamente distintos, mas guardando entre si uma estreita afinidade: são combustíveis e podem ser queimados por motores de ciclo Diesel. Em São Paulo, o IPT-Instituto Paulista de Tecnologia vem desenvolvendo ensaios pela linha do processo de transesterificação, gerando como produto final um éster (metílico ou etílico). Na Bahia, o Centro de Pesquisa e Desenvolvimento da CEPLAC optou pela linha do processo de craqueamento catalítico e já produziu, a nível de bancada, o diesel vegetal (Dendediesel), combustível semelhante ao diesel comum, com quase todas as suas propriedades físico-químicas, porém energeticamente idênticos. O motor de ciclo Diesel o aceita sem a necessidade de submeter-se a qualquer modificação ou adaptação em sua estrutura básica. Nos

testes de bancada, o rendimento do motor foi de 72 % comparado ao diesel comum. Assim a participação deste óleo de origem vegetal na matriz energética brasileira, num futuro não muito distante, dependerá mais do aspecto econômico e de ações políticas do que de limitações técnicas.

3.2 Exigências Nutricionais do Dendezeiro

Em relação ao aspecto nutricional do dendezeiro, muitos trabalhos têm sido desenvolvidos. Com relação a nutrição nitrogenada por exemplo, resultados demonstraram a importância deste elemento para o crescimento desta palmeira, principalmente em estágio de muda ROSENQUIST (1962); WERKOVEN (1965); PIGGOTT (1968); WALKER & MELTED (1971) e MARTIN & PRIOUX (1972). Quanto a nutrição fosfática, respostas positivas foram obtidas através da aplicação deste nutriente por ROSENQUIST (1962), MARTINS & PRIOUX (1972) e PACHECO et al., (1985). Quanto a nutrição potássica, relatos obtidos por PACHECO et al., (1987), evidenciaram que este nutriente aplicado na forma de Cloreto de Potássio, mostrou com relação ao desenvolvimento da planta, resposta positiva somente para a variável circunferência do colo. Respostas similares à aplicação desse elemento em dendezeiro também foram obtidos por MAY (1956), ROSENQUIST (1962), WERKOVER (1965), SURRE & ZILLER (1969), ONWNBUYA & REMISON (1983) e por PACHECO et al., (1985); a adição deste elemento ainda evidenciou aumento, segundo os autores, dos teores deste nutriente e do cloro nas folhas e diminuiu as concentrações de magnésio, enxofre, boro e zinco.

PACHECO et al., (1987), evidenciaram que o emprego de magnésio na forma de Sulfato de Magnésio, não teve nenhum efeito sobre o crescimento desta palmeira; de acordo com os autores, os resultados são compatíveis com o encontrado por MARTIN & PRIAUX (1972) e PACHECO et al., (1985). A aplicação de cálcio tendo como fonte o calcário dolomítico, não influenciou no crescimento das plantas, entretanto a adição deste elemento promoveu um efeito positivo sobre os

teores foliares de magnésio, boro, molibidênio e negativo sobre os teores foliares de manganês (PACHECO et al., 1987).

VIEGAS et al., (1995 **a**), relataram que a extração de nutrientes pelo dendezeiro aumentou 3,45 vezes do segundo ano para o terceiro ano e em 2,83 vezes do terceiro para o quarto ano. A partir do quarto ano os acréscimos na quantidade extraída foram menores. Os elementos que apresentaram maior acréscimo percentual foi o fósforo que mostrou um aumento de 64 vezes na quantidade extraída do segundo para o oitavo ano. Os autores, relatam também que as quantidades acumuladas de N, P e K entre o segundo e oitavo ano variaram de 130 gramas para 4080 gramas de N por planta (incremento de 3032 % em N); de 9 gramas de P para 410 gramas por planta (incremento de 4314 % em P) e de 193 gramas de K para 4244 gramas por planta (incremento de 2095 % de K) . Esses valores, corresponderam, segundo os autores em $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ no oitavo ano a 586 de N; 58 de P e de 606 de K por planta. Os autores concluíram o trabalho relatando que a quantidade de nutrientes exigida pelo dendezeiro seguiu a seguinte ordem decrescente : $K > N > P$. VIEGAS et al., (1995 **b**), em trabalhos sobre a exportação de macronutrientes pelo dendezeiro adulto, em função da idade nas condições de Tailândia-Pará, concluíram que tomando-se como base a produção no oitavo ano de produção desta palmeira, estimou-se que, para cada uma tonelada de cachos frescos produzidos foram exportados 4,00 kg de nitrogênio; 0,67 kg de fósforo ; 7 kg de potássio, 2,40 kg de cálcio; 1,06 kg de magnésio e 0,47 kg de enxofre.

BOTELHO et al., (1993) em trabalhos sobre a comparação de fontes de adubos fosfáticos e seus respectivos efeitos no equilíbrio da nutrição de potássio, cálcio e magnésio em dendezeiros adultos, concluíram que no quarto ano, a maior resposta de produção foi quando se usava 0,164 g . planta^{-1} de fósforo ; 2,61g . planta^{-1} de nitrogênio e onde a fonte de fósforo era o superfosfato triplo, com uma produção de 22.676 kg de cachos . $\text{hectare}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$. BOTELHO et al., (1994),

objetivando estudar o efeito do nitrogênio, fósforo, potássio e magnésio sobre o crescimento, nutrição e produção do dendezeiro, constataram que não havia resposta desta palmeira à aplicação de fósforo para peso e número de cachos no primeiro ano de produção, embora no quarto ano de produção esta resposta já fosse evidenciada para ambos os parâmetros citados anteriormente. Esta mesma tendência de comportamento foi observada no quinto ano, porém no sexto ano houve um acentuado aumento na produção tanto em número como em peso de cachos. planta⁻¹. Esta produção foi marcadamente aumentada pelo fósforo e, em menor grau pelo potássio, verificando-se efeito significativo, desses nutrientes para todos os parâmetros avaliados, enquanto que para o nitrogênio e magnésio não havia diferença significativa. BOTELHO et al., (1995) em trabalhos sobre a exportação de micronutrientes pelo dendezeiro em função da idade, nas condições de Tailândia - Pará, evidenciaram que os micronutrientes mais exportados no oitavo ano, em ordem decrescente foram : Fe>Mn>Zn>B>Cu. VIEGAS et al., (1996), objetivando investigar a acumulação de nitrogênio e fósforo nas diversas partes da planta do dendezeiro, em função da idade, evidenciaram que as quantidades acumuladas destes nutrientes nas diferentes partes da planta aumentaram com a idade; sendo que no oitavo ano, o maior acúmulo de nitrogênio foi no estipe com 1723 g . planta⁻¹ e nos folíolos com 1140,4 g . planta⁻¹ correspondendo a 42 e 28 % de N respectivamente. Já o acúmulo de fósforo, ocorreu no segundo e no terceiro ano, principalmente nos folíolos. Os autores observaram também uma grande quantidade de fósforo exigida para a formação dos cachos no quarto ano. RODRIGUEZ et al., (1996 a), em trabalho sobre a nutrição mineral do Dendezeiro nas condições da Região do Médio Amazonas, constataram que a fixação do P, típica de latossolos álicos amazônicos, obriga a se recorrer a doses inicialmente superiores às necessidades do dendezeiro que exporta anualmente apenas 20 kg . ha⁻¹ do elemento. Assim a aplicação do Super Fosfato Triplo melhorou significativamente os teores de Ca, Mg, S e B e diminuiu o de K. A adubação fosfatada melhorou a nutrição do Cl pelo sinergismo Ca x Cl. De

modo contrário, as concentrações de Cu e Zn foram diminuídas pela elevação do Super Fosfato Triplo . Os autores concluíram ainda que os teores de K, inicialmente adequados, diminuíram gradativamente em consequência da demanda pela produção e pelo efeito depressivo da fonte de P e ao antagonismo K x Mg. RODRIGUES et al., (1996 **b**), objetivando avaliar o efeito de fertilizantes sobre o crescimento do dendezeiro nas condições da Região do Médio Amazonas, constataram que depois de um ano, com exceção do magnésio, os tratamentos que tiveram doses adequadas de nitrogênio, fósforo e potássio influenciaram significativamente a circunferência do colo, comprimento e número de folhas emitidas, sendo que de todos os nutrientes avaliados o fósforo foi o elemento mais requerido pelo vegetal. RODRIGUES et al., (1995), observaram em trabalho sobre a produção do dendezeiro em resposta à aplicação de fertilizantes, que o fósforo, foi o nutriente que promoveu os maiores incrementos nas produções, seguido por potássio e cálcio. SOBRAL et al., (1989), objetivando investigar as exigências nutricionais do Coqueiro (*Cocos nucifera* L.) na fase adulta, constataram que esta palmeira é extremamente exigente em nitrogênio e potássio, sendo que a falta destes nutrientes foi um fator limitante para o desenvolvimento da planta e produção. MALAVOLTA et al., (1989), em trabalho sobre as exigências nutricionais do dendezeiro com a idade de 12 meses e no dendezeiro em estágio de produção, observaram que aos 12 meses esta planta apresenta uma exigência mínima nas folhas de 2,7% de N; 0,16 % de P; 1,25 % de K; 0,5 % de Ca; 0,23% de Mg e 0,21% de S. Quanto às exigências em estágio de produção, os autores relataram que as mesmas possuem uma necessidade mínima nas folhas de 2,5% de N; 0,15% de P; 1% de K; 0,6% de Ca; 0,24% de Mg e 0,21% de S.

3.3 Alguns aspectos edafoclimáticos do Dendezeiro .

BARCELOS et al., (1987) em trabalho sobre as exigências climáticas da cultura do Dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jaquim), observaram que esta palmeira consegue produzir

satisfatoriamente em temperatura média máxima de 30°C e média mínima de 24°C. Uma condição importante é que a temperatura não atinja valores inferiores a 18° C, temperatura esta, onde as plantas começam a apresentar anomalias no seu desenvolvimento vegetativo, e mesmo diminuição na produção, caso permaneça por alguns dias às condições de baixa temperatura. Esta pouca tolerância às baixas temperaturas explica porque a maioria dos plantios com esta palmeira se encontraram, principalmente, distribuídas na faixa equatorial e em altitudes não superiores a 500 metros. O autores também relataram que esta palmeira requer precipitação entre 1.800 a 2000 mm . ano⁻¹ bem distribuídos considerando-se 120 mm o limite de precipitação mensal mínima recomendável. Baixas precipitações ou períodos superiores a dois meses, sem qualquer precipitação pluviométrica afetam acentuadamente a emissão foliar, número de cachos e peso médio dos cachos. Salientaram também que a produtividade do Dendê está em estreita correlação com o solo e a pluviosidade. Cem milímetros de déficit hídrico, por exemplo, correspondem a uma queda na produção de cerca de 2 toneladas . hectare⁻¹ . ano⁻¹ de cachos de Dendê. A insolação, segundo os autores, tem efeitos sobre a taxa fotossintética, maturidade dos cachos, teor de óleo na polpa, e conseqüentemente produção. Exerce também importante função na proporção de flores femininas emitidas. Com relação ao solo, os autores relataram que a cultura requer solos profundos, permeáveis, sem qualquer impedimento físico como piçarras e pH entre 4,5 a 6,0, devendo-se evitar declividades maiores que 10%.

3.4 Importância econômica da cultura da pupunheira.

A Pupunheira (*Bactris gasipaes* H.B.K.) é também considerada uma excelente opção para a produção de palmito porque a planta não morre com a colheita. As nações indígenas aproveitam quase todas as partes da planta, como folhas para a cobertura de casas, os frutos nutritivos e o palmito. Em algumas tribos a pupunha chegou a ser o principal alimento e é até objeto de reverência, algumas vezes usadas em rituais, durante o período de colheita. Os seus frutos

apresentam um teor de proteína que pode chegar até a 18%, sendo que de suas amêndoas se extrai o ácido láurico e da polpa o óleo oléico e o bagaço é utilizado para a produção de torta animal de alto teor protéico. A farinha do mesocarpo dos frutos da Pupunheira, por exemplo, é uma alternativa excelente para alimentação de aves de postura, pois esta parte do fruto desta palmeira é rica em beta caroteno e assim a qualidade final dos ovos passa a ser melhor. (EMBRAPA, CENARGEN, 1990).

As pesquisas em relação à Pupunheira, atualmente estão em fase de andamento, visando a seleção de materiais promissores e o manejo adequado de perfilhos, espaçamento, nutrição, e já é possível recomendá-la como alternativa de diversificação agrícola, existindo projetos de cultivo em larga escala no norte do Estado do Espírito Santo. Na Amazônia, a pupunha tem-se restringido ao cultivo de fundo de quintal, sendo comum se encontrar a pupunha convivendo com outras culturas, perenes ou anuais, sem prejuízo das mesmas. Atualmente, trabalhos vem sendo desenvolvidos com bons resultados do consórcio de pupunha com maracujá, abacaxi, guaraná, banana, mandioca, cupuaçú e outras.

A pupunheira se desenvolve em forma de torceiras, podendo apresentar de 3 à 5 estipes frutificando simultaneamente por planta. A frutificação ocorre a partir do terceiro ano, apresentando em cada estipe cerca de 4 cachos. Os frutos são geralmente grandes, com cerca de 3 cm de diâmetro e são utilizados também para o consumo humano, após cozimento ou na forma de farinha por também ser rico em amido.

A pupunheira fornece até 5 toneladas de palmito por hectare ⁻¹. ano ⁻¹. De acordo com o IBGE, a produção brasileira anual de palmito gira em torno de 110.000 toneladas métricas (com os dados oriundos do extrativismo vegetal deste produto, que não foram aqui incluídos, esta produção chega 210.000 toneladas métricas), com 92 % da produção, oriundas do estado do Pará e de outros estados da região norte; os 8 % restantes são oriundos dos estados de São Paulo,

Espírito Santo, Rio de Janeiro e Bahia. O palmito da pupunha constitui-se em mais um valioso produto extraído dessa palmeira. O fato da pupunheira produzir perfilhos torna esta cultura uma excelente opção para o cultivo racional do palmito. Em experimentos realizados na Costa Rica, foi demonstrado ser possível obter palmitos de pupunha na metade do tempo requerido pelas palmeiras do gênero *Euterpe*.

Os plantios mais antigos estão com 18 anos de cultivo e estão localizados na Costa Rica, um dos países produtores, junto com a Colômbia, Equador, Venezuela e Brasil. Este último é o maior produtor de palmito do mundo, com cerca de 90% da produção consumida internamente (95.000 toneladas métricas) e o restante exportado (16.000 t). Além de maior consumidor é também o maior exportador, abastecendo 85% do mercado mundial. A demanda deste mercado é superior a oferta atualmente, e é considerado um mercado em potencial. Em todo mundo 60 países são importadores de palmito, porém alguns de maneira esporádica. Os maiores importadores têm sido os países da Europa, em especial a França. Com relação ao mercado Norte Americano, este tem se mostrado ascendente com relação às importações deste produto. Outros mercados como o Japão, Canadá, Reino Unido, Alemanha, Itália, Bélgica, Espanha, Dinamarca, Israel e Grécia, também têm mostrado interesse quanto a importação de palmito oriundo desta palmeira.

3.5 Exigências Nutricionais da Pupunheira.

Com relação ao aspecto nutricional desta cultura, RODRIGUEZ et al., (1993) em trabalhos sobre o efeito de níveis de nitrogênio e fósforo no desenvolvimento (altura; diâmetro a 5 cm do colo e número de lançamentos de folhas) de mudas de pupunheira, enfocaram que as melhores doses para a formação de mudas foram de 12 g de Uréia (45%N) e 12 gramas de superfosfato triplo (48% de P_2O_5) por planta. Sendo que como complementação nutricional, para cada 500 kg de substrato foram usados 500 gramas de cloreto de potássio, 5 gramas de bórax, 10 gramas de sulfato de zinco, 10 gramas de sulfato de magnésio e 500 gramas de carbonato de cálcio.

TEIXEIRA et al., (1995 **a**), em trabalhos sobre a extração de nutrientes no período de formação de mudas de pupunheira, constataram que o maior desenvolvimento das mudas ocorreu em dois períodos distintos, com 60 a 90 dias e 180 a 210 dias respectivamente. Os autores observaram também que; com relação a extração de nutrientes, o período onde foi mais evidenciado este fato foi entre 60 e 90 dias, correspondendo também com a época de maior incremento de peso de raiz e parte aérea secas.

CANTARELLA et al., (1995), em trabalho sobre a extração e reciclagem de nutrientes em plantas de pupunheira adultas, constataram uma resposta acentuada à aplicação de nitrogênio. Segundo os autores os nutrientes extraídos e exportados necessários para a produção de 1 tonelada . ha⁻¹ de matéria fresca de palmito indicaram uma grande exigência deste nutriente e de potássio. Os autores concluíram o trabalho sugerindo a reposição de quantidades apreciáveis tanto de nitrogênio, que poderá sofrer perdas adicionais durante a decomposição dos resíduos no campo, como também de potássio. GOMES & ALVIM (1995), em trabalhos sobre as exigências nutricionais da pupunheira, constataram que o nitrogênio e o potássio são os nutrientes mais exigidos por esta palmeira em fase de muda. TEIXEIRA et al., (1995 **b**), em trabalhos sobre os principais sintomas de deficiência nutricional em mudas de Açaizeiro (palmeira da qual também se extrai o palmito), evidenciaram que os primeiros sintomas que surgiram foram os de carência de nitrogênio e, logo após, os de omissão de fósforo; cálcio; enxofre; ferro; potássio; magnésio e boro. Segundo os autores a deficiência de nitrogênio, provoca uma diminuição de cor verde normal da planta (verde pálido), seguido de clorose generalizada das folhas. Com o progredir da deficiência, as folhas ficavam cor de palha, secavam e caíam, sendo que os sinais aconteciam nas folhas mais velhas.

PACHECO et al., (1996), em trabalho sobre o efeito do alumínio sobre a eficiência de utilização e translocação de P e Ca e eficiência de enraizamento de mudas de Pupunheira, salientaram que doses crescentes de alumínio afetaram a eficiência de utilização tanto de fósforo, como de cálcio, bem como a translocação destes para a parte aérea e a eficiência de enraizamento. CRUZ et al., (1996), em trabalho sobre o efeito do alumínio sobre a composição mineral de mudas de Pupunheira, evidenciaram que de modo geral, o Al em solução, diminuiu as concentrações e o conteúdo de Cálcio e Fósforo, tanto na parte aérea como no sistema radicular, havendo um aumento na concentração do alumínio no sistema radicular com o aumento das doses de Alumínio na concentração da solução.

3.6 Condições edafoclimáticas da Pupunheira

A pupunheira, está adaptada a diferentes condições ecológicas, dada à amplitude de sua distribuição geográfica. As melhores condições para o desenvolvimento desta cultura são encontradas em altitudes de até 700 metros do nível do mar; altos índices pluviométrico (1900 a 3000 mm), e temperaturas entre 24 e 28° C, com solos bem drenados, profundos, permeáveis, sem qualquer impedimento físico e pH entre 5,5 a 6,5. O sombreamento é prejudicial à cultura, devido à concorrência principalmente durante o inverno seco, sendo recomendado o cultivo a pleno sol (GERMEK,1978).

3.7 Associação de Bactérias Diazotróficas em palmeiras e em algumas culturas de importância econômica.

As bactérias fixadoras de nitrogênio utilizam N_2 como única fonte de nitrogênio para seu crescimento. Estes microrganismos, porém, eram conhecidos até a década de 70 como sendo capazes de crescerem em placas de Petri sob baixas concentrações de O_2 do ar. Essa característica

é devida à sensibilidade extrema da nitrogenase ao oxigênio, que requer mecanismos que protejam esta enzima contra altas concentrações de O_2 , mesmo que precisem dele para a respiração e geração de ATP. Este mecanismo é conhecido como proteção respiratória, isto é, respiração extremamente elevada para escoar o O_2 do sítio da enzima nitrogenase. As bactérias que usam este mecanismo respiratório pertencem aos gêneros *Azotobacter* e *Azomonas*. O muco muito denso das cápsulas nos gêneros *Beijerinckia* e *Derxia*, por outro lado, oferece uma proteção mecânica contra o O_2 . Membros desses quatro gêneros formam as únicas bactérias fixadoras de nitrogênio aeróbias conhecidas até a década de 70. Através do maior conhecimento sobre o funcionamento da enzima nitrogenase houve um aprimoramento de novos métodos de isolamentos de bactérias diazotróficas que não possuem mecanismos de proteção contra o O_2 e portanto são muito mais eficientes em relação ao uso de fontes de carbono para a fixação de nitrogênio. Essas bactérias foram identificadas como as que vivem em associação, principalmente com gramíneas. Bactérias desse grupo pertencem aos gêneros *Azospirillum* spp, *Herbaspirillum* spp, *Azoarcus* spp e *Acetobacter* spp (DOBEREINER et al., 1995).

Na década de 70, as espécies até então conhecidas do gênero *Azospirillum*, foram consideradas os principais microrganismos fixadores de N_2 em gramíneas de clima tropical (BULOW & DOBEREINER, 1975; DAY & DOBEREINER, 1976; DOBEREINER & DAY, 1976 e NEYRA & DOBEREINER, 1977), como também de algumas regiões de clima temperado (PEDERSEN et al., 1978; VLASSAK & REYNDERS, 1981). O descobrimento das cinco espécies de *Azospirillum* se deve à introdução de meios semi-sólidos sem nitrogênio, onde essas bactérias, devido à sua característica de aerotaxia, se deslocam para a região do meio de cultura onde a taxa de difusão de oxigênio está em equilíbrio com a taxa de respiração das bactérias. Nessa faixa, formam-se películas em forma de véu, inicialmente 5 a 10 mm abaixo da superfície, movendo-se

em direção à superfície, quando as células atingem número suficientemente elevado, para escoar o oxigênio excessivo que se acumula em volta das mesmas, ativando assim a nitrogenase.

A espécie *A. amazonense* foi inicialmente isolada de gramíneas forrageiras e de pupunheiras e outras plantas nativas da região amazônica (MAGALHÃES, 1981; MAGALHÃES & DOBEREINER, 1984). Posteriormente, essa bactéria foi encontrada em números bastante similares aos observados para as espécies vegetais anteriormente citadas. Hoje a espécie de bactéria diazotrófica *Azospirillum* spp é encontrada em solo da rizosfera e de raízes de arroz, milho e sorgo cultivados na Região Centro-Sul do Brasil (BALDANI et al., 1984).

As bactérias diazotróficas associativas *Herbaspirillum* spp; *Azoarcus* spp. e *Acetobacter diazotrophicus*, são bactérias endofíticas obrigatórias e portanto devem ser isoladas, principalmente de suas plantas hospedeiras. Essa característica, descoberta recentemente, parece ser a chave para explicar a contribuição de fixação de N₂ muito mais eficiente das associações endofíticas, especialmente nos trópicos, do que das associações rizosféricas. A bactéria da espécie *Herbaspirillum seropedicae* tem sido isolado de um grande número de amostras de raízes, colmos e folhas de gramíneas, mas não de outras famílias de plantas (OLIVARES et al., 1993). Não há descrição da ocorrência dessa espécie em outros países, com exceção de um isolado obtido de cana-de-açúcar cultivada no Havaí.

FERREIRA et al., (1994), evidenciaram a presença de bactérias diazotróficas endofíticas em palmeiras oleaginosas, onde foram isoladas de raízes e colmo de dendê e pupunha e de raízes de açaí: *A. amazonense*, *A. lipoferum* e *Herbaspirillum* sp. Das duas espécies isoladas de palmeira também foram isoladas bactérias diazotróficas ainda não identificadas, possivelmente novas. FERREIRA et al., (1995), confirmaram a presença de *Azospirillum amazonense*, *A. brasiliense*, *A. lipoferum* e *Herbaspirillum seropedicae* em dendezeiro e *A. amazonense*, *A. brasiliense*, *A.*

lipoferum e, *Beijerinckia* spp em pupunheira. SHAMUSDIM et al., (1995), relataram a presença de *Azospirillum* spp associado ao Dendê, ocorrendo em vários tipos de solo da Malásia.

DOBEREINER et al., (1988), constataram a presença de *Acetobacter diazotrophicus* em colmo de cana-de-açúcar. O mesmo parece ser especificamente adaptada à associação com esta gramínea, já que cresce melhor com altas concentrações de açúcar no meio. No entanto, hoje esta espécie de bactéria fixadora de nitrogênio já foi também encontrada em batata-doce (PAULA,1992), *Penisetum* (SILVA et al., 1995) e em Café (JIMÉNEZ, 1995).

URQUIAGA et al., (1994), objetivando estudos sobre os benefícios das bactérias diazotróficas em pastagens de *Desmodium ovalifolium* e *Brachiaria humidicula*, utilizando a metodologia do N¹⁵, observaram que, num período de 60 dias após a inoculação, as bactérias fixadoras de nitrogênio, contribuíram com cerca de 40% do valor total do N incorporado ao vegetal. Utilizando a mesma metodologia empregada por URQUIAGA et al., (1994), foi também possível demonstrar a fixação biológica de nitrogênio na ordem de 20-40% do N-total incorporado em algumas espécies de *Brachiaria* spp (BODDEY & VITORIA, 1986), de *Panicum maximum* (MIRANDA & BODDEY, 1987) e de até 60% na cana-de-açúcar.

Estudos feitos com milho e sorgo elucidaram que algumas bactérias diazotróficas, como aquelas do gênero *Azospirillum*, podem invadir a região do córtex e do cilindro central da planta (PATRIQUIM & DOBEREINER, 1978 ; BALDANI et al., 1986), enquanto que outras como a *Acetobacter diazotrophicus* e *Herbaspirillum seropedicae* são essencialmente, endofíticas (REIS et al., 1991; BALDANI et al., 1992 ; DOBEREINER et al.; 1993 e JAMES,1994).

3.8 Associações de Fungos Micorrízicos Arbusculares em Palmeiras

O Fósforo desempenha inúmeras funções fisiológicas no mundo vivo. Devido aos fatores do solo que limitam a sua disponibilidade para a nutrição vegetal, e a atual dependência externa do Brasil em relação ao enxofre utilizado na Indústria de Super fosfatos, o aproveitamento adequado

do fósforo assume assim, fundamental importância. Neste contexto, evidencia-se o papel indispensável dos fungos micorrízicos arbusculares na atenuação deste problema (EIRA et al., 1992). Os fungos micorrízicos arbusculares estão atualmente classificados na subdivisão Zigomicotina, Ordem Glomales, englobando as Famílias *Glomaceae* (gêneros *Glomus* e *Sclerocystis*), *Acaulosporaceae* (gêneros *Acaulospora* e *Entrophospora*) e *Gigasporaceae* (gêneros *Gigaspora* e o gênero *Scutellospora*) (MORTON & BENNY, 1990).

Em condições experimentais várias espécies tais como Café (LOPES, 1980), Cacau (AZIZAZ CHULAN & RAGU, 1986), Algodão (PRICE et al., 1989), Abacate (MENGE et al., 1978), Dendê (BLAL et al., 1990) e Banana (MATOS et al., 1994) entre outras foram beneficiadas pela associação com fungos micorrízicos arbusculares.

BOVI et al., (1987), objetivando o estudo de FMA em associação com as pupunheiras e açazeiros salientaram que o desenvolvimento das plantas destas palmeiras micorrizadas, foi superior ao das plantas destas palmeiras que não foram micorrizadas. Em mudas de açazeiro (*Euterpe oleraceae*), por exemplo, os autores constataram um aumento no número de folhas vivas, na circunferência do coleto, na altura total da muda, no peso da parte aérea, além de maior desenvolvimento do sistema radicular, quando se comparava com as plantas não micorrizadas. SUDO et al., (1996), em trabalho objetivando avaliar o comportamento de mudas de pupunheira em condições de viveiro, evidenciaram que em média, houve um aumento significativo em relação as mudas não inoculadas de 45% em altura, 22% em diâmetro à altura do colo, 140% em peso de parte aérea seca, 89% em peso de raízes secas, 180% em área foliar, 40% em comprimento de ráquis do limbo da folha mais nova aberta, 70% em P total e 80% em K total, acumulados na parte aérea. SILVA et al., (1994), em ensaios com a associação micorrízica em palmitreiro (*Euterpe edulis*) realizados na estação experimental do Instituto Agrônomo de Campinas - SP evidenciaram que os tratamentos com *Glomus macrocarpum* (Tulasne & Tulasne) foram

superiores aos tratamentos com *Glomus etunicatum* (Becker & Gerdemann) e *Glomus clarum* (Nicolson & Schenck).

Para o dendê híbrido, em solos fumigados com adição de nutrientes, as plantas inoculadas com *Acaulospora* spp demonstraram melhor crescimento e maior produção de matéria seca da parte aérea. Em solo não fumigado, sem a adição de nutrientes, as plantas inoculadas com *Gigaspora gilmorei* (Becker & Hall), demonstraram maior incremento do peso das raízes secas. Em solo não fumigado com adição de nutrientes, *Acaulospora* sp promoveu maior absorção de P e K pelas plantas (CHU et al .,1987).

CHU (1989 a), em trabalho sobre o efeito da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e níveis de nutrientes em Dendê durante a fase de pré viveiro, constatou que em média, os FMA aumentaram em 100% a produção de matéria seca, área foliar e magnésio absorvido e 300 %, 170 % e 40 % de fósforo, cálcio e potássio absorvidos respectivamente. Sendo os fungos *Gigaspora gilmorei* e *Gigaspora* spp (ambos isolados de rizosfera de dendenzais adultos), as espécies que promoveram as maiores percentagens de colonização no sistema radicular. A colonização micorrízica, segundo a autora expressou menores taxas, quando aumentou-se o nível de adubação. Nas mudas inoculadas, diferentes níveis de nutrientes não causaram diferenças significativas no crescimento, A autora concluiu o ensaio evidenciando que a inoculação de fungo micorrízico, na fase de pré viveiro, pode proporcionar o crescimento satisfatório de mudas de dendê economizando nitrogênio, fósforo, potássio e magnésio em até 75 % da dosagem recomendada. CHU (1989 b), em trabalho sobre o efeito de inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e diferentes níveis de nutrientes de Dendê, durante a fase de viveiro, verificou que, após nove meses do transplântio para solo fumigado, as mudas inoculadas tiveram, em média, um aumento de 26 % em altura e 32 % em circunferência do coleto, em relação às mudas não inoculadas. As mudas não

adubadas tiveram um crescimento inferior às mudas adubadas. A autora concluiu também que as mudas não inoculadas tiveram maiores teores de N, P, K e menores teores de Ca e Mg. Entre as espécies de fungos micorrízicos testadas, as mudas inoculadas com *Gigaspora* spp, tiveram maiores teores de fósforo. Os teores de N, K, Ca e Mg variaram entre as mudas inoculadas com as diferentes espécies de fungos micorrízicos arbusculares. Os benefícios da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares, segundo a autora permaneceram mesmo após o transplântio para o solo natural não fumigado. CHU & BOTELHO (1991), em trabalho sobre o comportamento de mudas de Dendê (*Elaeis guineensis* Jaquim.) inoculadas ou não com fungos micorrízicos arbusculares, em condições de campo, verificaram que na primeira avaliação (2,5 anos após a inoculação), que as mudas desta palmeira inoculada com *Gigaspora* spp apresentaram um aumento de 12 % em altura da planta e circunferência do coleto, em relação às não inoculadas. As mudas que não receberam adubação, durante a fase de viveiro, tiveram desenvolvimento bem inferiores ao daquelas que foram adubadas. As que receberam os níveis de adubação reduzidos (25 % e 50%) cresceram igualmente bem ou melhor que aquelas que receberam 100 % de adubação. A análise dos teores de nutrientes não demonstraram diferenças significativas entre as plantas. Nas três primeiras avaliações da produtividade (4,5 anos após a inoculação), os autores verificaram também que 70 % das plantas inoculadas entraram em fase de produção, enquanto que, nas não inoculadas com os FMA, apenas 44 % iniciaram a produção.

BLAL et al., (1990), trabalhando com dois isolados de FMA (*Glomus* isolado LPA 22 e o *Glomus* isolado 21) em mudas micropropagadas de Dendê usando dois fertilizantes fosfáticos (superfosfato simples e fosfato de rocha natural, respectivamente) em dois solos ácidos, concluíram que a inoculação do fungos micorrízicos arbusculares aumentou a eficiência de absorção de fósforo por parte das plantas e que entre os adubos fosfatados não houve diferenças significativas. O ensaio também evidencia que entre os isolados de fungos micorrízicos

arbusculares utilizados não houve diferenças marcantes. Ambos promoveram a mesma eficiência de absorção do fósforo em relação a testemunha sem fungos micorrízicos arbusculares.

COOPER (1994), evidenciou que a adição conjunta de fosfato de rocha natural associados aos fungos micorrízicos em mudas de dendezeiro proporcionou uma melhoria na absorção de nutrientes de tal forma que houve um incremento na produção de matéria seca das raízes, como também na melhoria de absorção do macronutriente K e dos micronutrientes como o Fe, Zn e Cu. LILY (1975), destacou o papel importante do fungo micorrízico *Endogone* sp sobre o desenvolvimento de mudas de côco (*Cocos nucifera* L.). THOMAS et al., (1991), salientaram que os FMA propiciaram às mudas desta palmeiras uma melhoria na absorção de fósforo e no desenvolvimento das plantas. RUIZ (1993), evidenciou em ensaios visando selecionar os melhores isolados de FMA e de rizosfera de outras plantas na Costa Rica, que os oriundos da rizosfera de pupunheiras foram os que proporcionaram os melhores desenvolvimento destas palmeiras.

Algumas plantas não crescem sem uma associação com fungos micorrízicos (micotróficas obrigatórias), outras crescem bem sem a micorrização em solos férteis, mas são beneficiadas pela associação em solos com baixos níveis de nutrientes disponíveis (micotróficas facultativas) e outro grupo não forma a associação sob nenhuma condição (não micotróficas). JANOS (1980), reportou que o predomínio de certas espécies vegetais em um ecossistema é influenciado por esta característica de dependência ao micotrofismo, sendo afetada pelo nível de fertilidade do solo e pela presença de endófitos no local. Assim diversas culturas de importância econômica que são dependentes de uma associação efetiva com estes fungos, como a Mandioca, Batata doce, Citros, Alho, Cebola, Kudzu Tropical e o Estilosantes (YOST & FOX, 1979; LOPES et al., 1983; PAULA, 1992) só conseguem se desenvolver em condições naturais quando colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares. BLAL et al., (1987), relataram em trabalhos de dependência micorrízica que as palmeiras apresentam uma alta dependência a este microrganismo. BERTHEAU

et al., (1980) e KRISHNA et al., (1985), evidenciaram comportamento bastante diferenciado quanto à dependência micorrízica do Dendezeiro (*Elaeis guineensis* JAQUIM.) e que este fato estaria diretamente correlacionado com a variabilidade dos genótipos das plantas envolvidas nos ensaios. Espécies de palmeiras, como a maioria das plantas superiores também formam associações entre raízes e fungos micorrízicos arbusculares. (JANOS, citados por CARPANEZZI, 1982). Em condições experimentais, várias espécies foram relatadas como beneficiadas pelas associações micorrízicas, incluindo o Dendê (BLAL et al., 1990). SHANCHES & SALINAS (1980), sugeriram seis estratégias para o manejo de Oxissolos e Ultissolos da América Tropical, incluindo, entre elas a utilização de associações micorrízicas para o melhor aproveitamento do fósforo do solo e de fertilizantes e neste contexto estão incluídas as palmeiras tropicais.

3.9 Associação de Bactérias Fixadoras de Nitrogênio e Fungos Micorrízicos Arbusculares em Não Leguminosas.

A interação entre bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares traz uma série de vantagens para a planta. Autores relataram que o aumento no nível de P na planta, beneficia os processos metabólicos de grande demanda de ATP, como é o caso da fixação biológica do nitrogênio (BAREA & AZCON-AGUILAR 1983; HO, 1988). O uso desta interação pode trazer uma melhoria na absorção de água e nutrientes e uma maior tolerância a estresses bióticos (PAULA & SIQUEIRA, 1987; GARCIA-GARRIDO & OCAMPO, 1988; SIQUEIRA & FRANCO, 1988). Aumentos no crescimento vegetal, podem ser constatados, porém sem aumentos dos teores de N e P, quando plantas são inoculadas com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (BAREA et al., 1982; KAPULINK et al., 1985 e PACOVSKY, 1989 a). Estes resultados foram atribuídos à produção e excreção de fitohormônios como auxinas, giberelinas e citocininas (AZCON et al., 1978). Além das várias bactérias diazotróficas (CLARK, 1974; TIEN

et al., 1979), os fungos micorrízicos arbusculares também podem produzir substâncias de crescimento (ALLEN, 1985). Também podem ocorrer mudanças no metabolismo do vegetal, devido a inoculação destes microrganismos, como foi descrito por PACOVSKY, (1989a). A importância da interação entre bactérias diazotróficas e de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento positivo das plantas, também foi relatado por AZCON-AGUIAR (1978); BAGAYRAJ & MENGE (1978); BAREA & AZCON-AGUIAR (1982); BAREA et al., (1975); BROW & CARR, (1975) e MANJUNATH et al., (1987).

Certos componentes da microbiota do solo, como as bactérias diazotóficas, podem interagir com FMA na rizosfera e até mesmo na hifosfera (BAGHARAJ, 1984 e VANCURA et al., 1989). Estes autores demonstraram a interação sinérgica e a ocorrência conjunta de bactérias, especialmente as diazotróficas, em várias fases do estabelecimento da simbiose micorrízica. A presença parece seguir uma dinâmica de população específica como relatado para *Azospirillum brasiliense* e *Pseudomonas fluorescens* (KLIVUCHNIKOV & KOZHEIVIN, 1990). BIANCIOTTO et al., (1996), também constataram através de técnicas de biologia molecular a presença da espécie *Burkholderia* sp no interior de esporos das espécies de fungos micorrízicos *Gigaspora margarita* (Becker & Hall) e de *Scutellospora* spp, fato este que demonstra mais um papel de grande importância desta interação, onde bactérias diazotróficas tem o seu processo de colonização interna no vegetal incrementado devido ao sinergismo com esporos dos fungos micorrízicos arbusculares, fato este também relatado por TILAK et al., (1989), onde os autores, objetivando investigar a interação entre bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares, constataram a presença de *Azospirillum* sp no lúmen e nas camadas mais internas da parede de esporos de FMA.

Em ensaio sobre associação de FMA e bactérias fixadoras de nitrogênio em plantas micropropagadas de batata-inglesa (*Solanum tuberosum* L.), foi observado que o conteúdo de

fósforo total, nos tratamentos inoculados com *Glomus clarum* e a mistura de fungos com *Acetobacter diazotrophicus* foram superiores aos tratamentos inoculados com *Glomus entunicatum*; *Gigaspora margarita*; testemunha não inoculada e àqueles tratamentos inoculados apenas com as bactérias diazotróficas. Com relação ao N-total o tratamento inoculado com *Glomus clarum* foi superior estatisticamente aos tratamentos inoculados com *G. margarita*; testemunha não inoculada, como também aos tratamentos que tinham o *Azospirillum brasilense* e *Acetobacter diazotrophicus*, (MATOS et al., 1994).

BALI & MURKERJI (1991), verificaram que a inoculação conjunta de *Glomus macrocarpum* e *Azospirillum brasilense* proporcionaram à cultura da Juta (*Corchorus olitorius*), uma melhoria no desenvolvimento das plantas duplamente inoculadas com estes microrganismos em relação à testemunha. Os autores constataram também que o fungo micorrízico arbuscular *Glomus macrocarpum* (Tuslane & Tuslane), apresentou um evidente antagonismo ao *Fusarium solani*, que é um agente causal, com elevado poder infectivo, de doenças sérias de raízes nesta planta. BELLONE & BELLONE (1995), relataram que quando se inoculou conjuntamente a espécie de fungo micorrízico arbuscular *Glomus intraradices* (Schenck & Smith) e a espécie de bactéria diazotrófica associativa *Azospirillum brasilense* em plantas de aveia, houve uma colonização mais rápida de ambos os microrganismos inoculados, em relação a inoculada apenas com o *Glomus intraradices* ou apenas inoculada com a espécie de bactéria diazotrófica em questão. GORI & FAVILLI (1995), constataram que plantas de trigo duplamente inoculadas com *Azospirillum brasilense* (estirpe Cd, resistente ao antibiótico Rifocim) e o fungo micorrízico arbuscular *Glomus* spp (isolado A 6), após 12 semanas da inoculação, apresentavam peso da matéria fresca da parte aérea e de raízes estatisticamente superiores à testemunha e aos tratamentos inoculados individualmente com o fungo micorrízico ou a bactéria diazotrófica.

SCHONBECK (1995), evidenciou que quando inoculava-se o fungo micorrízico *Glomus clarum* conjuntamente com *Acetobacter* spp em raízes de cana-de-açúcar, havia um incremento na colonização de ambos os microrganismos citados anteriormente nesta parte da planta. O autor também constatou um aumento no peso total das plantas (raiz + parte aérea secas), em relação aos tratamentos onde estes microrganismos eram inoculados sozinhos. A inoculação de fungos micorrízicos arbusculares com bactérias do gênero *Azospirillum* spp, segundo o autor, tem sido relatado também promovendo o crescimento de plantas e um maior incremento na concentração de nitrogênio e fósforo nos tecidos tanto da raiz como da parte aérea. Além desta bactéria ser também encontrada em superfícies esterilizadas de esporos de varias espécies de fungos micorrízicos arbusculares, principalmente em esporos de *Glomus clarum*.

BELLONE & BELLONE (1993), constatarem em trabalhos sobre a atividade da nitrogenase, celulase e pectinase em cana-de-açúcar inoculada com *Gigaspora margarita*; *Glomus intraradices* e *Acaulospora laevis* (Gerdemann & Trappe) conjuntamente com isolados de bactérias diazotróficas oriundos da própria rizosfera da cana *Azospirillum brasilense*, *Bacillus* spp e *Pseudomonas* spp que a simbiose destes organismos favoreceu de forma bastante positiva a colonização de bactérias diazotróficas nas raízes desta planta. BELLONE & BELLONE (1996), observaram que raízes de cana de açúcar (Variedade NA 56-79), inoculadas com *Glomus intraradices* e *Acetobacter diazotrophicus* apresentavam uma colonização bastante satisfatória de ambos os microrganismos. Durante a fase de maior colonização as hifas intercelulares do fungo estavam associados internamente e externamente com a bactéria diazotrófica, evidenciando assim, que a interação entre estes organismos se dá de forma bastante dinâmica e com um sinergismo bastante satisfatório.

Fungos micorrízicos arbusculares também são inoculados conjuntamente com bactérias solubilizadoras de fosfatos associadas à bactérias fixadoras de nitrogênio como é relatado no

trabalho de TORO et al., (1995). Segundo os autores a combinação de *Azospirillum* sp, *Bacillus* sp ou *Enterobacter* spp, associados ao *Glomus mossae* (Nicol. & Gerd.) Gerdemann & Trappe mostrava uma considerável estimulação de absorção de nutrientes. O fato do *Bacillus* sp, um isolado solubilizador de fosfato de cálcio interagir positivamente com o *Glomus mossae* e negativamente com o *Glomus fasciculatum* (Thaxter) Gerd. & Trappe emend. Walker & Koske indicou uma compatibilidade funcional específica entre os componentes bióticos que interagem no sistema. Os autores evidenciaram também, que as espécies de bactérias solubilizadoras de fosfato de ferro, foram mais eficientes e ativas quando sozinhas, de que quando eram associadas com o *Glomus* spp, porém os isolados de bactérias que solubilizam o fosfato de alumínio interagiram positivamente com plantas micorrizadas. As interações de *Glomus mossae* com as bactérias solubilizadoras de fosfatos foram mais efetivas, porém menos infectivas, do que com o *Glomus fasciculatum*.

MANJUNATH et al., (1981), obtiveram efeito positivo no desenvolvimento e vigor de cebola (*Allium cepa* L.), quando se inoculava conjuntamente o *Glomus clarum*, *Glomus fasciculatum*, *Beijerinckia* spp e o *Aspergillus ninger* (fungo solubilizador de fosfato). Os autores também salientaram que o tratamento inoculado com a bactéria diazotrófica da espécie *Beijerinckia mobilis* associada às espécies de FMA apresentava um comportamento satisfatório, tanto para a fixação biológica de nitrogênio, como para o acúmulo de fósforo e que houve um antagonismo quando se inoculava o *Aspergillus ninger* individualmente como associados ao FMA, tanto para acúmulo de P, como para desenvolvimento das plantas.

PAULA & DOBEREINER (1991), objetivando investigar o crescimento micelial da espécie de FMA *Gigaspora gigantea* (Nicol. & Gerd.) Gerdemann & Trappe “in vitro” e os efeitos de bactérias diazotróficas, sacarose, fitohormônios e células de raízes e ramas de batata doce, verificaram que as maiores produções de hifas foram conferidas com a adição de 2 g . litro⁻¹ de

sacarose, principalmente quando se utilizaram esporos do fungo micorrízico arbuscular em questão, oriundos da própria rizosfera desta planta. Os autores destacaram também o isolamento da espécie de bactéria diazotrófica *Acetobacter diazotrophicus* em esporos desinfestados desta espécie de FMA. Foi observado também que a combinação de *Pseudomonas phaseoloides* com sacarose e fitohormônios em um meio específico identificado de *Murashige & Skoog*, propiciaram um aumento considerado no crescimento das hifas, quando comparado com o tratamento que recebeu células de *Pseudomonas phaseoloides* e fitohormônios.

BALOTA et al., (1991), em trabalho sobre a ocorrência de bactérias diazotróficas e de fungos micorrízicos arbusculares na cultura da mandioca, constataram a predominância da espécie *Azospirillum lipoferum* com até $11 \times 10^4 \cdot g^{-1}$ de tecido fresco do vegetal, sendo que houve diferenciação na predominância em função do meio utilizado. PAULA et al., (1989), em trabalhos sobre a nutrição e produção de batata doce micropropagada e inoculada com fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas, constataram que os tratamentos com inoculação mista (FMA + bactérias diazotróficas) apresentaram melhor assimilação e utilização dos nutrientes, especialmente de nitrogênio e fósforo. Isso evidenciou, segundo os autores, a grande dependência da batata doce à micorrização e o potencial desta cultura para a inoculação com bactérias diazotróficas endofíticas.

BELONE et al., (1995), observaram que a inoculação conjunta de esporos de *Glomus intraradices* (Schenck & Smith) e células de *Azospirillum brasilense* em cinco variedades de Cereja, aumentou o número de bactérias diazotróficas e a atividade da nitrogenase destas bactérias. BELONE (1983), evidenciou que a bactéria diazotrófica da espécie *Azospirillum* sp aumentou a atividade da enzima pecnolítica e a atividade celulolítica em tecidos de raízes, quando era inoculada individualmente ou quando era combinada com fungos micorrízicos arbusculares.

ISOPI et al., (1992), observaram em trabalhos sobre a dupla inoculação de *Glomus mossae*, *Glomus occultum* (Walker) e *Acetobacter diazotrophicus*, que a combinação destes microrganismos aumentou principalmente a matéria seca das raízes de cerejeira. Fato este que não foi observado quando os organismos citados anteriormente eram inoculados individualmente. KLYUCHNIKOV & KOZHEVIN (1991), objetivando investigar o sinergismo de bactérias diazotróficas e de fungos micorrízicos arbusculares em batata inglesa, evidenciaram que o maior número e população considerada ativa de *Pseudomonas flourescens* foi detectada na parte mais externa da rizosfera desta planta. Os autores destacaram também que no rizoplane e na endorizosfera ocorreu grande desenvolvimento de *Azospirillum brasilense* e que a presença do FMA aumentou consideravelmente o processo de colonização interna da planta de ambas as espécies de diazotróficas em questão.

A presença de *Klebsiella pneumoniae*, diazotrófica facultativa de ampla distribuição na natureza, em inoculação conjunta com *Glomus deserticola* Trappe, Bloss & Menge aumentou o crescimento de hifas deste fungo micorrízico em comparação com a testemunha e incrementou o desenvolvimento de *Uniola paniculata*. Os autores também enfocaram a importância da produção de inoculantes com estas bactérias e a inoculação conjunta destas com os fungos micorrízicos arbusculares para propiciarem um maior estabelecimento destas plantas em solos inóspitos como é o caso das dunas (WILL & SYLVIA, 1990). KRISHNAN & KALAVATI (1996), salientaram em trabalhos sobre a influência da combinação de *Azospirillum* spp e fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de mudas de Neen (*Azadirachta indica* A. JUS.), planta típica da Índia que possui propriedades bioinseticidas que o peso de matéria seca, taxa de colonização e absorção de nutrientes foi estimulada tanto com 30 , 60 e 90 dias após o plantio. A combinação de ambos os microrganismos evidenciou também um aumento no peso total da planta (raiz + parte aérea secas) em relação à testemunha inoculada só com a bactéria diazotrófica associativa, ou

apenas com o fungo micorrízico arbuscular. A associação de ambos microrganismos também aumentou o conteúdo de nitrogênio, fósforo, potássio, zinco, ferro, manganês e cobre nas plantas.

ANANDAN & SANTHANA KRISHNAN (1996), mostraram em trabalhos sobre a influência da combinação de *Azospirillum brasilense*, *Glomus constrictum* Trappe e *Pseudomonas striata* sobre o crescimento de mudas de Neen (*Azadirachta indica* A. JUS.), o aumento do peso das plantas (raiz + parte aérea secas), da colonização micorrízica, comprimento da hifa extramatricial, absorção de macro e micronutrientes, conteúdo de clorofila, concentração de AIA, conteúdo total de fenol e carboidratos, como também o aumento da altura e do diâmetro do colo das plantas que foram inoculadas com os respectivos microrganismos em relação aos tratamentos inoculados com cada microrganismo isoladamente e à testemunha absoluta.

BALOTA & CAMACHO (1994), objetivando avaliar o efeito da interação de fungos micorrízicos arbusculares e de bactérias diazotróficas em plântulas micropropagadas de mandioca sob diferentes níveis de nitrogênio e fósforo, observaram que estas bactérias estimularam de forma diferenciada o desenvolvimento das plantas em função do nível de N e P aplicado, sendo que, a elevação dos níveis de aplicação do fertilizante nitrogenado apresentou um efeito mais negativo ao crescimento das plântulas inoculadas, do que a elevação dos níveis de fertilização fosfática.

A espécie de bactéria fixadora de nitrogênio *Klebsiella* sp, muito comum em raízes de cana de açúcar e outras bactérias da rizosfera parecem estar correlacionadas com um maior favorecimento no crescimento de hifas e na colonização de fungos micorrízicos arbusculares (GARBAYE, 1991). BALOTA et al., (1993), objetivando investigar sobre as principais espécies de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares presentes em diferentes partes da planta de Mandioca em diferentes regiões do Brasil salientaram que houve 38 isolados da espécie *Klebsiella* sp; 79 isolados da espécie *Azospirillum lipoferum* e 37 isolados da espécie

Burkholderia sp. Os autores também verificaram um número bastante variado de espécies de fungos micorrízicos arbusculares colonizando esta planta, com predominância de *Entrophospora colombiana* (Spain & Schenck) e *Acaulospora scrobiculata* (Trappe) no estado do Rio de Janeiro, *Acaulospora scrobiculata* (Trappe) e a espécie *Scutellospora heterogama* (Nicol. & Gerdemann) Walker & Sanders no Paraná e em Piracicaba-SP e a espécie *Scutellospora pellucida* (Nicol.& Schenck) Walker & Sanders em Campinas-SP. BALOTA et al., (1994), no ensaio sobre o efeito de fungos micorrízicos arbusculares e bactérias fixadoras de nitrogênio no desenvolvimento e nutrição de mandioca micropropagada, relataram que a colonização micorrízica e o número de esporos foram estimulados em até 40% e 169%, respectivamente, com a inoculação de algumas bactérias fixadoras de nitrogênio. O aumento na colonização micorrízica estimulado pela presença de bactérias fixadoras de nitrogênio ocorreu a partir dos 30 dias.

PACOVSKY (1988), estudando a interação de *Glomus fasciculatum* e *Azospirillum brasilense* em sorgo observou que plantas colonizadas pelo fungo micorrízico continham uma menor quantidade nos teores de manganês, amido e sacarose e maiores teores de cobre, zinco e prolina do que as plantas fertilizadas com fósforo. O autor observou, também, que plantas inoculadas com bactérias diazotróficas continham menos nitrogênio, glucose, treonina e glutamina e mais ferro e glutamato que aquelas fertilizadas com o nitrogênio. O fato das plantas inoculadas com *A. brasilense* apresentarem menos glutamina e mais glutamato que aquelas fertilizadas com N indicam que a inoculação pode determinar diferenciado padrão de assimilação e alocação de nitrogênio. O autor evidenciou também que mudanças nos níveis metabólicos e na composição de lipídios possuem um papel importante no estabelecimento ou manutenção da associação endófito-hospedeiro.

Relatos de PAULA et al., (1992), em resultados sobre a ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares e de bactérias diazotróficas em batata-doce (*Ipomea batatas* L.) evidenciaram que

estas bactérias foram isoladas da maioria das amostras de todas as partes da planta, apresentando-se em maior número em amostras de raízes, casca e polpa de tubérculos.

NEGI et al., (1990), constataram que a interação entre *Azospirillum brasilense* e *Glomus versiforme* (Karsten) Berch, foi o tratamento que apresentou o melhor comportamento, incrementando o crescimento e nutrição da Cevada (*Hordeum vulgare* L.). As raízes das plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Glomus versiforme* exibiram uma baixa atividade de nitrogenase na fase inicial do crescimento da planta, aumentando com o desenvolvimento da planta, mas quando o fungos micorrízicos arbusculares foram inoculados individualmente, obteve-se um baixo nível de fixação de nitrogênio nas plantas, quando se comparava com a inoculação conjunta de ambos os organismos.

HALL (1978) e O`HORA et al., (1981), relataram que a inoculação conjunta de bactérias fixadoras de nitrogênio da espécie *Azospirillum* spp e fungos micorrízicos arbusculares em diferentes cereais têm freqüentemente produzido resultados significativos com relação ao acúmulo de nutrientes, em particular o nitrogênio e o fósforo.

PACOVSKY (1989 a), relatou que em geral plantas de milho colonizadas por *Glomus* spp continham mais zinco e cobre, porém menos fósforo, amido, prolina e alanina, do que plantas que foram fertilizadas com P. O autor também mencionou que as plantas de milho inoculadas com *Azospirillum* spp continham menos nitrogênio, açúcares solúveis, proteínas solúveis, leucina e isoleucinas, entretanto apresentavam mais área foliar e glutamato em relação as plantas que eram fertilizadas com o N-mineral. As raízes das plantas micorrizadas continham um maior número de lipídios não encontrados na testemunha que era fertilizada com o adubo fosfático. A fisiologia da planta inoculada com *Glomus entunicatum* ou *Azospirillum brasilense* foi alterada independente

do estado mineral do hospedeiro. PACOVSKY (1989 **b**), objetivando investigar a inoculação conjunta de *Glomus entunicatum* e a estirpe Cd de *Azospirillum brasilense* em milho, evidenciou que a interação entre os dois microrganismos em questão proporcionou de imediato um sinergismo bastante dinâmico e que, em nenhum momento foi verificado efeito de antagonismo entre os mesmos. O autor relatou também que a presença do *Glomus entunicatum* intensificou o estabelecimento e a manutenção dos inóculos de *Azospirillum brasilense* em ambos os substratos estudados.

RAMOS (1995), em trabalho sobre bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares em diferentes genótipos de milho, observou que houve diferenças entre o comportamento dos genótipos avaliados, quanto ao número de esporos, densidade relativa de espécies e colonização de raízes pelos fungos micorrízicos arbusculares, assim como no número de bactérias diazotróficas presentes em várias partes da planta. O autor também verificou uma correlação entre o número de esporos de FMA antes do plantio e bactérias diazotróficas no interior das plantas e que os genótipos melhorados mostraram maior ocorrência de bactérias diazotróficas no interior do vegetal.

3.10 Aspectos ecofisiológicos e alguns pontos importantes do manejo de Fungos Micorrízicos Arbusculares.

A inoculação com FMA pode ser benéfica, apesar da presença de fungos nativos. Algumas plantas são beneficiadas com a inoculação micorrízica, em solos não esterilizados, quando já estão colonizadas na época do transplante (MOSSE et al., 1959; CORNET et al., 1982 e MONTEIRO, 1990). A distribuição e abundância de fungos micorrízicos arbusculares que ocorrem naturalmente no solo, a capacidade de colonizar raízes e a efetividade destes em relação a um fungo introduzido são fatores importantes e que determinam a possibilidade favorável à inoculação de fungos

micorrízicos arbusculares em solos não esterilizados. Solos com infectividade baixa (baixa densidade de propágulos viáveis) apresentam grande possibilidade de sucesso da inoculação, se o fungo utilizado como inoculante, for adequado para a cultura e compatível com as condições existentes. Por outro lado solos com infectividade alta podem ter sua comunidade dominada por populações de fungos micorrízicos arbusculares com efetividade baixa ou alta. Se for baixa a inoculação com FMA efetivos, e de alta competitividade, pode ter sucesso. Os fungos micorrízicos arbusculares com estas características não parecem ser comuns. Assim para garantir o sucesso da inoculação, nesta condição, torna-se necessário reduzir a população dos nativos, através da desinfestação ou sistemas específicos de manejo da cultura; solos com alta infectividade e dominados por FMA ou espécies com alta efetividade não são recomendados para a inoculação. Assim, neste caso, os FMA nativos precisam ser manejados, de modo a preservar sua população (densidade de esporos) em níveis altos, ou poderão, após uma multiplicação em massa ser utilizado em programas de inoculação (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

Mesmo sendo os resultados em ensaios utilizando os fungos micorrízicos arbusculares considerados satisfatórios para o crescimento e desenvolvimento das plantas, a utilização destes biotas do solo não é feita em grande escala pelos agricultores, fato este que pode ser explicado por serem estes biotróficos obrigatórios. Esta característica dificulta a produção do inóculo, não havendo ainda inoculante disponível no mercado. Entre as várias tentativas de cultivo *in vitro*, pode-se citar MOSSE (1959), SIQUEIRA et al., (1982) e PAULA (1988).

Embora os fungos micorrízicos arbusculares sejam de ocorrência generalizada, pouco se conhece sobre a sua ecologia nos trópicos, pois a maioria dos estudos ecológicos já conduzidos foi realizada predominantemente nas regiões temperadas. A colonização radicular e a densidade de esporos na rizosfera são as variáveis geralmente utilizadas para avaliar a ocorrência dos fungos

micorrízicos arbusculares. Entretanto, tanto a colonização quanto a esporulação são influenciadas por fatores do ambiente das plantas hospedeiras e espécies fúngicas envolvidas, podendo inclusive esses fatores atuarem separadamente ou interagindo entre si (DEAN 1972; LOPES et al., 1983; MOSSE, 1986).

Os nutrientes do solo especificamente nitrogênio e fósforo, influenciam a colonização por microrganismos. A maior colonização radicular por FMA e efeitos micotróficos ocorrem em solos com baixa disponibilidade de fósforo diminuindo com o aumento de P disponível (CARDOSO et al., 1986).

Fungos micorrízicos têm sido encontrados em solos com pH variando de 2,7 a 9,2 ocorrendo, entretanto, diferenças entre as espécies e isolados de fungos quanto a capacidade de germinar e colonizar vegetais (TRUFEM et al., 1988). Em solos ácidos o alumínio tóxico parece ser o principal fator fungistático sobre a associação. Devido a isso, o efeito da calagem do solo sobre as micorrizas é em geral, positivo. A salinidade do solo influi na simbiose, sendo que sódio e cloro podem reduzir a germinação de esporos. A umidade, temperatura, luminosidade e aeração afetam diretamente o fungo micorrízico ou indiretamente a associação, pela interferência no desenvolvimento da planta. Apesar da ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em ambientes aquáticos e em zona árida, a umidade do solo interfere na germinação de esporos, na colonização de raízes e esporulação de fungos, havendo um efeito mais negativo em condições de excesso de umidade. A aeração do solo estimula a simbiose desde a germinação do esporo, uma vez que os fungos são aeróbios (SIEVERDING, 1989).

Existe acentuado efeito da interação dos fatores luz e temperatura sobre fungos micorrízicos, uma vez que podem afetar o vigor do hospedeiro e, portanto, a disponibilidade de carboidratos para o fungo, alterando o equilíbrio da simbiose. Apesar da resposta da planta à condição micorrízica ser afetada por vários fatores externos, a dependência da simbiose é uma

característica inerente à própria planta. A dependência micorrízica é definida como o grau em que a planta depende da condição de estar micorrizada para apresentar crescimento máximo a um certo nível de fertilidade do solo (GERDEMANN et al., 1968). Assim um vegetal, que possui maior dificuldade de captar o fósforo da solução do solo, ou que seja mais exigente em fósforo, obtém, maior benefício dos fungos micorrízicos.

A morfologia e a geometria do sistema radicular são determinantes do grau de micotrofismo da planta. Aqueles cujas raízes são desprovidas de pêlos radiculares ou em que estes são curtos e escassos apresentam maior dependência. Outro fator a ser considerado é a espécie ou o isolado de fungo micorrízico.

O fornecimento de carbono ao fungo em simbiose é feito pela transferência direta de compostos fotossintéticos da planta preferencialmente, através dos arbúsculos. Assim os fatores que influem na fotossíntese do hospedeiro, como intensidade luminosa, fotoperíodo e desfolhamento, podem alterar tal fornecimento causando um desbalanço na simbiose. O mecanismo de transferência e a forma de carbono transferida ainda não foram elucidados. Contudo as evidências sugerem um sistema ativo de transferência de carboidratos. Nos fungos endomicorrízicos o material de reserva se acumula essencialmente como lipídios, podendo também ocorrer acúmulo de glicogênio nas hifas (COOPER et al., 1984).

ARAÚJO et al., (1996), em trabalho envolvendo análises de crescimento em tomateiro colonizado por fungo micorrízico arbuscular constataram que este microrganismo proporcionou um aumento no peso de raízes secas, na área radicular e na razão raiz : parte aérea, e reduziu o raio radicular. Na dose de 120 mg de P . kg⁻¹ de solo, o fungo micorrízico arbuscular aumentou o teor e o conteúdo de P na parte aérea. Quanto as taxas de crescimento relativo, de assimilação líquida, de utilização específica de P e o influxo de P nas raízes, estas reduziram-se com o desenvolvimento ontogenético, indicando menor eficiência vegetal de absorver e utilizar o P. A

simbiose micorrízica apresentou variações ontogenéticas, associadas ao suprimento de fósforo. Enquanto que na dosagem de 60 mg de P . kg⁻¹ de solo o fungo micorrízico arbuscular aumentou de forma não significativa as taxas de crescimento, de acumulação e de utilização de fósforo durante todo período do experimento. Na dosagem 120 mg de P . kg⁻¹ de solo dois estágios foram observados: no período inicial, o fungo micorrízico arbuscular diminuiu as taxas de crescimento, de acumulação e de utilização de fósforo e posteriormente, aumentou essas taxas. Nesta dosagem 120 mg de P . kg⁻¹ de solo o influxo de fósforo nas raízes micorrizadas foi provavelmente limitado pelo suprimento de carbono.

A calagem dos solos minerais ácidos elimina os fatores fungistáticos e favorece o estabelecimento dos fungos micorrízicos, especialmente daqueles formados por espécie do gênero *Glomus* spp , que com poucas exceções, preferem solos com pH próximo do neutro a alcalino, ao contrário do que é observado para a maioria das espécies dos gêneros *Acaulosphora* spp, *Gigaspora* spp , *Scutellophora* spp e a *Entrophospora* spp que preferem pH mais baixos. A calagem dos solos minerais ácidos pode pelo menos temporariamente reduzir a formação de fungos micorrízicos arbusculares, pois a elevação do pH pode ter efeitos adversos sobre a infectividade dos fungos nativos naturalmente adaptados às condições adversas como a acidez (SIVERDING, 1991). Os solos com elevado teor de umidade ou sujeitos a inundação portanto com aeração deficiente, são geralmente desprovidos de micorrizas, porque os fungos micorrízicos arbusculares são aeróbios obrigatórios (SIQUEIRA et al .,1988). Um estudo comparativo no Estado de Minas Gerais, mostra que o cultivo do solo aumenta a colonização das raízes e a densidade de esporos na rizosfera, mas modifica a composição e reduz a diversidade de espécies. As espécies *Acaulosphora scrobiculata* (Trappe) e *Acaulospora morrowae* (Spain & Schenck) tiveram índices de ocorrência duas vezes superior nos solos cultivados em relação aos virgens (SIQUEIRA et al .,1988).

As hifas externas dos fungos endomicorrízicos em simbiose com as plantas participam na agregação de partículas do solo, principalmente grãos de areia, como foi observado em dunas. Além disso, agem na estabilização dos agregados, ocorrendo deposição de material amorfo entre as partículas de areia e as hifas (TISDALL & OADES, 1979). A deficiência de fósforo, comum em solos ácidos, é causada pela imobilização por adsorção dos íons fosfatos nos colóides de óxidos de ferro e de alumínio e argila do tipo 1:1 presentes nestes solos. Isto faz com que formas solúveis de adubos fosfatados tornem-se rapidamente não disponíveis às plantas e, em menor intensidade aos microrganismos. A adição de fosfatos naturais que tem solubilidade aumentada em condições ácidas, apresenta-se como uma alternativa para os solos de baixa fertilidade com pH baixo (MARSCHNER et al., 1983).

WANG et al .,(1986 **a**), concluíram em ensaio sobre a interação entre N e P sobre o desenvolvimento de fungos micorrízicos arbusculares, que a aplicação de altas concentrações de N reduzem a eficiência de fungos micorrízicos arbusculares, sendo o amônio mais problemático do que o nitrato. WANG et al., (1986 **b**), relataram que a capacidade do fungos micorrízicos arbusculares em promover o crescimento da planta e a intensidade de infecção micorrízica nas raízes foram reduzidas pelo sombreamento. Menos vesículas e arbúsculos desenvolveram-se nas plantas sob sombra quando comparadas com as que receberam alta intensidade luminosa. WANG et al., (1985), evidenciaram que os efeitos do pH sobre a associação micorrízica não podem ser considerados separadamente já que a disponibilidade de P e a solubilidade e disponibilidade de outros nutrientes bem como os problemas com alumínio variam com o pH . O fator mais marcante e talvez melhor estudado, capaz de incrementar a absorção de íons de fosfato pelas raízes é resultante do estabelecimento de associações micorrízicas, particularmente, as micorrizas

arbusculares em muitas culturas de interesse econômico incluindo as palmeiras como o Dendê e a Pupunha (EIRA ,1992).

A fixação biológica do nitrogênio é estimulada indiretamente pela maior disponibilidade de P, devido aos efeitos benéficos de micorrizas na melhoria da absorção e translocação deste elemento para a planta, principalmente em solos ácidos (ASIMI et al .,1980). De acordo com SIQUEIRA et al., (1988), a redução da intensidade luminosa provocou como consequência uma queda na fotossíntese e na colonização micorrízica das raízes. Os fungos micorrízicos arbusculares utilizam de maneira mais eficiente o P e outros nutrientes, de formas minerais de baixa solubilidade como fosfatos de Fe e Al , predominantemente encontrados nos solos ácidos dos trópicos, e rochas fosfáticas. Os autores também salientaram que, considerando as condições edafoclimáticas, as aptidões agro-florestal e pastoril e a escassez de recursos financeiros e materiais destinados à agricultura, existe no Brasil um enorme potencial para o uso de fungos micorrízicos arbusculares. A infecção micorrízica aumenta o aproveitamento de outros nutrientes pelas plantas, principalmente das formas pouco solúveis, nativas ou aplicadas ao solo, tais como o fosfato de cálcio e de óxido e hidróxidos de alumínio e de ferro (MOAWAD, 1979).

A maioria dos pesticidas age inibindo o estabelecimento dos fungos micorrízicos arbusculares (MOSSE et al .,1973). A fumigação do solo reduz o número de esporos e inibe a infecção. Os fumegantes mais tóxicos para estes microrganismos são cloropicrina, formaldeído, milone, brometo de metila, vapam e vorlex. Por outro lado, fumegantes utilizados para reduzir a população de nematóides no solo podem aumentar a incidência da associação. Os fungicidas sistêmicos inibem as micorrizas arbusculares agindo não apenas nas estruturas externas do fungo, mas podendo também eliminá-lo dentro dos tecidos colonizados. Já os fungicidas não sistêmicos podem ser menos prejudiciais, se usados em doses normais. Os herbicidas possuem efeito

variável, e muitos deles parecem não afetá-las. Há também relatos de que alguns inseticidas inibem a micorrização (O CAMPO et al., 1980).

PAULINO et al., (1986), observaram em trabalho com fungos micorrízicos arbusculares na nutrição mineral (N,P,K) de Trevo e Azevém que a presença de fertilização fosfática diminuiu a micorrização e que a absorção de N foi similar nas plantas fertilizadas com fosfato ou inoculadas com micorrizas. Também salientaram que os fungos micorrízicos arbusculares não aumentaram o aproveitamento de P e K do Azevém em cultivos exclusivos e que a produção de matéria seca das associações mais elevadas foram obtidas na presença de fertilização fosfática.

WANG et al., (1986 c), constataram em ensaio sobre o efeito de diferentes concentrações de N na atividade de fungos micorrízicos arbusculares em trevo, cebola e milho que a infecção por fungos micorrízicos arbusculares foi inibida pelo N. Relataram também que a infecção por fungos micorrízicos arbusculares e a concentração de N no Trevo foram pouco influenciadas pelo N aplicado. Resultados semelhantes foram obtidos em milho e em ervilha. Os autores concluíram também que o maior efeito na infecção por micorriza é devido ao N da planta do que o N do solo.

A inoculação não é bem sucedida em solos férteis, ricos em nutrientes, especialmente N e P, porque esses nutrientes inibem o estabelecimento da associação, e mesmo que a associação se estabeleça, os benefícios para a planta serão mínimos ou inexistentes, porque ela se encontra em condições nutricionais favorecidas, dispensando a contribuição do fungo. Os fungos micorrízicos arbusculares utilizam tanto o amônio como o nitrato, entretanto seus efeitos são maiores na absorção de amônio, que o nitrato. Este último difunde-se lentamente pela rizosfera. Além disso, esses fungos absorvem amônio de concentrações mais baixas que as raízes, e o assimilam rapidamente, via glutamina sintetase. Por isso os fungos micorrízicos arbusculares desempenham papel muito importante no N em solos naturais, como os solos florestais ou aqueles com elevada taxa de amonificação e provavelmente, de menor importância nos solos agrícolas, onde o papel

principal dessas associações seria o favorecimento da fixação biológica do nitrogênio. SIQUEIRA et al., (1988).

3.11 Aspectos ecofisiológicos e alguns pontos importantes do manejo de bactérias fixadoras de nitrogênio associativas.

O processo de fixação biológica de nitrogênio está vulnerável a uma série de fatores estressantes, cada um agindo de uma maneira diferente. Estes determinam o bom desempenho das espécies de diazotróficas e suas associações com organismos superiores em cada ambiente. O comportamento mais eficiente de uma espécie de diazotrófica em fixar nitrogênio em relação a uma outra espécie está diretamente influenciada por fatores genéticos do próprio microrganismo, do hospedeiro e desta interação simbiótica.

O funcionamento da simbiose entre bactérias diazotróficas endofíticas e a planta é mais sensível aos extremos de temperaturas altas ou baixas, do que as plantas fertilizadas com o N-mineral ou de bactérias diazotróficas crescendo em meio de cultura (FRANCO & NEVES, 1992). As temperaturas baixas retardam o processo de colonização interna, enquanto as temperaturas altas diminuíram a eficiência destas bactérias. As melhores temperaturas para a simbiose bactéria diazotrófica-planta está em torno de 25 a 32 ° C. Temperaturas acima de 35 °C podem causar a perda de plasmídeos, que podem inclusive conter os genes Nif e acima de 46 °C, de um modo geral, afetam o processo de colonização interna e a sobrevivência das bactérias diazotróficas associativas. A redução do potencial hídrico no solo também tem efeito direto na atividade de fixação de nitrogênio, principalmente através da diminuição dos produtos da fotossíntese (SPRENT, 1979).

Entre as espécies de bactérias diazotróficas existe uma variação de comportamento em relação aos fatores abióticos. As espécies de bactérias diazotróficas *Azospirillum brasilense* e

Azospirillum lipoferum, por exemplo, não fixam nitrogênio com 10 mM de nitrato, não utilizam sacarose como fonte de carbono, preferem pH entre 6,0 -7,0 e suportam temperatura até 35° C. A espécie *Azospirillum amazonense* não fixa nitrogênio com 10 mM de nitrato, utiliza sacarose como fonte de carbono, prefere pH entre 5,8-6,6 e suportam temperatura até 35° C. Já a espécie *Herbaspirillum seropedicae* também não fixam nitrogênio com 10 mM de nitrato, não utiliza sacarose como fonte de carbono, prefere pH entre 5,3 - 8,0 e suportam temperatura até 35° C (DOBEREINER, 1992).

Dos nutrientes minerais, o nitrogênio é o que exerce o maior efeito sobre a fixação biológica de nitrogênio (FBN), que só acontece em situações de deficiência deste elemento. A presença de altos teores de N diminui as taxas de FBN, como também o processo de colonização interna e a sobrevivência das bactérias diazotróficas associativas no vegetal. O início do processo de colonização interna é mais sensível ao excesso de N. Pequenas doses de N estimulam o crescimento da planta, e conseqüentemente, podem aumentar a eficiência destas bactérias em captar o N₂. BALANDREAU (1996), enfocou que durante a fase de maior crescimento da planta, a mesma exuda de 10 a 15 % dos seus fotossintatos para a rizosfera, energia esta que pode ser muito bem utilizada pelas bactérias fixadoras de nitrogênio (associativas) que estão nesta área da planta. Assume-se que a atividade da nitrogenase nestas bactérias estará diretamente influenciada pela fotossíntese e pela variabilidade de fatores como área foliar, concentração de gás carbônico, luminosidade, temperatura e fechamento de estômatos.

As diversas espécies de diazotróficas desenvolveram estratégias distintas para a obtenção de compostos ricos em energia. Alguns dependem de compostos de carbono da matéria orgânica presente no solo (diazotróficas de vida livre), ou vivem na rizosfera, utilizando compostos orgânicos excretado pelas raízes ou em associações endofíticas com plantas, dos quais recebem os

compostos de carbono. Por isso, para manter altas populações destes microrganismos, é necessário manter o solo com uma relação C\N baixa.

De uma maneira geral plantas dependentes de fixação biológica de nitrogênio são mais sensíveis aos fatores estressantes do solo, como erosão, compactação, acidez, salinidade, alcalinidade, deficiência de P e K e de micronutrientes e estresse hídrico do que plantas adubadas com N-mineral (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

A maioria das bactérias fixadoras de nitrogênio, livres no solo ou associadas às raízes das plantas, é pouco tolerante à acidez em meio de cultura. As bactérias do gênero *Beijerinckia* sp são as mais tolerantes. Em solo, entretanto, *Azotobacter paspali* predomina em raízes de grama batatais (*Paspalum notatum*), mesmo em pH abaixo de 5,0 e *Azospirillum* spp tem sido isolados de raízes e solos com pH abaixo de 4,5. Recentemente, foi isolado uma espécie de *Acetobacter* de raízes e colmos de cana de açúcar, capaz de fixar nitrogênio em pH 3,0 (DOBEREINER, 1992).

Plantas fixando nitrogênio (N_2 entra na forma neutra), pela maior absorção de cátions (Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^+ , Na^+) do que ânions (Cl^- , $H_2PO_4^-$ e SO_4^{-2}) abaixam o pH da rizosfera por deixar um saldo positivo de H^+ no solo (MUNNNS & FRANCO, 1982). O molibidênio é o elemento indispensável na fixação biológica de nitrogênio, pois este micronutriente é um elemento chave contido na nitrogenase, responsável pela transferência final de elétrons da redutase da nitrogenase (Fe - proteína) para o N_2 , com a sua redução a amônio. O molibidênio adsorve-se aos coloides dos solos tropicais tornando-se pouco disponível às plantas. A sua disponibilidade pode ser aumentada com a calagem. O ferro e o magnésio também são importantes no funcionamento da nitrogenase.

4.0 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Aquisição de material de plantas de diferentes genótipos de dendezeiro e pupunheiras adultas na região produtora de Una, no Estado da Bahia para determinação da presença de Bactérias Diazotróficas e Fungos Micorrízicos Arbusculares.

A coleta de amostras de tecido de raízes, folhas e de frutos (endosperma da semente e mesocarpo) para quantificação e isolamento de bactérias diazotróficas em plantações adultas de Dendê (*Elaeis guineensis* Jaquim.) e de Pupunha (*Bactris gasipaes* H.B.K.), foi realizada na Estação Experimental da Ceplac (Comissão Executiva para a Lavoura Cacaueira), “Lemos Maia”, na cidade de Una-BA, região tradicionalmente cultivada com estas palmeiras. Amostras estas, de três genótipos de Dendê (Dura Comum, Dura Dupey e Tenera), e um genótipo de Pupunha (Alaranjada), sendo cinco amostras simples escolhidas ao acaso para formar cada amostra composta. Sendo que de cada parte da planta de cada genótipo amostrado se obteve uma amostra composta.

As respectivas amostras foram devidamente lavadas em água corrente (3 vezes) ;álcool 50% (2 vezes) e água estéril (2 vezes), enxugadas, identificadas e devidamente acondicionadas em embalagens plásticas, onde foram transportadas até o Rio de Janeiro, por via aérea. Estas foram analisadas no laboratório de Gramíneas na *Embrapa Agrobiologia*, Seropédica RJ. De cada uma das amostras foram retiradas alíquotas de 10 g que foram maceradas na proporção de 10 % (peso / volume) em solução salina. A partir desse extrato foram feitas diluições sucessivas até 10^{-6} . Das diluições 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , e 10^{-6} foram retiradas alíquotas de 0,1 ml que foram inoculadas em frascos contendo os meios semi sólidos seletivos LGI (LIPMAN, 1904), JNFb (BALDANI et al.,1992) e NFb (TARANDS, 1978). Este ensaio foi feito utilizando 3 repetições

para cada amostra da planta. O material foi incubado a 30°C , por 96 horas, quando foi feita a avaliação do crescimento da película característica e quantificou-se a população total de bactérias diazotróficas com base na técnica do número mais provável (NMP), e utilizando a tabela de Mac Crady. Dos frascos onde foi verificado o crescimento bacteriano, o material foi sucessivamente repicado para meio semi-sólido específico, riscado em placa com meio específico, repicado para o semi-sólido e riscado em placa com meio rico (meio batata) objetivando a obtenção de culturas puras. Com os isolados totalmente puros, procedeu-se a caracterização de *Azospirillum lipoferum*; *Azospirillum brasilense* e *Azospirillum amazonense* utilizando a metodologia descrita por DOBEREINER et al., (1986 e 1987). As características diferenciais entre as três espécies foram feitas tomando-se como base, o trabalho de BALDANI et al., (1986). A caracterização de *Beijerinckia* spp foi feita utilizando a metodologia descrita por BECKING et al., (1984). Para caracterização de *Herbaspirillum seropedicae* utilizou-se a metodologia descrita por BALDANI et al., (1986). Em seguida procedeu-se a avaliação do potencial de fixação de nitrogênio dos isolados, através da atividade da nitrogenase (via redução de acetileno). Quando era evidenciado um bom potencial de fixação biológica de nitrogênio (entre 300 a 500 nmol . h⁻¹. frasco⁻¹), estes isolados eram estocados em meio batata sólido inclinado com 2 a 3 ml de óleo mineral, para posteriores testes com fonte de carbono, pH e montagem de lâminas para caracterização morfológica das células. Quando o potencial de fixação de nitrogênio não era expresso, os mesmos eram descartados. Esta metodologia utilizada, obedeceu aos principais requisitos básicos relatados por DOBEREINER (1986) e DOBEREINER et al., (1995), para o isolamento de bactérias diazotróficas.

Na hora da coleta de materiais para a contagem e isolamento de bactérias diazotróficas, procedeu-se também a coleta de raízes finas, (raízes menores que 1 mm de diâmetro), para quantificação da colonização micorrízica e de solo de rizosfera, para quantificação e avaliação da

ocorrência das principais espécies de fungos micorrízicos arbusculares, além da coleta de solo para fins de análise química. Para cada amostra de solo da rizosfera o conteúdo foi de 2 kg. A unidade amostral por planta foi coletada à uma profundidade de 10 cm e a uma distância de 0,30 m a 0,40 m do estipe (na projeção da copa).

A extração de esporos foi feita utilizando as técnicas de peneiramento relatada por GERDEMANN & NICOLSON, (1963) seguido de centrifugação com sacarose 45% (JENKINS, 1964). Os esporos extraídos foram devidamente desinfestados com hipoclorito de sódio a 0,5% por seis minutos e estreptomicina a 100 mg . litro⁻¹ por 15 min, lavados por três vezes em água destilada e utilizados para isolamentos de bactérias. Grupos de 50 esporos desinfestados, intactos e estourados e também não desinfestados, foram transferidos para meios semi-sólidos seletivos LGI (LIPMAN, 1904), JNFb (BALDANI et al., 1992); NFb (TARANDS,1978) e JMV (BALDANI,1996), com o objetivo de avaliar o crescimento de bactérias diazotróficas. As raízes finas (raízes menores que 1 mm de diâmetro) foram clarificadas e coradas, seguindo-se a metodologia de GRACE & STRIBLEY (1991), e a porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por FMA foi avaliada de acordo com a metodologia de intercessão em placa, descrita por GIOVANETTI & MOSSE (1980), adaptada a partir do método de medida de comprimento de raízes de NEWMAN (1966). A identificação das espécies de fungos micorrízicos arbusculares foi feita segundo a metodologia de SCHENCK & PEREZ (1987), mediante a preparação de lâminas e observações em microscópio.

O tempo de multiplicação dos esporos das espécies de fungos micorrízicos arbusculares encontrados na rizosfera destas palmeiras foi de 5 meses. A multiplicação foi realizada em vasos com volume de 150 cm³, sendo utilizado como substrato a mistura 3:1 (v:v) de solo (Podzólico Vermelho-amarelo), areia lavada e 0,2% de fosfato natural de Patos de Minas (24% de P₂O₅ total e 5% de P₂O₅ solúvel em ácido cítrico 2%, indicação do fabricante). Em seguida a mistura foi

passada em peneira de malha com abertura de 6 mm, homogeneizada em betoneira e posteriormente autoclavada durante dois tempos de 1 hora. A planta utilizada para a multiplicação foi a *Brachiaria decumbens*. As sementes desta forrageira foram devidamente lavadas, com o auxílio de uma peneira, utilizando água corrente (3 vezes), hipoclorito de sódio 5% (1vez) e água estéril (2 vezes), até total remoção de resíduos de solo e impurezas que vinham junto com as sementes desta forrageira, evitando assim posteriores contaminações.

A análise química dos solos oriundos da rizosfera das plantações adultas de Dendê e Pupunha na Bahia foi feita pelo laboratório de química do solo da *Embrapa Agrobiologia*, onde a rotina era a seguinte: o pH (feito em água), determinação da acidez trocável (Al) realizada pelo extrator KCl (Cloreto de potássio), determinação de (Ca + Mg) realizada através do extrator EDTA, determinação do Ca trocável realizada com o KCl (Cloreto de Potássio) via espectrofotometria de absorção atômica e o P (Fósforo) e o K (Potássio) determinados através da solução extratora de Mehlich-1. A análise química do solo de rizosfera dos diferentes genótipos, mostrou os seguintes resultados : gleba com o genótipo Dura o **pH em água** foi = 5,2 ; **Al** = 1 mmol_c . kg de solo⁻¹ ; **Ca** = 30 mmol_c . kg de solo⁻¹ ; **Mg** = 10 mmol_c . kg de solo⁻¹ ; **P** = 55 mg . kg de solo⁻¹ ; **K** = 62 mg . kg de solo⁻¹. Na gleba do genótipo Tenera o **pH em água** = 4,6 ; **Al** = 1 mmol_c . kg de solo⁻¹ ; **Ca** = 29 mmol_c . kg de solo⁻¹ ; **Mg** = 5 mmol_c . kg de solo⁻¹ ; **P** = 25 mg . kg de solo⁻¹ **K** = 17 mg . kg de solo⁻¹ . Para a gleba com o genótipo Dupey o **pH em água** foi = 4,2 ; **Al** = 5 mmol_c . kg de solo⁻¹ ; **P** = 36 mg . kg de solo⁻¹ ; **K** = 33 mg . kg de solo⁻¹ . Para a gleba com o genótipo Alaranjado (Pupunheira) o **pH em água** foi = 4,4 ; **Al** = 0,6 mmol_c . kg de solo⁻¹ ; **Ca** = 7 mmol_c . kg de solo⁻¹ ; **Mg** = 7 mmol_c . kg de solo⁻¹ ; **P** = 35 mg . kg de solo⁻¹ , **K** = 47 mg . kg de solo⁻¹.

4.2 Experimentos

4.2.1 Experimento N.º 1

Este ensaio foi conduzido em casa de vegetação da *Embrapa Agrobiologia*, (Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia) localizada na cidade de Seropédica, RJ. A *Embrapa Agrobiologia* possui uma latitude de 22 graus, 46 minutos sul e longitude 43 graus, 41 minutos a oeste de Greenwich, com altitude de 33 m, sendo o clima AW, classificado por Koppen.

O experimento foi realizado durante o período de 18 de Maio de 1995 a 18 de Fevereiro de 1996. Utilizaram-se sementes pré germinadas em areia, sendo estas retiradas de pupunheiras adultas. As sementes pré germinadas foram cedidas por um agricultor da cidade de Santa Maria Madalena - RJ, sendo que o mesmo importa sementes da Amazônia peruana, onde 95 % das plantas não possuem espinhos no estipe (caule).

Antes da montagem do ensaio foi necessário reservar algumas plântulas para observação da ocorrência de bactérias diazotróficas (raiz e parte aérea), utilizando os meios LGI (LIPMAN, 1904), JNFb (BALDANI et al., 1992); NFb (TARANDS, 1978) e JMV (BALDANI, 1996). Operação esta de extrema importância, pois evidenciou-se e quantificou-se a população de diazotróficas, preexistentes nas raízes e na parte aérea destas plântulas. Não se utilizou plântulas micropropagadas, porque no momento da instalação dos ensaios não havia disponibilidade suficiente deste material vegetativo para o fornecimento nos principais Centros de Pesquisa que trabalham com esta palmeira, devido principalmente a dificuldade de se encontrar uma metodologia adequada para tal operação.

Após o término da observação da ocorrência e quantificação de bactérias diazotróficas nas plântulas, foi dado prosseguimento à montagem do ensaio. Onde os tratamentos impostos constavam de :

Tratamento 1: Testemunha

Tratamento 2: Plântulas fertilizadas com 14 mg de N a cada 25 dias (na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$).

Tratamento 3: Plântulas inoculadas com a mistura de três isolados de bactérias diazotróficas, oriundas de raízes de pupunheiras e de dendezeiro, sendo dois isolados de *Herbaspirillum* spp (8 A e 7 C) e um de *Azospirillum brasilense* (23 B), sem a inoculação do *Glomus clarum* (Nicolson & Schenck).

Tratamento 4: Plântulas inoculadas com a mistura das estirpes padrões 260 (*Azospirillum lipoferum*), Z-67 (*Herbaspirillum seropedicae*) e M-130 (*Burkholderia* sp) sem a inoculação do *Glomus clarum*.

Tratamento 5: : Plântulas inoculadas apenas com o *Glomus clarum* (30 esporos . plântula⁻¹).

Tratamento 6: Tratamento 3 com a inoculação do fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum* (30 esporos . plântula⁻¹).

Tratamento 7: Tratamento 4 com a inoculação do fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum* (30 esporos . plântula⁻¹).

.

Tratamento 8: : Plântulas inoculadas com o fungo micorrízico arbuscular da espécie *Glomus clarum* e fertilizadas com 14 mg de N a cada 25 dias, na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Os 8 tratamentos foram distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso com 10 repetições.

As plântulas foram distribuídas em recipientes de polietileno envolvidos com uma lâmina de papel alumínio, com a finalidade de evitar excessiva temperatura, sendo que cada um destes recipientes portava um prato na sua base para assim evitar possíveis contaminações durante as irrigações.

Cada recipiente de polietileno media 25 cm de altura por 15 cm de diâmetro, e tinha capacidade para comportar 3 litros de substrato, onde a composição era a seguinte: 50% de Horizonte B oriundo de Podzólico Vermelho-amarelo; 40% de areia lavada, 10% fosfato natural de Patos de Minas (24% P_2O_5 total e 5% P_2O_5 solúvel em ácido cítrico 2% indicação do fabricante) e FTE-BR 12 (a indicação do fabricante mencionava a seguinte composição: 9% de Zn; 1,8% de B; 0,8% de Cu; 3% de Fe; 2% de Mn e 0,10% de Mo), sendo este dosado em 20 kg para cada $2,0 \times 10^6$ kg da mistura. O substrato foi passado em peneira de malha com abertura de 6 mm, homogeneizado em betoneira e em seguida fumigado 3 vezes (com intervalos de uma semana), em tanques de 1000 litros, onde utilizou-se como fumigante o brometo de metila, sendo este dosado em função da recomendação do fabricante. Depois da fumigação, esperou-se 10 dias para a utilização do mesmo. Antes do seu uso, procedeu-se a análise química no laboratório de química do solo do *Embrapa Agrobiologia*, seguindo-se a rotina para todos os elementos já citados anteriormente, exceto o P (Fósforo), onde foi utilizado um extrator alcalino, no caso, o bicarbonato de sódio (Método descrito por OLSEN, 1954). Também foi analisado o N-total do solo seguindo a metodologia de BREMNER, 1965. Os resultados foram o seguinte: o **pH em água** foi = 6,3 ; **Al** = 0 mmol $c \cdot kg$ de substrato $^{-1}$; **Ca** = 26 mmol $c \cdot kg$ de substrato $^{-1}$; **Mg** = 13 mmol $c \cdot kg$ de substrato $^{-1}$; **P** = 4,35 mg $\cdot kg$ de substrato $^{-1}$; **K** = 41 mg $\cdot kg$ de substrato $^{-1}$ e **N total** = 60 mg $\cdot kg$ de substrato $^{-1}$.

O veículo utilizado para a inoculação das bactérias diazotróficas foi a turfa estéril, seguindo a metodologia adotada por ARAÚJO (1981), na dosagem de 9,53 gramas $\cdot$ plântula $^{-1}$, sendo que cada grama continha aproximadamente 10^8 células das bactérias diazotróficas utilizadas em cada tratamento. Antes da inoculação com o *Glomus clarum* foi necessário a desinfestação dos esporos com hipoclorito de sódio 0,5% por 6 minutos e estreptomicina a 100 mg. litro $^{-1}$ por 15

min, seguido de lavagem por três vezes em água destilada e esterilizada. Assim grupos de 50 esporos desinfestados intactos, estourados e não desinfestados foram transferidos para meios semi-sólidos seletivos LGI (LIPMAN, 1904), JNFb (BALDANI et al., 1992); NFb (TARANDS, 1978) e JMV (BALDANI,1996), visando constatar a presença de bactérias diazotróficas. Nos tratamentos com o fungo micorrízico arbuscular procedeu-se a inoculação no momento da distribuição das plântulas nos recipientes de polietileno, utilizando-se como inóculo uma suspensão calibrada para aproximadamente 30 esporos de *Glomus clarum* . plântula⁻¹, tomando-se o cuidado de deixar para inocular por último os tratamentos que continham o fungo micorrízico arbuscular, para evitar assim possíveis contaminações dos demais tratamentos não micorrizados.

As plântulas eram irrigadas com água deionizada de acordo com a necessidade constatada (mantendo-se 70 % da capacidade de retenção de umidade do substrato), sempre tomando-se o cuidado de manter a alternância de umedecimento e secagem relatado por SIQUEIRA & FRANCO, (1988), que tinha como finalidade propiciar uma germinação de esporos mais uniforme possível.

4.2.2 Parâmetros Avaliados do experimento 1

Aos 90; 180 e 270 dias após a inoculação (DAI), mensurou-se o diâmetro (com auxílio de um paquímetro), medido à região do colo e altura, medida do colo até a inserção da folha mais nova. O ensaio foi colhido com 270 dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e de fungos micorrízicos arbusculares. No momento da colheita separou-se, aproximadamente 5 gramas de parte aérea e raízes frescas respectivamente, de cada repetição por tratamento para assim quantificar e reisolar as bactérias diazotróficas, seguindo a metodologia mencionada por DOBEREINER et al., (1995) para plantas não leguminosas. Para cada planta colhida obteve-se a área foliar através de leitura fotométrica em aparelho Li-3100 Area meter (Li-Cor, Inc.). Em seguida procedeu-se a separação da parte aérea e das raízes, como também de 0,4 g de raízes

mais finas (raízes menores que 1 mm de diâmetro) frescas e colocou-se em álcool 50% para posterior clarificação e obtenção da colonização micorrízica. As raízes e a parte aérea foram colocadas para secar em estufa a 60°C com circulação de ar por 72 horas. Determinaram-se os pesos de raízes e de parte aérea secas. Em seguida os materiais das plantas foram moídos para determinação de N-total, P-total e K total. O extrato para análise de nutrientes no tecido foi obtido segundo HUNTER (1975). O preparo das amostras para determinação do P total acumulado na parte aérea e na raiz, foi realizado através de digestão nítrico-perclórica. O conteúdo de P-total nas amostras de parte aérea e raiz foram obtidos por colorimetria, através da formação do complexo fosfato-molibdato em presença de ácido ascórbico (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA-EMBRAPA, 1979); a análise de N total acumulado (Parte aérea e Raiz) e análise de K total acumulado (parte aérea e raiz) foram feitas pelo método descrito pela, EMBRAPA (1979).

As raízes finas (raízes menores que 1 mm de diâmetro) foram clarificadas e coradas obedecendo a metodologia de GRACE & STRIBLEY (1991). A porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares foi avaliada pelo método de intercessão em placa, descrito por GIOVANETTI & MOSSE (1980), adaptado a partir do método de medida de comprimento de raízes de NEWMAN (1966). A quantificação do número de esporos em cada vaso dos tratamentos que foram inoculados, ou não com o fungo micorrízico arbuscular foi feito retirando 50 ml de solo após a separação das raízes e homogeneização do solo (GERDEMANN & NICOLSON, 1963) e centrifugação em água e sacarose 45% (JENKINS, 1964) e observação sob microscópio estereoscópico. A quantificação de bactérias diazotróficas foi avaliada em amostras das raízes e folhas lavadas e desinfestadas superficialmente (5 min em cloramina T a 1%). Fragmentos macerados de ambos os tecidos das plantas (1g) foram colocados em tubos de ensaio contendo nove ml de três quartos ($\frac{3}{4}$) dos sais do meio NFb (Solução salina),

formando a diluição 10^{-1} . Em seguida iniciou-se uma diluição seriada (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} por grama de material fresco) que posteriormente inoculou-se em meios semi-sólidos sem nitrogênio LGI (LIPMAN, 1904), JNFB (BALDANI et al., 1992); NFB (TARANDS, 1978) e JMV (BALDANI, 1996). O crescimento da película característica foi avaliada depois de 96 horas de incubação dos frascos contendo os respectivos meios e inóculos em ambiente sem luz e a uma temperatura de 30°C. Através dos frascos com crescimento de película característica e com base na tabela de Mac Crady se chegou à população das bactérias diazotróficas contidas em cada amostra (DOBEREINER, 1995). Após a quantificação das bactérias diazotróficas, estas foram purificadas, e posteriormente estocadas em meio batata sólido inclinado contendo 2 a 3 ml de óleo mineral. A caracterização de cada um destes reeisolados não foi realizada em função da insuficiência de tempo para tal operação.

Todos os dados foram avaliados com base no teste de variância (Anova 2) e no teste de comparação de médias Tukey a nível de 5 % de probabilidade. O programa estatístico utilizado foi o MSTAT.

4.2.3 Experimento N.º 2

Este ensaio foi conduzido em casa de vegetação na *Embrapa Agrobiologia*, no período de 12 de Janeiro de 1996 a 12 de Outubro de 1996. Utilizaram-se sementes pré germinadas (aproximadamente com 45 a 60 dias após o início de germinação), retiradas de dendezeiros adultos (Genótipo Dupey), sendo estas acondicionadas em recipientes plásticos, contendo vermiculita umedecida e gentilmente fornecidas pela Estação Experimental “ Lemos Maia “ da Ceplac (Comissão Executiva para a Lavoura Cacaueira) na cidade de Una-BA, de onde foram transportadas por via terrestre até o Rio de Janeiro. Antes da montagem do ensaio foi necessário reservar algumas plântulas para observação da ocorrência de bactérias diazotróficas (raiz e parte

aérea), utilizando os meios LGI (LIPMAN, 1904), JNFb (BALDANI et al., 1992); NFb (TARANDS, 1978) e JMV (BALDANI, 1996). Operação esta de extrema importância, pois evidenciou-se e quantificou-se a população de diazotróficas, preexistentes nas raízes e na parte aérea destas plântulas. Após o término da observação da ocorrência e quantificação de bactérias diazotróficas das plântulas de dendezeiro, foi dado prosseguimento à montagem do ensaio, onde os tratamentos impostos constavam de :

Tratamento 1: Testemunha

Tratamento 2 Plântulas fertilizadas com 14 mg de nitrogênio a cada 25 dias (na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$).

Tratamento 3: Plântulas inoculadas com uma mistura de 3 isolados de bactérias diazotróficas, oriundos de raízes de pupunheiras e de dendezeiro, sendo 2 do gênero *Herbaspirillum* (8 A e 7 C) e uma da espécie *Azospirillum brasilense* (23 B), sem a inoculação dos fungos micorrízicos arbusculares.

Tratamento 4: Plântulas inoculadas com as estirpes padrões de *Azospirillum lipoferum* (260), *Herbaspirillum seropedicae* (Z-67), *Burkholderia* sp (M-130) e *Azospirillum lipoferum* (BR-17), sem a inoculação dos fungos micorrízicos arbusculares.

Tratamento 5: Plântulas inoculadas com uma mistura de fungos micorrízicos arbusculares, sendo 100 esporos viáveis de *Scutellospora heterogama* (Nicol. & Gerdemann) Walker & Sanders, 100 esporos de *Scutellospora gregaria* (Schenck & Nicol.) Walker & Sanders e 100 esporos de *Glomus clarum* .

Tratamento 6: Tratamento 3 com a inoculação das mesmas espécies e mesma dosagem de fungos micorrízicos arbusculares utilizados no tratamento 5

Tratamento 7: Tratamento 4 com a inoculação das mesmas espécies e mesma dosagem de fungos micorrízicos arbusculares utilizados no tratamento 5

Tratamento 8 : Plântulas inoculadas com 100 esporos viáveis de cada espécie de fungos micorrízicos arbusculares (*Scutellospora heterograma*, *Scutellospora gregaria* e *Glomus clarum*) e fertilizadas com 14 mg de N a cada 25 dias, na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

Tratamento 9: Tratamentos 3 e 4 juntos com ausência da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares.

Os 9 tratamentos foram distribuídos em delineamento experimental blocos ao acaso com 12 repetições.

As plântulas de dendezeiro foram plantadas em recipientes de polietileno envolvidos com uma lâmina de papel alumínio, com a finalidade de evitar excessiva temperatura, sendo que cada um destes recipientes portava um prato na sua base para assim evitar possíveis contaminações durante as irrigações.

Cada recipiente de polietileno media 25 cm de altura por 15 cm de diâmetro, e tinham capacidade para comportar 3 litros de substrato, onde a composição era a seguinte: 45% de Horizonte B oriundo de Podzólico Vermelho-Amarelo; 45 % de areia lavada; 10 % de fosfato natural de Patos de Minas (24% P_2O_5 solúvel em ácido cítrico 2 % ;indicação do fabricante) e FTE-Br 12 (a indicação do fabricante mencionava a seguinte composição: 9% de Zn; 1,8% de B; 0,8% de Cu; 3% de Fe; 2% de Mn e 0,10% de Mo), sendo este dosado em 20 kg para cada $2,0 \times 10^6$ kg da mistura. Este substrato foi passado em peneira de malha com abertura de 6 mm, posteriormente homogeneizado em betoneira e fumigado 3 vezes (com intervalos de uma semana), em tanques de 1000 litros, onde utilizou-se o fumigante brometo de metila, sendo este dosado em função da recomendação do fabricante. Depois da fumigação, esperou-se 10 dias para a utilização do mesmo. Antes do seu uso, procedeu-se a análise no laboratório de química do solo da *Embrapa Agrobiologia*, seguindo-se a rotina para todos os elementos já citados anteriormente, exceto o P

(Fósforo), onde foi utilizado um extrator alcalino, no caso, o bicarbonato de sódio (Método descrito por OLSEN, 1954) devido ao mesmo não super estimar o conteúdo de P no substrato. Também foi analisado o N-Total do solo seguindo a metodologia de BREMNER (1965). Os resultados foram os seguintes: o **pH em água** foi = 6,1 ; **Al** = 0 mmol_c . kg de substrato⁻¹; **Ca** = 25 mmol_c . kg de substrato⁻¹; **Mg** = 18 mmol_c . kg de substrato⁻¹ , **P** = 4,86 mg . kg de substrato⁻¹ ; **K** = 45 mg . kg de substrato⁻¹ e o **N total** = 61 mg . kg de substrato⁻¹ .

A inoculação das bactérias diazotróficas foi efetuada utilizando-se uma suspensão bacteriana que continha aproximadamente 10⁸ células . ml de suspensão⁻¹ sendo que cada plântula recebeu 2 ml deste inóculo contendo as respectivas bactérias utilizadas para cada tratamento em questão, tomando-se o cuidado de evitar contaminações entre os tratamentos não inoculados com estes microrganismos. A metodologia utilizada seguiu a mesma adotada por ARAUJO (1981).

Antes da inoculação com o *Glomus clarum*, *Scutellospora gregaria* e *Scutellospora heterograma* foi necessária a desinfestação dos esporos com hipoclorito de sódio 0,5 % por 6 minutos e estreptomicina a 100 mg . litro⁻¹ por 15 min, seguido de lavagem por três vezes em água destilada e esterilizada. Assim grupos de 50 esporos desinfestados intactos, estourados e não desinfestados foram transferidos para meios seletivos LGI (LIPMAN, 1904), JNFb (BALDANI et al., 1992); NFb (TARANDS,1978) e JMV (BALDANI,1996), visando constatar a presença de bactérias diazotróficas. Nos tratamentos com fungos micorrízicos arbusculares procedeu-se a inoculação no momento da distribuição das plântulas de dendezeiro nos recipientes de polietileno contendo o substrato mencionado, utilizando-se como inóculo uma suspensão de 100 esporos devidamente calibrada com cada espécie de fungos micorrízicos arbusculares utilizadas no ensaio.

As plântulas eram irrigadas com água deionizada, mantendo-se sempre os 70% da capacidade de retenção de umidade do substrato.

4.2.4 Parâmetros avaliados do experimento 2.

A cada 90; 180 e 270 dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares, mensurou-se o diâmetro (com auxílio de um paquímetro), medido à região do colo e altura, medida do colo até a inserção da folha mais nova . Ao final de 270 dias após a inoculação (DAI) o ensaio foi colhido. No momento da colheita separou-se aproximadamente 5 g de parte aérea e raízes frescas respectivamente de cada 3 repetições por tratamento para assim quantificar e reisolar as bactérias diazotróficas, seguindo a metodologia mencionada por DOBEREINER et al., (1995). Para cada planta colhida obteve-se a área foliar através de leitura fotométrica em aparelho Li 3100 Area meter (Li-Cor, Inc.). Em seguida procedeu-se a separação da parte aérea e das raízes, como também de 0,4 g de raízes mais finas frescas, colocou-se em álcool 50%, para posterior clarificação e coloração das mesmas com o objetivo de determinação da colonização micorrízica. As raízes e a parte aérea foram colocadas para secar em estufa a 60° C com circulação de ar por 72 horas. Determinaram-se os pesos de raízes e de parte aérea secas. Em seguida os materiais das plantas foram moídos para determinação de N-total, P-total e K-total. O extrato para análise de nutrientes no tecido foi obtido segundo HUNTER (1975). O preparo das amostras para a análise do P-total acumulado na parte aérea e na raiz, foi realizado através da digestão nitro-perclórica. A determinação do P-total foi efetuado por colorimetria, através da formação do complexo fosfato-molibdato em presença de ácido ascórbico, seguindo a metodologia descrita pela EMBRAPA, (1979) e a análise de N-total e a análise de K-total acumulados na parte aérea e raiz pelo método descrito pela também pela EMBRAPA (1979).

As raízes finas (raízes menores que 1 mm de diâmetro) foram clarificadas e coradas seguindo a metodologia de GRACE & STIBLEY (1991). A porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares foi avaliada pelo método de intercessão em placa, descrito por GIOVANETTI & MOSSE (1980), adaptado a partir do método de medida de comprimento de raízes de NEWMAN (1966). A quantificação do número de esporos em cada vaso dos tratamentos que foram inoculados com fungos micorrízicos arbusculares foi realizada retirando 50 ml de solo após a separação das raízes e homogeneização do solo (GERDEMANN & NICOLSON, 1963) e centrifugação em água e sacarose 45% (JENKINS, 1964) e observação sob microscópio estereoscópio.

A quantificação de bactérias diazotróficas foi avaliada em amostras das raízes e tecido da parte aérea lavadas e desinfestadas superficialmente (5 min em cloramina T a 1 %). Fragmentos macerados de ambos os tecidos das plantas (1g) foram colocados em tubos de ensaio contendo nove ml de três quartos ($\frac{3}{4}$) dos sais do meio NFb (Solução salina), formando assim a diluição 10^{-1} . Em seguida iniciou-se a diluição seriada (10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} . grama de material fresco $^{-1}$) e posteriormente inoculou-se em meios semi-sólidos sem nitrogênio LGI (LIPMAN, 1904), JNFb (BALDANI et al., 1992); NFb (TARANDS, 1978) e JMV (BALDANI, 1996). O crescimento da película característica foi avaliada depois de 96 horas de incubação dos frascos contendo os respectivos meios e inóculos em ambiente sem luz e a uma temperatura de 30° C . Através dos frascos com sinal positivo e com base na tabela de Mac Crady se chegou à população de bactérias diazotróficas contidas em cada amostra (DOBEREINER et al., 1995). Após a quantificação das bactérias diazotróficas, estas foram purificadas, e posteriormente estocadas em meio batata sólido inclinado contendo 2 a 3 ml de óleo mineral.

A caracterização de cada um destes reisolados não foram realizados em função da insuficiência de tempo para tal operação.

Todos os dados foram avaliados com base no teste de variância (Anova 2) e no teste de comparação de médias Tukey a nível de 5% de probabilidade. O programa estatístico utilizado foi o MSTAT.

5.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES DO EXPERIMENTO 1 (Mudas de Pupunheira)

Para os parâmetros diâmetro do colo e altura, medida do colo até a inserção da folha mais nova, aos 90 dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figuras 1 e 2), foi verificado que entre as plântulas havia uma variação acentuada de comportamento. Isto pode ser atribuído ao período inicial, que é marcado pela adaptação das plântulas ao substrato, como também pela pouca uniformidade destas e a dependência das plântulas às reservas do endosperma da semente (todas as plântulas ainda estavam ligadas ao endosperma da semente). Estes fatores contribuíam para que os efeitos dos tratamentos não se refletissem nesta fase. A testemunha, por exemplo, para o parâmetro altura com 90 DAI (dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares), se comportava estatisticamente superior à testemunha nitrogenada (T2), resultado este antagônico, ao que normalmente é verificado com mudas de pupunheira, quando estas são fertilizadas com N-mineral. BOVI et al., (1987), relataram em trabalhos com mudas de Açaizeiro, que plantas desta palmeira neste estágio não se recomenda a utilização de adubação nitrogenada, pois esta prática causa aumento acentuado de área foliar, tornando a planta mais vulnerável ao estresse hídrico, por ocasião do transplante para o campo. GOMES & ALVIM (1995), em trabalho sobre as exigências nutricionais da pupunheira em estágio de mudas, verificaram que esta palmeira foi bastante exigente em nitrogênio, expressando um desenvolvimento bastante considerável em resposta à fertilização com este elemento.

Com relação ao parâmetro diâmetro com 180 dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 3), foi verificado que ainda não existiam diferenças significativas entre os tratamentos impostos em relação à testemunha. Resultado este diferente do observado por SUDO et al., (1996). Estes autores objetivando investigar o comportamento de fungos micorrízicos arbusculares em mudas de pupunheira, constataram que a

inoculação dos fungos micorrízicos arbusculares proporcionaram um aumento de 22 % no diâmetro, medido à altura do colo, em relação à testemunha.

O efeito da variabilidade entre as plântulas de pupunha, gradativamente começava a ser anulado com o decorrer do tempo. Para o parâmetro Altura com 180 dias após inoculação (Figura 4), por exemplo, o tratamento 8 (N-mineral + *G.clarum*) era estatisticamente superior aos demais tratamentos. PAULA (1992), em trabalho com a inoculação de bactérias diazotróficas associadas ao *Glomus clarum* em mudas micropropagadas de batata doce, observou o mesmo comportamento. O autor relatou que, quando as plantas recebiam o N-mineral associado a esta espécie de FMA, este tratamento era o que se comportava melhor em relação aos demais. A adequada nutrição deste nutriente confere à planta uma síntese mais satisfatória de carboidratos, proteínas, enzimas, clorofila e uma taxa fotossintética mais eficiente (MALAVOLTA et al., 1989).

O tratamento N-mineral com ausência do FMA, apesar de ser inferior estatisticamente ao tratamento 8, apresentava-se superior a todos os demais tratamentos e à testemunha. O fato deste não ser superior ao tratamento 8 (FMA + N-mineral), pode ser atribuído ao maior incremento no crescimento também conferido pela presença do FMA no tratamento nitrogenado micorrizado já mencionado anteriormente. ALLEN et al., (1981) e NELSON (1987), verificaram que os fungos micorrízicos arbusculares intensificaram e incrementaram a nutrição inorgânica dos vegetais micotróficos, além de propiciarem a estes uma maior taxa fotossintética e um maior incremento no seu desenvolvimento. Os resultados continuavam sendo compatíveis com o que foi mencionado anteriormente quanto ao alto grau de resposta desta palmeira ao nitrogênio. O tratamento *Glomus clarum* (T5), apesar de ser inferior aos tratamentos 2 (N-mineral) e 8 (FMA + N-mineral), apresentava-se estatisticamente superior aos demais tratamentos com exceção do tratamento 6 (isolados de palmeiras + FMA), resultado este semelhante com o que foi relatado por SUDO et al., (1996), onde a inoculação com o fungos micorrízicos arbusculares proporcionou um incremento de

45 % em altura em relação à testemunha não micorrizada. Este aumento em altura também foi constatado por SILVA et al., (1994), na qual a associação micorrízica em palmitreiro (*Etuerpe edulis*), evidenciaram que o tratamento micorrizado com *Glomus macrocarpum* (Tulasne & Tulasne) foi superior à testemunha não micorrizada e por BOVI et al ., (1994), em ensaios com híbridos de palmiteiros (*E. edulis* x *E. oleraceae*), inoculados com FMA, onde os autores observaram que as mudas inoculadas com *Glomus clarum* e *Acaulospora scrobiculata* (Trappe) foram superiores às inoculadas com o *Glomus etunicatum* (Becker & Gerdemann) e superiores à testemunha não inoculada com FMA.

Quanto ao fato do tratamento micorrizado (T5) não se comportar estatisticamente superior aos tratamentos 2 (N-mineral) e 8 (N-mineral com o FMA), isto evidencia que, quando se anula a adubação nitrogenada, as plantas não se desenvolvem como às plantas destes dois tratamentos (T2 e T8) e que apenas o *Glomus clarum* só não era capaz de produzir o mesmo efeito observado nestes tratamentos. Isto demonstra mais uma vez, o que vem sendo constatado anteriormente com outros parâmetros analisados, quanto à dependência desta palmeira ao N na fase de muda.

A respeito dos tratamentos que foram inoculados com ambos grupos de bactérias diazotróficas isolados de palmeira (T3) ou estirpe padrões (T4) associados ou não ao *Glomus clarum*, os resultados demonstraram que, quando o FMA era associado às bactérias diazotróficas, o efeito positivo no crescimento das plantas era estatisticamente inferior ao quando esta espécie de FMA era inoculado sem ambos os grupos de bactérias diazotróficas utilizados no ensaio. Provavelmente deve ter existido algum efeito negativo quando ambos microrganismos eram inoculados, refletindo em uma atenuação do efeito positivo no crescimento até então observado quando o fungo micorrízico era inoculado sem as diazotróficas. Embora estes tratamentos tenham sido inferiores ao tratamento N-mineral sozinho ou este com a presença do *Glomus clarum* (T8), ou ao FMA sem o N-mineral (T5), todos eram estatisticamente superiores à testemunha (T1).

Efeito benéfico no desenvolvimento de plântulas micropropagadas de batata doce (PAULA, 1992), e de plântulas micropropagadas de tomate por BAREA & MENGE (1978), foram obtidos através da interação de bactérias fixadoras de nitrogênio e FMA.

A respeito de efeitos positivos no desenvolvimento da planta, oriundos da inoculação de bactérias diazotróficas, com a ausência do FMA, em relação à testemunha. Isto foi atribuído por alguns autores a liberação de substâncias promotoras de crescimento, como os fitohormônios auxina, citocinina e giberelina (HADAS & OKON, 1987; FALLIK et al 1988 e FALIK et al., 1989).

Quanto aos tratamentos que eram inoculados com as bactérias diazotróficas com ou sem o FMA, não apresentarem o mesmo comportamento do tratamento 8 (FMA + N-mineral) e do tratamento 2 (N-mineral), converge para a hipótese de que não houve nitrogênio suficiente proveniente da fixação biológica, para que o suprimento da necessidade deste elemento pelo vegetal fosse devidamente realizado. Este fato pôde se comprovado pela coloração típica “verde pálida” observada nas mudas de pupunha neste período avaliado. TEIXEIRA et al., (1995 **b**) em trabalhos sobre os principais sintomas de deficiência nutricional em mudas de açazeiro (palmeira, onde também se extrai palmito), também constataram o mesmo sintoma. FERRI (1985), relatou que sintomas de carência e de deficiência de nitrogênio manifesta-se em primeiro lugar, com um amarelecimento ou clorose das folhas. Como sem nitrogênio, não há proteína, as plantas deficientes se desenvolvem menos que as plantas supridas adequadamente com esse elemento. No entanto, não temos subsídios suficientes para maiores discussões e esclarecimentos sobre este fato observado, pois não utilizamos a metodologia do N^{15} , empregada por URQUIAGA et al., (1994). Estes demonstraram que é possível mensurar a fixação biológica de nitrogênio em pastagens de *Desmodium ovalifolium* e *Brachiaria humidicula*. Os autores constataram que, no período de 60 dias após a inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio, as mesmas contribuíram com cerca de

40 % do valor de nitrogênio incorporado ao vegetal. BODDEY & VIA (1986), utilizando a mesma metodologia empregada por URQUIAGA et al., (1994) verificaram que cerca de 20-40% do N-total incorporado em algumas espécies de *Brachiaria* spp e de *Panicum maximum* eram provenientes da FBN (fixação biológica de nitrogênio) e de até 60% na cana-de-açúcar (MIRANDA & BODDEY,1987).

Nas figuras 3 (diâmetro, medido à região do colo com 180 DAI) e 4 (altura do colo até a inserção da folha mais nova 180 DAI), observa-se que as plântulas, começavam a refletir mais os efeitos dos tratamentos impostos. Isto pode ser atribuído a fatores como a pouca uniformidade destas, e pelo fato das plântulas desta palmeira em estágio inicial de germinação (cerca de 90 a 120 dias após a emissão da radícula), apresentarem uma dependência elevada do endosperma da semente. Endosperma este que apresenta uma elevada reserva de nutrientes que sustenta a plântula durante um determinado período de tempo. PASSOS (1987), observou também a influência da elevada reserva do endosperma em mudas de Côco (*Cocos nucifera* L.) sobre o desenvolvimento e a influência deste fato no momento de avaliar o estado nutricional destas mudas tanto a nível de campo, como a nível de viveiro. Outro fator que também pode ter contribuído para este fato, pode está relacionado com à aclimação inicial das plântulas ao substrato.

Estes fatores mencionados anteriormente gradativamente eram anulados com o passar do tempo de inoculação. BOVI et al., (1987), relataram que a germinação das sementes de palmeiras em condições naturais, é lenta e desuniforme refletindo assim posteriormente no desenvolvimento das plântulas durante a fase de viveiro. Os autores também evidenciaram que um dos principais entraves ao estabelecimento racional da cultura da Pupunha e do Açaizeiro é o crescimento inicial bastante lento e a considerável mortalidade de mudas, tanto em viveiro como no campo, sendo que experimentos, considerando desde a emergência até o quarto ano de cultivo, as perdas chegam a ser superiores a 40 %.

Para o parâmetro diâmetro com 270 dias após inoculação (Figura 5) os resultados mostram também que o efeito da desuniformidade entre as plantas era anulado com o tempo e assim os dados refletiam valores mais condizentes com os tratamentos impostos. Observa-se que o tratamento N-mineral (T2) e o tratamento FMA + N-mineral (T8) não diferenciavam estatisticamente entre si, e que o tratamento 8 era superior aos demais tratamentos impostos (incluindo a testemunha). Entre os tratamentos 3 (isolados de palmeiras), 4 (estirpes padrões), 5 (FMA), 6 (isolados de palmeiras + FMA) e 7 (estirpes padrões + FMA) não havia diferença significativa.

Um fato importante observado para este parâmetro, foi os tratamentos 7 (estirpe padrão + FMA), 6 (isolados de palmeira + FMA) e 3 (isolados de palmeiras), não expressarem diferenças significativas em relação ao tratamento 2 (N-mineral), conseguindo desta forma apresentar um efeito positivo no desenvolvimento das plantas semelhante a quando estas recebiam a fertilização nitrogenada. BALI & MURKERJ, (1991), em trabalho com Juta (*Corchorus olivaceus*), relataram que quando inoculou-se *Glomus macrocarpum* (Tulasne & Tulasne) e o *Azospirillum brasilense* (estirpe Cd), as plantas evidenciavam um maior incremento de diâmetro de colo em relação à testemunha não inoculada. Quanto a inoculação individualmente de *Glomus clarum* (T5), conferir as plantas este efeito positivo SUDO et al., (1996), também evidenciaram o mesmo comportamento em mudas de pupunheira inoculadas com FMA. CHU (1989 b), em trabalho com a inoculação de FMA em mudas de dendezeiro observou incremento de 32 % em diâmetro do colo, quando se inoculou fungos micorrízicos arbusculares em relação à testemunha não inoculada.

Quanto ao fato das bactérias diazotróficas isoladas das próprias palmeiras com ausência da inoculação do FMA (T3), propiciarem um incremento no diâmetro, este resultado é compatível com o que é relatado por DOBEREINER & BALDANI (1982); RYNDERS & VLASSAK (1982) e por BODDEY et al., (1986). Estes relataram que os melhores resultados obtidos quanto ao

desenvolvimento de plântulas inoculadas com bactérias diazotróficas, são atribuídas às bactérias diazotróficas oriundas da própria espécie vegetal em questão.

Para o parâmetro altura com 270 dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 6), os resultados demonstraram que os tratamentos micorrizado nitrogenado (T8) e o tratamento nitrogenado com a ausência do FMA (T2), eram estatisticamente superiores a todos os demais tratamentos impostos (incluindo a testemunha), o que novamente evidencia a elevada resposta desta palmeira ao nitrogênio em estágio de mudas. Quanto aos demais tratamentos, estes não apresentavam diferenças estatísticas entre si como também em relação à testemunha. Mesmo não sendo significativas essas diferenças, observa-se que em relação a testemunha, a altura elevou-se 26,15 % no tratamento isolados de palmeiras com ausência do FMA; 49,04 % no tratamento estirpes padrões ; 49,19 % no tratamento isolados de palmeiras com o fungo micorrízico; 50,83% no tratamento com as estirpes padrões associadas ao fungo micorrízico arbuscular e de 65,13 % no tratamento que foi inoculado apenas com *Glomus clarum* sendo que essas diferenças só seriam significativas a nível de 10 %. PAULA (1992), evidenciou que, quando havia a inoculação do *Glomus clarum* associado ao N-mineral em batata doce, este tratamento se comportava estatisticamente superior à testemunha e aos tratamentos que eram inoculados com as bactérias diazotróficas com ou sem a presença do fungo micorrízico arbuscular, como também superior ao tratamento que tinha o fungo micorrízico arbuscular sozinho. O que difere dos resultados obtidos por este autor em relação ao que foi observado neste experimento com pupunheira é o fato deste constatar que em plantas micropropagadas de batata doce ao invés do tratamento nitrogenado com ausência do *Glomus clarum* se comportar estatisticamente similar ao tratamento nitrogenado + o *Glomus clarum*, como foi observado com a pupunheira, o mesmo se comportava inferior estatisticamente a este.

Quanto ao tratamento que tinha o N-mineral (Tratamento 2), conseguir um ganho estatisticamente superior à testemunha, isto é compatível com o que é mencionado por MALAVOLTA et al., (1989), no qual a adequada nutrição deste elemento confere a planta uma síntese mais satisfatória de carboidratos, proteínas, enzimas, clorofila e uma taxa fotossintética mais eficiente, refletindo assim no adequado desenvolvimento da planta.

No geral as plantas de todos os tratamentos, incluindo a testemunha tiveram em média, um desenvolvimento maior entre o período compreendido entre 180 e 270 DAI , sendo a variação positiva observada de 108,22 % em diâmetro do colo e 77 % em altura. Em relação ao período inicial compreendido entre 90 DAI e 180 DAI observou-se um ganho no desenvolvimento de 59,51 % em diâmetro e 76,89 % em altura, resultados estes um pouco diferentes dos encontrados por TEIXEIRA et al., (1995 a). Estes constataram que as mudas de pupunheira apresentaram um maior desenvolvimento quando estas tinham entre 60 e 90 dias e entre 180 dias e 210 dias após o início do ensaio.

Para o parâmetro área foliar 270 dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 7), foi verificado que os tratamentos N-mineral (T2) e o tratamento FMA + N-mineral (T8), mostraram um comportamento bastante satisfatório. Os mesmos proporcionaram uma área foliar estatisticamente superior aos demais tratamentos. Estes resultados continuavam comprovando, que a palmeira em estudo expressa uma elevada resposta à adubação nitrogenada, nesta fase da sua fenologia. Em geral o maior incremento da área foliar e maior permanência de suas atividades são obtidas com suprimento adequado deste elemento (MURATA, 1969 ; WATSON et al., 1958 e MURATA & MATSUSHIMA, 1975).

Foi observado também que o tratamento que tinha apenas o *Glomus clarum*. Apesar deste ser estatisticamente inferior aos tratamentos 8 (N-mineral + FMA) e ao tratamento 2 (N-mineral) e de apresentar um comportamento estatisticamente semelhante aos tratamentos que eram inoculadas

com as estirpes padrões associadas ou não ao FMA, ou os tratamentos que eram inoculados com os isolados de palmeiras associados ou não com o FMA; o mesmo apresentava um comportamento estatisticamente superior à testemunha não inoculada (incremento de 179,51 %), resultado este que é semelhante com o que foi observado por SUDO et al., (1996), em trabalho com mudas de pupunheira inoculadas com FMA, onde as plantas inoculadas com este microrganismo apresentavam um ganho de área foliar de 180 % em relação à testemunha não inoculada. ARAUJO (1996), objetivando investigar o comportamento de fungos micorrízicos arbusculares em tomateiro, verificou também um incremento estatisticamente superior da área foliar desta olerícola, nas plantas micorrizadas em relação às não micorrizadas.

Quanto aos tratamentos que tinham as bactérias diazotróficas (estirpes padrões ou isolados de palmeiras), inoculadas individualmente ou acompanhadas com o FMA não apresentarem um comportamento estatisticamente superior à testemunha, isto pode estar relacionado com o fato da planta não apresentar quantidades suficientes de nitrogênio, oriundas da fixação biológica do nitrogênio para suprir a necessidade das plantas, trazendo por consequência uma redução na produção da área foliar, como também ao fato desta palmeira apresentar elevada resposta ao nitrogênio nesta fase de sua fenologia.

Os tratamentos que eram inoculados com as bactérias diazotróficas, associadas ou com o FMA, não diferenciavam estatisticamente entre si, e em relação ao tratamento que era apenas inoculado com o *Glomus clarum*. Isto evidencia, que a associação do FMA com às bactérias diazotróficas não influenciou em ganho ou perda de área foliar em relação à testemunha. Porém quando o *Glomus clarum* era inoculado sozinho (apesar de não diferir estatisticamente dos tratamentos 3, 4, 6 e 7), este conseguia ser superior estatisticamente à testemunha.

Para o parâmetro peso das raízes secas de mudas de pupunheira após 270 dias, de inoculação com bactérias diazotróficas e FMA (Figura 8), foi verificado que os tratamentos 2 (N-

mineral), 8 (FMA + N-mineral) e o tratamento 5 (FMA) eram estatisticamente superiores à testemunha e que entre estes não havia diferenças significativas.

Quanto aos tratamentos que tinham o *Glomus clarum* sozinho ou este associado ao N-mineral (T 5 e T 8), apresentarem um maior incremento de peso de raízes secas em relação à testemunha, este resultado é compatível com o que foi relatado por SILVEIRA (1992). A autora evidenciou que os fungos micorrízicos arbusculares proporcionam ao vegetal um aumento considerável na fitomassa, fato este também constatado por CHU (1989 **a** e 1989 **b**) e por COOPER (1984) em mudas de dendezeiro, BOVI et al., (1987) e por SILVA et al., (1994) em mudas de Açaizeiro, como também por SUDO et al., (1996) em mudas de pupunheira. Foi observado também que o tratamento micorrizado e nitrogenado, era o único tratamento que apresentava superioridade estatística aos tratamentos que eram inoculados com as bactérias (estirpes padrões ou isolados de palmeiras), com ou sem o *Glomus clarum*. Isto vem se repetindo com frequência também nos parâmetros discutidos anteriormente, sendo também compatível com o que foi relatado por PAULA (1992). Este autor observou que a interação do *Glomus clarum* com o N-mineral na dosagem de 20 como de 60 ug . g⁻¹ de N, conseguia expressar um incremento no peso das raízes secas superior estatisticamente à testemunha.

Todos os tratamentos onde eram inoculados conjuntamente bactérias diazotróficas e o fungo micorrízico arbuscular, não diferenciaram estatisticamente da testemunha (T1) e do tratamento N-mineral (T2) ou do *Glomus clarum* sozinho (T5). Fato este diferente do que foi observado por KRISHNAN & KALAVAT (1996), onde a combinação de FMA + *Azospirillum* spp, em mudas de *Azadiractha indica*, proporcionou um aumento estatisticamente significativo no peso de raízes secas em relação à testemunha; como também diferente dos resultados obtidos por SCHONBECK (1995), onde o fungo micorrízico *Glomus clarum* inoculado conjuntamente com *Acetobacter* spp em raízes de cana-de-açúcar, proporcionou um aumento estatisticamente superior no peso de raízes

secas das plantas em relação aos tratamentos onde estes microrganismos eram inoculados sozinhos como também superiores à testemunha.

A respeito dos tratamentos que tinham apenas as bactérias diazotróficas, foi verificado que não havia diferenças significativas entre estes tratamentos (T3 e T4) e a testemunha. Este resultado observado é diferente do que foi relatado por PISHCHIK et al., (1996), onde os autores constataram que a inoculação de *Klebsiella* sp em 3 cultivares de batata inglesa aumentou o rendimento de tubérculos; por CARLETTI et al, (1996), onde foi observado um aumento de 58% no peso de raízes secas de macieira, inoculadas com *Azospirillum brasilense*, como também por KENNEDY (1993), onde bactérias diazotróficas da espécie *Azospirillum brasilense* promoveram um incremento no peso de raízes secas de trigo superior estatisticamente à testemunha não inoculada.

HADAS & OKON (1987); FALLIK et al., (1988) e FALIK et al., (1989), salientaram que os efeitos positivos no incremento de peso de raízes secas, proporcionado por bactérias diazotróficas pode ser atribuído às substâncias produzidas pelas próprias diazotróficas, que pela diversidade de compostos produzidos nesta parte da planta exercem, um efeito tanto nutricional como não nutricional. Quanto ao fato das bactérias diazotróficas inoculadas sozinhas ou com o *Glomus clarum* não apresentarem um acúmulo no peso de raízes secas superior à testemunha converge para a hipótese de que não houve nitrogênio suficiente proveniente da fixação biológica, para que o suprimento da necessidade deste elemento pelo vegetal fosse devidamente realizado, não propiciando desta maneira um maior acúmulo de matéria seca nas raízes em relação à testemunha. Sem nitrogênio, a planta não consegue produzir de maneira adequada proteínas, que são utilizadas no metabolismo vegetal, assim tem-se por consequência plantas deficientes e que se desenvolvem menos que as plantas supridas adequadamente com esse elemento.

Com relação aos tratamentos 7 (estirpe padrões de diazotróficas, inoculadas conjuntamente com o FMA), 6 (isolados de palmeiras inoculados conjuntamente com FMA) e ao tratamento 4 (estirpe padrões de diazotróficas), apresentarem uma acumulação de peso de raízes secas estatisticamente semelhante ao tratamento nitrogenado, isto pode ser explicado pelo fato destas plantas estarem em condições de deficiência de nitrogênio. Assim as mesmas apresentam uma maior tendência de translocarem mais fotossintatos para as raízes, com o objetivo de aumentar a densidade radicular e possibilitar maior extração de nutrientes, o que sugere um possível mecanismo de adaptação ao estresse nutricional. FREDEEN et al., (1989), e FERNANDES et al., (1980), observaram comportamento semelhante em soja e milho respectivamente.

Com relação ao parâmetro peso de parte aérea seca de mudas de pupunheira 270 dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 9), foi verificado que o tratamento micorrizado nitrogenado (T8) era estatisticamente superior aos demais tratamentos impostos, exceto apenas ao tratamento nitrogenado (T2), onde o mesmo tinha um comportamento estatisticamente igual. Com relação ao tratamento onde as plantas eram fertilizadas com nitrogênio (T2 e T8) conferir um maior incremento de peso da parte aérea seca às mudas de palmeiras, resultado semelhante foi também obtidos por CANTARELLA et al., (1995), por TEIXEIRA et al., (1995 **a**), como também por RODRIGUES et al., (1993). Nota-se também que, quando as plantas eram apenas fertilizadas com o N-mineral com ausência do *Glomus clarum*, este tratamento apresentava um comportamento estatisticamente semelhante aos tratamentos 4, 5, 6 e ao tratamento 7, o que não acontecia com o tratamento micorrizado nitrogenado. Foi observado que o tratamento *Glomus clarum* (T5), apresentava um incremento de peso de parte aérea seca estatisticamente similar ao tratamento nitrogenado (T2) e era estatisticamente superior à testemunha (T1).

Quanto aos tratamentos que eram inoculados com fungos micorrízicos arbusculares apresentarem superioridade estatística em incremento de peso de parte aérea seca, resultado semelhante também foi relatado por MATOS & SILVA (1996). Estas autoras constataram em plantas micropropagadas de abacaxi inoculadas individualmente com *Glomus clarum*, *Gigaspora margarita* (Becker & Hall) e *Acaulospora* sp, que as plantas micorrizadas eram estatisticamente superiores às não micorrizadas. SUDO et al (1996), observaram em mudas de pupunheira o mesmo comportamento, onde as mudas desta palmeira que eram inoculadas com FMA, apresentavam um incremento de 140 % no peso de parte aérea seca, em relação à não inoculada. BOVI et al., (1987), objetivando investigar o comportamento de mudas de Açaizeiro inoculado com fungos micorrízicos arbusculares também observaram um incremento de peso da parte aérea seca em relação ao tratamento não inoculado, como também por CHU & BOTELHO (1991), em mudas de dendezeiro, onde as plantas que eram inoculadas com o FMA apresentavam um peso de parte aérea seca superior ao tratamento não inoculado.

Merece também destaque neste parâmetro o tratamento 7 (estirpes padrões + o *Glomus clarum*), que apresentou um comportamento estatisticamente superior ao tratamento não inoculado (testemunha), o que é compatível com os resultados obtidos por PAULA (1992), onde o autor verificou que através da inoculação de *Glomus clarum* + *Acetobacter diazotrophicus* ou de *Glomus clarum* + a mistura de *Klebsiella* sp + *Acetobacter diazotrophicus*, as plantas de batata doce inoculadas se apresentavam estatisticamente superiores ao tratamento não inoculado, como também com os resultados obtidos por BALOTA (1994), em mandioca, onde as bactérias diazotróficas quando associadas ao *Glomus clarum* apresentavam um comportamento estatisticamente superior à testemunha e por SHONBECK (1995), em cana de açúcar, onde o mesmo evidenciou que quando se inoculava o *Glomus clarum* conjuntamente com o *Acetobacter* spp, houve também um incremento do peso de parte aérea seca em relação aos tratamentos onde

estes microrganismos eram inoculados individualmente e também em relação à testemunha; e por KRISHNAN & KALAVATI (1996), onde os autores salientaram em trabalhos sobre a influência da combinação de *Azospirillum* spp e fungos micorrízicos arbusculares que esta interação promoveu um incremento tanto no peso de raízes secas como também no peso de parte aérea seca.

Quanto ao fato dos tratamentos estirpes padrões + *Glomus clarum* (T7), Isolados de Palmeiras + *Glomus clarum* (T6) e as Estirpes Padrões com ausência do *Glomus clarum* (T4), apresentarem o peso de parte aérea seca estatisticamente similar ao tratamento nitrogenado, isto também foi relatado por PAULA (1992). Este observou que, quando inoculava-se o *Acetobacter diazotrophicus* com ausência do FMA ou o *Acetobacter diazotrophicus* associado a *Klebsiella* sp, estes tratamentos apresentavam um comportamento estatisticamente similar ao tratamento nitrogenado.

Quanto aos tratamentos 4, 5, 6 e 7 se apresentarem semelhantes estatisticamente ao tratamento N-mineral (T2), e estes não apresentarem um incremento de nitrogênio da parte aérea (como era de se esperar), semelhante resultado foi obtidos por BAREA et al., (1982); KAPULNIK et al., (1985) e por PACOVSKY (1989 a). Estes constataram aumentos no peso da planta (raiz + parte aérea) seca, porém sem incremento de nitrogênio através da dupla inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares. Isto pode ser explicado pela liberação de substâncias promotoras de crescimento como fitohormônios (auxina; giberelina e citocinina) pelas bactérias diazotróficas como também há evidências que os FMA podem também liberar fitohormônios para o vegetal como foi observado por ALLEN (1985). Aliado a este fator mencionado por estes autores, é importante salientar que tanto o tratamento 7 (estirpes padrões + FMA), como também o tratamento 6, continham o *Glomus clarum*, o que também mostra que o incremento de fitomassa nesta parte da planta pode estar relacionado com a presença destes

microrganismos neste tratamento. A importância da presença do fungo micorrízico arbuscular para o incremento do peso de parte aérea seca já foi anteriormente discutida.

O único tratamento que era inoculado com bactérias diazotróficas e que não apresentou o mesmo comportamento apresentado pelos tratamentos 4 (estirpes padrões), 6 (isolados de palmeiras + FMA) e as estirpes padrões + FMA, (todos eram similares ao N-mineral), foi o que era inoculado apenas com os isolados de palmeiras com ausência do *Glomus clarum*. Este se comportava estatisticamente similar ao tratamento não inoculado (testemunha) e era inferior estatisticamente ao N-mineral.

Para o parâmetro conteúdo de Nitrogênio-total acumulado nas raízes após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 10), verificou-se que a testemunha nitrogenada micorrizada (T8) e a testemunha nitrogenada (T2) conseguiram acumular quantidades estatisticamente superiores de nitrogênio nas raízes em relação aos demais tratamentos impostos no ensaio, o que evidencia novamente a elevada resposta desta palmeira à adubação nitrogenada. Resultado este semelhante com o que foi encontrado por GOMES & ALVIM (1994), em mudas de pupunheira e por TEIXEIRA et al., (1995 **b**), em mudas da palmeira Açazeiro.

Quanto a nenhum tratamento inoculado com bactérias diazotróficas conseguirem acumular nitrogênio em quantidades estatisticamente superiores em relação à testemunha, isto pode estar relacionado com os resultados obtidos por BALOTA (1994). O autor evidenciou que, quando inoculou-se conjuntamente bactérias diazotróficas e FMA a introdução das diazotróficas proporcionou as espécies de FMA, comportamentos diferenciados, sendo que, para algumas espécies deste fungo, o efeito era positivo sendo superior à testemunha não inoculada e para outras espécies de FMA o efeito foi igual ou inferior à testemunha não inoculada. Isto evidencia que tanto

o genótipo de FMA utilizado, como o genótipo das bactérias diazotróficas pode influenciar a expressão da resposta da planta à inoculação.

No caso específico deste experimento com a pupunheira, a interação de ambos os microrganismos parece não ter sido positiva para este parâmetro aqui mencionado. BALANDREAU (1996), enfocou que durante a fase de maior crescimento da planta, a mesma exsuda de 10 a 15 % dos seus fotossintatos para a rizosfera, energia esta que pode ser muito bem utilizada pelas bactérias fixadoras de nitrogênio que estão nesta área da planta. Assume-se então que, a atividade da nitrogenase nestas bactérias está diretamente influenciada pela fotossíntese e pela variabilidade de fatores como área foliar, concentração de gás carbônico, luminosidade, temperatura e eficiência no fechamento e abertura de estômatos da planta. Existem relatos em que o FMA poderia estar envolvido na absorção de nitrogênio. AMES et al., (1983), por exemplo, demonstraram que 30 dias depois da adição de amônio ou resíduos de sorgo marcados com N^{15} , 25 e 5,1% do N^{15} aplicado, respectivamente, foram recuperados por plantas, micorrizadas. Enquanto que nas plantas não inoculadas, os autores observaram que apenas 6,4 e 2,6 % do N^{15} aplicado foram recuperados respectivamente. No caso específico deste ensaio com a pupunheira, apesar de não ter sido utilizado a metodologia do N^{15} , os resultados demonstraram que quando o FMA era inoculado sozinho (sem bactérias diazotróficas ou sem o N-mineral), o mesmo não apresentava uma quantidade de nitrogênio estatisticamente diferente da testemunha não inoculada e em relação aos demais tratamentos impostos (exceto o T2 e o T8).

Para o parâmetro conteúdo de Nitrogênio total acumulado na parte aérea após 270 dias de inoculação com fungo micorrízico arbuscular e bactérias diazotróficas (Figura 11), foi constatado o mesmo comportamento evidenciado pelos tratamentos no parâmetro conteúdo total de Nitrogênio nas raízes (Figura 10). O tratamento nitrogenado micorrizado (T8) e o tratamento nitrogenado (T2), conseguiam acumular nitrogênio em quantidades estatisticamente superiores aos demais

tratamentos impostos. Entre os demais tratamentos não havia diferenças estatísticas, sendo estes estatisticamente iguais à testemunha.

Para o parâmetro Fósforo total incorporado nas raízes de mudas de pupunheira após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 12), foi verificado que o tratamento micorrizado nitrogenado (T8) e o tratamento nitrogenado (T2) apresentavam um comportamento estatisticamente iguais. Estes diferenciavam estatisticamente dos demais tratamentos impostos, incluindo a testemunha.

Entre os tratamentos que não eram fertilizados com o N-mineral (T 3; T 4 ; T 5; T 6 ; T 7 e a testemunha), não existiam diferenças estatísticas, o que evidencia que, quando se supria adequadamente esta palmeira com o nitrogênio, a mesma também expressava um acúmulo maior de fósforo nas raízes em relação às plantas que não eram fertilizadas com o N-mineral. Resultado este que é compatível com o que foi salientado por ENGELSTAD & ALLEN (1971), onde o peso de raízes secas, como também o conteúdo de fósforo total incorporado nesta parte da planta foi mais incrementado, quando se aplicou nitrogênio na forma de amônio, em relação a quando se aplicou nitrato.

Quanto ao fato das bactérias diazotróficas (estirpes padrões ou isolados de palmeiras), não conseguirem proporcionar efeitos estatisticamente superiores de P nesta parte da planta em relação à testemunha resultado semelhante também foi obtido por BALOTA (1994), onde o mesmo constatou que, quando a espécie de *Azospirillum lipoferum*; *Burkholderia* sp ou *Klebsiella* sp eram inoculadas individualmente estas bactérias proporcionaram um conteúdo de fósforo nas raízes em quantidades estatisticamente similares ao encontrado na testemunha. Resultados semelhantes a este também foram mencionados por HOWELLER et al., (1982) e por PAULA (1992).

Os maiores conteúdos de fósforo nas raízes e na parte aérea, além do maior desenvolvimento das plantas, evidenciam a maior capacidade destas em absorver o fósforo. O aumento na capacidade das plantas em absorver o fósforo nesta parte da planta é atribuído ao fato da presença do FMA. Este microrganismo desenvolve grande quantidade de hifas extra radiculares que funcionam como extensões do sistema radicular, aumentando assim, a área de exploração das raízes no solo. Além disso estas hifas absorvem o fósforo além da zona de depleção ao redor das raízes, criada devido à baixa mobilidade deste nutriente. Tem sido salientado que 1 cm de raiz sem colonização de fungos micorrízicos arbusculares pode explorar até 2 cm³ de solo, mas que com raízes que apresentam-se colonizadas com fungos micorrízicos arbusculares o volume explorado pode chegar até 200 cm³ (SIEVERDING, 1989). No caso específico da pupunheira os tratamentos que foram inoculados com o fungo micorrízico arbuscular com ou sem os grupos de bactérias diazotróficas, mas que não eram fertilizados com o N-mineral (T5, T6 e T7) mostraram um comportamento diferente do que foi relatado por este autor.

A maioria dos trabalhos relacionados com palmeiras em estágio de mudas inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares demonstraram que houve um incremento no peso de raízes secas como também um aumento do P, tanto nas raízes como na parte aérea. SUDO et al., (1996), em trabalho com mudas de pupunheiras inoculadas ou não com fungos micorrízicos arbusculares observaram que as plantas que eram inoculadas com este microrganismos apresentavam maior incremento de P nas raízes desta palmeira. SILVA et al (1994), trabalhando com mudas do Açaí também constataram comportamento semelhante observado por SUDO et al., (1996) e também por CHU (1989 **a** e 1989 **b**) em mudas de dendezeiro. Outro fato que pode também ser atribuído para estes tratamentos não apresentarem um comportamento estatisticamente superior à testemunha ou similar ao tratamento 2 e 8 pode estar relacionado com a densidade inicial de inóculo (que neste caso foi de 30 esporos por plântula). Talvez se esta densidade inicial de esporos fosse mais

elevada a colonização micorrízica seria também maior e o efeito dos fungos micorrízicos arbusculares seriam mais satisfatórios para este parâmetro. MENGE (1983), ressaltou que dentre os fatores que mais contribuem para a eficiência da simbiose entre os fungos micorrízicos arbusculares e as plantas, a localização do inóculo, germinação rápida dos esporos no substrato, capacidade de infecção e de crescimento está a densidade inicial de esporos. SIQUEIRA et al., (1994), relataram que a colonização micorrízica, como também os efeitos positivos no incremento do peso de raízes e parte aérea secas de plantas micorrizadas aumenta de maneira linear com o passar do tempo de inoculação até a sua estabilização. O autor salientou também que no momento em que se inicia um ensaio de inoculação para que se reduza a fase chamada de LAG (fase inicial), é fundamental que se eleve a densidade inicial de esporos.

Outro fator que pode ser atribuído ao baixo desempenho destes fungos pode estar relacionado com a própria planta. DEAN (1972); LOPES et al., (1983) e MOSSE (1986) relataram que a colonização radicular por FMA e o número de esporos na rizosfera estão diretamente relacionados com fatores ambientais, como também a espécie da planta envolvida na simbiose.

Para o parâmetro Fósforo total incorporado na parte aérea de mudas de pupunheira após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 13), foi verificado que o tratamento nitrogenado micorrizado (T 8), foi estatisticamente superior aos demais tratamentos. O que não ocorreu quando o tratamento nitrogenado não era associado ao FMA (T2). Isto evidencia novamente a importância da inoculação do fungo micorrízico arbuscular junto à adequada nutrição nitrogenada para esta palmeira que é muito dependente do N, nesta fase de sua fenologia, como já foi discutido anteriormente.

Quanto ao fato da fertilização nitrogenada conferir ao vegetal um maior incremento no conteúdo de fósforo na parte aérea resultado semelhante foi também obtido por GRUNES et al., (1958); SIMPSON (1961), como também por SOLTANPOUR (1969). Estes autores observaram

que plantas que são supridas adequadamente com nitrogênio apresentam um maior acúmulo de fósforo na parte aérea da planta em relação as que não eram fertilizadas com este elemento.

Com relação ao tratamento nitrogenado micorrizado (T8), apresentar um conteúdo de fósforo superior na parte aérea em relação aos demais tratamentos também pode ser atribuído à presença do *Glomus clarum* neste tratamento, isto é compatível com os relatos de SIEVERDING, (1989). O autor salientou que os fungos micorrízicos arbusculares desenvolvem grande quantidades de hifas extra radiculares que funcionam como extensões do sistema radicular, aumentando assim, a área de exploração das raízes no solo. Além disso estas hifas absorvem o fósforo além da zona de depleção ao redor das raízes, criada devido à baixa mobilidade deste nutriente.

Os tratamentos que eram inoculados com as estirpes padrões associados ou não ao *Glomus clarum*, ou os isolados de palmeiras inoculados conjuntamente ou não com o FMA, apresentavam um comportamento similar estatisticamente à testemunha. PAULA (1992), em trabalho com plântulas de batata doce micropropagadas também observou o mesmo comportamento, quando estas recebiam também este tratamento. De acordo com o autor, quando se inoculava conjuntamente o *Acetobacter diazotrophicus* e *Klebsiella* sp, ou quando o *Acetobacter diazotrophicus* era inoculado individualmente estes apresentavam um acúmulo de P nesta parte da planta em quantidades que não diferiam estatisticamente da testemunha. BALOTA (1994), também relatou o mesmo comportamento em trabalhos com plântulas micropropagadas de mandioca inoculadas com bactérias diazotróficas.

Um resultado importante a ser considerado, foi o tratamento isolados de palmeiras associado ao *Glomus clarum* (T 6) e o tratamento isolados de palmeiras com ausência do *Glomus clarum* (T3), que apesar de apresentarem um comportamento estatisticamente similar à testemunha expressavam um conteúdo de fósforo na parte aérea em quantidades similares ao tratamento nitrogenado. Isto não acontecia com as bactérias diazotróficas estirpes padrões ou estas associadas

ao *Glomus clarum*. O que mostra que o desempenho dos Isolados de bactérias diazotróficas oriundas da própria palmeira, apesar de não diferirem estatisticamente em relação às estirpes padrões associadas ou não ao *Glomus clarum*, como também à testemunha, apresentavam um desempenho mais satisfatório. Resultado este que é semelhante aos relatos de GARCIA-SALOMONE (1993). Este autor evidenciou que tanto o genótipo da planta envolvida na interação, como também o genótipo da bactéria diazotrófica, como também o genótipo do FMA em questão são fatores determinantes na expressão da simbiose. O autor observou também que a utilização de estirpes de diazotróficas oriundas da própria espécie (Milho), propiciaram aumentos de até 100% na produção em condições de campo. TOTH et al., (1990), mencionou em trabalho sobre a influência do genótipo na expressão positiva da inoculação de FMA, que o controle genético exercido por diferentes genótipos da planta como também do fungo, são provavelmente os fatores mais importantes a influenciar a micorrização. PEREIRA et al., (1988) e PEREIRA & BALDANI (1995) salientaram que para o potencial de fixação biológica de nitrogênio ser expresso e haver estabelecimento da bactéria, é necessário que a estirpe inoculada seja específica além de competitiva. DOBEREINER (1992), também mostrou a importância do uso de estirpes específicas de *Azospirillum* sp para se obter um benefício no estabelecimento da bactéria na raiz da planta hospedeira. BALDANI & DOBEREINER (1987), em trigo sob condições de campo evidenciaram que os resultados mais satisfatórios em relação à fixação biológica de nitrogênio ocorreram quando as plantas eram inoculadas com estirpes oriundas da própria espécie.

Quanto aos tratamentos estirpes padrões + o *Glomus clarum*, ou os isolados de palmeiras associadas ou não ao *Glomus clarum* não apresentarem diferenças estatísticas em relação à testemunha BALOTA et al., (1994), encontraram também resultado semelhante. Estes constataram que quando se inoculava *Klebsiella* sp + *Glomus clarum*, *Burkholderia* sp + *Glomus clarum*;

Azospirillum sp + *Glomus clarum*, ou ainda a mistura das diazotróficas mais este fungo micorrízico arbuscular estes tratamentos, não eram diferentes da testemunha.

Com relação ao parâmetro Potássio total incorporado nas raízes de mudas de pupunheira após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 14), foi verificado que o tratamento micorrizado e nitrogenado (T8), como também o tratamento N-mineral (T2), não diferiram estatisticamente entre si. Os mesmos apresentavam uma acumulação de potássio nesta parte da planta em quantidades estatisticamente superiores a quando se inoculava as bactérias diazotróficas estirpes padrões associadas ou não ao FMA, ou os isolados de palmeiras associados ou não ao FMA, como também à testemunha. Observa-se que quando se utiliza um suprimento adequado de nitrogênio para esta palmeira em estágio de mudas, há uma melhoria acentuada também na nutrição potássica. USERWOOD (1982), salientou que a fertilização de nitrogênio em plantas não leguminosas como o Milho, por exemplo, estimula o crescimento vegetativo e conseqüentemente aumenta a necessidade de nutrientes na planta, sendo que, dentre os nutrientes está o potássio. Assim, este nutriente estando disponível no solo ou no substrato (no caso específico da Pupunha), tem-se um aumento significativo deste nutriente na planta. GOMES (1967), também reportou em trabalho sobre a absorção de nutrientes e produção de grãos em milho com deficiência de potássio, tratados com diferentes níveis de nitrogênio, que a fertilização nitrogenada conferiu um aumento de 62 % no conteúdo de potássio na planta, fato este que o autor atribuiu ao sinergismo entre estes elementos no tecido da planta.

Observa-se também, que mesmo os tratamentos 2 e 8 expressando um comportamento estatisticamente similar, nota-se um desempenho mais satisfatório do tratamento 8 em relação ao tratamento 2. O tratamento micorrizado nitrogenado (T8), por exemplo, era superior a todos os tratamentos impostos (com exceção do T2), incluindo a testemunha. Enquanto o tratamento nitrogenado (T2), apresentava-se estatisticamente similar ao tratamento que tinha apenas o fungo

micorrízico arbuscular (T5). Isto evidencia que o fato do *Glomus clarum* estar associado ao N-mineral, este confere uma melhoria na incorporação de K nas raízes em relação ao tratamento que tinha apenas o N-mineral. SIEVERDING (1991), relatou que plantas micorrizadas são encontradas com uma quantidade de potássio e magnésio superior às plantas não micorrizadas, sendo que a maior concentração deste elemento (K) nas plantas micorrizadas pode ser atribuído a um efeito indireto proporcionado pela eliminação da deficiência de fósforo proporcionada pela exploração de um maior volume de solos pelas hifas extraradiculares. BOLAN (1991), evidenciou que a maior eficiência na absorção de fósforo, por plantas micorrizadas, se deve basicamente, a exploração de um maior volume de solo e ao transporte do P ser mais eficiente no interior das hifas fúngicas do que a difusão deste elemento no solo. Plantas micorrizadas favorecem um melhor aproveitamento de fontes pouco solúveis como fosfatos de Fe e Al e rochas fosfáticas, pelo aumento da absorção do fósforo solúvel. Outro fato também que pode estar relacionado é o sinergismo existente entre N e P no tecido vegetal já mencionado anteriormente.

Outro ponto que merece ser destacado, é que o tratamento *Glomus clarum* (T5), apesar de expressar um conteúdo de potássio nas raízes que não diferiam estatisticamente dos tratamentos isolados de palmeiras com presença ou ausência do *Glomus clarum*, das estirpes padrões de bactérias diazotróficas com presença ou ausência do *Glomus clarum*, ou ainda da testemunha, apresentou uma quantidade estatisticamente igual de potássio nas raízes ao tratamento N-mineral. Como já foi mencionado anteriormente plantas micorrizadas, em geral apresentam um conteúdo de K mais elevado do que plantas não micorrizadas, resultado este também observado por MATOS (1995). Esta autora constatou que plantas de batata inglesa micorrizadas tinham mais potássio do que as plantas que não eram micorrizadas.

Com relação aos tratamentos que eram inoculados com os isolados de palmeiras com ou sem o *Glomus clarum*, como também as estirpes padrões associadas ou não ao fungo micorrízico

arbuscular não diferirem estatisticamente da testemunha semelhante resultado foi também obtido por PAULA (1992), onde os tratamentos que eram inoculados conjuntamente bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares, ou quando as diazotróficas eram inoculadas sozinhas estes apresentavam um conteúdo de potássio nas raízes que não diferiam estatisticamente da testemunha.

A respeito dos tratamentos que tinham os fungos micorrízicos arbusculares associados às bactérias diazotróficas (T6 e T 7), não apresentarem um acúmulo de potássio em quantidades estatisticamente similares ao N-mineral (T 2) como também ao tratamento *Glomus clarum* (T 5), converge para a hipótese de que pode ter ocorrido algum efeito negativo nesta interação, trazendo como consequência o baixo desempenho do *Glomus clarum*.

Para o parâmetro Potássio total incorporado na parte aérea de mudas de pupunheira após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 15), foi observado que o tratamento nitrogenado associado ao *Glomus clarum* (T8), era estatisticamente similar ao tratamento nitrogenado (T2), no entanto, o primeiro tratamento mencionado se comportava estatisticamente superior aos demais tratamentos incluindo a testemunha. Fato este não observado com o tratamento 2. Isto mostra que a fertilização nitrogenada por si só não era capaz de promover um comportamento semelhante a quando este tratamento era associado ao fungo micorrízico (T8). Um exemplo do desempenho inferior do tratamento nitrogenado (T2) em relação ao tratamento nitrogenado micorrizado; é o tratamento nitrogenado apresentar um comportamento estatisticamente similar aos tratamentos 3, 5 e 6. O que não acontecia com o tratamento micorrizado nitrogenado. Este resultado mais uma vez traz evidências claras de que a inoculação do FMA associada a um suprimento adequado de nitrogênio para esta palmeira em estágio de mudas, promove uma melhoria acentuada na nutrição da planta, demonstrada aqui no acúmulo de

potássio nesta parte da planta em quantidades superiores à testemunha e aos tratamentos 3, 4, 5, 6, ao tratamento 7, fato este que já foi discutido anteriormente.

Quanto a fertilização nitrogenada, como também à presença do FMA conseguir conferir a esta palmeira uma melhoria na nutrição do potássio é extrema importância, pois como foi relatado por GOMES & ALVIM (1995) e TEIXEIRA et al., (1995 b), esta palmeira é muito exigente tanto em nitrogênio como também em potássio. Assim, estes dois elementos não estando disponíveis a esta palmeira nesta fase da sua fenologia, pode causar sérias conseqüências ao desenvolvimento e a produção.

Um ponto importante que vale ser ressaltado é o os tratamentos 5 (*Glomus clarum*), 6 (*Glomus clarum* + isolados de palmeiras) e 3 (isolados de palmeira com ausência do FMA), proporcionarem uma quantidade de potássio na parte aérea estatisticamente similar ao tratamento nitrogenado, apesar destes não diferirem estatisticamente da testemunha.

A respeito dos tratamentos 5 e 6 apresentarem este comportamento, como também o fato do *Glomus clarum* presente no tratamento 8 conferir um melhor desempenho deste tratamento em relação ao T 2 (apesar do T 8 e T 2 serem estatisticamente similares), pode ser atribuído principalmente à presença do fungo micorrízico arbuscular nestes tratamentos, como já foi observado anteriormente. Este microrganismo confere às plantas micorrizadas uma melhoria na absorção de nutrientes, incluindo o potássio. Semelhante resultado também foi constatado por GERDEMANN (1964); ROSS (1971); DEAL et al., (1972) e por KLEINSCHMIDT & GERDEMAN (1972). Estes autores verificaram que as plantas não micorrizadas expressavam uma menor quantidade de potássio em relação às que estavam micorrizadas, como também por COOPER (1994), onde o autor evidenciou que a adição conjunta de fosfato de rocha natural associados aos fungos micorrízicos em mudas de dendezeiro proporcionou uma melhoria na absorção de nutrientes de tal forma que houve um incremento na produção de matéria seca da

planta (principalmente das raízes), como também na melhoria de absorção do macronutriente K e dos micronutrientes como o Fe, Zn e Cu. COOPER (1984); ALLEN et al., (1981) e NELSON (1987), constataram que os fungos micorrízicos arbusculares intensificam e incrementam a nutrição inorgânica dos vegetais micotróficos incluindo o K.

Quanto ao fato do tratamento isolados de palmeiras com ausência do fungo micorrízico arbuscular apresentar um comportamento estatisticamente similar ao tratamento nitrogenado isto pode estar relacionado com uma melhoria na absorção de nutrientes como foi constatado por CARLETTI et al., (1996), em trabalho com a inoculação de *Azospirillum brasilense* (estirpe Cd) em porta enxertos de Macieira. Este autor constatou que além de um incremento no peso de raízes secas, houve uma melhoria na nutrição da planta, incluindo o potássio.

Com relação aos parâmetros porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por FMA (Figura 16), e número de esporos para cada 50 ml de substrato oriundo de rizosfera de mudas de pupunheira após 270 de inoculação de bactérias diazotróficas e FMA (Figura 17), foi observado que no momento da separação das raízes finas para o mensuramento da colonização micorrízica, verificou-se uma escassez destas.

Quanto aos resultados observa-se que não havia diferenças significativas entre os tratamentos micorrizados. Estes tratamentos para ambos os parâmetros analisados foram estatisticamente superiores aos demais tratamentos que não eram inoculados com os fungos micorrízicos arbusculares e com relação à testemunha (T1). Entre os tratamentos não micorrizados (Tratamentos 2, 3 e 4) e a testemunha (T1), também para ambos os parâmetros avaliados não apresentavam diferenças significativas. A porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por FMA para os tratamentos micorrizados variou de 12 a 14 %, resultado este um tanto diferente do que foi observado por SUDO et al., (1996). Esta autora e seus colaboradores encontraram uma colonização micorrízica de 53%.

Os fungos micorrízicos arbusculares utilizados no ensaio foram oriundos de outras culturas, que não eram as palmeiras. TOTH et al., (1990) afirmou que o controle genético exercido tanto pelo genótipo do FMA, como também pelas planta são provavelmente os fatores mais importantes e que influenciam substancialmente a colonização micorrízica, como também a eficiência dos FMAs para a planta. A associação preferencial entre plantas e espécies de fungos micorrízicos arbusculares pode ser avaliada considerando-se as combinações que obtenham maior estímulo no crescimento da planta e a maior colonização de raízes ou máxima esporulação, porém, estes três fatores não são necessariamente correlatos (MOSSE, 1973). Os fatores que determinam a afinidade fungo micorrízico arbuscular e a planta hospedeira, ainda não foram totalmente estabelecidos, porém não há dúvidas que esta relação é de máxima importância.

Quanto a utilização FMA extraídos da própria rizosfera desta palmeira, coletadas no seu próprio habitat (região de Una-BA), houve uma tentativa de se realizar tal operação, mas, no entanto, os fungos provenientes da Bahia não apresentaram uma multiplicação satisfatória e apresentavam sempre problemas de contaminação ao final da multiplicação. Como o material não se encontrava homogêneo e não apresentava um número suficiente de esporos viáveis para a montagem de um ensaio de inoculação, procedeu-se o cancelamento do uso destes esporos. Este fato pode ser explicado também pela dificuldade de se criar as mesmas condições edafoclimáticas existentes na Bahia em condições de casa de vegetação na *Embrapa Agrobiologia*, Seropédica-RJ. Assim como o tempo era relativamente curto para a implantação do ensaio envolvendo mudas desta palmeira, utilizou-se o fungo micorrízico arbuscular da espécie *Glomus clarum* oriundo da coleção da *Embrapa Agrobiologia*, que apresentava um elevado grau de pureza e quantidade de esporos viáveis para montagem do ensaio.

SIQUEIRA et al., (1994), relataram que a colonização micorrízica, como também os efeitos positivos no incremento do peso de raízes e parte aérea secas de plantas micorrizadas, como

também o incremento no teor de P na planta elevam-se de maneira linear com o passar do tempo de inoculação até a sua estabilização. O autor mencionou também que no momento em que se inicia um ensaio de inoculação para que se reduza a fase chamada de LAG (fase inicial), é fundamental que se eleve a densidade inicial de esporos. DEAN (1972); LOPES et al., (1983) e MOSSE (1986), constataram que colonização radicular e a densidade de esporos na rizosfera estão diretamente relacionados com fatores ambientais; fatores relacionados à planta como também a espécie da planta envolvida na simbiose. O que pode ter acontecido também com as mudas de pupunheiras inoculadas com os FMAs neste caso específico, é que estas pode não ter fornecido fotossintatos suficientes para que o sistema fosse considerado mais satisfatório.

Observa-se também que não houve efeito negativo na colonização micorrízica pelo fato das bactérias diazotróficas estarem associadas ao FMA (T 6 e T 7), em relação ao tratamento micorrizado apenas (T5). Todos estes tratamentos apresentavam uma colonização micorrízica, como também um número de esporos por 50 ml de substrato da rizosfera estatisticamente similares.

Observa-se também que o fato do tratamento que era inoculado com o *Glomus clarum* e ter a presença da fertilização nitrogenada na forma de sulfato de amônio (a 21% de N) a cada 25 dias não influenciou a colonização micorrízica, pois este tratamento não diferenciava estatisticamente dos demais tratamentos que tinham somente o fungo micorrízico arbuscular.

Quanto ao número de esporos 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 17), este variou entre os tratamentos micorrizados entre 92 a 150 esporos por 50 ml de substrato de rizosfera, porém não foi observado diferença estatística entre estes tratamentos.

Para o parâmetro população de bactérias diazotróficas em raízes de mudas de pupunheira após 270 dias de inoculação, com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares

(Figura 18), verificou-se que os tratamentos que foram inoculados com os isolados de palmeiras associados ao FMA (T 6, com $3,47 \times 10^5$ células por g de matéria fresca) e os isolados padrões com ausência do FMA (T4, com $3,7 \times 10^5$ células por g de matéria fresca), apresentavam uma similaridade estatística no número total de bactérias diazotróficas, nesta parte da planta. Entre os tratamentos FMA com ausência das bactérias diazotróficas (T 5, com $2,45 \times 10^3$ células por g de matéria fresca), N-mineral (T 2, com $3,0 \times 10^3$ células por g de matéria fresca) e a testemunha (T 1, com $1,54 \times 10^3$ células por g de matéria fresca), não havia diferença estatística. Sendo estes estatisticamente inferiores aos tratamentos 4 e 6 citados anteriormente. O tratamento isolados de palmeira, com ausência do FMA (T 3, com $9,45 \times 10^4$ células por g de matéria fresca), era estatisticamente superior aos demais tratamentos, exceto o T4 (isolados padrões) e o T6 (isolados de palmeiras + FMA), onde o mesmo apresentava um número de bactéria diazotrófica inferior estatisticamente. Excetuando os tratamentos 3 (isolados de palmeiras), 4 (estirpes padrões) e o tratamento 6 (isolados de palmeiras + FMA) foi observado que o tratamento que era inoculado com as estirpes padrões + o FMA (T 7, com $3,30 \times 10^4$ células por g de matéria fresca), apresentava uma população de bactérias diazotróficas, estatisticamente superior aos demais tratamentos. Verificou-se também que o tratamento N-mineral associado ao *Glomus clarum* (T 8, com com $1,36 \times 10^3$ células por g de matéria fresca), apresentava estatisticamente a menor população de bactérias diazotróficas.

Verificou-se também que o tratamento isolados de palmeiras associado ao *Glomus clarum* apresentava um crescimento de diazotróficas principalmente nos meios NFb e LGI, fato este que constata a presença de *Azospirillum* sp nesta parte da planta. Pois como foi relatado por DOBEREINER et al., (1995), estes meios de culturas são considerados seletivos para *Azospirillum lipoferum* (NFb); *Azospirillum brasilense* (NFb); *Azospirillum halopaeferans* (NFb), como também ao *Azospirillum irakense* (NFb) e ao *Azospirillum amazonense* (LGI).

Resultados semelhantes também foram obtidos por MAGALHÃES & DOBEREINER (1984), como também por FERREIRA et al., (1994) e por FERREIRA et al., (1995) quanto a colonização deste gênero de diazotróficas nesta parte da planta. A presença de bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* sp nas raízes desta palmeira, fornece bases para afirmar que dentre as bactérias diazotróficas que foram inoculadas neste tratamento, provavelmente a deste gênero foi reisolada, pois neste tratamento, dentre os isolados de palmeiras (23 B; 8A e 7C) inoculadas, um dos isolados, foi identificado como sendo *Azospirillum brasilense*. Observa-se também que não houve crescimento de *Herbaspirillum* sp (dentre os 3 isolados de palmeira inoculados; dois eram *Herbaspirillum* sp). Se houvesse a presença desta espécie, seria constatada a presença de crescimento no meio JNFb. Resultado este não observado. FERREIRA et al., (1994) e (1995), relataram a presença desta bactéria diazotrófica em raízes de Pupunha e de Açaí. No entanto, MAGALHÃES & DOBEREINER (1984), não constataram a presença desta diazotrófica nesta parte da planta. Resultado este que pode ser atribuído a algum efeito antagônico entre o *Azospirillum* sp e o *Herbaspirillum* sp, nesta parte da planta.

A respeito do tratamento estirpe padrão com ausência do *Glomus clarum* (T4), foi verificado que houve um crescimento principalmente nos meios LGI (meio seletivo ao *Azospirillum amazonense*) e JMV (meio seletivo a *Burkholderia* sp.). Quanto ao fato de encontrar *Burkholderia* sp, este resultado evidencia que a inoculação imposta neste tratamento pode ter promovido a colonização desta diazotrófica nas raízes desta planta, confirmada aqui com o seu reisolamento. O fato de se encontrar esta diazotrófica em raízes desta palmeira, parece ser um fato isolado, pois não há relatos em literatura que evidencie a presença desta espécie de bactéria diazotrófica recentemente identificada como *Burkholderia burkholderia* (antiga bactéria E). Quanto ao crescimento de diazotróficas em meio LGI, mais uma vez confirma a presença de *Azospirillum amazonense* nesta parte da planta, já que a inoculação imposta com as estirpes padrões não

continha o *A. amazonense* e sim a estirpe padrão de *A. lipoferum*. Como já foi mencionado anteriormente por FERREIRA et al., (1994) e (1995), como também por MAGALHÃES & DOBEREINER (1984), a espécie diazotrófica *A. amazonense* é uma bactéria diazotrófica típica das raízes desta palmeira, sendo encontrada em quantidades satisfatórias e com uma boa frequência tanto na Região Amazônica, como no Estado do Rio de Janeiro e na Bahia.

Quanto ao tratamento FMA, sem a presença das bactérias diazotróficas (T5), este apresentou uma maior colonização de bactérias diazotróficas no meio NFb, do que o tratamento que tinha apenas o N-mineral, apesar deste tratamento não ter sido inoculado com nenhuma bactéria diazotrófica. Este meio é seletivo para às espécies como *Azospirillum lipoferum* (NFb); *Azospirillum brasilense* (NFb); *Azospirillum halopaeferans* (NFb), como também o *Azospirillum irakense* (NFb). Quanto a este tratamento apresentar bactérias diazotróficas destas espécies, isto pode estar relacionado com o fato destas bactérias estarem colonizando o endosperma das sementes desta palmeira, sendo que com o passar do tempo da germinação, e com o esgotamento das reservas do endosperma, estas diazotróficas passaram a colonizar as raízes desta palmeira. SHAMUSDIM et al., (1995), encontrou resultado semelhante em raízes de uma outra palmeira (dendezeiro). Este encontrou bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* sp colonizando diferentes genótipos de dendezeiros em diferentes solos da Malásia. Quanto a presença de bactérias diazotróficas crescendo em meios como o JNFb (*Herbaspirillum* sp) e LGI (*Azospirillum amazonense*), no tratamento que tinha as plantas fertilizadas a cada 25 dias com N-mineral, apesar de ter sido encontrado em uma densidade inferior estatisticamente aos tratamentos 3, 4, 5, 6 e 7, evidencia que não apenas o *Azospirillum* sp estaria colonizando em pequena população as raízes desta palmeira, mas também o *Herbaspirillum* sp. Resultado este que confirma os relatos obtidos por FERREIRA et al., (1994, 1995 e 1997), também em raízes de pupunheira. Muitos autores têm relatado o efeito inibitório das altas doses de fertilizantes

nitrogenados na redução da população de diazotróficas. Neste caso específico observa-se que este tratamento apresentava uma população de diazotróficas superiores ao tratamento N-mineral + *Glomus clarum* e similar à Testemunha. O que parece estar relacionado com algo inerente a mecanismos utilizados pelas diazotróficas para contornar a alta concentração de N por parte desta diazotrófica.

Quanto ao tratamento N-mineral + *Glomus clarum*, apresentar o menor número de bactérias diazotróficas nesta parte da planta em relação aos demais tratamentos impostos, como também à testemunha, pode ser atribuído ao efeito do fertilizante nitrogenado utilizado neste tratamento. Mesmo tendo sido observado que o tratamento que tinha o N-mineral apresentava um número de bactérias diazotróficas superior a este tratamento, como já foi mencionado. No entanto aqui entra um novo fator, que é a presença do fungo micorrízico arbuscular, como também a adubação nitrogenada que elevou a valores muito elevados tanto os conteúdos de N, como o de P, no tecido da planta, de tal forma que a colonização de diazotróficas nesta parte da planta foi gradativamente diminuída. Este resultado é compatível com que é relatado por SIQUEIRA & FRANCO (1988), onde os autores destacaram que nutrientes do solo especificamente o N influenciam de maneira negativa a colonização de bactérias diazotróficas.

Observa-se também neste parâmetro que o tratamento Isolados de Palmeiras com o FMA, proporcionou uma maior população de diazotróficas do que quando este tratamento não era inoculado conjuntamente com o *Glomus clarum*, o que evidencia que o FMA conferiu uma maior colonização destas diazotróficas nesta parte da planta, resultado este que também foi constatado por BAREA & AZCON (1983), como também por PACOVSKY (1989 a) e PAULA et al., (1991), onde os autores observaram que na região das raízes existem grandes possibilidades da penetração das hifas de FMA.

Para o parâmetro população de bactérias diazotróficas na parte aérea de mudas de pupunheira após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 19), verificou-se que os tratamentos 8, 2, 5, 7, 4 e o tratamento 3 não evidenciaram presença de bactérias diazotróficas em nenhum meio utilizado. Verificou-se também que o tratamento isolados de palmeiras associado ao *Glomus clarum* (T6, com $1,50 \times 10^5$ células por g de matéria fresca, tendo o meio LGI como o único que evidenciou crescimento de diazotróficas), foi estatisticamente superior a testemunha.

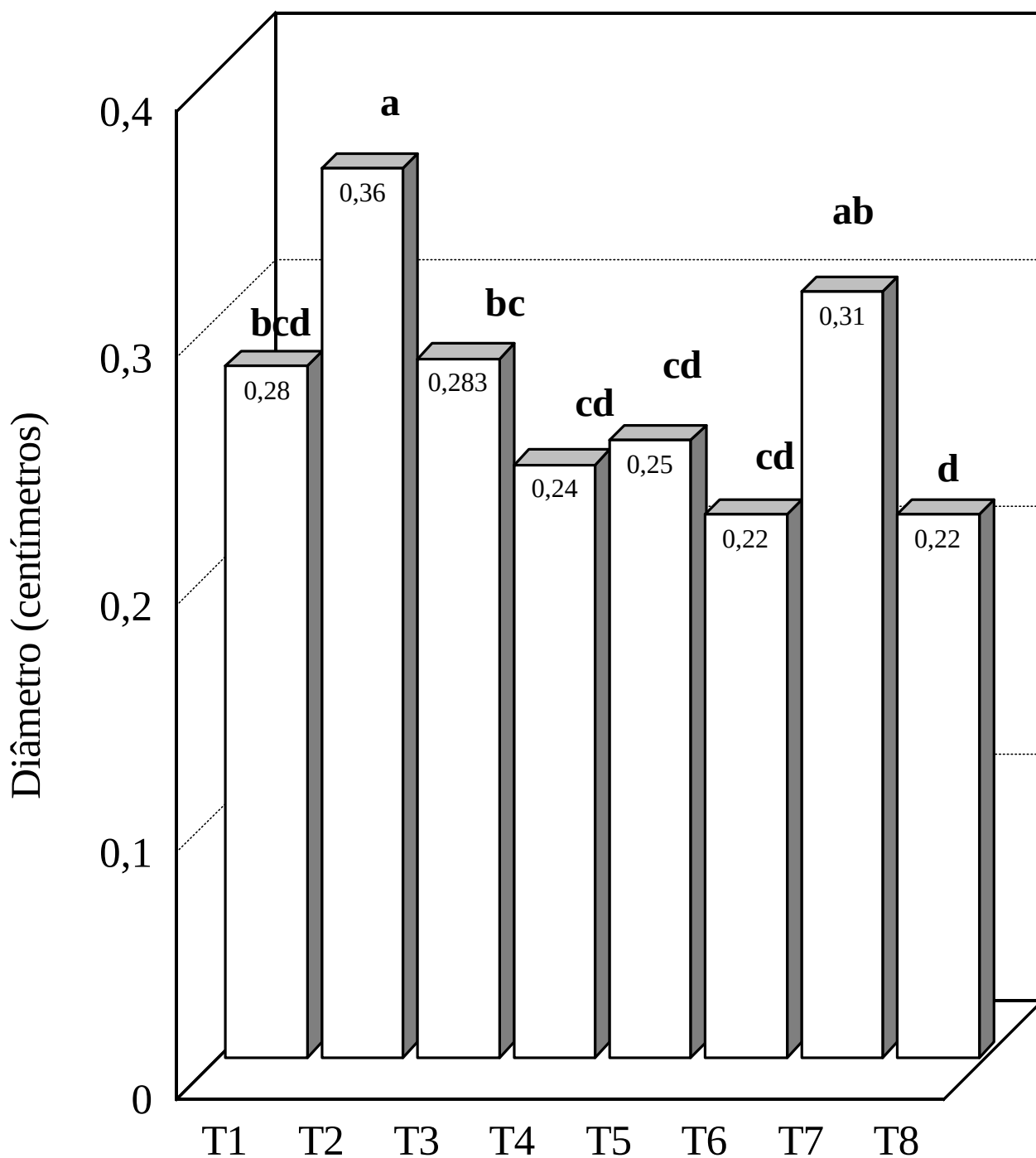
Com relação ao tratamentos 6, este evidenciava crescimento de bactérias diazotróficas principalmente nos meios LGI. Meio este que é seletivo apenas para o *Azospirillum amazonense*, resultado este que é semelhante com os relatos de MAGALHÃES & DOBEREINER (1984), embora estas autoras constatassem a presença desta diazotrófica, apenas nas raízes. O fato de encontrar estas diazotróficas na parte aérea, parece ser compatível com o que é relatado por PACOVSKY (1989 a) e PAULA, (1992). Estes autores relataram, que na região das raízes, há grande possibilidade de penetração das hifas infectivas dos fungos micorrízicos arbusculares, sendo que aí geralmente, se observa uma relativa exposição dos vasos condutores, facilitando a exsudação de nutrientes e podendo acelerar o crescimento de bactérias diazotróficas nesta área específica, que provavelmente, com o decorrer do tempo poderiam chegar até a parte aérea da planta.

Com relação a testemunha apresentar presença de bactérias diazotróficas na parte aérea, principalmente no meio seletivo de *Azospirillum amazonense* (LGI), isto pode ser atribuído à presença de diazotróficas oriundas da própria planta, ou seja, estas diazotróficas colonizam primeiramente o endosperma da semente, em seguida colonizam as raízes e com um grau maior de sinergismo colonizam a parte aérea da planta, o que é compatível com as observações de

MAGALHÃES & DOBEREINER, (1984), embora, como já foi mencionado anteriormente, esta espécie foi apenas encontrada nas raízes e não na parte aérea.

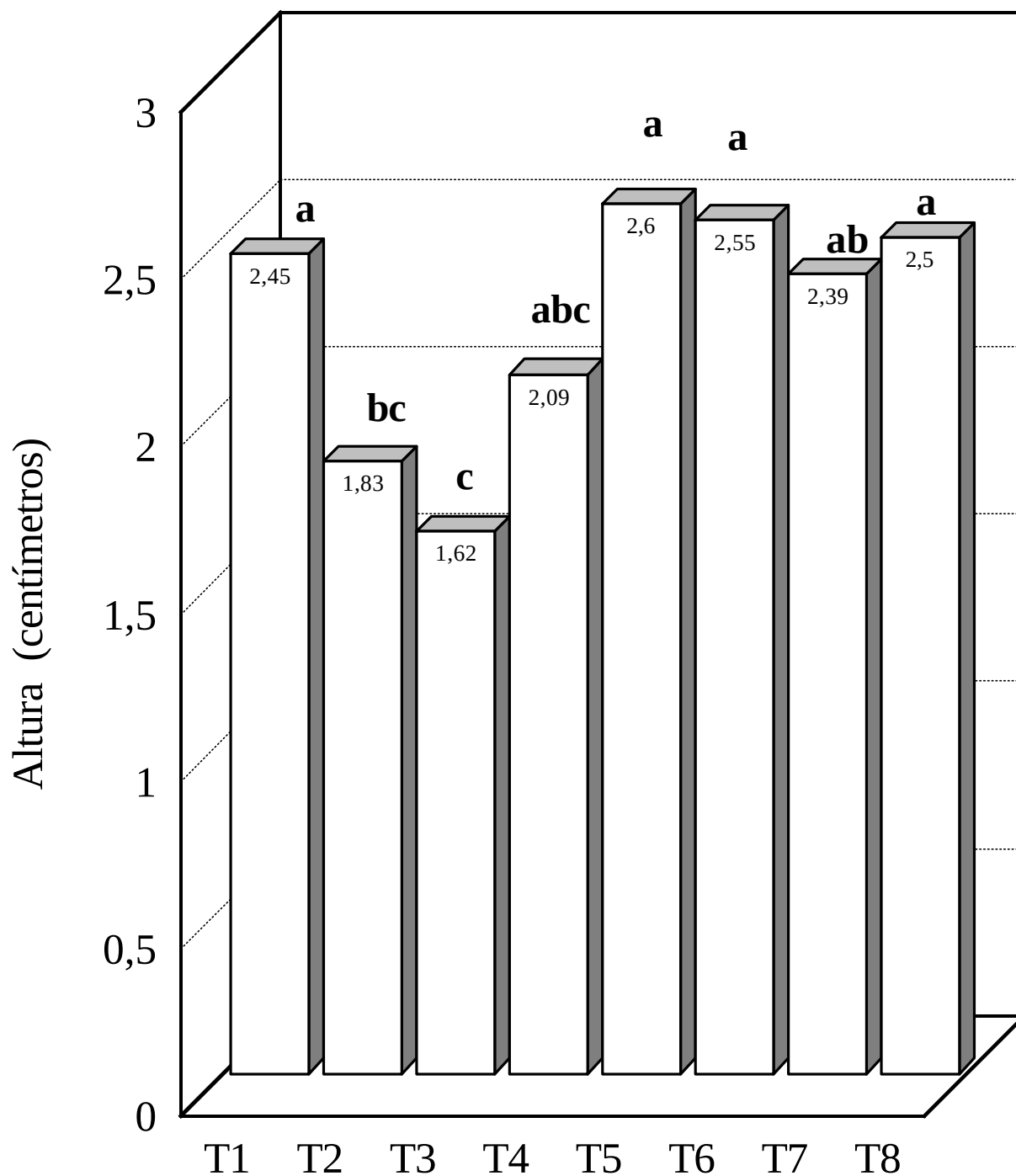
Não foi encontrado nos esporos de *Glomus clarum* utilizados neste ensaio a presença de bactérias diazotróficas (utilizou-se os meios NFb, LGI e JNFb e grupos de 50 esporos desinfestados ou não, como foi relatado no material e métodos). BAGHARAJ (1984) e VANCURA et al., (1989), relataram que certos componentes da microbiota do solo, como as bactérias diazotólicas, podem interagir com FMA na rizosfera e até mesmo na hifosfera. A presença, segundo os autores, parece seguir uma dinâmica de população específica como relatado para *Azospirillum brasiliense* e *Pseudomonas fluorescens* (KLIVUCHNIKOV & KOZHEIVIN, 1990). BIANCIOTTO et al., (1996), também constataram através de técnicas de biologia molecular a presença da espécie *Burkholderia* sp no interior de esporos das espécies de fungos micorrízicos *Gigaspora margarita* e de *Scutellospora* spp.

Figura 1. Diâmetro à altura do colo em mudas de Pupunha após 90 dias de inoculação de Bacterias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares



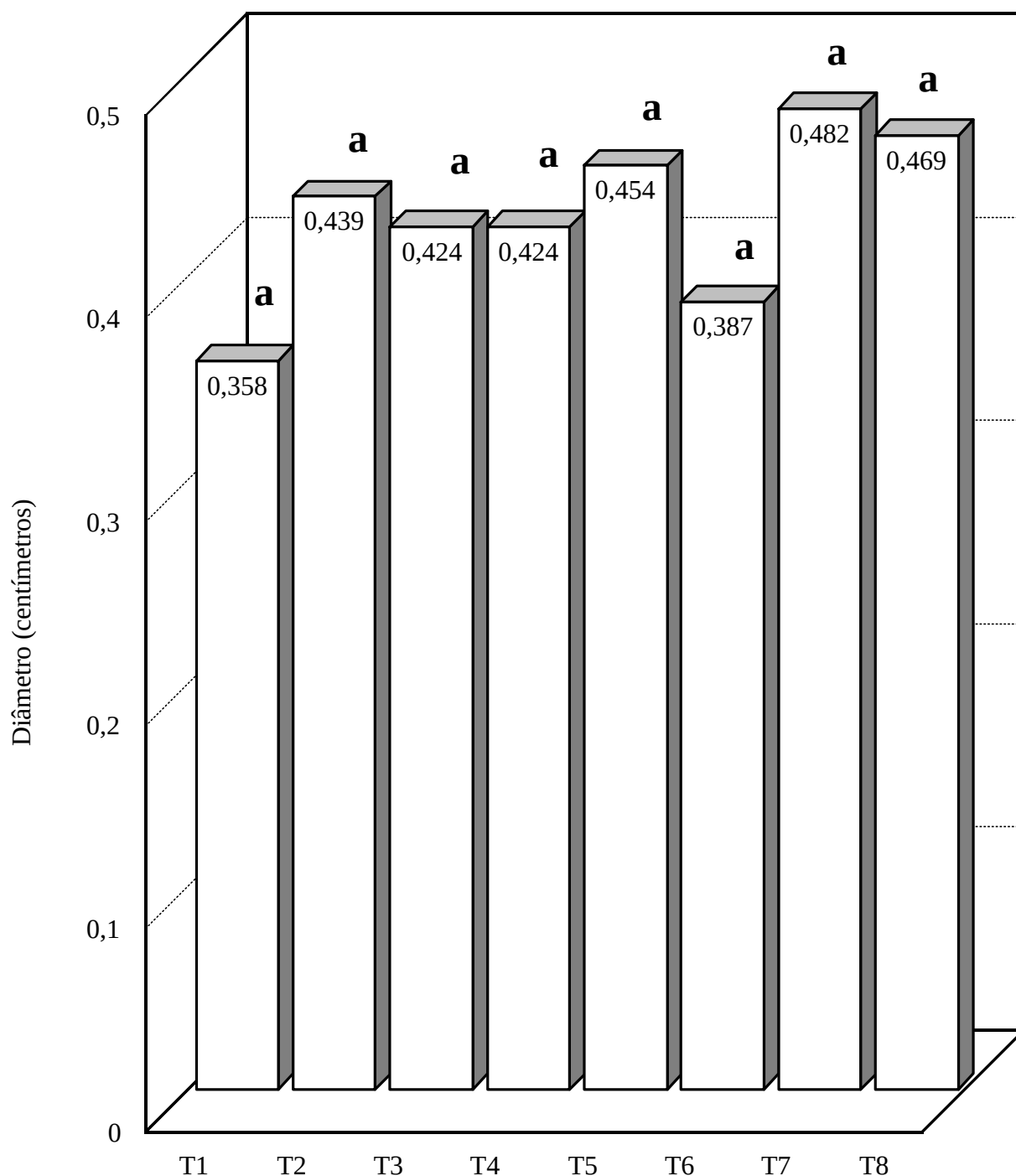
T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral+ *Glomus clarum*.

Figura 2. Altura , medida do colo até a inserção da folha mais nova , em mudas de Pupunha após 90 dias de inoculação de Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares .



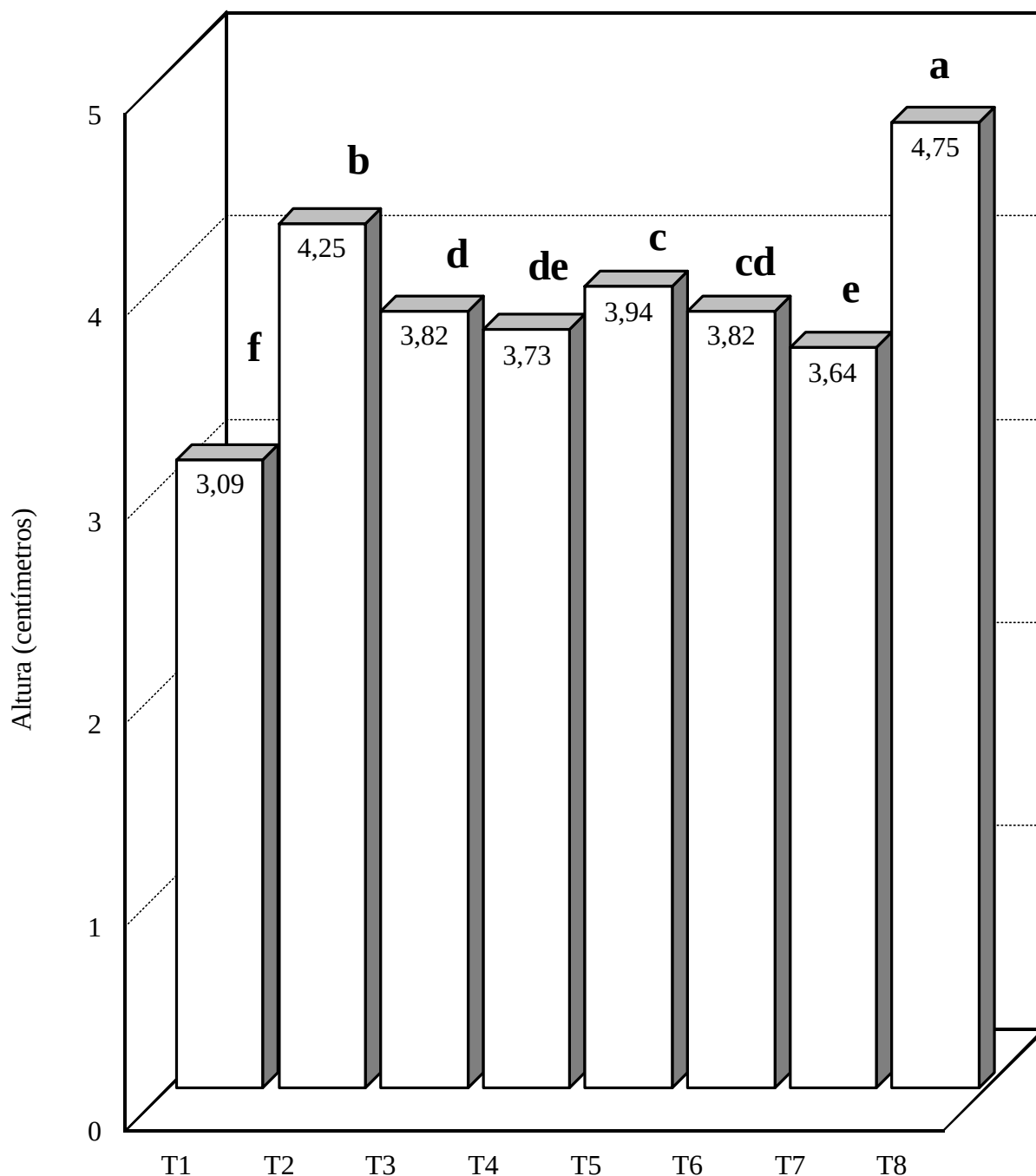
T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral+ *Glomus clarum*.

Figura 3 .Diâmetro à altura do colo em mudas de Pupunha após 180 dias de inoculação de Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares



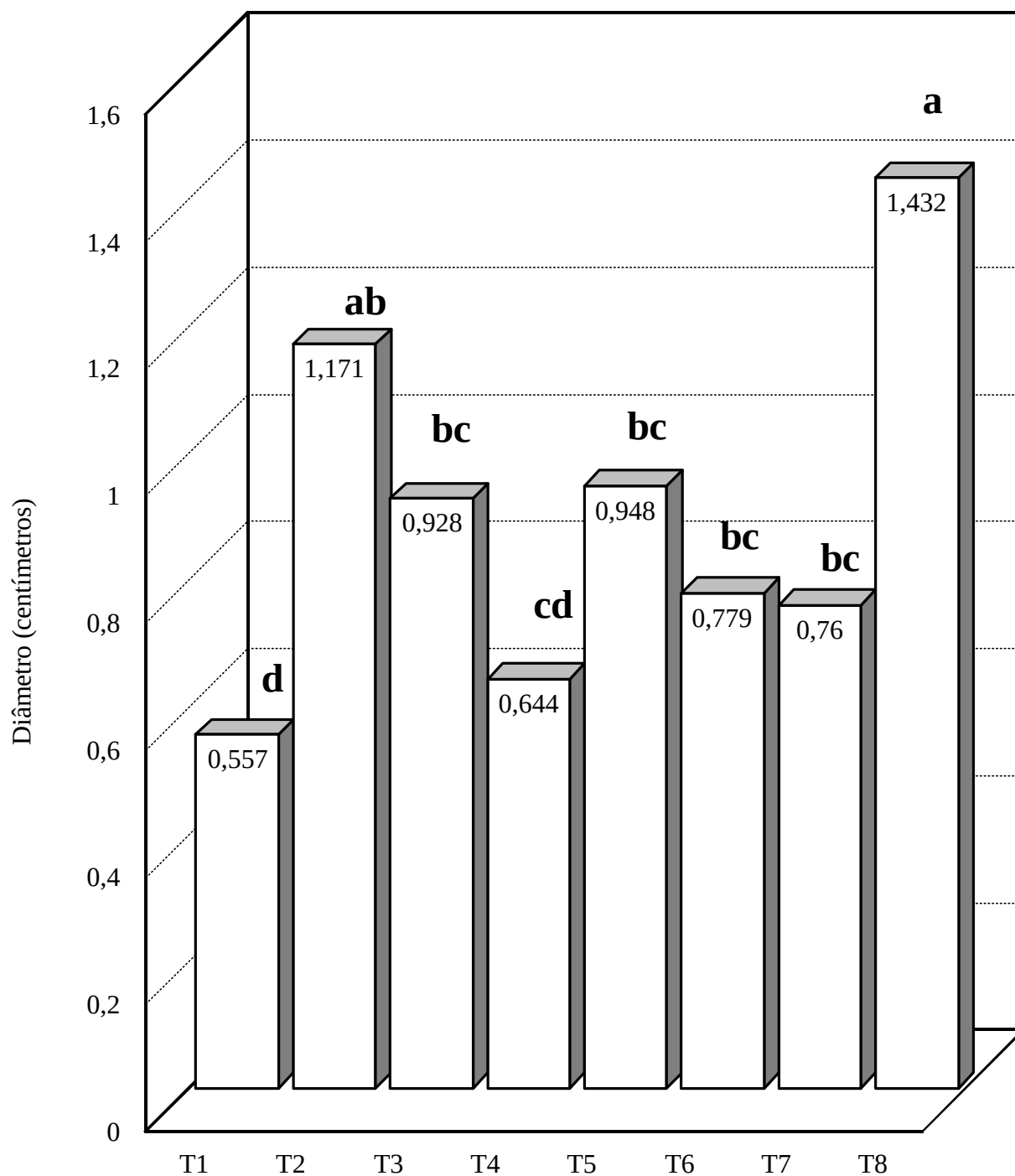
T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral+ *Glomus clarum*.

Figura 4 . Altura , medida do colo até o último par de folha mais nova, em mudas de Pupunha após 180 dias de inoculação de Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares.



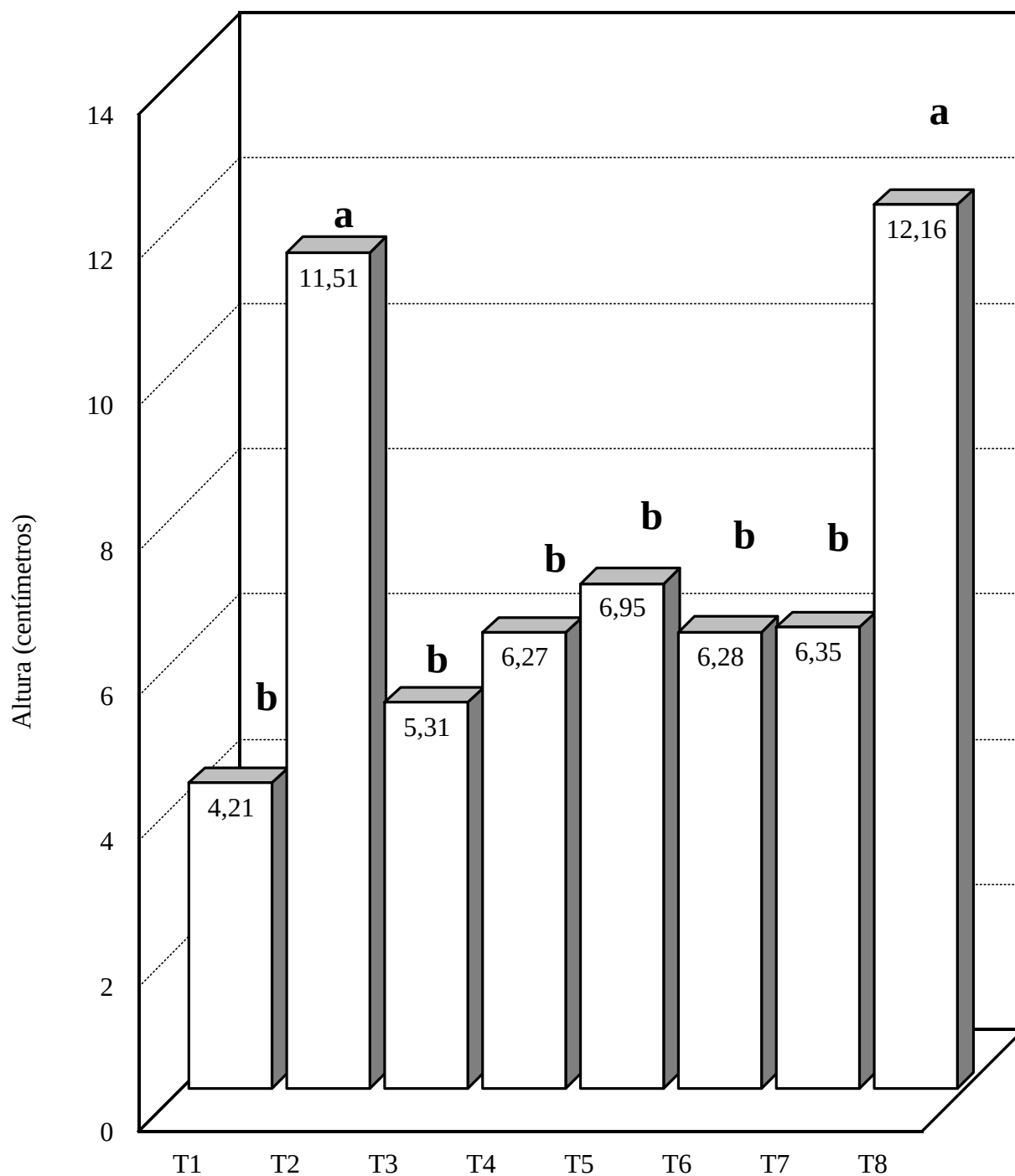
T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral + *Glomus clarum*.

Figura 5 . Diâmetro, medido a altura do colo , em mudas de Pupunha após 270 dias de inoculação de Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares



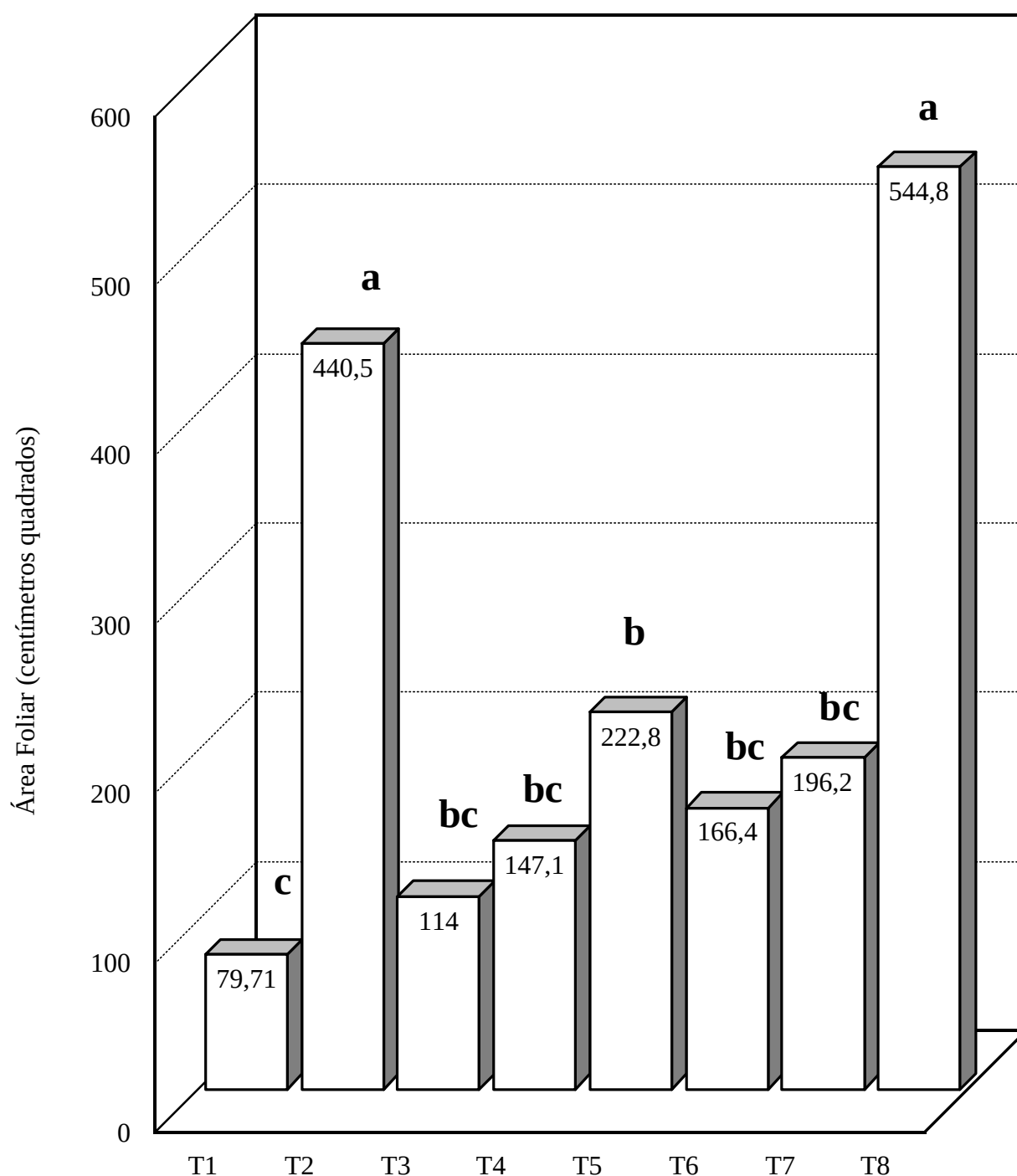
T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral + *Glomus clarum*.

Figura 6. Altura, medida do colo até a inserção da folha mais nova, em mudas de Pupunha após 270 dias de inoculação com Bactérias diazotróficas e FMA .



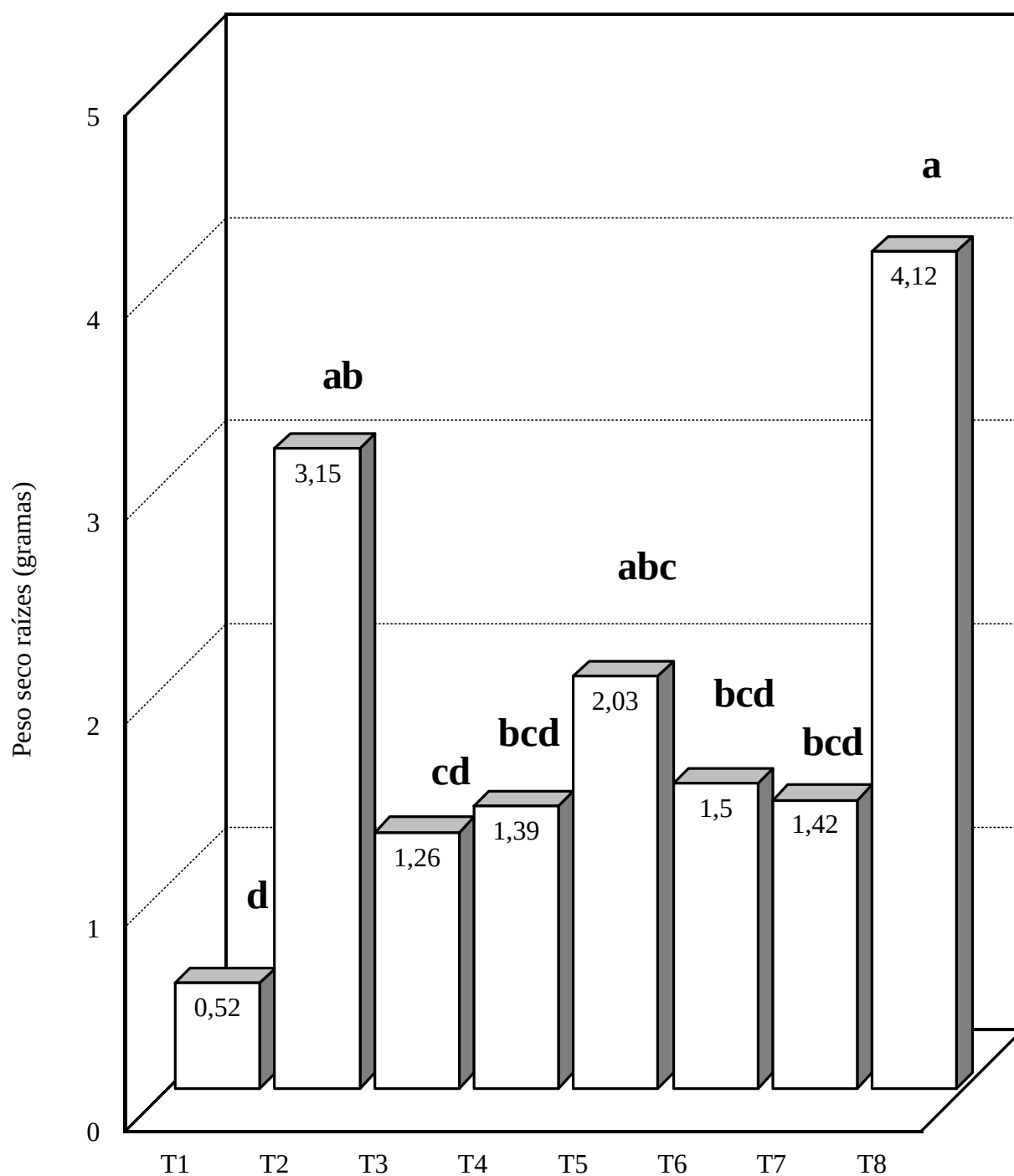
T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral + *Glomus clarum*.

Figura 7 .Área Foliar de mudas de Pupunha após 270 dias de inoculação de Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares .(leitura fotométrica em aparelho LI 3100 Area meter Li-Cor, Inc).



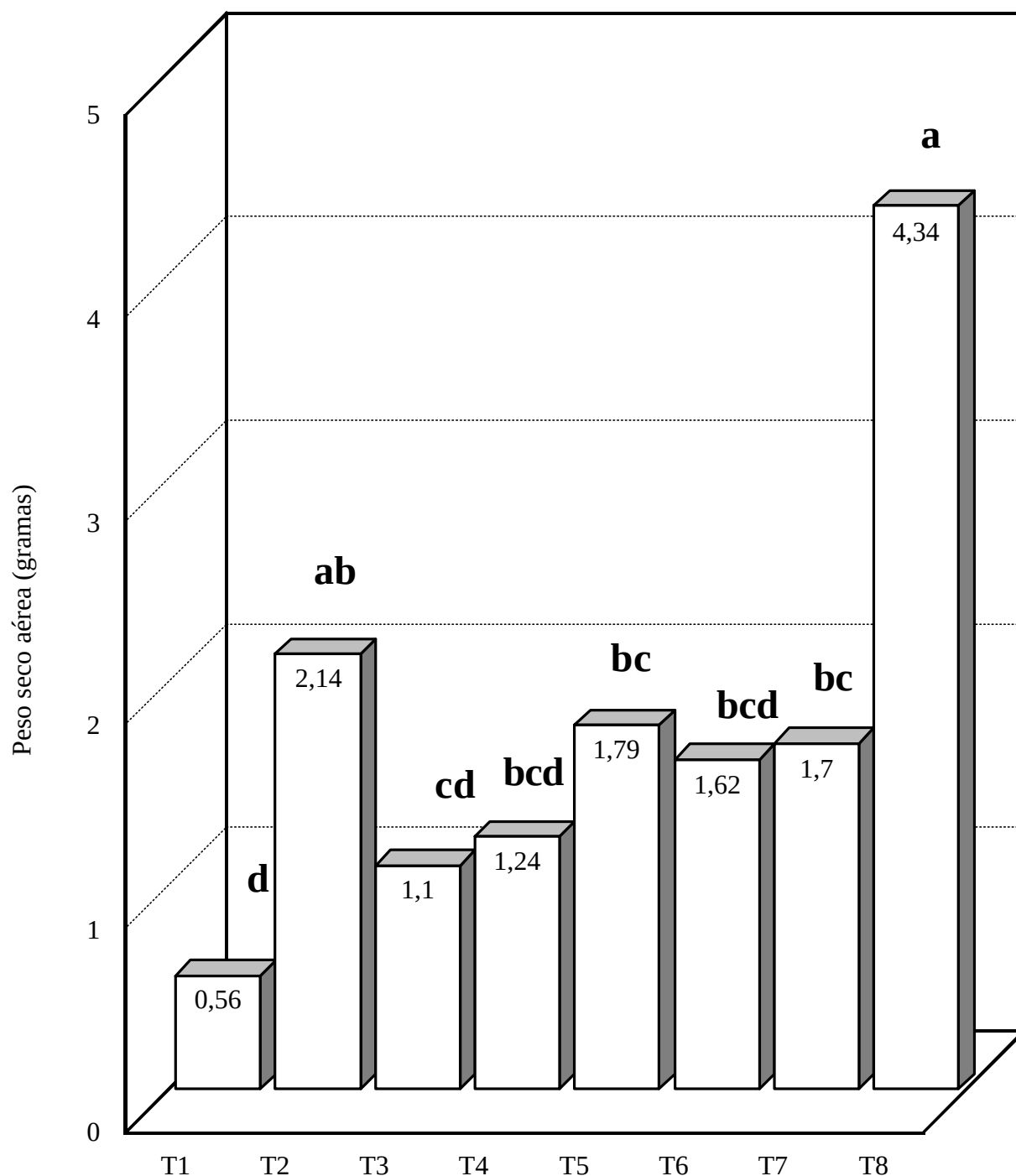
T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral + *Glomus clarum*.

Figura 8 . Peso de raízes secas de mudas de Pupunha após 270 dias de inoculação com Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares



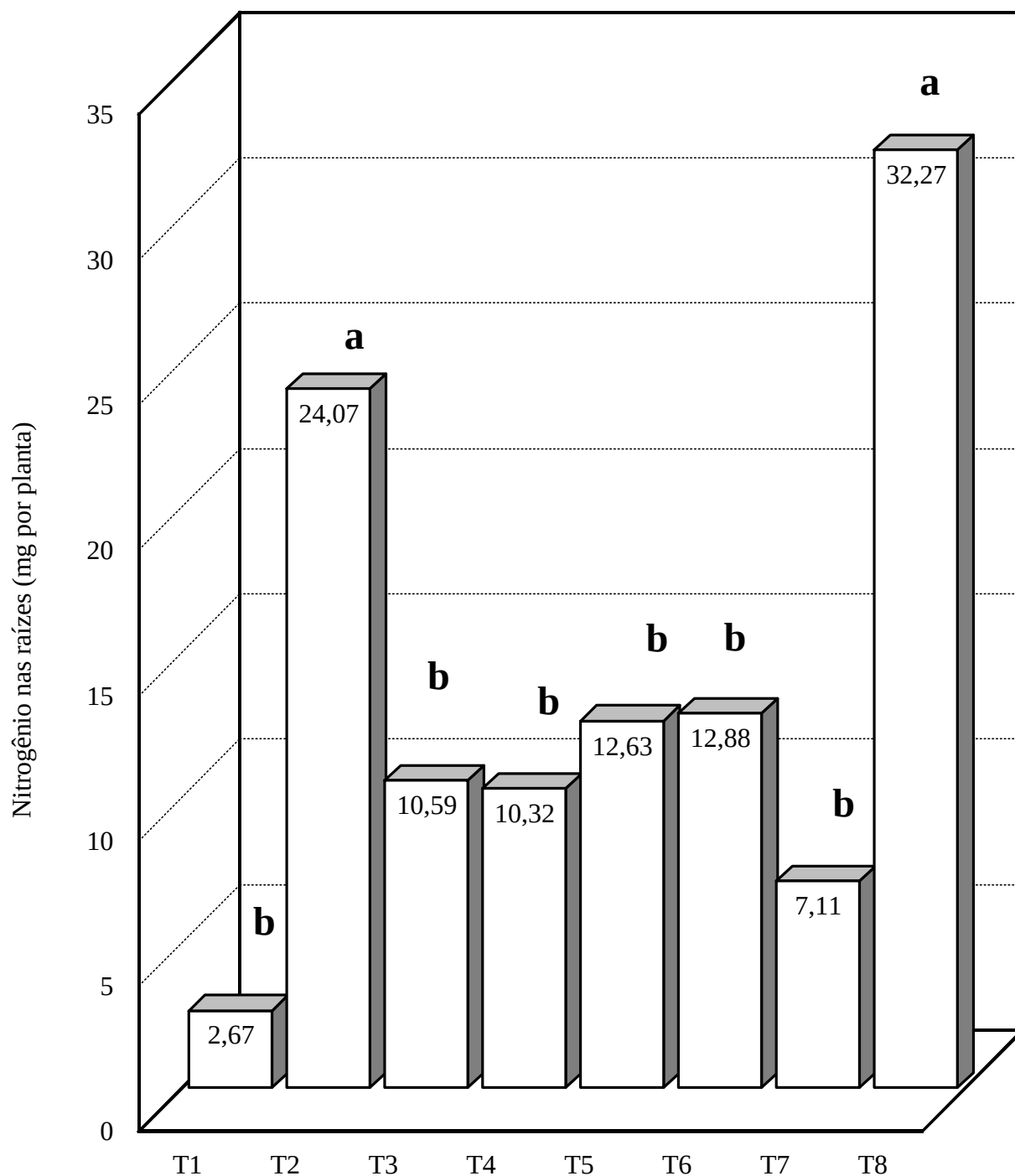
T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral + *Glomus clarum*.

Figura 9 . Peso da parte aérea seca de mudas de Pupunha após 270 dias de inoculação com Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares.



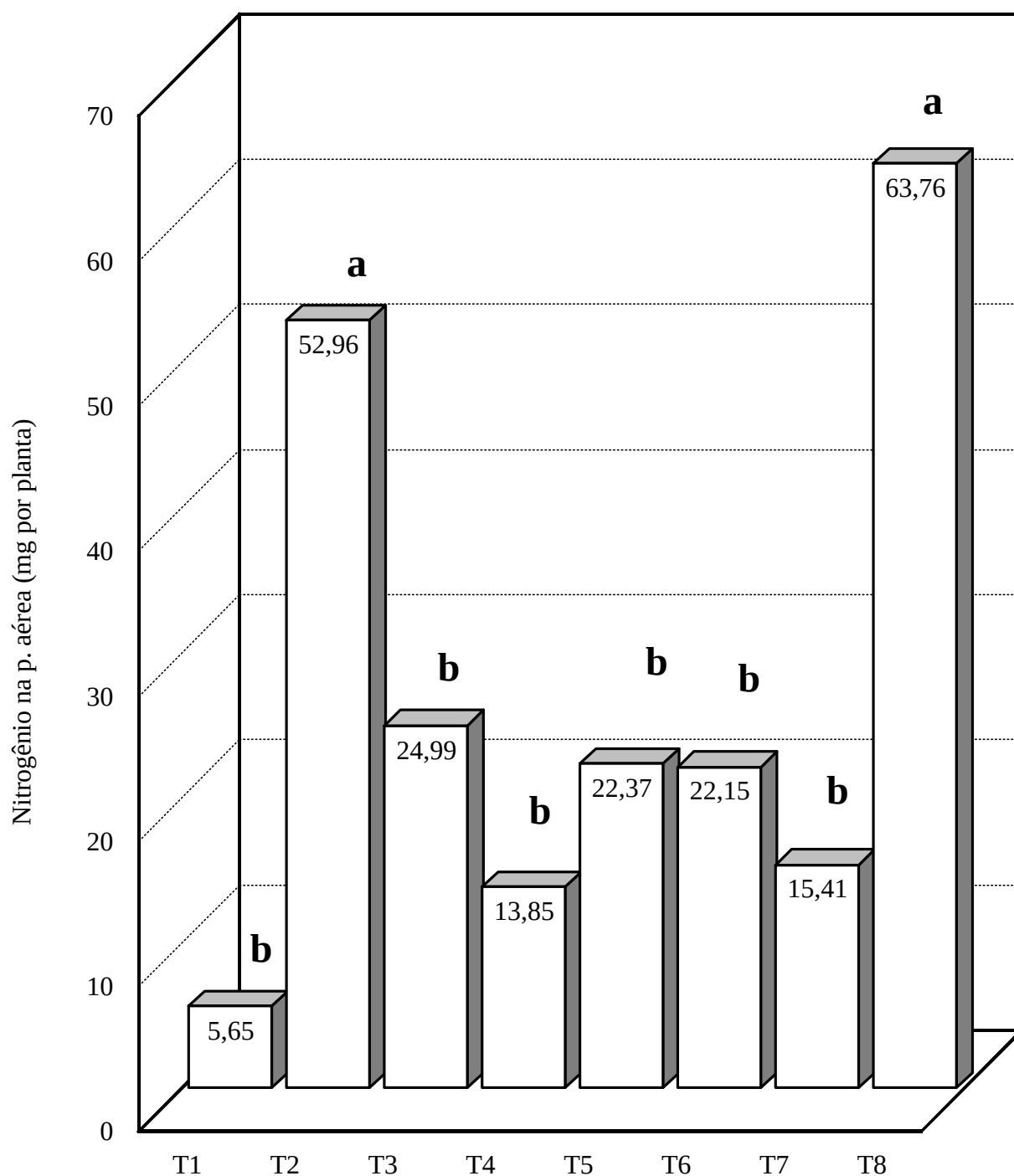
T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral + *Glomus clarum*.

Fig 10 . Nitrogênio total nas raízes de mudas de Pupunha , 270 dias após inoculação com Bactérias Diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares.



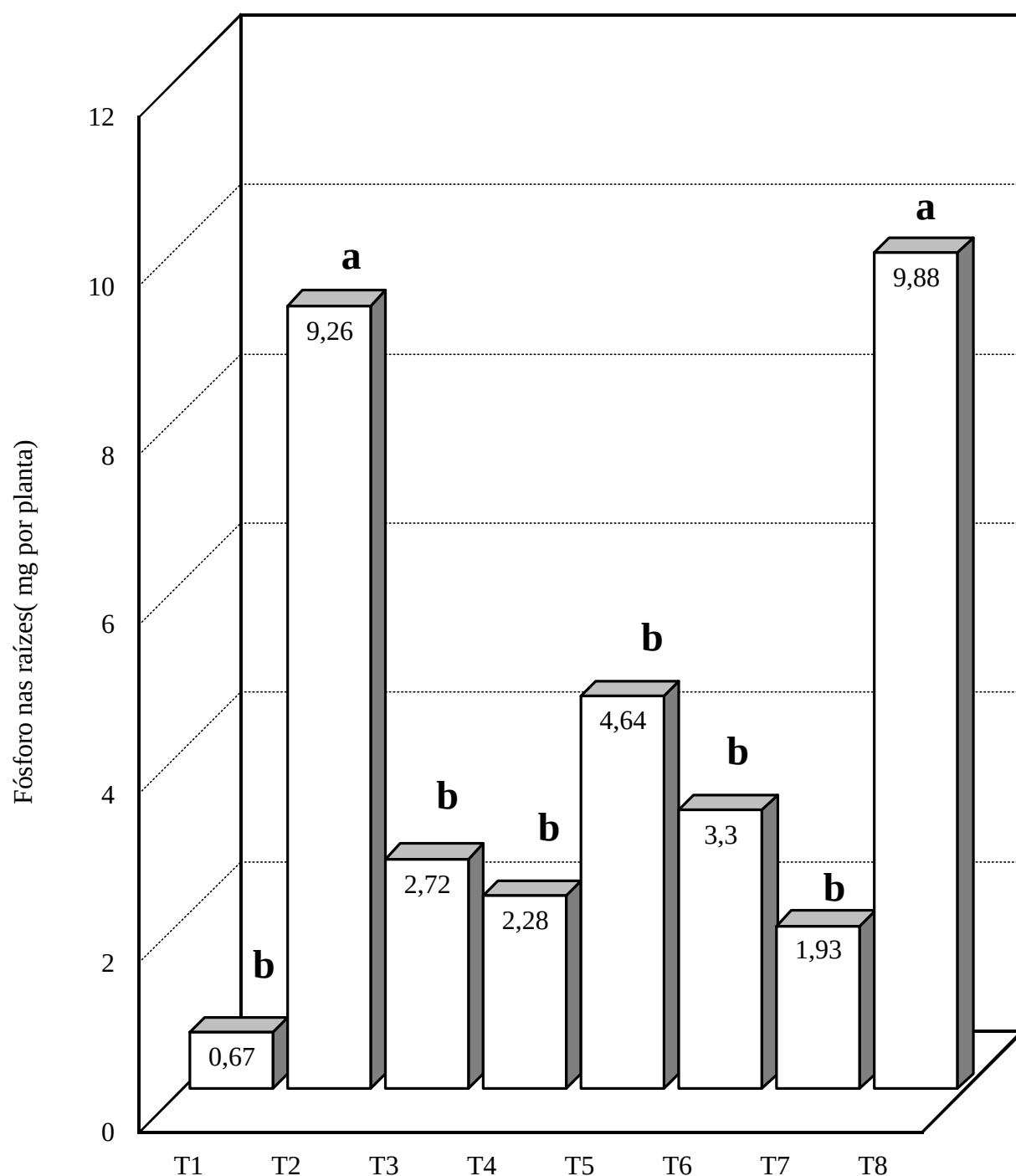
T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral + *Glomus clarum*.

Fig 11. Nitrogênio total na parte aérea de mudas de Pupunha, 270 dias após inoculação com Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares.



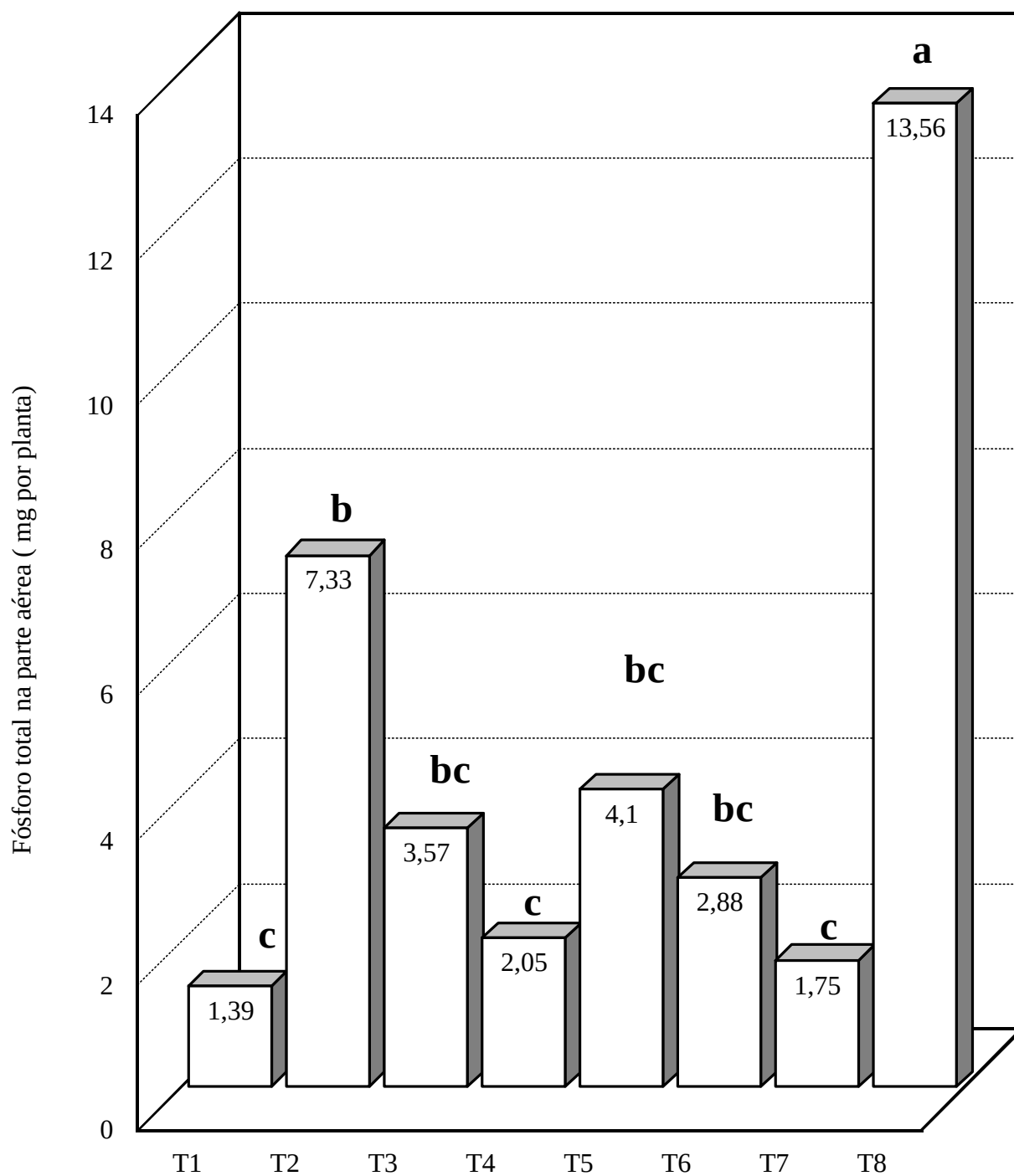
T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral + *Glomus clarum*.

Fig 12 . Fósforo total nas raízes de mudas de Pupunha , 270 dias após inoculação com Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares



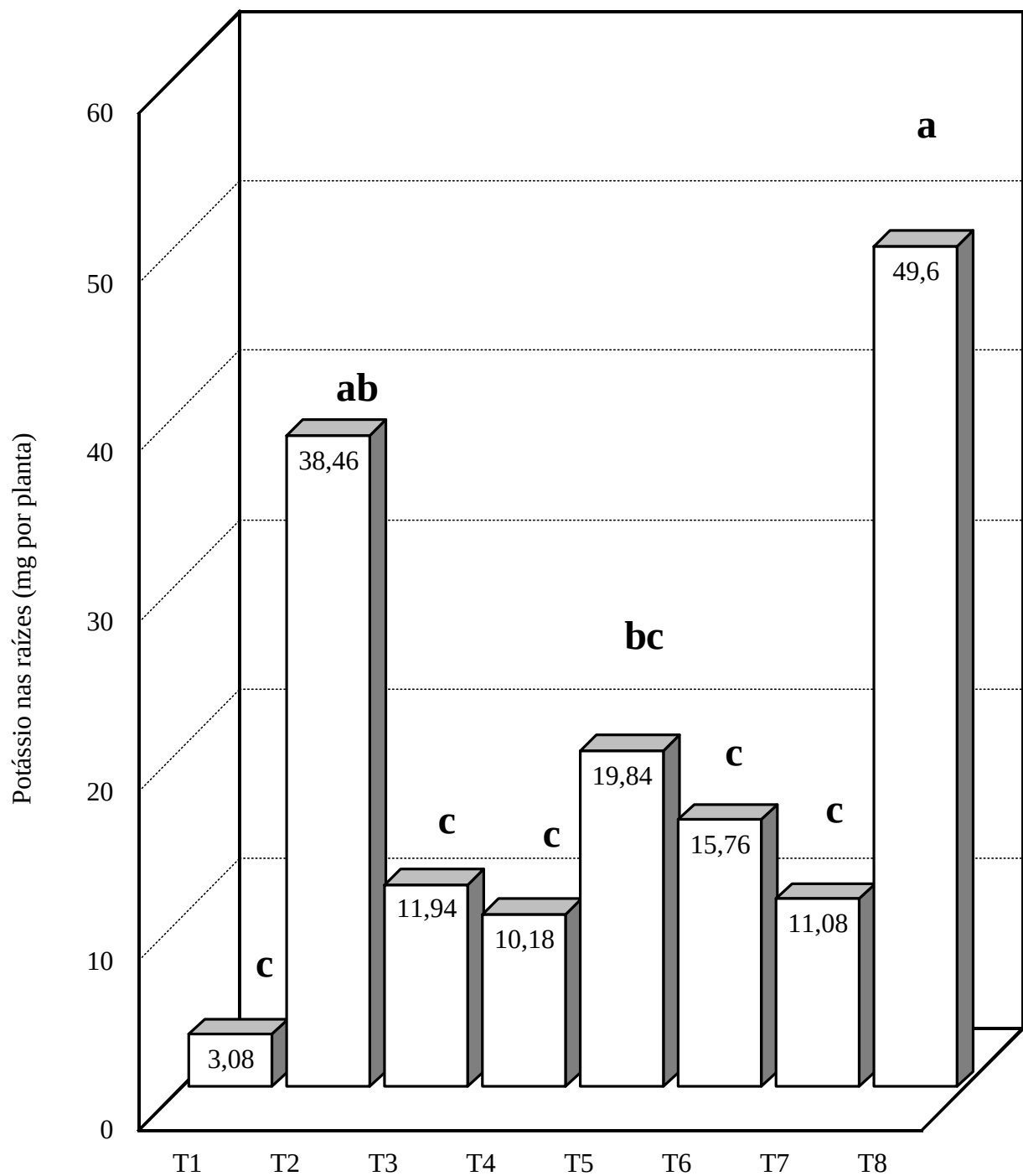
T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral + *Glomus clarum*.

Fig 13 .Fósforo total na parte aérea de mudas de Pupunha , 270 dias após inoculação com Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares



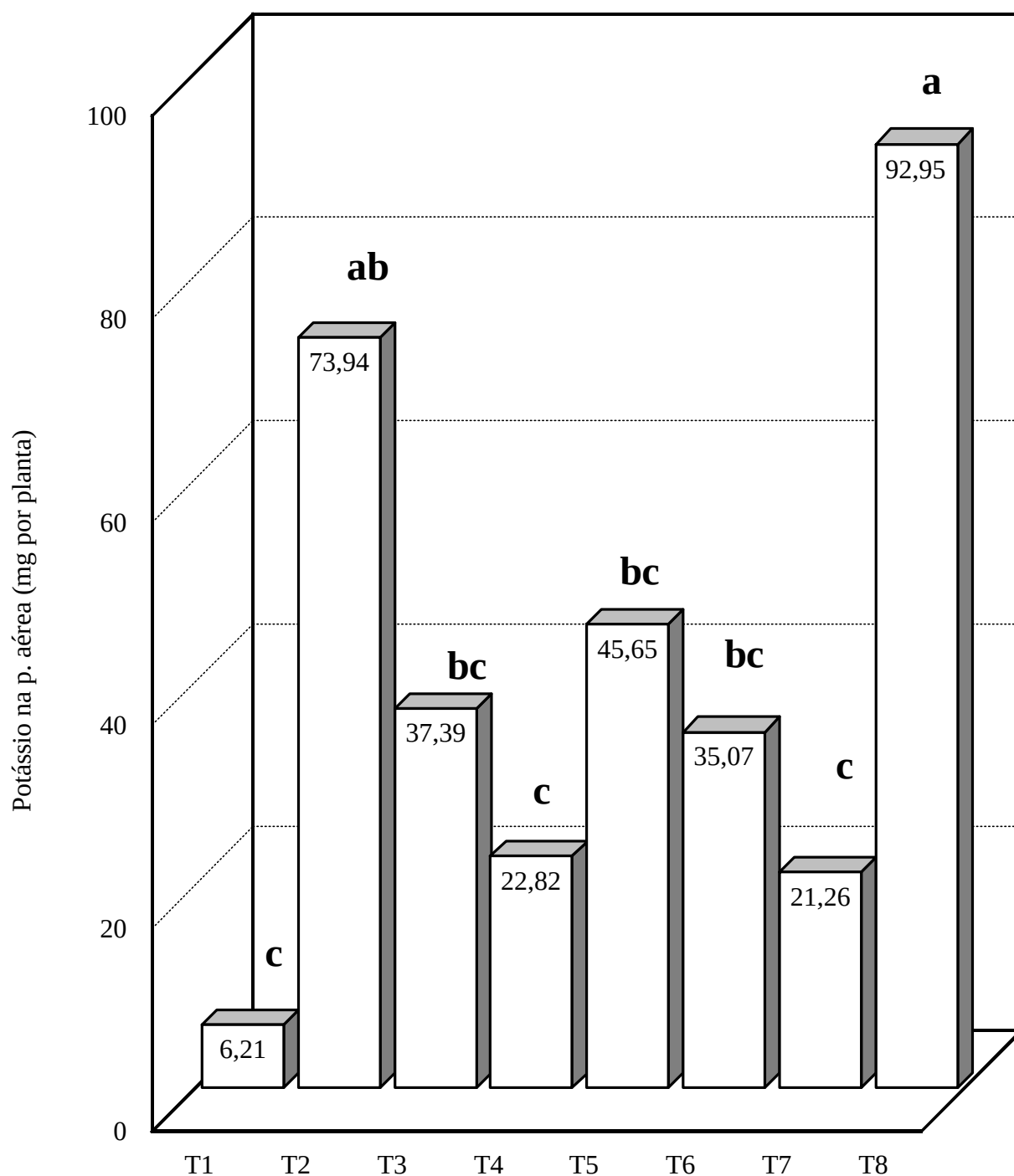
T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral + *Glomus clarum*.

Fig 14 .Potássio total nas raízes de mudas de Pupunha , 270 dias após inoculação com Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares.



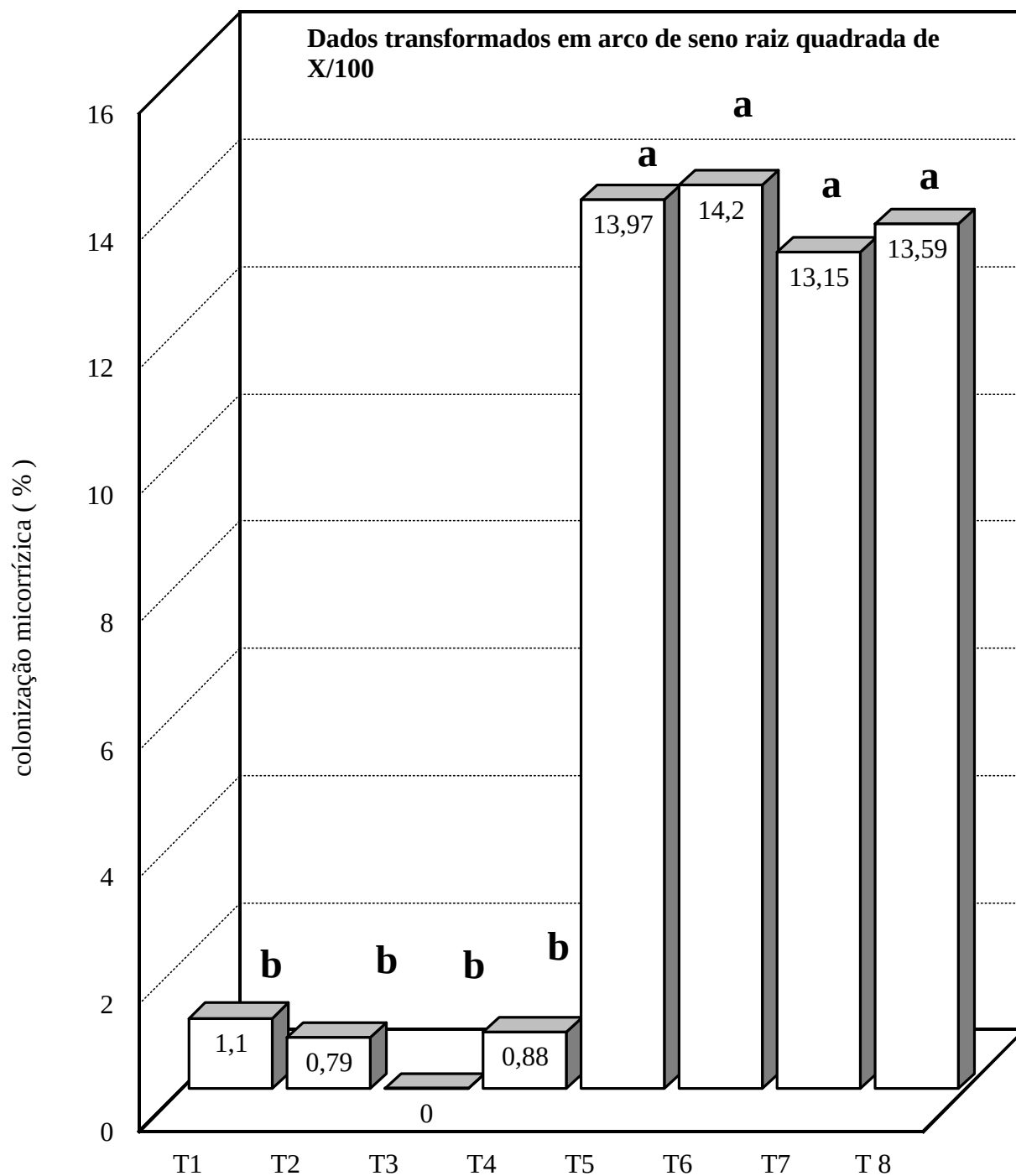
T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral + *Glomus clarum*.

Fig 15 . Potássio total na parte aérea de mudas de Pupunha , 270 dias após inoculação com Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares.



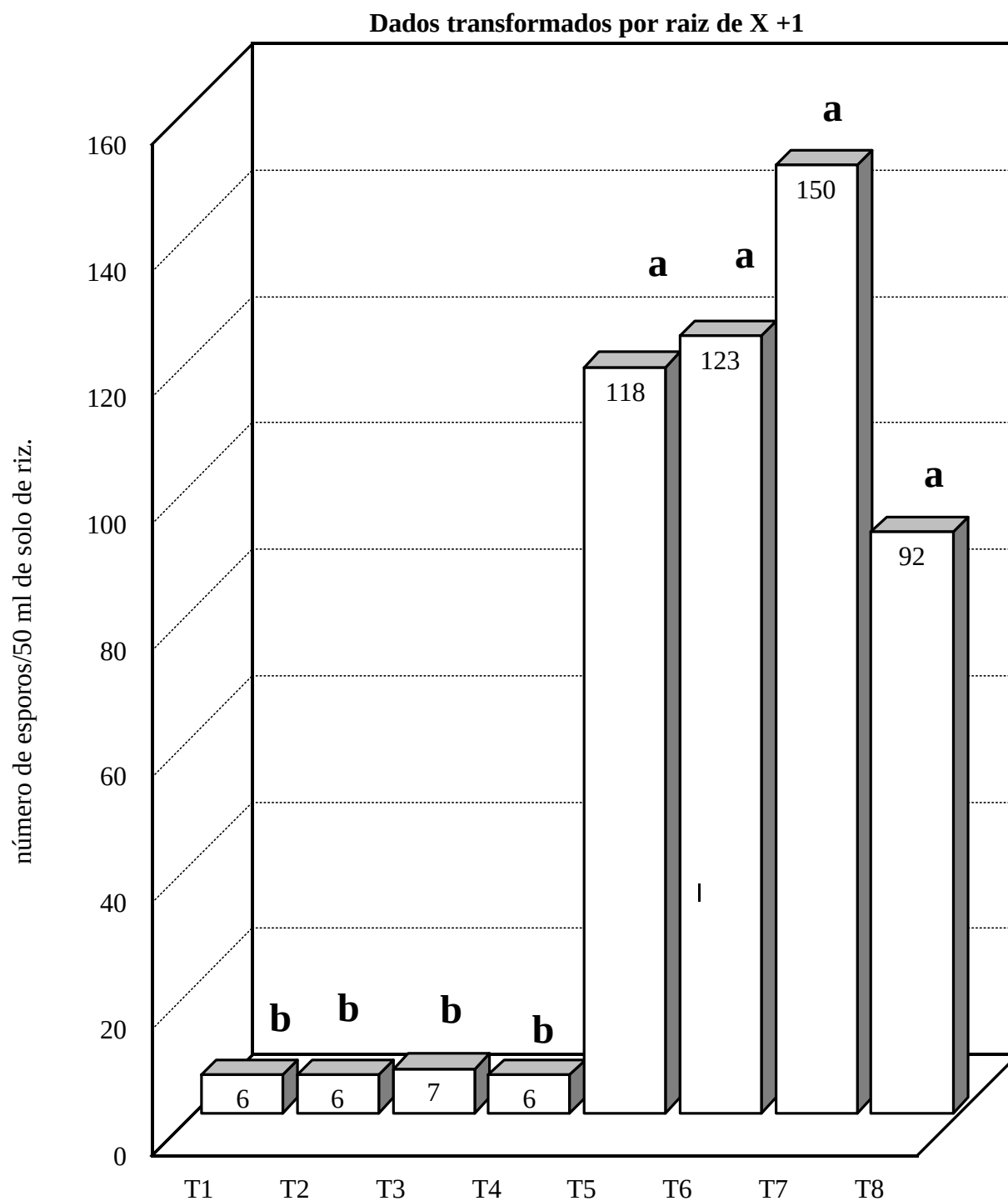
T1: Testemunha T2: N-mineral T3: Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z 67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e 7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8: N-mineral + *Glomus clarum*.

Fig 16. Porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares em mudas de Pupunha , 270 dias após inoculação com Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares.



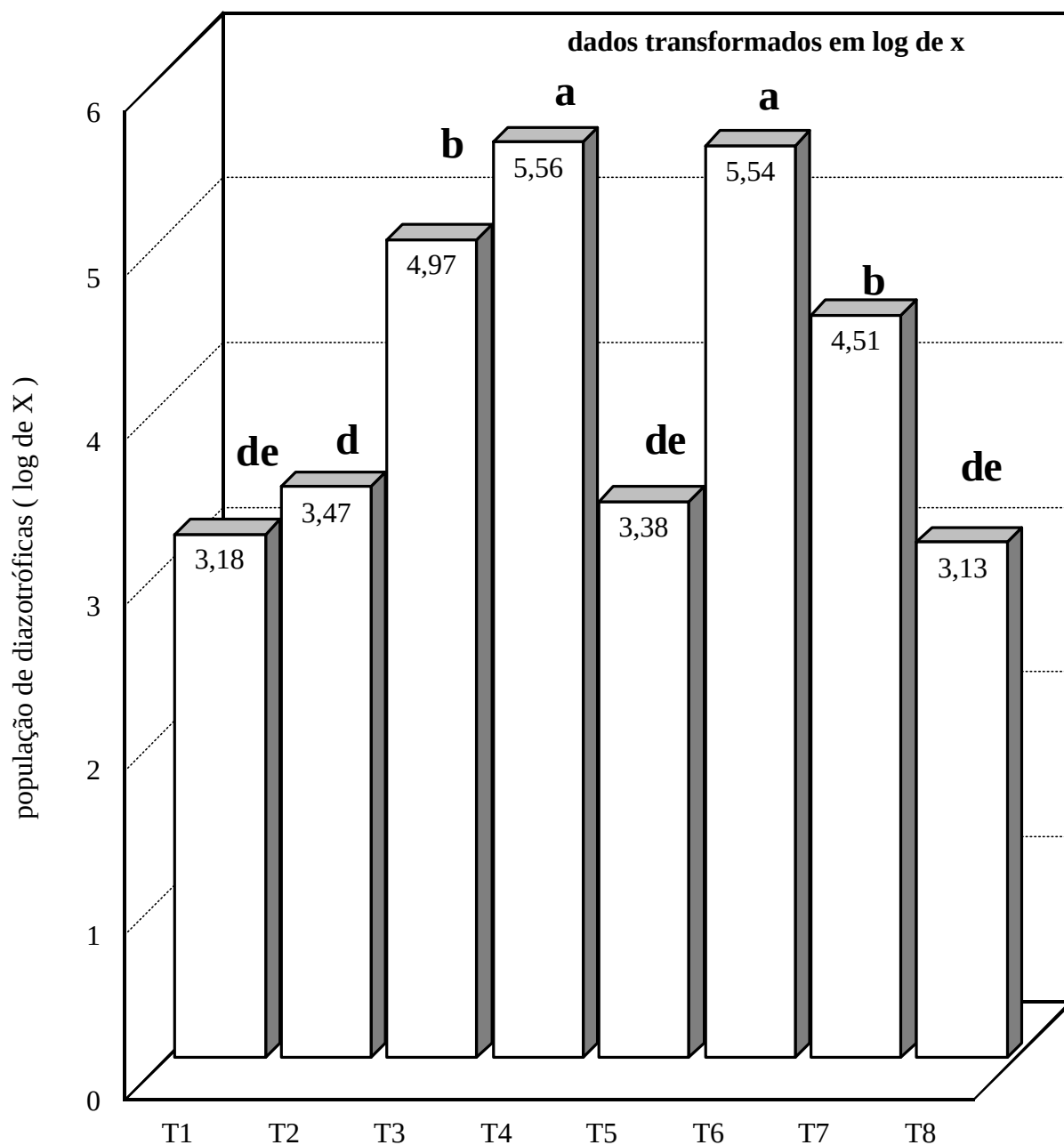
T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral + *Glomus clarum*.

Figura 17. Número de esporos de *Glomus clarum* encontrados em 50 ml da rizosfera de mudas de Pupunha após 270 dias de inoculação com Bactérias diazotróficas e FMA .



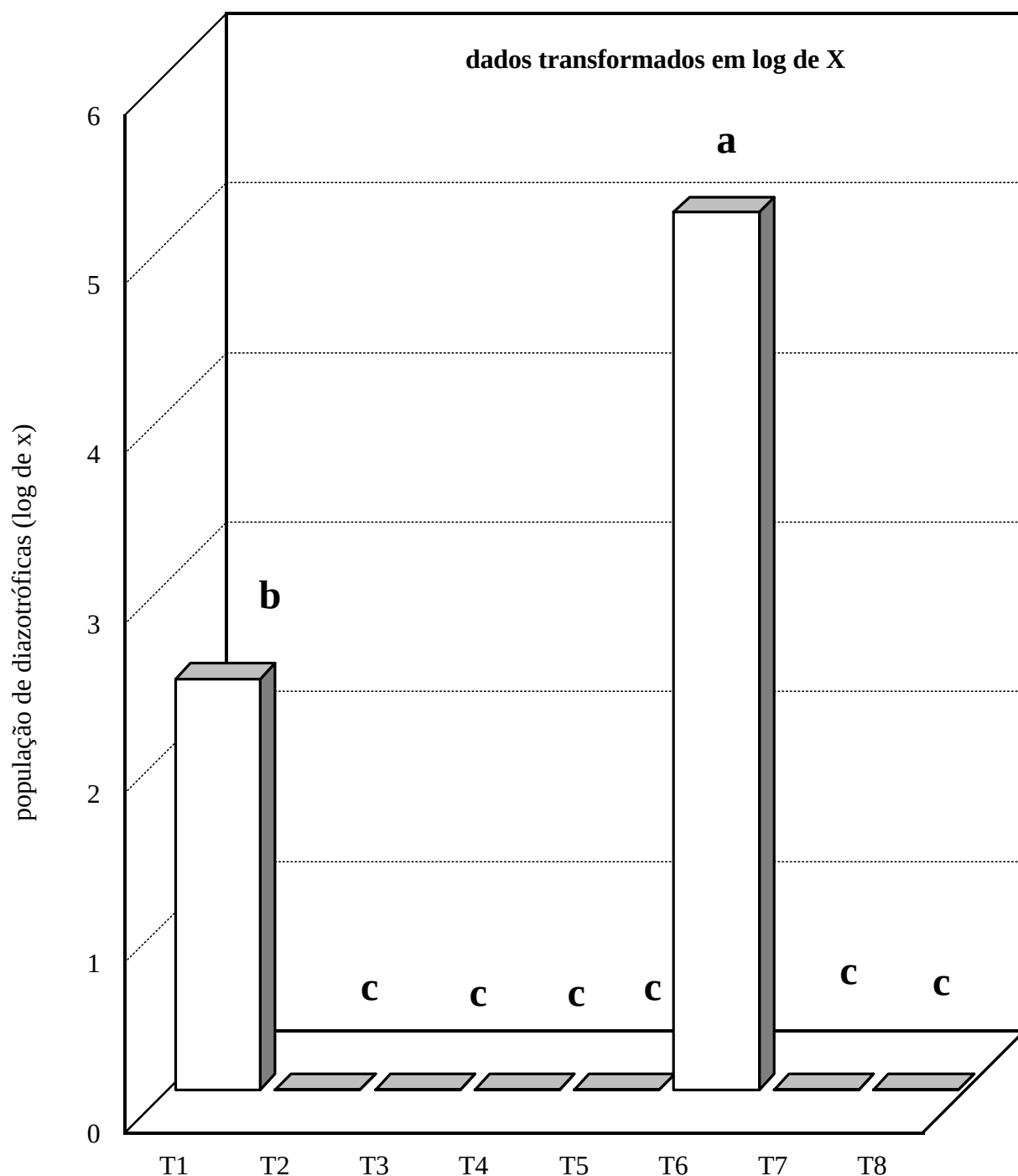
T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral + *Glomus clarum*.

Fig 18. População total de Bacterias Diazotróficas nos meios NFb, LGI, JNFb e JMV em raízes de mudas de Pupunha, 270 dias após inoculação com Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares.



T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral + *Glomus clarum*.

Fig 19. População total de Bactérias Diazotróficas nos meios JNFb, LGI, JMV e NFb) em parte aérea de mudas de Pupunha , 270 dias após inoculação com Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares.



T1:Testemunha T2:N-mineral T3:Isolados de Palmeiras T4: Estirpes 260, M 130 e Z67 T5: *Glomus clarum* T6: Isolados de Palmeiras (23b,8a e7c) + *Glomus clarum* T7: Estirpes 260, M 130 e Z 67 + *Glomus clarum* T8:N-mineral + *Glomus clarum*.

6.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES DO EXPERIMENTO 2 (Mudas de Dendezeiro).

Os efeitos da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas em relação aos dois parâmetros iniciais diâmetro e altura aos 90 dias após a inoculação (Figuras 20 e 21), foram observados na altura (Figura 21), já que para o diâmetro da planta não havia diferença estatística entre os tratamentos impostos. Resultado este que parece ser compatível com os relatos de MAGALHÃES (1985). O autor mencionou que no período de tempo que compreende o desenvolvimento inicial das plântulas (ganho de fitomassa), após a germinação é considerado como lento, pois a plântula ainda apresenta elevado grau de dependência das reservas da semente (endosperma), sendo este período mais longo, quando se trata de sementes com uma quantidade mais elevada de reservas, como é o caso das sementes das palmeiras. PASSOS (1987), observou em trabalho com Coqueiro (*Cocos nucifera* L.), que esta espécie e outras palmeiras em geral apresentam um desenvolvimento vagaroso após a germinação, e que este comportamento expresso por estas plantas foi atribuído principalmente a elevada reserva do endosperma das sementes. Outro fator que contribuiu para este fato, foi a desuniformidade das plantas. Assim, conseqüentemente foi observado um coeficiente de variação mais elevado (o parâmetro diâmetro com 90 DAI apresentava um CV de 38,66%), contribuindo para que todos os tratamentos impostos e a testemunha não diferissem estatisticamente entre si.

Para o parâmetro altura com 90 dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 21), foi constatado que as plantas dos tratamentos que tinham sido fertilizadas com N-mineral + os FMA (T8) começavam a refletir sinais de resposta aos tratamentos impostos. O tratamento 8 era estatisticamente superior à testemunha. Este comportamento do N-mineral + FMA, não foi verificado em nenhum outro tratamento, incluindo o N-mineral (T2). Apesar dos demais tratamentos apresentarem valores mais altos do que observado pela testemunha, não havia diferenças estatísticas entre os mesmos. Isto pode ser atribuído a

presença da fertilização nitrogenada, como também à presença dos FMA no tratamento 8. Semelhante resultado também foi observado por COOPER (1984); ALLEN et al., (1981); NELSON, (1987); DAFT & NICOLSON (1966); HAYMAN & MOSSE (1972) e POWEL (1977). Estes autores constataram que plantas micorrizadas apresentavam um maior incremento em altura em relação as plantas não micorrizadas. Isto foi devido principalmente a uma melhoria na nutrição destas, proporcionado por uma maior eficiência na absorção de nutrientes através das hifas extra radiculares dos FMA. Observa-se também que a nutrição adequada de nitrogênio, por si só, não era capaz de promover na planta um incremento significativo em altura em relação à testemunha, neste período analisado. A presença do fungo micorrízico arbuscular foi de fundamental importância para que as plantas expressassem este efeito positivo em altura.

Para o parâmetro diâmetro com 180 dias após inoculação de bactérias diazotróficas e FMA (Figura. 22), foi verificado que os tratamentos que tinham as plantas fertilizadas com o N-mineral (T 2 e T 8), eram os únicos que refletiam respostas das plantas aos tratamentos impostos. O tratamento 2 (N-mineral) e o tratamento 8 (N-mineral + FMA), por exemplo, eram estatisticamente superiores à testemunha. Isto evidencia novamente a elevada resposta desta palmeira ao nitrogênio nesta fase da sua fenologia. Semelhante resultado, também foi constatado por PACHECO et al., (1985) e por RODRIGUEZ et al., (1996 **b**), onde os autores observaram um incremento no diâmetro do colo de mudas de dendezeiro, também proporcionado pela fertilização nitrogenada.

Quanto a micorrização associada a uma adequada nutrição nitrogenada conferir aos vegetais um incremento no diâmetro do colo em relação às plantas que não recebiam este tratamento PEREIRA et al., (1996), observaram em mudas de fedegoso (*Senna macranthera*), cássia (*Senna multijuga*), cinamomo (*Melia azedarach*) e de jacarandá (*Jacaranda mimimosaeifolia*), o mesmo comportamento positivo expressado pelas mudas de dendezeiro.

Apesar de não existir diferenças significativas entre o tratamento nitrogenado (T2) e o nitrogenado micorrizado (T8), este último apresentava-se estatisticamente superior à testemunha e ao tratamento 7 (estirpes padrões + FMA). Este fato não era observado com o tratamento nitrogenado (T2). Este último apresentava apenas superioridade estatística à testemunha, o que continua expressando evidências claras da importância da presença dos FMA na melhoria do crescimento e desenvolvimento desta planta. O que é compatível com os relatos de BAREA (1991), onde o autor mencionou que estes fungos aumentam a área de absorção do sistema radicular do vegetal, de tal forma que favorece o melhor aproveitamento de um elemento de extrema importância para as plantas como fósforo, elemento este que está diretamente relacionado com o incremento do desenvolvimento da planta, aqui expresso em um maior incremento do diâmetro do colo. AE et al., (1993), salientaram a importância destes microrganismos para um adequado desenvolvimento das plantas pela melhoria da nutrição fosfática. Estes autores utilizaram modelos cinéticos de absorção e verificaram que para cada 1 % de aumento na superfície de absorção do sistema radicular de uma planta que possui hifas de fungos micorrízicos arbusculares, têm-se um aumento de 150 % no influxo de fósforo.

Para o parâmetro altura com 180 dias após inoculação com bactérias diazotróficas e FMA (Figura 23), o tratamento 2 (N-mineral) e o tratamento 8 (N-mineral + FMA) apresentavam-se estatisticamente superiores à testemunha. Os demais tratamentos impostos não conseguiam expressar o mesmo comportamento, não se diferenciando estatisticamente da testemunha. O que confirma novamente a elevada dependência desta palmeira ao N em fase de mudas.

Quanto ao fato da fertilização nitrogenada proporcionar um incremento em altura das plantas em relação aos tratamentos que não recebiam o N-mineral é muito bem reportado por FERRI (1985) e por MALAVOLTA et al., (1989). Estes autores salientaram que a planta estando bem nutrida em nitrogênio, se tem uma produção mais satisfatória de aminoácidos, proteínas, vitaminas,

pigmentos importantes como da clorofila além de uma taxa fotossintética mais adequada refletindo assim em uma melhor altura. Enquanto que a deficiência deste elemento, segundo MALAVOLTA (1976), provoca elevação na relação carboidratos solúveis/proteína, diminuição na quantidade de clorofila e alterações nos cloroplastos, diminuindo assim a capacidade fotossintética da planta, trazendo como consequência um menor desenvolvimento da parte aérea em relação as plantas tratadas com N-mineral.

Mesmo não existindo diferenças significativas entre o tratamento N-mineral + FMA (T8) e o N-mineral (T2), observa-se que o tratamento 8, além de ser estatisticamente superior à testemunha, apresentava superioridade estatística em relação ao tratamento 6 (isolados de palmeira + FMA), enquanto que o tratamento 2 só apresentava superioridade estatística em relação à testemunha. Isto pode ser explicado pela presença dos fungos micorrízicos arbusculares no tratamento 8, como também pela presença do nitrogênio neste tratamento. PAULA (1992), em trabalho com a inoculação de bactérias diazotróficas associadas ao *Glomus clarum* em mudas micropropagadas de batata doce, observou o mesmo comportamento. O autor relatou que, quando as plantas recebiam o N-mineral associado a esta espécie de FMA, este tratamento era o que se comportava melhor em relação aos demais tratamentos, como também por ALLEN et al., (1981) e NELSON (1987), onde os autores constataram que os fungos micorrízicos arbusculares intensificaram e incrementaram a nutrição inorgânica dos vegetais micotróficos, proporcionando a estes uma maior taxa fotossintética e um maior incremento no seu desenvolvimento.

Observa-se também que apesar dos tratamentos 4, 5, 7 e 9 se comportarem estatisticamente semelhantes à testemunha, estes apresentavam uma altura que não diferenciava estatisticamente do tratamento micorrizado nitrogenado e do tratamento nitrogenado.

Os resultados observados no parâmetro, diâmetro com 270 dias após inoculação, de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 24), evidenciaram que os

tratamentos N-mineral (T2) e o N-mineral associado aos fungos micorrízicos arbusculares (T8), como também o tratamento onde as plantas eram inoculadas com as estirpes padrões conjuntamente com os isolados de palmeiras (T9), apresentavam um comportamento similar estatisticamente entre si, e eram estatisticamente superiores à testemunha. É notório destacar que tal fato era só constatado para estes tratamentos, enquanto que os demais, mostravam-se estatisticamente similares a esta. Quanto aos tratamentos que tinham o N-mineral (T2 e T8), evidenciaram um comportamento superior à testemunha, isto é semelhante aos resultados obtidos por RODRIGUEZ et al., (1996 **b**) e por PACHECO et al., (1987). Estes autores constataram que esta palmeira apresentava um grau elevado de resposta a este nutriente nesta fase de sua fenologia.

O tratamento que tinha o N-mineral apenas sem os fungos micorrízicos arbusculares (T2), apesar de ser estatisticamente superior à testemunha, não era capaz de ser estatisticamente superior aos tratamentos 3, 4, 5, 6 e 7 mas, no entanto, quando este era associado aos FMA (T8), observava-se uma conduta mais satisfatória, evidenciado na sua superioridade aos tratamentos que tinham as plantas inoculadas com as bactérias diazotróficas estirpes padrões conjuntamente ou não aos fungos micorrízicos arbusculares, e ao tratamento que tinha as plantas inoculadas com às bactérias diazotróficas isoladas de palmeiras com presença ou não dos fungos micorrízicos arbusculares (tratamentos 3, 4 5, 6 e 7). Isto evidencia, que a adequada nutrição nitrogenada por si só não era capaz de propiciar um melhor desenvolvimento a esta palmeira, já que também era necessária a presença dos fungos micorrízicos arbusculares.

A respeito do tratamento 9 (estirpes padrões associadas aos isolados de palmeiras), apresentar um comportamento similar estatisticamente ao N-mineral (T2) e este associado aos fungos micorrízicos arbusculares (T8), como também serem superiores à testemunha, confirma os resultados obtidos por ANADAN & SANTHANA KRISHNA (1996), onde a inoculação de bactérias diazotróficas conferiu um maior incremento de diâmetro em *Azadirachta indica*

(gramínea típica da Índia), como também por HADAS & OKON (1987); FALLIK et al., (1988) e FALLIK et al., (1989), onde os autores relataram que a inoculação de bactérias diazotróficas conferiu um melhor desenvolvimento das plantas inoculadas com as diazotróficas em relação aos tratamentos que não eram inoculados com este tratamento. Estes efeitos, segundo os autores, podem ser atribuídos a substâncias produzidas pelas próprias diazotróficas, como fitohormônios (auxina, giberelina e citocininas).

Os tratamentos (T3 e T4), mesmo não apresentando superioridade em relação à testemunha apresentavam similaridade estatística ao tratamento 9 (estirpes padrões associado ao isolados de palmeiras), como também ao tratamento N-mineral (T2).

Observa-se que com exceção do tratamento 8 (N-mineral + os fungos micorrízicos arbusculares), todos os demais tratamentos que tinham os fungos micorrízicos arbusculares (T 5, T 6 e T 7), apresentavam um comportamento estatisticamente semelhante ao N-mineral, como também à testemunha. Observa-se que o fato dos fungos micorrízicos arbusculares estarem associados a ambos os grupos de bactérias diazotróficas, não contribuiu para uma influência positiva ou negativa em relação ao comportamento deste microrganismo perante a planta. Para este parâmetro o fungo micorrízico só evidenciou resposta satisfatória quando este era associado ao N-mineral, como já foi discutido anteriormente. Vários autores salientaram que quando se inoculava conjuntamente fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas, estes propiciaram ao vegetal efeitos benéficos. AZCÓN & RUBIO (1989), por exemplo, observaram que a inoculação mista de 8 estirpes de *R. meliloti* com três espécies de FMA: *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd); *Glomus fasciculatum* (Thaxter.) e *Glomus caledonium* (Nicol. & Gerdeman) em alfafa proporcionou uma melhoria no desenvolvimento desta planta. CHATUVERDI & SINGH (1989), também observaram respostas positivas através da inoculação conjunta de *G. caledonium* e *Rhizobium* sp em Grão de Bico. HO, (1988), inoculou *Azotobacter* e *Glomus mosseae* em *Festuca*

arundinaceae e observou aumento significativo do peso total da planta seca no segundo e terceiro ano de cultivo, principalmente quando se inoculou conjuntamente com o micronutriente molibdênio (micronutriente este de substancial importância na fixação biológica de nitrogênio).

Para o parâmetro altura com 270 dias após inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 25), verificou-se que os tratamentos 2 (N-mineral) e 8 (N-mineral +FMA), eram estatisticamente superiores a todos os outros tratamentos impostos e à testemunha. Resultado este que até então não tinha acontecido com os parâmetros discutidos anteriormente. Estes tratamentos (T2 e T8), só conseguiam ser superiores estatisticamente à testemunha.

É notório destacar também o comportamento dos tratamentos 3 (isolados de palmeira com ausência dos FMA), 4 (estirpes padrões com ausência dos FMA) e do tratamento 9 (isolados de palmeira + estirpes padrões com ausência dos FMA), pois apesar destes serem estatisticamente inferiores tanto ao tratamento nitrogenado (T2), como ao tratamento nitrogenado micorrizado (T8), os mesmos apresentavam-se estatisticamente superiores à testemunha, o que é compatível com os relatos de TIEN et al., (1979). Estes autores salientaram que as bactérias fixadoras de nitrogênio talvez, incrementem o desenvolvimento e a produtividade das plantas pelo suprimento de nitrogênio e/ou pelo estímulo hormonal, pois estirpes de *Azospirillum brasilense* ou outras bactérias diazotróficas como *Klebsiella* sp, produzem substâncias na superfície ou dentro do tecido de raízes podendo influenciar, diretamente, os processos metabólicos da planta, induzindo à proliferação de raízes laterais e pêlos absorventes e conferindo a estas uma melhoria na sua nutrição e no seu desenvolvimento.

PAULA & SIQUEIRA (1987); GARCIA-GARRIDO & OCAMPO (1988); SIQUEIRA & FRANCO (1988); BAREA et al., (1982); KAPULNIK et al., (1985), PACOVSKY (1989 a) e PAULA (1992), relataram que a inoculação conjunta de bactérias diazotróficas e fungos

micorrízicos arbusculares confere ao vegetal efeitos positivos como o incremento do peso de raízes secas, melhoria na nutrição inorgânica e melhoria no desenvolvimento das plantas duplamente inoculadas. Com relação a interação bactéria diazotróficas-fungos micorrízicos arbusculares não apresentarem um comportamento superior à testemunha, isto pode ser atribuído a algum antagonismo entre esses microrganismos. Este antagonismo deve ter reduzido o efeito positivo observado quando as diazotróficas eram inoculadas individualmente. Resultado este que pode estar relacionado com o que é relatado por BALOTA (1994). Este autor constatou que as espécies de fungos utilizadas no ensaio com plantas de mandioca não diferiram entre si quando inoculadas individualmente, mas que na presença de algumas bactérias, houve uma diferenciação no comportamento. Para algumas interações de bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) e FMA, o efeito era positivo, já para outras o efeito era negativo ou neutro em relação a testemunha. A inoculação conjunta da bactéria diazotrófica recentemente identificada como *Burkholderia brasilense*, por exemplo, com espécies de fungos micorrízicos arbusculares possibilitou ao *Glomus manihotis* (Howeler, Sieverding & Schenck) e ao *Glomus clarum* (Nicolson & Schenck) superarem a espécie de fungo micorrízico *Entrophospora colombiana* (Spain & Schenck) enquanto que a bactéria diazotrófica *Azospirillum lipoferum* e a mistura de bactérias associadas com o *Glomus clarum* superou as outras espécies de fungos micorrízicos arbusculares utilizadas no ensaio.

Outra possível hipótese para tal fato pode ser atribuído à grande demanda de energia (carbono), requerida do vegetal por estes microrganismos para sustentar esta simbiose. Provavelmente a planta não conseguiu suprir de maneira adequada a necessidade de energia destes microrganismos, trazendo por consequência um desempenho insatisfatório nesta simbiose. BALANDREAU, (1996), destacou que durante a fase de maior crescimento da planta, a mesma exsuda de 10 a 15 % dos seus fotossintatos para a rizosfera, energia esta que pode ser muito bem

utilizada pelas bactérias fixadoras de nitrogênio que estão nesta área da planta. Assume-se então, que a atividade da nitrogenase destas bactérias está diretamente influenciada pela maior, ou menor capacidade fotossintética da planta e pela variabilidade de fatores como quantidade de área foliar produzida, concentração de gás carbônico, luminosidade, temperatura do ambiente e eficiência no fechamento e abertura de estômatos da planta. Assim qualquer um destes fatores pode influenciar positivamente ou negativamente o envio de fotossintatos para as diazotróficas diminuindo assim o seu desempenho.

Autores também relataram que, tanto a colonização quanto a esporulação dos fungos micorrízicos arbusculares são diretamente influenciados por fatores do ambiente, como também por fatores inerentes à planta hospedeira, podendo inclusive esses fatores atuarem separadamente ou interagindo entre si (DEAN 1972; LOPES et al., 1983 e MOSSE, 1986). BUWALDA & GOH (1982), mencionaram que os fungos micorrízicos arbusculares podem competir com a planta hospedeira por carbono quando existe elevada quantidade de nitrogênio no tecido da planta. RAJU et al., (1990), observaram que quando se aumentava o teor de fósforo no substrato foi verificado que os fungos micorrízicos arbusculares tiveram a colonização micorrízica, conteúdo de P na parte aérea e o peso de parte aérea seca de sorgo (*Sorghum bicolor*) diminuída.

Como pode ser observado vários fatores podem interagir de tal maneira que podem trazer como conseqüências um baixo desempenho do FMA na simbiose com a planta. No caso específico do ensaio com dendezeiro, o sistema “ FMA - BFN - Dendê ”, torna-se ainda mais complexo e mais dispendioso para a planta, pois, do ponto de vista energético, a demanda de fotossintatos da planta, por estes microrganismos é ainda muito maior, do que quando se tem ou o FMA ou a BFN individualmente no sistema. Assim se algum fator interferir na planta, e esta diminuir o envio de fotossintatos para os simbioses, por exemplo, o desempenho deste sistema é reduzido ou insatisfatório.

Quanto ao tratamento 5 (FMA com ausência do N-mineral e de bactérias diazotróficas), o mesmo não apresentava diferenças significativas em relação à testemunha e aos demais tratamentos impostos, exceto ao T2 e ao T8. Resultado este que é diferente do que foi obtido por CHU et al., (1987); CHU (1989 **b**) e por CHU & BOTELHO (1991). Estes observaram aumentos estatisticamente superiores na altura de mudas de dendezeiro inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares em relação à testemunha não inoculada. Quanto a estes autores constatarem uma aumento significativo na altura das plantas de dendezeiro micorrizadas e no caso específico deste ensaio, não ter ocorrido semelhante resultado, isto pode ser atribuído ao fato destes autores terem utilizado espécies de fungos micorrízicos arbusculares diferentes. No caso específico deste ensaio (BFN-FMA-Dendê), utilizou-se o *Scutellospora heterogama* (Nicolson & Gerdeman e Walker & Sandres); o *Scutellospora gregaria* (Schenck & Nicol.) e o *Glomus clarum* (Nicolson & Schenk), enquanto nos trabalhos destes autores se utilizou as espécies *Gigaspora* spp, *Scutellospora gilmorei* (Trappe & Herd) e a espécie *Acaulosphora* sp. Provavelmente as espécies utilizadas neste caso específico tenham sido menos efetivas quando comparadas com as espécies utilizadas por os autores citados anteriormente.

Para o parâmetro área foliar com 270 dias após inoculação (Figura 26) os tratamentos 2 (N-mineral) e 8 (N-mineral + FMA) eram estatisticamente superiores aos demais tratamentos impostos, incluindo a testemunha. Resultado este, que continuava evidenciando o elevado grau de resposta desta palmeira ao nitrogênio nesta fase de sua fenologia. MAGALHÃES (1985), salientou que o conteúdo total de N na planta está diretamente relacionado com a maior ou menor capacidade da planta produzir uma área foliar satisfatória, o autor mencionou ainda que a captação de energia solar e a produção de substâncias orgânicas estão diretamente relacionados a uma maior área foliar. Em geral o maior incremento da área foliar e a maior permanência de suas

atividades são obtidas com um suprimento adequado de nitrogênio (MURATA 1969; WATSON et al 1958 e MURATA & MATSUSHIMA, 1975).

Verificou-se também que o tratamento 9 (isolados de palmeira + isolados padrões), apesar de apresentar uma quantidade estatisticamente inferior aos tratamentos 2 e 8, expressava uma área foliar superior à testemunha, mas não apresentava diferenças estatísticas em relação aos demais tratamentos. Semelhante resultado foi também observado por PACOVSKY (1982 **a**), em plantas de milho inoculadas com *Azospirillum* spp, onde as plantas apresentavam uma maior área foliar e um maior teor de glutamato. Estes resultados podem ser atribuídos apenas à produção e excreção de hormônios de crescimento como auxinas, giberelinas e citocinina por parte destas diazotróficas, como é relatado por AZCÓN et al., (1978) e AZCÓN (1989), já que este tratamento apresentava um conteúdo de nitrogênio que não diferenciava estatisticamente dos demais tratamentos impostos incluindo a testemunha (exceto ao tratamento 2 e 8, onde este era estatisticamente inferior). Este resultado é semelhante com o foi relatado por BAREA et al., (1982); KAPULNIK et al., (1985) e por PACOVSKY (1989 **a**). Estes autores observaram também que pode existir aumento no crescimento vegetal, porém sem incremento no conteúdo de N e de P por parte das plantas.

Quanto aos tratamentos que tinham as bactérias diazotróficas estirpes padrões associadas ou não aos FMA, ou as bactérias diazotróficas isoladas de palmeiras associadas ou não aos fungos micorrízicos arbusculares não apresentarem a mesma conduta do tratamento 9 (ser estatisticamente superior à testemunha), isto pode ser justificado pela maior capacidade de produzir hormônios de crescimento das diazotróficas que estavam presentes no tratamento 9. Além deste tratamento ser inoculado com ambos os grupos de diazotróficas utilizadas no ensaio (estirpes padrões e os isolados de palmeiras).

Quanto as bactérias diazotróficas associadas ou não aos fungos micorrízicos arbusculares apresentarem um comportamento estatisticamente similar à testemunha, resultado semelhante foi obtido também por MATOS (1995). Esta autora relatou que quando inoculava conjuntamente o *Glomus clarum* + *G. etunicatum* (Becker & Gerdemann) + *Glomus manihotis* (Howeler, Sieverding & Schenck) + *Gigaspora margarita* (Becker & Hall) e a bactéria diazotrófica *A. brasilense*, ou quando esta mistura de fungos micorrízicos arbusculares era inoculada conjuntamente com *A. diazotropicus*, ou ainda quando ambas diazotróficas eram inoculadas individualmente não foi observado incremento de área foliar em relação à testemunha em mudas de batata inglesa (todas eram estatisticamente iguais à testemunha).

Com relação ao parâmetro peso de raízes secas aos 270 dias após inoculação (Figura 27) os tratamentos 2 (N-mineral) e o 8 (N-mineral + FMA) como vem acontecendo com os demais parâmetros comentados anteriormente, evidenciam um comportamento mais satisfatório em relação aos demais, provando mais uma vez para esta palmeira a sua alta dependência ao nitrogênio nesta fase de sua fenologia. O tratamento 8 (N-mineral + FMA), apresentava-se estatisticamente superior a testemunha e aos demais tratamentos impostos, com exceção ao tratamento 2 (N-mineral), ao qual era estatisticamente similar.

Com relação a fertilização nitrogenada conferir um maior peso de raízes secas, SIMÃO & COUTO (1973); MOHAN et al., (1990); DIAS & FARIA (1992) e RENÓ (1994), também observaram semelhante resultado em diferentes espécies arbóreas. Quanto as mudas de dendezeiro fertilizadas com N-mineral apresentarem incremento de peso de raízes secas, resultado semelhante foi obtidos por RODRIGUEZ et al., (1996 **b**). Estes autores também observaram aumento no peso de raízes secas das plantas de dendezeiro fertilizadas com N-mineral em relação às plantas que não recebiam este tratamento. Quanto ao tratamento N-mineral + FMA contribuírem para a

melhoria do peso de raízes secas em mudas de dendezeiro, os relatos na literatura são bastantes escassos.

O tratamento 5 (FMA com ausência de N-mineral e de bactérias diazotróficas), foi estatisticamente superior à testemunha e ao tratamento 3 (isolados de palmeiras). Isto pode ser justificado pela presença dos fungos micorrízicos arbusculares. Estas maiores produções de raízes evidenciadas pelas plantas micorrizadas podem estar relacionadas com os maiores suprimentos de fósforo, pois sabe-se que o elemento é essencial nos processos de fosforilação no metabolismo dos carboidratos. Além desta importante função o fósforo atua como componente importante para a síntese de ATP, ácidos nucleicos, coenzimas, fosfolipídeos, esteres de carboidratos, divisão celular, armazenamento e transferência de energia, fixação simbiótica de nitrogênio, fotossíntese, respiração e outros processos de importância no metabolismo vegetal. Assim uma planta micorrizada conseguindo alocar mais fósforo para a planta, todos estes processos serão desempenhados de maneira mais adequados, refletindo assim em uma melhoria no desenvolvimento da planta como um todo (raiz + parte aérea), fato este também observado por CHU (1989 **a**), e por COOPER (1994), em mudas de dendezeiro micorrizadas.

O tratamento 7 (isolados padrões + FMA) evidenciou um aumento estatisticamente superior à testemunha e ao tratamento 3 (isolados de palmeiras com ausência dos FMA). Semelhante resultado também foi observado por PACOVSKY (1989 **b**) em milho, por NEGI et al., (1992) em cevada, por BALOTA (1994), em mandioca, como também por ISOPI et al., (1992) em sorgo. Os autores atribuíram essas diferenças a um aumento do nível de P, como também a uma melhoria na absorção de água e de nutrientes proporcionado pela micorrização. Isto beneficiaria os processos metabólicos de grande demanda de ATP, como é o caso da fixação biológica de nitrogênio. Além de que, tanto a micorrização como também as bactérias diazotróficas produzem e excretam

substâncias promotoras de crescimento como os fitohormônios (HO, 1988; SIQUEIRA & FRANCO, 1988; KAPULNIK et al., 1985 e AZCÓN, 1989).

Com relação ao tratamento que era inoculado com os isolados de palmeiras + os FMA (T6), este apesar de não diferir estatisticamente dos tratamentos 5 (FMA) e 7 (estirpes padrões + FMA), não mostrou superioridade estatística à testemunha. BALOTA (1994), também observou semelhante resultado em mandioca. O mesmo evidenciou que quando inoculava a espécie de diazotrófica *Klebsiella* sp conjuntamente com o *Glomus manihotis* este tratamento não diferenciava estatisticamente da testemunha, mas, no entanto quando se inoculava a *Burkholderia* sp conjuntamente com o *Glomus manihotis* este tratamento se comportava estatisticamente superior à testemunha. Isto pode ser explicado pelo fato de ter existido maior sinergismo entre as bactérias diazotróficas estirpes padrões com estes fungos micorrízicos arbusculares do que quando estes fungos micorrízicos arbusculares eram associados com os isolados de bactérias diazotróficas oriundas das palmeiras.

Quanto aos tratamentos que tinham as bactérias diazotróficas estirpes padrões inoculadas sozinhas, isolados de palmeiras inoculadas sozinhas, ou ainda a inoculação conjunta de estirpes padrões + isolados de palmeiras, não conseguiram ser superior a testemunha. Resultado semelhante foi também observado por BALOTA (1992), onde a inoculação individualmente de *Klebsiella* sp, *Burkholderia* sp, *Azospirillum lipoferum* ou a mistura destas espécies não proporcionaram um aumento da produção de raízes secas em relação a testemunha. Fato este que está relacionado com a ausência dos fungos micorrízicos arbusculares nestes tratamentos.

Para o parâmetro peso da parte aérea seca aos 270 dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares em mudas de dendezeiro (Figura 28), novamente era observado o mesmo comportamento dos tratamentos nitrogenado (T2) e nitrogenado micorrizado (T8). Estes tratamentos conseguiram produzir uma parte aérea estatisticamente

superior a testemunha e aos demais tratamentos impostos. Resultado este que vinha acontecendo com frequência em outros parâmetros discutidos. Respostas no incremento da parte aérea seca, quando as plantas eram fertilizadas com N-mineral, ou quando estas eram fertilizadas com este nutriente e ao mesmo tempo inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares também foi constatada por PAULA (1992), em trabalho com batata doce. PEREIRA et al., (1996), em trabalho com mudas de espécies arbóreas, como a Cássia verrugosa (*Senna multijuga*); Cinamomo (*Melia azedarach*) e em Jacararandá (*Jacaranda mimosaeifolia*), também observaram o mesmo comportamento. Estes autores também constataram que a espécie Fedegoso (*Senna macranthera*), respondeu positivamente com um aumento no peso da parte aérea seca, quando estas eram fertilizadas e micorizadas. Em mudas de dendezeiro trabalhos realizados por ROSENQUIST (1962), WERKOVEN (1965); PIGGOTT (1968); WALKER & MELTED (1971) e MARTIN & PRIoux (1972), como também por PACHECO et al., (1985), também constataram a mesma resposta positiva para este parâmetro através da fertilização nitrogenada. Quanto ao fato da associação de fungos micorrízicos arbusculares com o N-mineral proporcionar um incremento na parte aérea de mudas de dendezeiro, observa-se uma escassez de trabalhos em literatura relacionando a isto.

Um resultado que é importante ser destacado foi o tratamento estirpes padrões + isolados de palmeiras que, apesar de não proporcionar maior conteúdo de nitrogênio na parte aérea destas plantas, promoveu um aumento na produção desta parte da planta em quantidades superiores estatisticamente à testemunha. Resultado este não observado com nenhum outro tratamento que era inoculado com estas diazotróficas. Isto parece ser compatível com os relatos de BAREA et al., (1982); KAPULNIK et al., (1985) e PACOVSKY (1989 a). Estes obtiveram aumentos no desenvolvimento vegetal, porém sem incremento de nutrientes como o N e o P. O que pode ser justificado pela liberação de substâncias promotoras de crescimento como fithormônios por parte

destas bactérias. Pois, se este efeito positivo proporcionado fosse oriundo da fixação biológica do nitrogênio haveria uma quantidade maior deste elemento na parte aérea deste tratamento em relação à testemunha. Fato este não observado. Observa-se também que este tratamento apresentava um número maior de diazotróficas em relação aos demais tratamentos nesta parte da planta.

Quanto aos tratamentos que tinham as bactérias diazotróficas inoculadas individualmente, como é o caso dos tratamentos 3 (isolados de palmeiras) e 4 (estirpes padrões), não diferiram estatisticamente do tratamento 9, que tinha ambos os grupos de bactérias diazotróficas inoculadas conjuntamente (isolados de palmeiras + estirpes padrões), provavelmente estas bactérias quando inoculadas conjuntamente apresentavam um maior sinergismo do que quando estas diazotróficas eram inoculadas separadamente. Resultado semelhante também foi observado por MATOS (1995), quando inoculava *Azospirillum brasilense*, ou *Acetobacter diazotrophicus* em batata inglesa, como também por BALOTA (1994), onde a inoculação individualmente de *Klebsiella* sp, ou de *Burkholderia* sp, ou ainda de *Azospirillum lipoferum* em mandioca não conferia à estas plantas aumentos no peso de parte aérea seca superior a testemunha.

Quanto aos tratamentos que eram inoculados com os fungos micorrízicos arbusculares associados ou não com as bactérias diazotróficas (estirpes padrões), ou ainda quando estes fungos eram associados às bactérias diazotróficas (isolados de palmeiras), não apresentaram um comportamento superior à testemunha, isto provavelmente, pode estar relacionado com a baixa disponibilidade de nitrogênio no substrato.

Quanto ao tratamento micorrizado (T5), não apresentar um comportamento superior estatisticamente à testemunha, este resultado é diferente dos relatos obtidos por COOPER (1994), como também por CHU, (1989 **b**) e por CHU & BOTELHO, (1991). Estes autores obtiveram aumentos estatisticamente superiores no peso de parte aérea seca das plantas micorrizadas em

relação as não micorrizadas. Isto pode estar relacionado com o substrato e com as espécies de FMA utilizadas por estes autores. Estes trabalharam com um substrato mais rico do que o substrato utilizado neste experimento, como também espécies de FMA mais eficientes do que as espécies de FMA trabalhadas neste ensaio específico com o dendezeiro.

Com relação a interação de bactérias diazotróficas com os fungos micorrízicos arbusculares (T6 e T 7) não proporcionarem um incremento de peso da parte aérea seca em relação a testemunha, resultado semelhante foi obtido por BALOTA (1994), onde a inoculação de *Klebsiella* sp + *Glomus manihotis*, ou de *Azospirillum lipoferum* + *Glomus manihotis* em mandioca não promovia um aumento do peso de parte aérea destas plantas em relação à testemunha. Isto pode estar relacionado com um maior sinergismo das bactérias diazotróficas no tratamento 9, do que quando estas eram associadas com os fungos micorrízicos arbusculares (T6 e T 7).

Para o parâmetro Nitrogênio-total nas raízes 270 dias após a inoculação com bactérias diazotróficas e FMA (Figura 29), foi verificado que o tratamento 8 (N-mineral + FMA), era o único que mostrava superioridade estatística em relação a testemunha e aos demais tratamentos impostos, o que vem acontecendo com frequência com outros parâmetros, e que é justificado pela presença da fertilização nitrogenada e da presença dos fungos micorrízicos arbusculares neste tratamento, fato este já anteriormente discutido. PAULA (1992), em batata doce também observou semelhante resultado, onde a inoculação conjunta do fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum* com o N-mineral também proporcionou uma melhoria na absorção de nitrogênio nas raízes (tubérculos), destas planta.

Quanto aos fungos micorrízicos arbusculares incrementarem o conteúdo de nitrogênio nas raízes, este resultado é compatível com o que é relatado por HARLEY & SMITH (1983); BOWEN & SMITH (1981) e por BROWN et al (1981). Estes autores observaram que normalmente quanto menos móvel o íon no solo, maior a relevância de seu transporte através das hifas dos FMA para a

planta hospedeira. No caso específico de nitrogênio na forma amoniacal, parece que esta forma de nitrogênio apresenta uma maior importância, tendo sido observado um maiores benefícios da fertilização na forma de amônio do que em relação a fertilização na forma de nitrato por hifas extra-radiculares dos fungos micorrízicos arbusculares. Fato este que está diretamente relacionado com a maior mobilidade do nitrato em relação ao amônio no solo. AMES et al (1983) e (1984), também constataram em estudo com sulfato de amônio marcado com N^{15} e fungos micorrízicos arbusculares, que estes fungos eram capazes de absorver e transferir nitrogênio para as plantas micorrizadas, fato este também observado por SMITH et al (1985). Estes constataram que em geral raízes micorrizadas apresentavam incrementos na atividade de determinadas enzimas envolvidas na assimilação de nitrogênio, como a redutase de nitrato e a glutamina sintetase.

Embora o tratamento estirpes padrões + os isolados de palmeiras (T9), não tenha expresso um incremento nos conteúdos de N, na parte aérea da planta, verificou-se que tal comportamento não foi observado nas raízes. Este tratamento destacava-se em relação aos demais pelo fato dos mesmos apresentarem um comportamento superior à testemunha, como também aos tratamentos 3 (isolados de palmeiras), 4 (estirpes padrões), 5 (fungos micorrízicos arbusculares), 6 (isolados de palmeiras + FMA) e um comportamento estatisticamente similar ao tratamento nitrogenado. Isto provavelmente pode estar ligado a um maior sinergismo entre estes grupos de bactérias diazotróficas (estirpes padrões + isolados de palmeiras), do que quando estes grupos de diazotróficas eram inoculados sozinhos (T3 e T4), como também pelo fato destas bactérias diazotróficas (T9), provavelmente terem recebido mais fotossintatos nas raízes, do que quando estas se encontravam na parte aérea. Assim estas diazotróficas conseguiram apresentar uma fixação biológica de nitrogênio mais satisfatória e desta maneira conseguiram fornecer uma maior quantidade deste elemento nas raízes do que na parte aérea. Semelhante resultado foi também obtido por ORLANDO FILHO et al., (1980) e URQUIAGA & DOBEREINER (1991) em raízes de

cana de açúcar, como também por BODDEY & DOBEREINER (1982) e por BODDEY & DOBEREINER (1988) em gramíneas e em cereais e por CARLETTI et al., (1996) em macieira.

Observa-se também uma diferença de comportamento entre o tratamento nitrogenado micorrizado e o tratamento nitrogenado com ausência do fungo micorrízico. Este último não conseguia apresentar um conteúdo de nitrogênio superior à testemunha e aos tratamentos 3, 4, 5, 6, 7 e 9, resultado este que deixava bem evidenciado a importância da inoculação dos fungos micorrízicos arbusculares para o bom desempenho do tratamento 8. Só para se ter uma idéia do efeito positivo no incremento de nitrogênio conferido por este fungo nesta parte da planta no tratamento 8, este apresentava um incremento de 247,04% deste nutriente nas raízes em relação ao tratamento que tinha apenas o N-mineral. Resultado semelhante também foi reportado por CROSSMAN & HILL (1983) e por KANDASMY et al., (1988). Estes autores relataram que fungos micorrízicos arbusculares também possuem capacidade, através das hifas extra radiculares, de absorver e translocar para o vegetal o N na forma amoniacal aumentando assim o conteúdo de N nesta parte da planta.

O comportamento satisfatório dos fungos micorrízicos arbusculares observado no tratamento 8, não foi verificado quando estes eram inoculados sozinhos, ou quando estes eram inoculados conjuntamente com os isolados de palmeiras, ou ainda quando estes fungos eram inoculados com as estirpes padrões. Resultado este que novamente deixa clara a importância que tem a fertilização nitrogenada nesta fase da fenologia desta palmeira, como também a contribuição que o suprimento deste elemento (N) pode propiciar para a melhoria na atividade metabólica desta palmeira, refletindo em uma melhor sustentabilidade da simbiose com este fungo micorrízico arbuscular. O fato destes fungos, quando inoculados sozinhos ou conjuntamente com as diazotróficas em substrato deficiente em nitrogênio (como foi o caso específico deste ensaio), não conseguirem propiciar às

raízes desta palmeira uma quantidade de nitrogênio superior à testemunha, também foi observado por MATOS (1995), em batata inglesa.

Com relação as bactérias diazotróficas estirpes padrões inoculadas conjuntamente ou não aos fungos micorrízicos arbusculares, ou as bactérias diazotróficas isoladas de palmeiras inoculadas ou não com os fungos micorrízicos arbusculares expressarem a mesma quantidade de N nas raízes em relação a testemunha, semelhante resultado foi observado por BALOTA (1994). Este constatou que quando se inoculava o *Azospirillum lipoferum* sozinho ou este inoculado conjuntamente com as espécies de FMA *Glomus manihotis* ou com o *Glomus clarum* estes não diferenciavam da testemunha, e por MATOS (1995), em batata inglesa, onde a autora observou que quando se inoculava a diazotrófica *Acetobacter diazotrophicus* sozinha ou conjuntamente com a mistura de fungos micorrízicos arbusculares (*Glomus etunicatum* + *Glomus manihotis* + *Gigaspora margarita* e *Glomus clarum*), estes tratamentos não diferiram também da testemunha.

Verificou-se também que os tratamentos 3, 4, 6 e 7 não expressavam o mesmo comportamento satisfatório do tratamento estirpes padrões + isolados de palmeiras (este tratamento apresentava um conteúdo de N maior nas raízes do que a testemunha e superior aos demais tratamentos impostos, com exceção do T 2 e do T 8). Isto pode ser atribuído a um maior sinergismo destes grupos de bactérias quando são inoculados conjuntamente do que quando estes grupos de bactérias são inoculados individualmente.

Com relação ao Nitrogênio-total na parte aérea após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 30), verificou-se que os tratamentos 2 (N-mineral) e 8 (N-mineral + FMA), propiciaram o acúmulo de quantidades superiores estatisticamente deste nutriente em relação a testemunha e aos demais tratamentos impostos. Quanto aos tratamentos que tinham as plantas fertilizadas com N-mineral, conseguiram apresentar uma maior quantidade deste elemento na parte aérea em relação aos demais tratamentos,

ROSENQUIST (1962); WERKOVEN (1965); PIGGOTT (1968), WALKER & MELTED (1971) e MARTIN & PRIOUX (1972), encontraram semelhante resultado em mudas de dendezeiro também fertilizadas com este elemento nesta fase de viveiro.

Quanto aos demais tratamentos, onde as plantas não eram fertilizadas com o N-mineral, não evidenciaram o mesmo comportamento dos tratamentos 2 e 8, isto pode ser atribuído ao elevado grau de resposta desta palmeira em estágio de mudas ao nitrogênio, como já foi mencionado anteriormente, como também ao fato do substrato ser pobre em nitrogênio. Este procedimento foi necessário devido se tratar de um ensaio com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares. Ambos os microrganismos são muito vulneráveis a quantidades elevadas deste nutriente no solo ou no substrato, fato este salientado por FRANCO & NEVES (1992). Estes autores mencionaram que dos nutrientes minerais o nitrogênio é o que mais prejudica a fixação biológica do nitrogênio. Os autores salientaram ainda que só há fixação biológica de nitrogênio em situação de deficiência deste elemento no substrato. Quanto aos fungos micorrízicos arbusculares CARDOSO et al., (1986), relataram que nutrientes como o N e o P, influenciam negativamente a colonização destes microrganismos quando estes elementos estão em alta concentração no substrato, como também é relatado por CHAMBBERS et al., (1980); BAATH & SPOKES (1989) e por VAAST & ZAROSKI (1992).

Os resultados obtidos no ensaio com a pupunheira (experimento 1), evidenciavam comportamento semelhante aos observados com as mudas de dendezeiro neste ensaio específico (tratamento nitrogenado e micorrizado nitrogenado não diferiam estatisticamente entre si e eram estatisticamente superiores aos demais tratamentos). Só para se ter uma idéia da demanda elevada do dendezeiro por este elemento no tecido da parte aérea nesta idade, nem a fertilização nitrogenada (com 14 mg de N, na forma de Sulfato de Amônio a cada 25 dias), foi suficiente para suprir esta palmeira com N, na parte aérea nesta fase de sua fenologia.

De acordo com MALAVOLTA et al., (1989), o dendezeiro requer um teor de 2,02% de N nas folhas com 9 meses de idade. De todos os tratamentos impostos, os tratamento 2 (N-mineral, com 1,39 %) e o tratamento 8 (N-mineral associado aos fungos micorrízicos arbusculares, com 1,03%), foram os que chegaram mais próximos deste valor. Os demais tratamentos ficaram com valores abaixo de 1%.

Quanto aos tratamentos que tinham as bactérias diazotróficas (estirpes padrões ou isolados padrões, juntas ou inoculadas separadamente), não conseguiram fornecer nitrogênio para a parte aérea da planta em quantidade superior a testemunha ou em quantidade estatisticamente similar aos tratamentos nitrogenado e nitrogenado micorrizado, é diferente dos resultados obtidos por BODDEY et al., (1986) e por DIDONET et al., (1996). Estes autores constataram um maior incremento de nitrogênio na parte aérea de trigo, e por HASSEN et al., (1987), onde os autores observaram um incremento de N na parte aérea de milho, utilizando bactérias diazotróficas.

Quanto ao fato das bactérias diazotróficas não apresentarem um comportamento satisfatório para este parâmetro, isto pode ser atribuído à elevada dependência desta palmeira a este elemento, aliado ao fato de não ter existido disponibilidade suficiente do nitrogênio para a fotossíntese destas plantas. Este elemento, segundo FERRI (1985), é considerado como componente essencial para uma adequada atividade fotossintética, pois o mesmo além de ser elemento estrutural de aminoácidos, proteínas, vitaminas, enzimas, é também componente da molécula da clorofila, sendo que esta última desempenha um papel fundamental no processo de bioconversão de energia. Tendo escassez de N, conseqüentemente se tem menos clorofila e uma atividade fotossintética menor e bem aquém de uma planta bem nutrida com nitrogênio. Assim, conseqüentemente a planta reduziria o envio de fotossintatos para sustentar a simbiose com estas diazotróficas. Tendo menos fotossintatos disponíveis, a atividade metabólica destas bactérias diazotróficas seria bastante comprometida, fazendo com que as mesmas apresentassem um comportamento não muito

satisfatório com relação ao incremento de N (via fixação biológica de nitrogênio), para esta parte da planta desta palmeira altamente dependente deste elemento nesta fase de sua fenologia. Provavelmente se estivéssemos trabalhando com uma planta não tão dependente de nitrogênio nesta fase de muda, ou se o substrato fosse um pouco mais rico neste elemento o resultado poderia ser diferente.

Quanto aos tratamentos que tinham as plantas inoculadas conjuntamente com bactérias diazotróficas (estirpes padrões ou isolados de palmeiras), e os fungos micorrízicos arbusculares não conseguirem incrementar o conteúdo de nitrogênio na parte aérea desta palmeira é diferente dos relatos de BALI & MURKEJ (1991). Estes autores observaram que a dupla inoculação com *Glomus macrocarpum* (Tulasne & Tulasne) e *Azospirillum amazonense* proporcionaram a *Corchorus olitorius* (Juta), um incremento de N na parte aérea desta planta, como também por SCHONBECK (1995), onde o autor observou também um maior incremento deste elemento na parte aérea, quando se inoculou conjuntamente *Glomus clarum* e o *Acetobacter* spp em cana de açúcar, como também por KRISNHAN & KALAVATI, (1996), onde os autores constataram uma maior quantidade de N em *Azadirachata indica* (gramínea típica da Índia), quando esta planta era inoculada com *Azospirillum* spp e fungos micorrízicos arbusculares e por BALOTA (1994), onde o autor constatou um aumento de N na parte aérea desta planta quando inoculava-se conjuntamente bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares.

Quanto a simbiose bactéria diazotrófica - fungos micorrízicos arbusculares - mudas de dendezeiro não ter se mostrado satisfatória a ponto de se ter um incremento de N na parte aérea desta palmeira nesta fase de sua fenologia, pode também ser justificado por não ter havido fotossintatos suficientes também para suprir a necessidade deste sistema tríplice. Fato este já discutido no parágrafo anterior.

Quanto ao tratamento onde as plantas eram inoculadas com os fungos micorrízicos arbusculares não terem acumulado uma quantidade de nitrogênio na parte aérea estatisticamente similar aos tratamentos N-mineral (T2) e ao N-mineral + os fungos micorrízicos arbusculares (T8). CHU & BOTELHO (1991), e CHU (1989 a), observaram resultados mais satisfatórios. Estes autores em trabalho com mudas de dendezeiro inoculadas com *Gigaspora* sp e *Acaulospora* sp, em solo fumigado, constataram que esses fungos proporcionaram um maior conteúdo de N na parte aérea em relação à testemunha. Quanto ao tratamento micorrizado (T5), não apresentar o mesmo comportamento, isto pode ser atribuído ao fato das espécies utilizadas por estes autores serem mais eficientes na contribuição do acúmulo de N, do que as espécies utilizadas neste ensaio.

Verificou-se que para o parâmetro Fósforo total nas raízes após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 31) que o tratamento 8 (N-mineral + FMA) apresentava diferenças significativas em relação aos demais tratamentos, exceto ao N-mineral com ausência dos FMA (T2), onde o mesmo foi estatisticamente semelhante. O que pode ser justificado pela presença dos FMA no tratamento 8, como também pelo fato da fertilização nitrogenada contribuir na melhoria da absorção de P pelo vegetal, como é reportado por MILLER & OHLROGG (1958); OLSON & DREIER, (1956) e por ROBERTSON et al., (1954).

O sinergismo N X P também contribuiu para que o tratamento 2 (N-mineral) fosse superior estatisticamente a quase todos os tratamentos, exceto ao tratamento 5 (FMA apenas), 6 (isolados de palmeiras + FMA) como também ao tratamento 7 (estirpes padrões + FMA). O tratamento N-mineral não foi superior a estes tratamentos (T5, T6 e T7) em virtude destes tratamentos terem sido inoculados com os fungos micorrízicos arbusculares já que, segundo BOLAN (1991), a maior eficiência na absorção de fósforo, por plantas micorrizadas, se deve basicamente, à exploração de um maior volume de solo e ao transporte do P ser mais eficiente no interior das hifas fúngicas do

que a difusão deste elemento no solo. Com isto, relatou o autor, plantas que tem suas raízes colonizadas pelas hifas de fungo micorrízicos arbusculares possuem uma maior quantidade de P na planta do que uma planta não micorrizada.

Verificou-se também que mesmo o tratamento nitrogenado (T2) sendo estatisticamente igual ao tratamento nitrogenado associado aos fungos micorrizicos arbusculares (T8), o mesmo apresentava um comportamento um tanto inferior ao T 8. Fato este que pode ser explicado pela presença dos FMA no T 8, como já foi mencionado anteriormente. Este microrganismo, segundo GIANINAZZI-PEARSON (1986), HOWELER et al., (1987) e MILLINER (1988), confere a planta uma melhoria na absorção de nutrientes do solo, em particular o fósforo.

O tratamento 5 (FMA com ausência do adubo nitrogenado e de bactérias diazotróficas) foi estatisticamente superior à testemunha e ao tratamento isolados de palmeira (T3), não apresentando diferenças significativas em relação aos demais tratamentos, exceto ao T 8, onde o mesmo era estatisticamente inferior. O que mostra novamente o efeito positivo dos fungos micorrízicos arbusculares na melhoria da absorção do P, por parte das plantas micorrizadas. Resultado este também observado por CHU & BOTELHO (1991) e CHU (1989 a), também em mudas de dendezeiro inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares, como também por KATO (1987) e HOWELER et al., (1982) em mandioca inoculada com estes fungos.

Observou-se também que a inoculação conjunta dos FMA e bactérias diazotróficas (T6 e T7), ou quando estes microrganismos eram inoculados individualmente (T3 e T4) ou quando estes microrganismos eram inoculados conjuntamente com ausência dos FMA (T9), que não havia diferenças estatísticas entre os tratamentos citados, mas, no entanto o desempenho dos tratamentos 3, 4 e 9 foram um tanto inferiores aos tratamentos 6 e 7. Estes dois últimos, por exemplo, eram estatisticamente iguais ao tratamento nitrogenado, enquanto que os tratamentos 3, 4 e 9 eram estatisticamente inferiores ao tratamento nitrogenado. O fato dos tratamentos 3 (isolados de

palmeiras), 4 (isolados padrões) e do tratamento 9 (isolados de palmeiras + estirpes padrões), não diferiram estatisticamente da testemunha, como também não diferiram estatisticamente dos tratamentos 6 (isolados de palmeira + FMA) e 7 (isolados padrões + FMA) e serem inferiores aos tratamento nitrogenado (T2) e nitrogenado micorrizado (T8), pode ser justificado pela ausência dos fungos micorrízicos arbusculares nestes tratamentos (T 3, T 4 e T 9). BALOTA (1994), em trabalho com mandioca obteve resultado semelhante. O autor constatou que quando se inoculava a mistura de diazotróficas *Klebsiella* sp + a bactéria E (*Burkholderia* sp) + *Azospirillum lipoferum*, ou quando estas eram inoculadas individualmente não se observava diferenças significativas em relação à testemunha, mas, no entanto quando estas eram associadas ao *Glomus manihotis*, com exceção da inoculação conjunta de *Klebsiella* sp com este fungo micorrízico, todos os demais tratamentos tinham mais P nas raízes.

Como vem acontecendo com frequência nos parâmetros anteriores discutidos, como também era observado no ensaio 1 em mudas de Pupunheira, o tratamento nitrogenado micorrizado e o tratamento nitrogenado, eram os que se comportavam de forma mais satisfatória em relação a testemunha e aos demais tratamentos impostos. Para o parâmetro Fósforo total na parte aérea após 270 dias de inoculação com bactérias diazótroficas e os FMA (Figura 32), este fato também se repetia. Ambos os tratamentos se comportavam estatisticamente superiores à testemunha e aos demais tratamentos. Embora estes tratamentos apresentassem superioridade à testemunha e aos demais tratamentos impostos, entre estes tratamentos observava-se que o nitrogenado micorrizado (T8), era superior estatisticamente ao tratamento nitrogenado (T2). Fato este que é justificado pela contribuição da fertilização nitrogenada (sinergismo N x P), como também pela presença dos fungos micorrízicos arbusculares no tratamento 8.

Quanto a fertilização nitrogenada (na forma amoniacal), promover uma melhoria no conteúdo de fósforo no tecido da parte aérea da planta é compatível com os relatos de GRUNES et al., (1958); de SIMPSOM (1961), como também de SOLTANPOUR (1974).

Quanto ao tratamento 5 (Mistura das espécies de fungos micorrízico arbuscular *Glomus clarum* + *Scutellospora gregaria* + *Scutellospora heterogama*), apresentar um incremento de P na parte aérea de mudas de dendezeiro em relação a testemunha, resultado semelhante foi constatado por CHU (1989 a); CHU & BOTELHO (1991), como também por COOPER (1994), também em mudas de dendezeiro inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares.

Quanto aos tratamentos que tinham os fungos micorrízicos arbusculares associados com as bactérias diazotróficas estirpes padrões ou quando estes fungos eram inoculados conjuntamente com as bactérias diazotróficas isoladas de palmeiras, os mesmos expressavam um comportamento estatisticamente superior à testemunha. Semelhante resultado foi também obtido por KANDASMY et al., (1988), como também por PAULA (1992), em batata doce, onde os tratamentos que eram inoculados com *Glomus clarum* + *Acetobacter diazotrophicus* + *Klebsiella* sp, ou que eram inoculados com o *Glomus clarum* + *Acetobacter diazotrophicus*, apresentavam um incremento de P na parte aérea estatisticamente superiores à testemunha.

Quando as bactérias diazotróficas (isolados de palmeiras ou estirpes padrões), eram inoculadas individualmente com ausência dos fungos micorrízicos arbusculares, ou quando estas eram inoculadas juntas (estirpes padrões + isolados de palmeiras), era observado que não existia diferenças estatísticas em relação à testemunha. Resultado este que é compatível com os resultados obtidos por BALOTA (1994), em mandioca, onde as bactérias diazotróficas *Klebsiella* sp; *Burkholderia* sp; *Azospirillum lipoferum* ou estas três espécies de bactérias diazotróficas inoculadas conjuntamente, não conseguiam ser estatisticamente superiores à testemunha, como também por MATOS (1995), onde a inoculação individualmente de *Acetobacter diazotrophicus*

ou de *Azospirillum amazonense* em batata inglesa não proporcionava a estes tratamentos um aumento no conteúdo de P na parte aérea em quantidade estatisticamente superior à testemunha. A ausência dos fungos micorrízicos arbusculares nestes tratamentos seria o fator determinante para que estes tratamentos não se comportassem de forma similar aos que possuíam ambos os microrganismos inoculados conjuntamente (bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares). Provavelmente se houvesse a presença dos fungos micorrízicos arbusculares nestes tratamentos se observaria os mesmos resultados obtidos com o tratamento isolados de palmeiras inoculados conjuntamente com os fungos micorrízicos (T6) e do tratamento que era inoculado com as estirpes padrões conjuntamente com os fungos micorrízicos arbusculares (tratamento 7).

Constatou-se também que todos os tratamentos impostos apresentavam um teor de fósforo na parte aérea considerado como satisfatório para o desenvolvimento desta palmeira em estágio de mudas, que é de 0,12% (nove meses de idade), como é mencionado por MALAVOLTA et al., (1989). Fato este que evidencia que esta palmeira não é tão exigente em fósforo, quando se compara com a sua exigência do nitrogênio nesta fase de sua fenologia, o que é compatível com os relatos de SOBRAL (1989), como também por GOMES & ALVIM (1995), onde estes autores destacaram a baixa dependência ao fósforo das palmeiras nesta fase de muda.

Em relação ao parâmetro Potássio total nas raízes de mudas de dendezeiro após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e FMA (Figura 33), observou-se que tanto o tratamento nitrogenado (T2), como o tratamento nitrogenado micorrizado (T8), apresentavam um comportamento estatisticamente superior à testemunha e a todos os outros tratamentos impostos. Resultado este que é atribuído ao fato da fertilização nitrogenada propiciar ao vegetal uma melhoria da nutrição potássica se este elemento estiver disponível no solo ou no substrato. UESERWOOD (1982), destacou que a fertilização nitrogenada em plantas como milho, por

exemplo estimulou o crescimento vegetativo e trouxe como efeito uma maior necessidade de nutrientes para a planta, sendo que, dentre estes está o K.

Observa-se também um efeito benéfico da micorrização associada à fertilização nitrogenada na melhoria da absorção e da acumulação deste nutriente nesta parte da planta. Fato este que é proporcionado também pela presença dos FMA. Estes fungos atuam na melhoria da absorção de nutrientes (entre eles o potássio), pela planta quando associado com N-mineral. PAULA (1992), observou este mesmo fato inoculando *Glomus clarum* com N- mineral em batata doce.

Com relação ao tratamento 5 (FMA apenas), o mesmo evidenciou uma quantidade estatisticamente superior à testemunha, o que mostra mais uma vez que a micorrização contribuiu para uma adequada absorção deste elemento por parte das plantas, fato este não observado com os demais tratamentos, exceto os tratamentos 2 e 8, onde estes eram superiores a todos os tratamentos do ensaio. CHU & BOTELHO (1991), constataram semelhante resultado em trabalho com mudas de dendezeiro inoculadas com FMA. Além destes autores CARVALHO et al., (1982), utilizando *G. margarita* e CARVALHO (1984), utilizando *G. margarita*, *S. heterogama* e *Gigaspora* sp (espécie nativa), também observaram em raízes de mandioca aumentos no conteúdo de K, quando se comparava com as plantas não micorrizadas. SUDO et al., (1996), em trabalho com mudas de pupunheira inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares também evidenciou aumentos no conteúdo de K nas raízes desta palmeira em relação à testemunha.

Verificou-se também, que com exceção dos tratamentos 2 (superior a todos os tratamentos, exceto ao tratamento 8), 5 (apenas superior a testemunha) e 8 (superior a todos os tratamentos), todos os demais tratamentos impostos, incluindo os tratamentos que tinham os fungos micorrízicos arbusculares inoculados conjuntamente com as estirpes padrões ou com os isolados de palmeiras não conseguiram ser superiores à testemunha e não diferiram estatisticamente entre si. Quanto aos tratamentos 6 e 7, que tinham os FMA inoculados conjuntamente com as diazotróficas

apresentarem uma quantidade de potássio nas raízes que não diferiram estatisticamente da testemunha, enquanto que os tratamentos 8 (N-mineral + FMA), e 5 (FMA) apresentavam uma quantidade superior estatisticamente à testemunha, pode estar relacionado com algum efeito negativo existente entre ambos os microrganismos nestes tratamentos. Algo pode ter influenciado o sinergismo destes microrganismos fazendo com que a maior quantidade de K observada no tratamento 5 e 8 (ambos tinham FMA), não fosse constatada nos tratamentos 6 e 7. PAULA (1992) em trabalho com batata doce constatou semelhante resultado, onde plantas micorrizadas conjuntamente com a inoculação de diazotróficas mostravam uma quantidade de potássio nas raízes semelhante estatisticamente à testemunha.

Os tratamentos 3 (isolados de palmeiras); 4 (estirpes padrões) e 9 (estirpes padrões + isolados de palmeiras), apresentaram um conteúdo de K nas raízes estatisticamente semelhantes à testemunha. Resultado semelhante foi verificado por MATOS (1992), onde a autora constatou em batata inglesa que a inoculação de *Azospirillum brasilense* ou a inoculação de *Acetobacter diazotrophicus* individualmente não promoveu aumentos no conteúdo de K nas raízes desta planta em relação à testemunha como também por SILVEIRA (1992), onde a autora observou que plantas de soja e de alfafa micorrizadas apresentavam uma quantidade de potássio estatisticamente igual à testemunha.

Para o parâmetro Potássio total na parte aérea em mudas de dendezeiro após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 34), verificou-se mais uma vez o elevado desempenho do tratamento nitrogenado micorrizado (T8) em relação aos demais tratamentos. Este foi o único tratamento que expressou um comportamento estatisticamente superior a todos os demais tratamentos impostos, compreendendo a testemunha.

É notório destacar que a diferença deste tratamento em relação ao tratamento nitrogenado com ausência dos fungos micorrízicos arbusculares era de 173,92%, resultado este que está

relacionado com o fato da fertilização nitrogenada contribuir para uma melhoria no conteúdo de potássio no tecido da parte aérea da planta (sinergismo na planta entre N x K), como foi relatado por GOMES (1967), em milho, onde o tratamento que tinha as plantas fertilizadas com N-mineral proporcionaram uma melhoria na absorção de potássio pelas plantas em 62 %; como também por COIC & LESAINT (1971), onde a adubação nitrogenada na forma amoniacal favoreceu a absorção de cátions como o potássio e por USERWOOD (1982).

Para o parâmetro porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por FMA após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (Figura 35) verificou-se que não havia diferenças significativas entre os tratamentos que tinham os fungos micorrízicos arbusculares (T 5, T 6, T 7 e T 8), e que estes apresentavam uma colonização micorrízica estatisticamente superior à testemunha (T1) e aos demais tratamentos não micorrizados (T 2, T 3, T 4 e T 9). Cabe salientar também que houve dificuldade de encontrar raízes finas, pois foi observado que no sistema radicular desta palmeira nesta fase da sua fenologia (9 meses de idade) predominava raízes mais grossas do que as requeridas para avaliar a colonização micorrízica. SUDO, et al., (1996), em trabalho com mudas da palmeira pupunha micorrizadas, também relataram a mesma dificuldade de encontrar raízes finas para o mensuramento da colonização micorrízica.

A porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por FMA foi de 16,87% no tratamento 5 (*Scutellospora gregaria* + *Scutellospora heterogama* + *Glomus clarum*), de 16,97% no tratamento 6 (as três espécies de FMA utilizadas associadas às bactérias diazotróficas isoladas de palmeiras), de 15,82% no tratamento 7 (as três espécies de FMA associadas as bactérias diazotróficas estirpes padrões) e de 15,29% no tratamento micorrizado com as três espécies de FMA utilizadas no ensaio associadas ao N-mineral (T8).

Embora porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por FMA não fosse muito elevada, isto não desencadeou entraves sérios para que as mudas de dendezeiro respondesse positivamente a micorrização, pois como foi observado nos parâmetros anteriormente discutidos nenhum tratamento que tinham os FMA foi estatisticamente inferior à testemunha e para alguns parâmetros os tratamentos micorrizados conseguiam ser estatisticamente superiores à testemunha. O tratamento micorrizado nitrogenado (T8), por exemplo, conseguia ser superior à testemunha em todos os parâmetros (com exceção apenas do diâmetro com 90 DAI, onde o mesmo era estatisticamente similar).

Os tratamentos 5, 6 e 7 apresentavam na maioria dos parâmetros um comportamento estatisticamente igual à testemunha e nunca inferior a esta, como também estatisticamente superiores à testemunha no parâmetro Fósforo total incorporado na parte aérea (Figura 32), parâmetro este que reporta muito bem se houve ou não uma influência da micorrização para uma resposta positiva da planta, pois, como já foi enfocado anteriormente estes fungos atuam na melhoria da nutrição fosfática das plantas micorrizadas em relação as não micorrizadas. SAGGIN JUNIOR et al., (1995), objetivando estudar a colonização micorrízica em mudas de cafeeiro por diferentes FMA, observaram também uma colonização micorrízica considerada de média a baixa (10,8%) com o *Glomus etunicatum*, entretanto este fato não foi considerado um entrave para que as mudas desta planta apresentassem uma melhoria no desenvolvimento das mudas de cafeeiro, evidenciado principalmente na melhoria da área foliar (característica esta, considerada muito importante para a qualidade das mudas).

Quanto as espécies de fungos micorrízicas utilizadas no ensaio não diferirem estatisticamente entre si em todos os tratamentos que tinham estes FMA fazendo parte, evidencia que o fato destes fungos estarem associados a ambos os grupos de diazotróficas (estirpes padrões ou isolados de palmeiras), ou quando estes fungos eram inoculados conjuntamente com a fertilização com N-

mineral (na forma de sulfato de amônio), a cada 25 dias não influenciou negativamente a colonização micorrízica dos tratamentos. Se isto fosse observado o tratamento micorrizado apenas (tratamento 5), expressaria uma colonização micorrízica superior aos demais tratamentos que tinham o FMA (T 6, T 7 e T 8), fato este não observado.

Quanto ao tratamento que tinha os fungos micorrízicos arbusculares associados ao N-mineral (T8), apresentarem uma colonização micorrízica estatisticamente semelhante ao tratamento que era apenas micorrizado (T5), resultado semelhante foi também obtido por PEREIRA et al., (1996). Estes autores em trabalho com diferentes mudas de espécies arbóreas, constataram que na espécie Fedegoso (*Senna mancranthera*), o tratamento que era micorrizado com *Glomus etunicatum* + *Gigaspora margarita* conjuntamente com a fertilização de nitrogênio sob a forma amoniacal também apresentava uma colonização micorrízica estatisticamente similar a quando a planta era apenas micorrizada com estas duas espécies de FMA na ausência do N-mineral. CHAMBERS et al., (1980); BAATH & SPOKES (1989) e VAAST & ZAROSKI (1992), destacaram que a colonização das raízes pelos fungos micorrízicos arbusculares é reduzida na presença da fertilização nitrogenada sob a forma de amônio. O que não aconteceu, neste ensaio específico.

EL-RAHEEM et al., (1989), como também BAGYARAJ & MENGE (1978), relataram que a inoculação de bactérias diazotróficas, contribuiu para uma melhoria na colonização micorrízica quando estes dois microrganismos são inoculados conjuntamente. Estes autores atribuíram este efeito estimulatório a liberação de ácidos orgânicos (ácido málico e cítrico), pelas bactérias diazotróficas, que estimulariam o crescimento do FMA, como também o uso de polifenóis excretados pelo fungo e metabolizados pelas bactérias que permitiriam um aumento no crescimento do fungo micorrízico, aumentando assim a sua colonização.

MATOS (1995), evidenciou que a colonização micorrízica de batata inglesa do tratamento que tinha o *Glomus clarum* + *Glomus etunicatum* + *Glomus manihotis* + *Gigaspora margarita*

era estatisticamente igual a quando a mistura destes fungos micorrízicos arbusculares era inoculada conjuntamente com *Azospirillum brasilense* ou ainda quando a mistura de FMA era inoculada conjuntamente com a espécie de diazotrófica *Acetobacter diazotrophicus*.

Os fungos micorrízicos arbusculares utilizados no ensaio com o dendezeiro foram oriundos de outras culturas, que não eram Palmeiras. Talvez se fossem utilizados fungos micorrizicos arbusculares, oriundos da própria rizosfera de palmeiras os resultados referentes a colonização micorrízica poderiam ser mais elevados. Com relação a este fato, houve uma tentativa de utilização dos fungos micorrízicos arbusculares extraídos da rizosfera de palmeiras nativas na região de Una-BA, em ambos os ensaios, mas no entanto, os fungos não tiveram uma multiplicação satisfatória. Assim como o tempo era relativamente curto para implantar ensaios envolvendo mudas de dendezeiro, utilizou-se os fungos da coleção da *Embrapa Agrobiologia*, que apresentavam um elevado grau de pureza (*Scutellospora gregaria*; *Scutellospora heterogama* e o *Glomus clarum*).

É notório destacar também que tanto no experimento com mudas de dendezeiro (Ensaio 2), como no experimento com mudas de pupunheira (Ensaio 1), os resultados relacionados com a colonização micorrízica não foram muito diferentes. Em ambos os ensaios as mudas destas palmeiras expressavam uma colonização de média a baixa.

Para o parâmetro número total de esporos de *Glomus clarum*, *Scutellospora heterogama* e *Scutellospora gregaria* por 50 ml de substrato de rizosfera em mudas de Dendezeiro, 270 dias após a inoculação de Bactérias Diazotróficas e Fungos Micorrízicos Arbusculares (Figura 36), verificou-se que todos os tratamentos micorrizados (T5, T6, T7 e T8) apresentavam-se estatisticamente superiores aos tratamentos não micorrizados, e que entre os tratamentos micorrizados não havia diferenças estatísticas. Os tratamentos micorrizados (5, 6, 7 e 8) possuíam um número de esporos superior a 400 esporos por 50 ml de substrato de rizosfera. Entre os

tratamentos não micorrizados não havia diferenças estatísticas, sendo que o número de esporos encontrado nestes tratamentos era muito pequeno. Fica descartada a hipótese de contaminação pelo escorrimento da água de irrigação de uma parcela com tratamento micorrizado para uma parcela não micorrizada, pois utilizou-se pratos na base das sacolas para evitar o desempenho satisfatório do ensaio.

EL-RAHEEM et al., (1989) e BAGYARAJ & MENGE (1978), salientaram que a inoculação conjunta de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares proporcionou um incremento na esporulação de fungos micorrízicos arbusculares, efeito positivo este atribuído pelos autores à presença das diazotróficas. No experimento com mudas de dendezeiro este fato não foi observado. Tanto o tratamento 6 (Isolados de palmeiras + FMA), como também o tratamento 7 (Estirpes Padrões + FMA), apresentavam um número total de esporos estatisticamente igual ao tratamento que tinham as plantas inoculadas com os fungos micorrízicos arbusculares com a ausência das diazotróficas.

CARDOSO et al., (1986), como também PEREIRA et al., (1996), relataram que o nitrogênio aplicado na forma de amônio reduziu a esporulação como também a colonização de fungos micorrízicos arbusculares. No caso específico deste ensaio com mudas de dendezeiro, verificou-se que o N-mineral não causou qualquer efeito negativo tanto na esporulação, como também na colonização micorrízica (como já foi mencionado anteriormente).

Para o parâmetro número total de esporos da espécie *Glomus clarum*, por 50 ml de substrato de rizosfera em mudas de Dendezeiro, 270 dias após a inoculação de Bactérias Diazotróficas e Fungos Micorrízicos Arbusculares (Figura 37); os resultados mostraram que todos os tratamentos micorrizados (5, 6, 7 e 8), com esta espécie de FMA foram iguais entre si e superiores aos tratamentos não micorrizados. Com relação ao parâmetro número total de esporos da espécie *Scutellopora heterogama*, por 50 ml de substrato de rizosfera (Figura 38); os resultados

evidenciaram que entre os tratamentos micorrizados não havia diferenças estatísticas. Estes tratamentos eram superiores estatisticamente aos tratamentos não micorrizados. Com relação ao número total de esporos de esporos da espécie *Scutellospora gregaria*, por 50 ml de substrato de rizosfera, (Figura 39); os resultados evidenciaram que entre os tratamentos micorrizados (5, 6, 7 e 8), não havia diferenças significativas. Os tratamentos micorrizados foram estatisticamente superiores aos tratamentos não micorrizados. Para o parâmetro número total de esporos no tratamento 5 (FMA sem inoculação de bactérias diazotróficas) de *Glomus clarum*, *Scutellospora heterogama* e *Scutellospora gregaria* por 50 ml de substrato de rizosfera em mudas de Dendezeiro, 270 dias após a inoculação de Bactérias Diazotróficas e Fungos Micorrízicos Arbusculares (Figura 40); os resultados mostraram que não houve diferenças estatísticas no número de esporos as espécies em questão.

No tratamento 6 (FMA inoculados com isolados de palmeiras) de *Glomus clarum*, *Scutellospora heterogama* e *Scutellospora gregaria* por 50 ml de substrato de rizosfera em mudas de Dendezeiro, 270 dias após a inoculação de Bactérias Diazotróficas e Fungos Micorrízicos Arbusculares (Figura 41), os resultados mostraram que não houve variação estatística no número de esporos entre estas espécies de fungos micorrízicos arbusculares .

Para o parâmetro número total de esporos no tratamento 7 (FMA inoculados com isolados padrões de bactérias diazotróficas) de *Glomus clarum*, *Scutellospora heterogama* e *Scutellospora gregaria* por 50 ml de substrato de rizosfera em mudas de Dendezeiro, 270 dias após a inoculação de Bactérias Diazotróficas e Fungos Micorrízicos Arbusculares (Figura 42), os resultados mostraram que o número de esporos da espécie *Glomus clarum*, embora não diferenciasse estatisticamente do número de esporos da espécie *Scutellospora heterogama* , apresentava um superioridade estatística em relação ao número de esporos da espécie *Scutellospora gregaria*. Com relação ao número de esporos da espécie *Scutellospora*

heterogama, os resultados mostram que o mesmo não diferenciava estatisticamente do número de esporos do *Glomus clarum* e do número de esporos da espécie do *Scutellospora gregaria*. Provavelmente as diazotróficas contribuíram positivamente para a esporulação desta espécie em relação as demais espécies, mas, no entanto, este fato não contribuiu para que este tratamento apresentasse um número estatisticamente superior deste esporo em relação aos tratamentos 5 , 6 e 8.

Para o parâmetro número total de esporos no tratamento 8 (FMA + N- mineral sem inoculação de bactérias diazotróficas) de *Glomus clarum*, *Scutellospora heterogama* e *Scutellospora gregaria* por 50 ml de substrato de rizosfera em mudas de Dendzeiro, 270 dias após a inoculação de Bactérias Diazotróficas e Fungos Micorrízicos Arbusculares (Figura 43), os resultados mostraram que o número de esporos da espécie *Glomus clarum* foi estatisticamente superior ao número de esporos da espécie *Scutellospora heterogama* e de esporos da espécie *Scutellospora gregaria*. Com relação ao número de esporos das duas últimas espécies citadas anteriormente, estes eram iguais entre si. Provavelmente o *Glomus clarum* é menos vulnerável a presença do nitrogênio na forma amoniacal do que as demais espécies de fungos micorrízicos arbusculares utilizadas no ensaio. Entretanto este fato não contribuiu para que o tratamento micorrizado nitrogenado (T8), apresentasse um número superior estatisticamente do esporo desta espécie em relação aos demais tratamentos micorrizados (T 5, T 6 e T 7).

Para o parâmetro população total de bactérias diazotróficas nas raízes de mudas de dendzeiro após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e FMA (Figura 44), verificou-se que a testemunha apresentava uma população de diazotróficas de $8,39 \times 10^5$ células por g de raízes frescas, com presença de bactérias fixadoras de nitrogênio predominando principalmente nos meios JNFb (meio típico de *Herbaspirillum* sp) e NFb (meio típico de *Azospirillum* spp). Dentre os 9 tratamentos impostos a testemunha era o único que apresentava uma

população de diazotróficas estatisticamente superior a todos os demais tratamentos (incluindo os tratamentos que eram inoculados com as diazotróficas, como os tratamentos 3, 4, 6, 7 e 9). Este resultado pode ser justificado pela presença de bactérias diazotróficas pré existentes nesta parte da planta. No experimento com a pupunheira (Ensaio 1), também foi observado este fato, embora com uma população menor ($1,36 \times 10^3$ células por g de raízes frescas), o que provavelmente pode estar relacionado com as diazotróficas estarem presentes no endosperma das sementes. Com a germinação estas passariam a colonizar as raízes da planta.

Quando realizou-se a quantificação de bactérias diazotróficas no mesocarpo do fruto, como também no endosperma da semente dos genótipos de dendezeiro Dura, Dupey e Tenera, oriundos da CEPLAC- Bahia, foi constatado crescimento de diazotróficas nos meios (JNFb, LGI, JMV e NFb), tanto no endosperma, como também no mesocarpo das sementes. A população menor foi de $1,2 \times 10^2$ células por g de mesocarpo fresco oriundo do genótipo Dura no meio NFb (meio típico de *Azospirillum* spp, com exceção apenas do *A. amazonense*) e uma população máxima de $4,5 \times 10^4$ células por g de mesocarpo fresco oriundo do genótipo Dupey no meio JMV (meio típico de *Burkholderia* sp). No endosperma de sementes de dendezeiro oriundo do genótipo Dupey (genótipo este utilizado neste ensaio específico com o dendezeiro), observou-se uma população máxima de $4,5 \times 10^4$ células por g de endosperma fresco, como predomínio no meio JMV (meio típico de *Burkholderia* sp) e uma população mínima de $4,5 \times 10^2$ células por g de endosperma fresco no meio LGI. Um fator que poderia justificar esta elevada presença das diazotróficas também pode estar relacionado com ausência de competição desta população de diazotróficos pré existentes com outros grupos de diazotróficas. Não tendo outras bactérias diazotróficas para competir por fotossintatos, estas bactérias tenderiam a expressar uma população superior estatisticamente aos demais tratamentos. Outro fato que é notório destacar é o fato das plantas que faziam parte da testemunha (T1), embora apresentassem uma quantidade estatisticamente superior

de diazotróficas em relação aos demais tratamentos nesta parte da planta, estas não contribuíram para que plantas pertencentes à testemunha tivessem um comportamento satisfatório.

A testemunha na grande maioria dos parâmetros analisados tinha o pior desempenho. Isto pode ser justificado pela baixa eficiência destas bactérias. Como foi observado anteriormente quando se inoculava conjuntamente bactérias diazotróficas estirpes padrões + isolados de palmeiras (T 9), este tratamento contribuiu para a melhoria de área foliar (Figura 26), conteúdo total de nitrogênio total nas raízes (Figura 29), peso de parte aérea seca (Figura 28) e diâmetro e altura das mudas de dendezeiro 270 dias após a inoculação (Figuras 24 e 25).

Os tratamentos 2 (N-mineral), 5 (fungos micorrízicos arbusculares) e o tratamento 8 (N-mineral + FMA), também não foram inoculados, mas no entanto também apresentavam uma população de bactérias diazotróficas nesta parte da planta (sendo esta população inferior da que foi observada na testemunha). O tratamento micorrizado nitrogenado (T8), expressava a segunda maior população de diazotróficas, o tratamento nitrogenado sem os fungos micorrízicos arbusculares era o segundo tratamento com o menor número de diazotróficas e o tratamento micorrizado (T5), era o tratamento que tinha o menor número de diazotróficas em relação aos demais tratamentos impostos incluindo a testemunha. Observa-se que só pelo fato destas diazotróficas pré existentes terem a presença da fertilização nitrogenada ou ainda a presença dos fungos micorrízicos arbusculares associados ou não ao N-mineral, estes contribuíam para uma atenuação da população destas diazotróficas nativas.

O tratamento isolados de palmeiras com ausência de FMA (T 3), com uma população de diazotróficas de $2,82 \times 10^5$ células por g de raízes frescas e apresentando bactérias fixadoras de nitrogênio principalmente nos meios JNFb (*Herbaspirillum seropedicae*) e LGI (meio típico de *A.amazonense*) e o tratamento N-mineral + FMA (T 8), com $7,01 \times 10^5$ células por g de raízes frescas e apresentando bactérias fixadoras de nitrogênio principalmente nos meios JNFb e JMV,

não diferiram estatisticamente entre si . Os mesmos apresentaram um número total de bactérias diazotróficas só inferior estatisticamente à testemunha.

O tratamento estirpes padrões com ausência dos FMA (T4), apresentava uma população de bactérias diazotróficas de $5,77 \times 10^4$ células por g de raízes frescas e era constatado a presença de bactérias fixadoras de nitrogênio principalmente nos meios LGI e NFb. A respeito da população de bactérias diazotróficas no tratamento isolados de palmeiras + FMA (T 6), este continha $2,70 \times 10^4$ células por g de raízes frescas e apresentava bactérias fixadoras de nitrogênio principalmente no meio NFb. Quanto ao tratamento que tinha as estirpes padrões + FMA (T 7), este apresentava uma população de diazotróficas de $3,52 \times 10^4$ células por g de matéria fresca e era constatado a presença de bactérias fixadoras de nitrogênio principalmente no meio JNFb. A população destes tratamentos (T4, T6 e T7) não diferiram estatisticamente entre si e eram inferiores estatisticamente à testemunha.

Quanto ao tratamento N-mineral (T2), o mesmo apresentava uma população de bactérias diazotróficas de $6,25 \times 10^3$ células por g de raízes fresca e apresentava a presença de bactérias fixadoras de nitrogênio principalmente no meio NFb. Quanto ao tratamento estirpes padrões de palmeiras + isolados padrões (T9), este apresentava uma população de bactérias diazotróficas de $4,90 \times 10^3$ células por g de raízes frescas com presença de bactérias fixadoras de nitrogênio principalmente no meio JMV. Estes tratamentos (T 2 e T 9), não diferiram estatisticamente entre si e eram os que apresentavam o segundo menor número de bactérias diazotróficas, só expressando uma população de bactérias diazotróficas superiores estatisticamente ao tratamento micorrizado (T 5).

Quanto ao tratamento micorrizado apenas (T5), este apresentava uma população de diazotrófica de $5,77 \times 10^2$ células por g de matéria fresca. O mesmo mostrava presença de bactérias fixadoras de nitrogênio principalmente nos meios JNFB e NFb. Como foi mencionado

anteriormente este tratamento foi o que apresentou o menor número de bactérias diazotróficas nas raízes.

Quanto ao fato de se ter constatado a presença de bactérias diazotróficas crescendo em meios específicos para *Herbaspirillum seropedicae* (JNFb), para crescimento de *Azospirillum amazonense* (LGI), como também para o crescimento de *Azospirillum* spp (NFb) nos tratamentos que não foram inoculadas com as bactérias diazotróficas estirpes padrões ou isolados de palmeiras, como é o caso da testemunha e dos tratamentos 2, 5 e do tratamento 8. Este resultado parece ser semelhante ao que é relatado por FERREIRA et al., (1995), onde estes autores constataram a presença de bactérias diazotróficas das espécies *Azospirillum amazonense*, *A. brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* colonizando raízes de dendezeiro como também por SHAMUSDIN et al., (1995), onde estes autores constataram a presença de *Azospirillum* spp colonizando raízes de dendezeiro em diferentes solos da Malásia.

Quanto ao tratamento 3 (inoculado apenas com os isolados de palmeiras), foi observado que só houve crescimento de bactérias no meio JNFb e LGI, meios estes típicos para o crescimento de *Herbaspirillum* sp e de *Azospirillum amazonense* respectivamente (DOBEREINER et al., 1995). Dentre os isolados de palmeiras utilizados neste ensaio o *Herbaspirillum* sp era dois deles, quanto ao *A. amazonense* esta espécie não fazia parte dos isolados de palmeiras. O que evidencia que esta espécie é nativa das raízes desta palmeira. MAGALHÃES & DOBEREINER (1984), em raízes de pupunheira na Região Amazônica constataram a presença desta diazotrófica nesta palmeira. Quanto ao fato da presença de *Herbaspirillum* sp não temos maiores subsídios para afirmar se esta espécie era pré existente nas raízes das mudas de dendezeiro ou se esta espécie foi inoculada, já que dentre os isolados de palmeiras utilizados dois era desta espécie.

Quanto ao tratamento 4 (Estirpes Padrões com ausência de FMA), este apresentava crescimento de bactérias diazotróficas nos meios típicos de *Azospirillum* spp (NFb) e de *Azospirillum amazonense* (LGI), principalmente.

Quanto ao tratamento 6 (Isolados de Palmeiras + FMA), observou-se que houve predominância de crescimento no meio NFb. Este meio, segundo DOBEREINER et al., (1995), é específico para o crescimento de *Azospirillum* spp (exceto o *A. amazonense*). Dos três isolados de palmeiras utilizados um era *Azospirillum brasilense*, no entanto, não se pode afirmar que se trata do *Azospirillum brasilense*, inoculado, pois como já foi mencionado anteriormente em solos diferentes da Malásia, SHAMUSDIM et al., (1995) constataram a presença de *Azospirillum* spp, sem identificar a espécie que se tratava. Como não utilizou-se técnicas mais aprimoradas não temos maiores subsídios para afirmar cientificamente qual era a origem do *Azospirillum* spp constatado.

Quanto ao tratamento 7 (Estirpes Padrões + FMA), os resultados demonstraram que predominava crescimento de bactérias diazotróficas principalmente no meio JNFb, meio este típico de *Herbaspirillum seropedicae*. Dentre as estirpes padrões utilizadas neste tratamento, duas eram de *Herbaspirillum seropedicae*, mas no entanto, como já foi dito anteriormente outros autores também constataram a presença desta espécie de diazotróficas nesta parte desta palmeira. Como vem sendo mencionado anteriormente, não se pode afirmar se era o *Herbaspirillum* sp inoculado ou se era o *Herbaspirillum* sp pré existente.

Quanto ao fato do tratamento 9 (Estirpes padrões + Isolados de Palmeiras), apresentar crescimento principalmente no meio JMV (meio este típico de *Burkholderia* sp), não se tem relatos desta espécie de diazotrófica colonizando raízes de dendezeiro. Como esta espécie fazia parte de uma das estirpes padrões de bactérias diazotróficas utilizadas para a inoculação deste tratamento, este fato evidencia que esta espécie pode ter sido proveniente da inoculação.

Para o parâmetro população total de bactérias diazotróficas em parte aérea de mudas de dendezeiro após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e FMA (Figura 45), verificou-se que com exceção do tratamento 4 (estirpes padrões + FMA), todos os tratamentos impostos apresentavam uma população de diazotróficas na parte aérea. Entretanto não existem relatos na literatura sobre a presença de diazotróficas na parte aérea de dendezeiro (tanto em mudas como também em idade adulta).

No levantamento e quantificação da população bacteriana realizada na CEPLAC-Bahia constatou-se a ausência também de diazotróficas nesta parte da planta (em todos os meios utilizados LGI, NFb e JNFb), fato este observado tanto no genótipo de dendezeiro Dupey, como também no genótipo Dura e no genótipo Tenera. No ensaio de inoculação com a pupunheira (Ensaio 1), foi observado que apenas houve crescimento de diazotróficas nos tratamentos isolados de palmeira + *Glomus clarum* e na testemunha, os demais tratamentos impostos não foi observado a presença de diazotróficas.

Com relação aos tratamentos que foram inoculados (T 3, T 4, T 6, T 7 e o tratamento 9), apenas o tratamento 4 não evidenciou presença de diazotróficas nesta parte da planta (Figura 45). O tratamento 9 (estirpes padrões + isolados de palmeiras), era, dentre estes tratamentos citados anteriormente o que evidenciava a maior população de diazotróficas, sendo estatisticamente superior à testemunha e aos demais tratamentos impostos. O tratamento 6 (isolados de palmeiras + FMA), apresentava a terceira maior população de diazotróficas, só sendo inferior ao tratamento 9 e à testemunha. O tratamento 7 (estirpes padrões + FMA), era o que expressava o quarto maior número de diazotróficas. Em relação ao tratamento 3 (isolados de palmeiras), este apresentava a sexta maior população de bactérias diazotróficas. Como se pode observar (com exceção apenas do T 4 que não evidenciava população de diazotróficas), a maioria dos tratamentos que tinham a

inoculação de bactérias diazotróficas, evidenciavam uma população de diazotróficas semelhante estatisticamente, como também superior aos tratamentos não inoculados.

A presença de diazotróficas na parte aérea nestes tratamentos inoculados evidencia apenas que estes tratamentos continham bactérias fixadoras de nitrogênio, mas, no entanto, não se pode fazer afirmações que estas diazotróficas eram provenientes das inoculações impostas realizadas no ensaio, pois, havia uma colonização pré-existente de diazotróficas na parte aérea dos tratamentos não inoculados, como é o caso da testemunha e dos tratamentos 2 (N-mineral); 5 (micorrizado) e do tratamento 8 (micorrizado nitrogenado). A confirmação da procedência destas bactérias diazotróficas encontradas só poderia se realizada a nível molecular com o uso de ácidos nucleicos destas bactérias reisoladas, através de experimentos de hibridização com sondas de oligonucleotídeos de acordo com a metodologia proposta por OELMULLER et al., (1990), ou através de testes imunológicos, metodologias estas que não foram utilizadas devido a escassez de tempo para tal operação. Sem estas técnicas todos os argumentos utilizados para afirmar de maneira precisa a qual diazotrófica se tratava seriam falhos.

O tratamento que foi inoculado com bactérias diazotróficas isoladas de palmeiras + estirpes padrões (T9), apresentava uma população de $1,42 \times 10^7$ células por g de parte aérea fresca e tinha presença de bactérias fixadoras de nitrogênio principalmente nos meios JNFb e NFb (Figura 45). Meios estes típicos de crescimento de *Herbaspirillum* sp e da bactéria diazotrófica *Azospirillum* spp. Este tratamento foi inoculado com ambas as espécies. Porém como foi mencionado anteriormente não se pode afirmar que foi a inoculação de estirpes padrões + isolados de palmeiras que proporcionou este fato. Este tratamento era o que apresentava o maior número de bactérias diazotróficas nesta parte da planta.

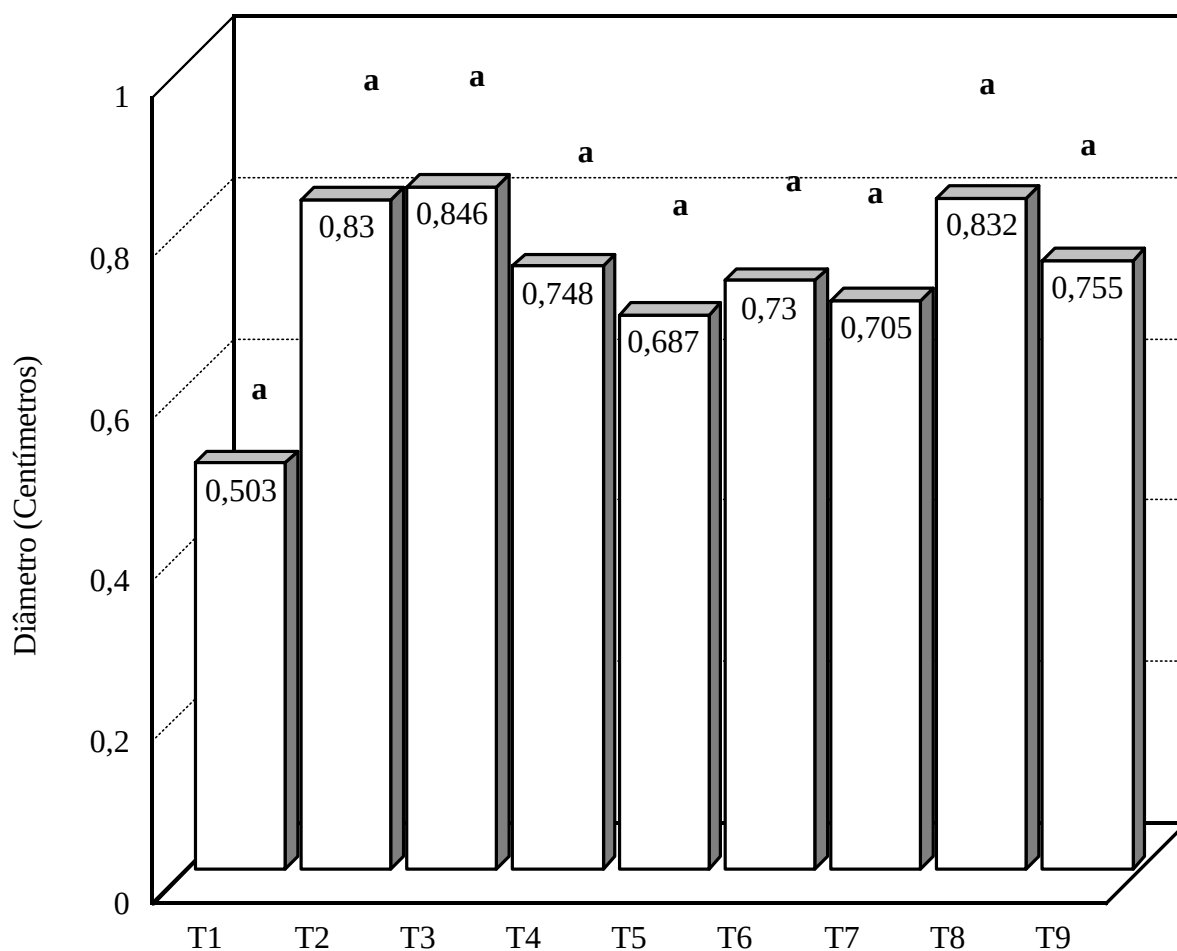
Observou-se que a testemunha (T1), continha uma população de diazotróficas de $2,96 \times 10^5$ células por g de parte aérea fresca e apresentava presença de bactérias fixadoras de nitrogênio

principalmente nos meios LGI e NFb. Meios estes típicos de crescimento de *Azospirillum amazonense* e *Azospirillum* spp respectivamente. A testemunha apresentava um número de diazotróficas nesta parte da planta em quantidades inferiores apenas ao tratamento 9 e superior a todos os tratamentos restantes.

O tratamento N-mineral (T2) apresentava uma população de bactérias diazotróficas de $5,25 \times 10^3$ células por g de parte aérea fresca e apresentava presença destas bactérias principalmente no meio JNFb. Meio este típico de crescimento de *Herbaspirillum* sp. Quanto ao tratamento isolados de palmeira com ausência dos fungos micorrízicos arbusculares (T3), este apresentava uma população de $1,50 \times 10^3$ células por g de parte aérea fresca e apresentava presença de bactérias fixadoras de nitrogênio principalmente nos meios JNFb, meio este típico de *Herbaspirillum* sp. Quanto ao tratamento isolados padrões + FMA (T 7), este apresentava uma população de $5,25 \times 10^3$ células por g de parte aérea fresca e continha a presença de bactérias fixadoras de nitrogênio principalmente no meio NFb, meio este típico de crescimento de *Azospirillum* spp. Quanto ao tratamento N-mineral + FMA (T 8), este apresentava uma população de $3,40 \times 10^3$ células por g de parte aérea fresca e apresentava presença de bactérias fixadoras de nitrogênio principalmente no meio NFb. Meio típico de *Azospirillum* spp.

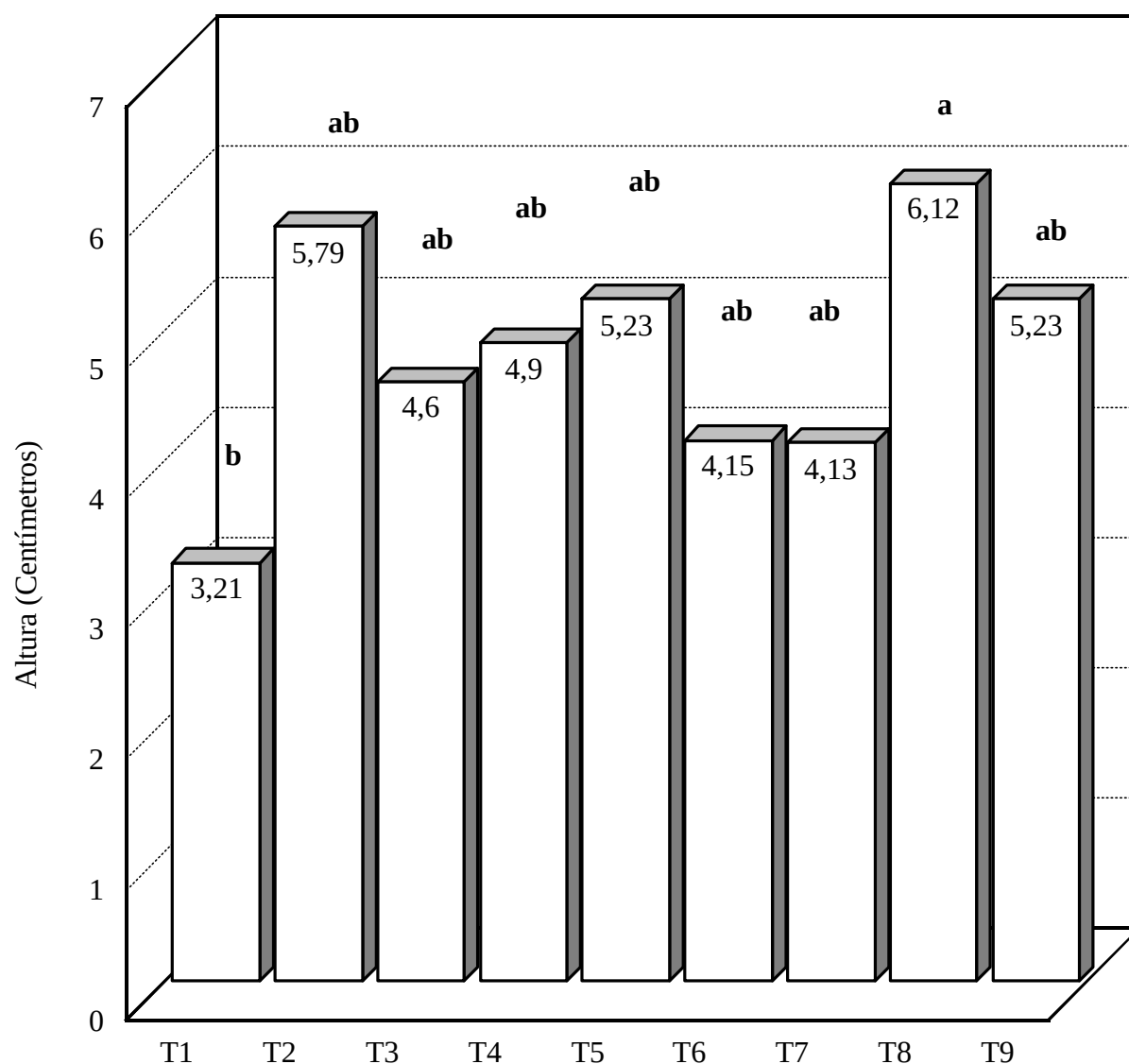
Entre os tratamento 3 , 7 e 8 não foi observado diferença significativa. A respeito do tratamento isolados padrões com ausência dos FMA, este não apresentava bactérias diazotróficas nesta parte da planta. O tratamento micorrizado (T5), tinha uma população de $4,00 \times 10^2$ células por g de parte aérea fresca e apresentava bactérias fixadoras de nitrogênio principalmente no meio JNFb, meio este típico de crescimento de *Herbaspirillum* sp. Este tratamento era estatisticamente semelhante ao tratamento isolados de palmeiras com ausência de fungos micorrízicos arbusculares. O tratamento micorrizado apresentava o segundo menor número de bactérias diazotróficas dos nove tratamentos avaliados no ensaio.

Fig 20. Diâmetro, medida à região do colo, em mudas de dendezeiro após 90 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e FMA



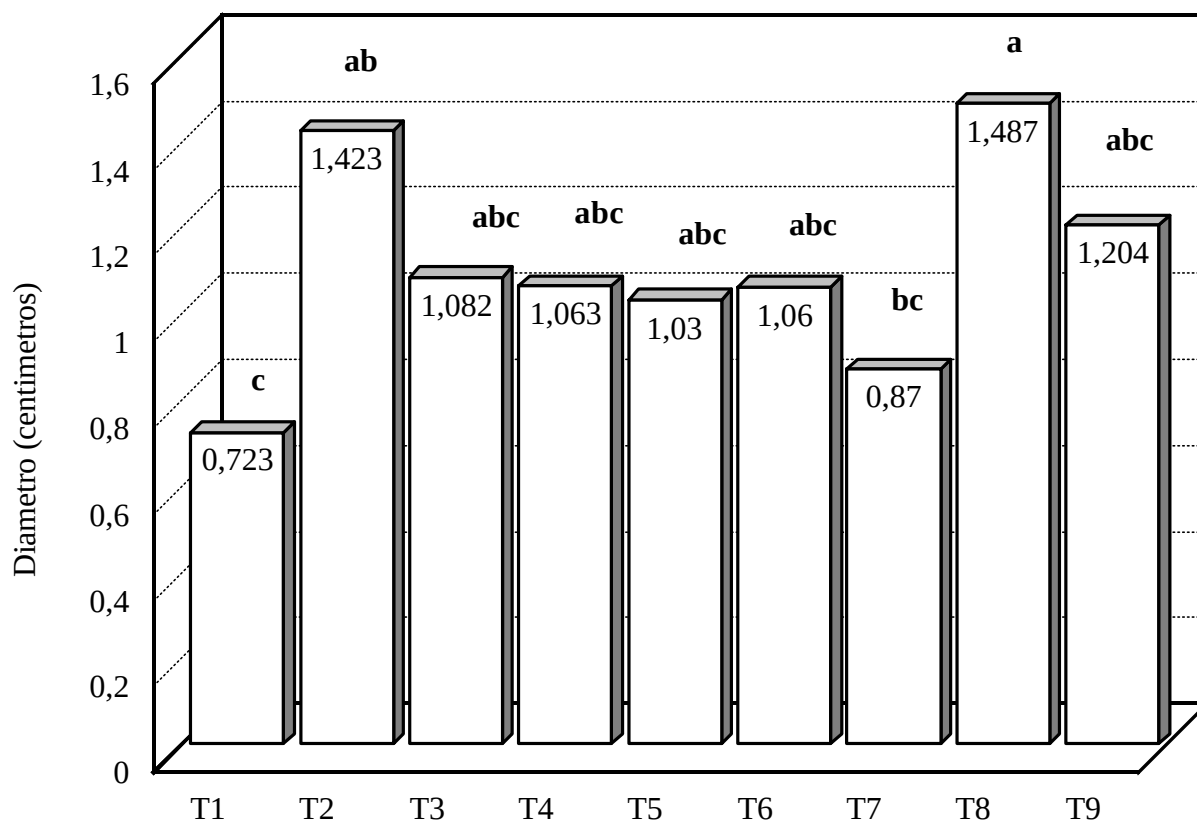
T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: Scutellospora gregaria + Scutellospora heterograma + Glomus clarum (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

Fig 21. Altura, medida do colo até a inserção da folha mais nova, após 90 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e FMA em mudas de dendezeiro



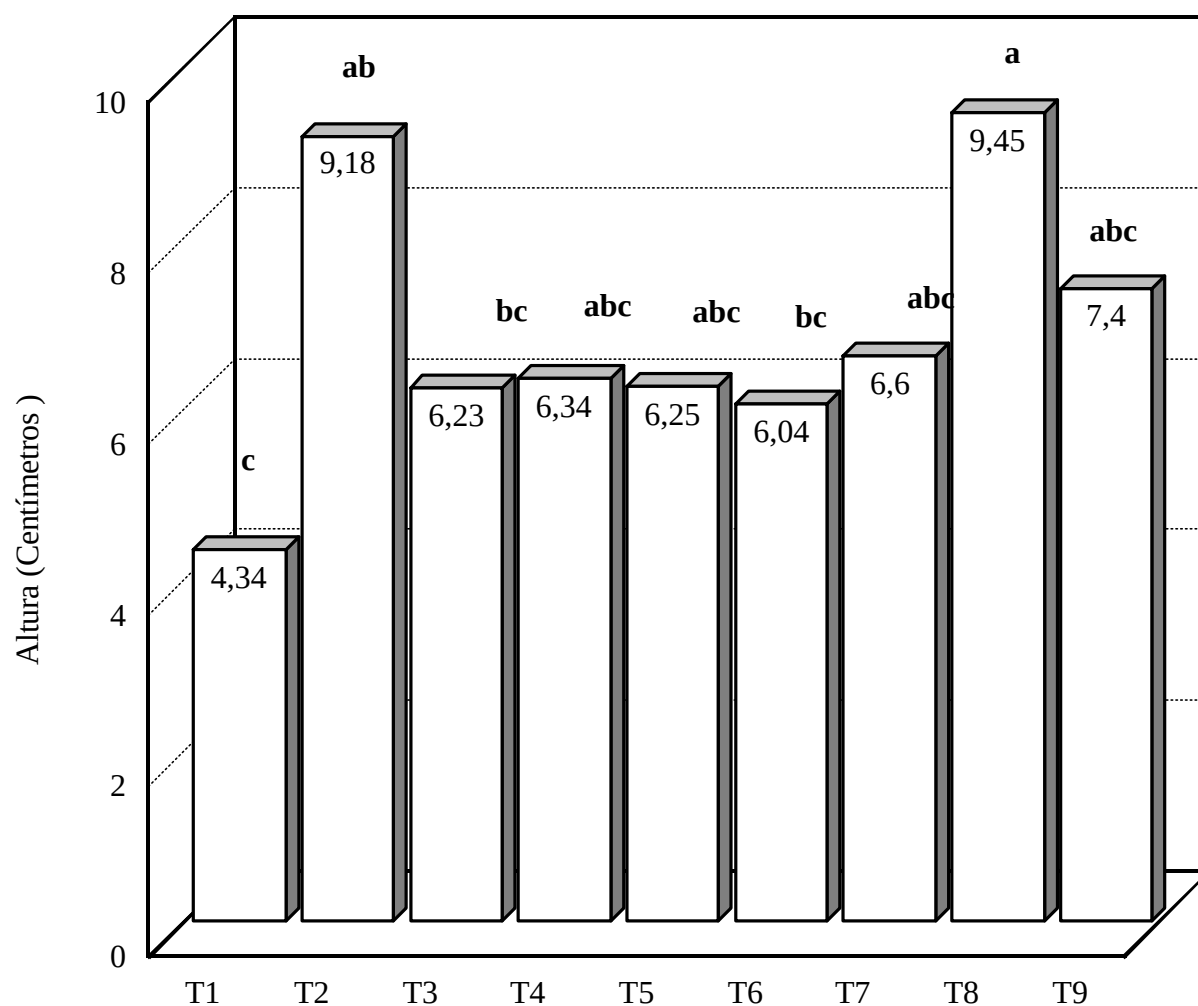
T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: Scutellospora gregaria + Scutellospora heterograma + Glomus clarum (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

Figura 22. Diâmetro do colo de mudas de dendezeiro 180 dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e Fungos Micorrízicos arbusculares.



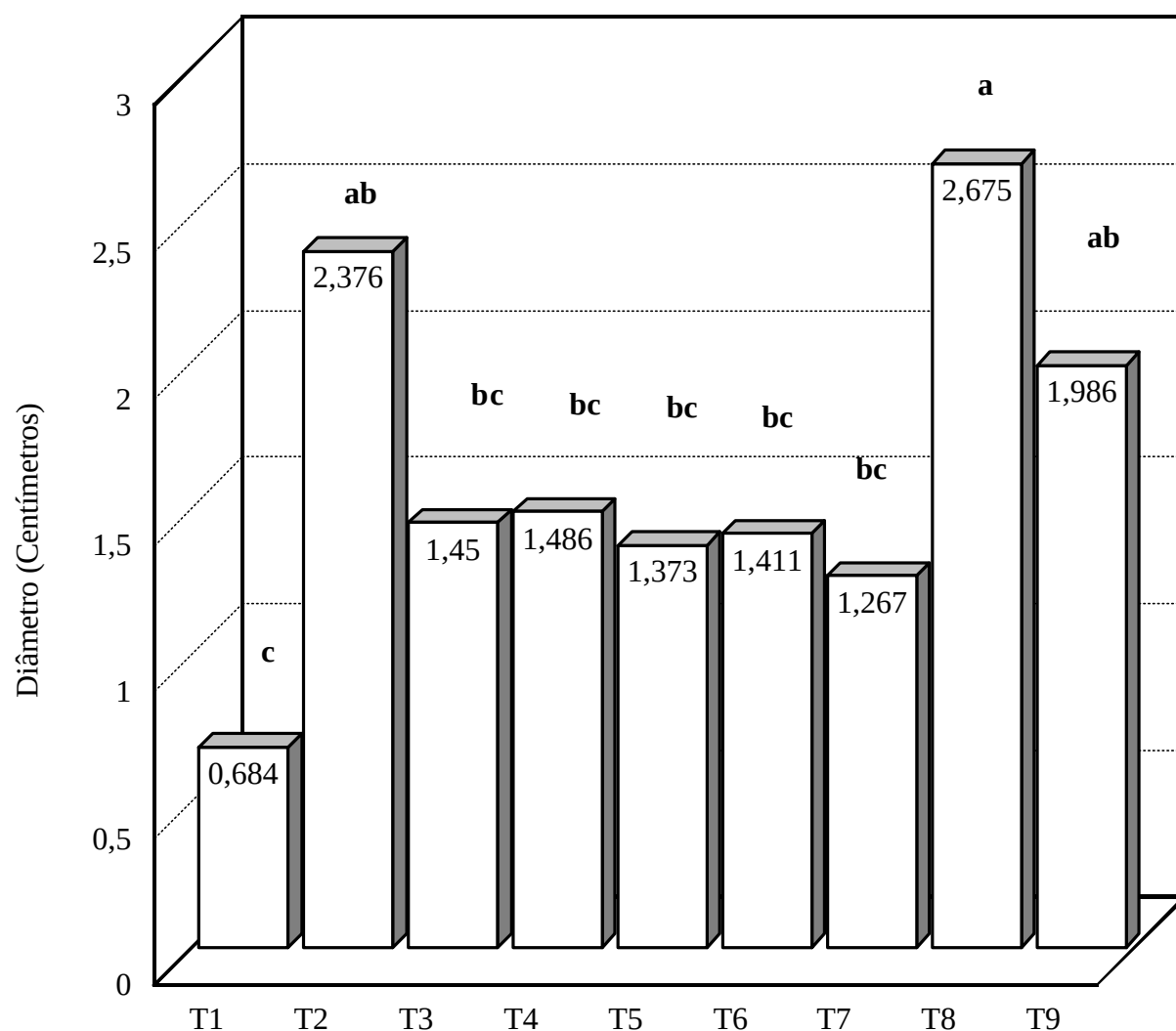
T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: Scutellospora gregaria + Scutellospora heterograma + Glomus clarum (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

Fig 23 .Altura ,medida do colo até a inserção da folha mais nova,em mudas de dendezeiro, após 180 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e FMA



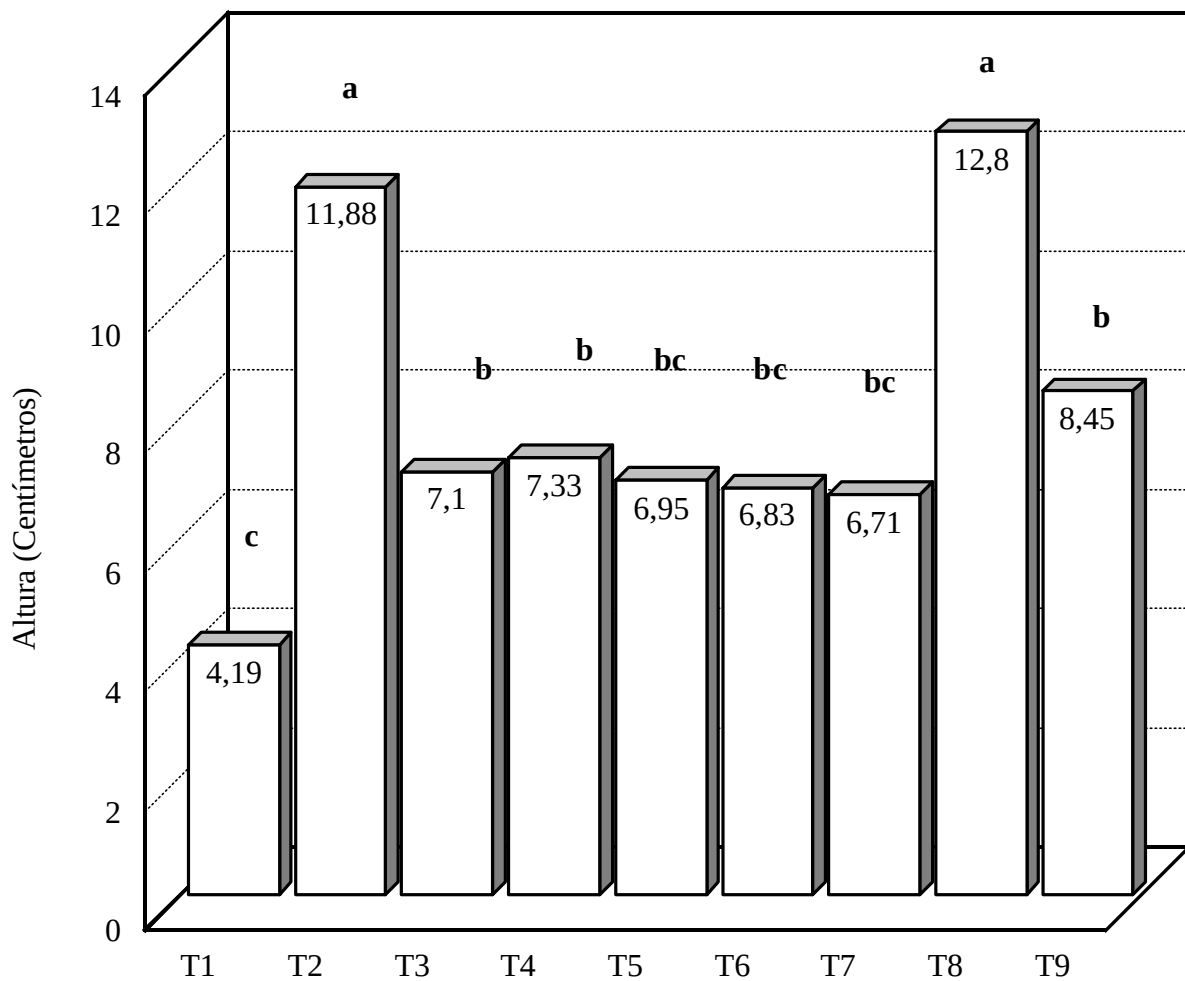
T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: Scutellospora gregaria + Scutellospora heterograma + Glomus clarum (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

Fig 24. Diâmetro, medido à região do colo, em mudas de dendezeiro após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e FMA



T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: Scutellospora gregaria + Scutellospora heterograma + Glomus clarum (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

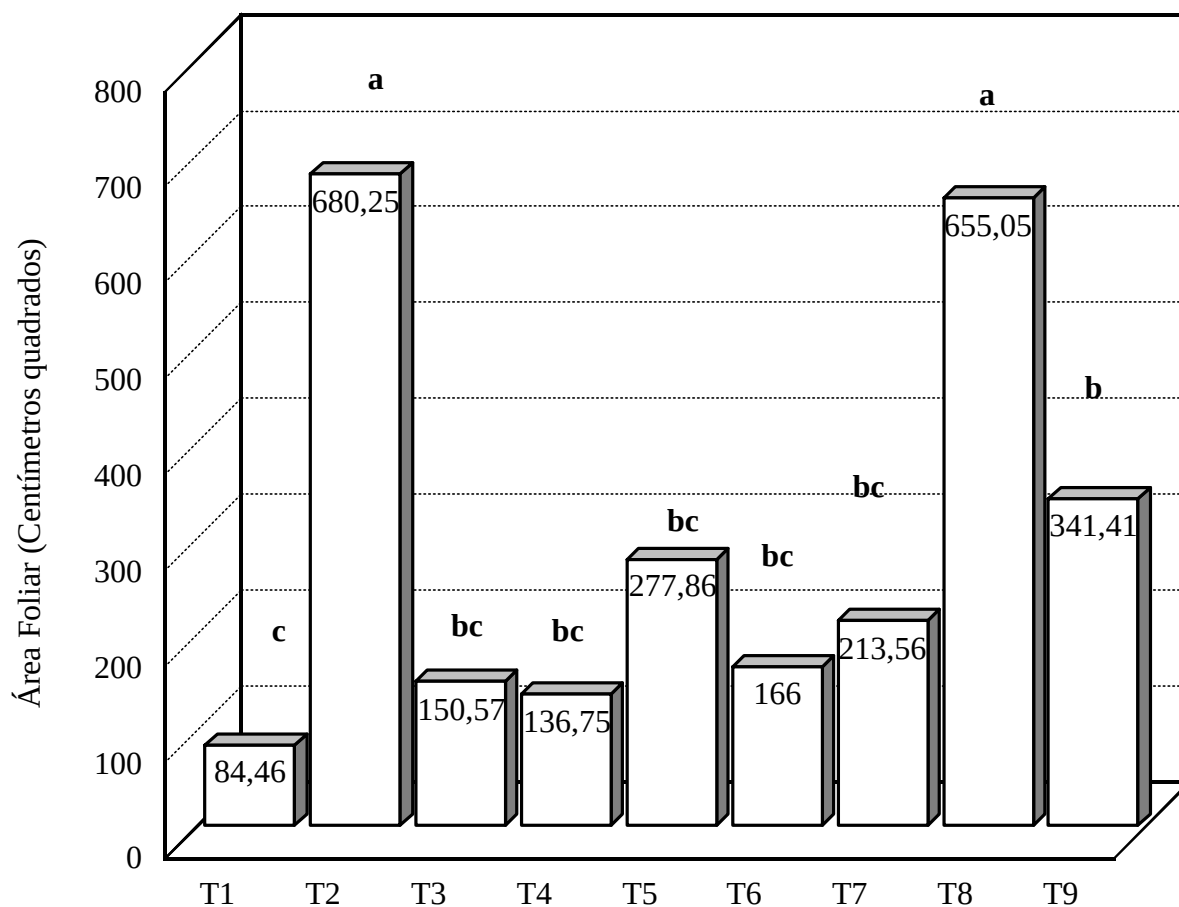
Fig 25. Altura, medida do colo até a inserção da folha mais nova, após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e FMA em mudas de dendezeiro.



T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: Scutellospora gregaria + Scutellospora heterograma + Glomus clarum (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

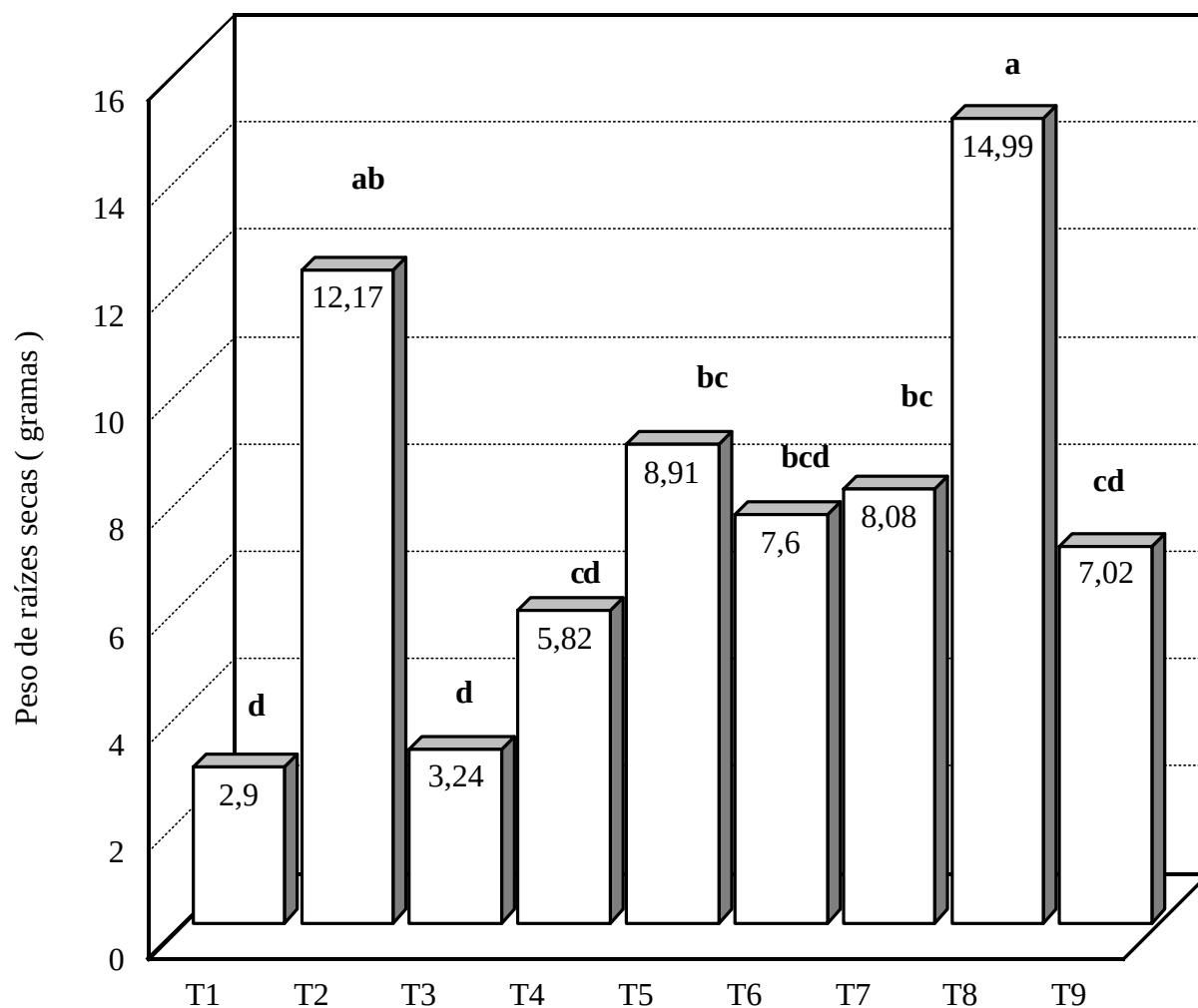
Fig 26.Área Foliar de mudas de dendezeiro após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares

(Leitura fotométrica em aparelho 3100 Area meter Li -Cor, Inc)



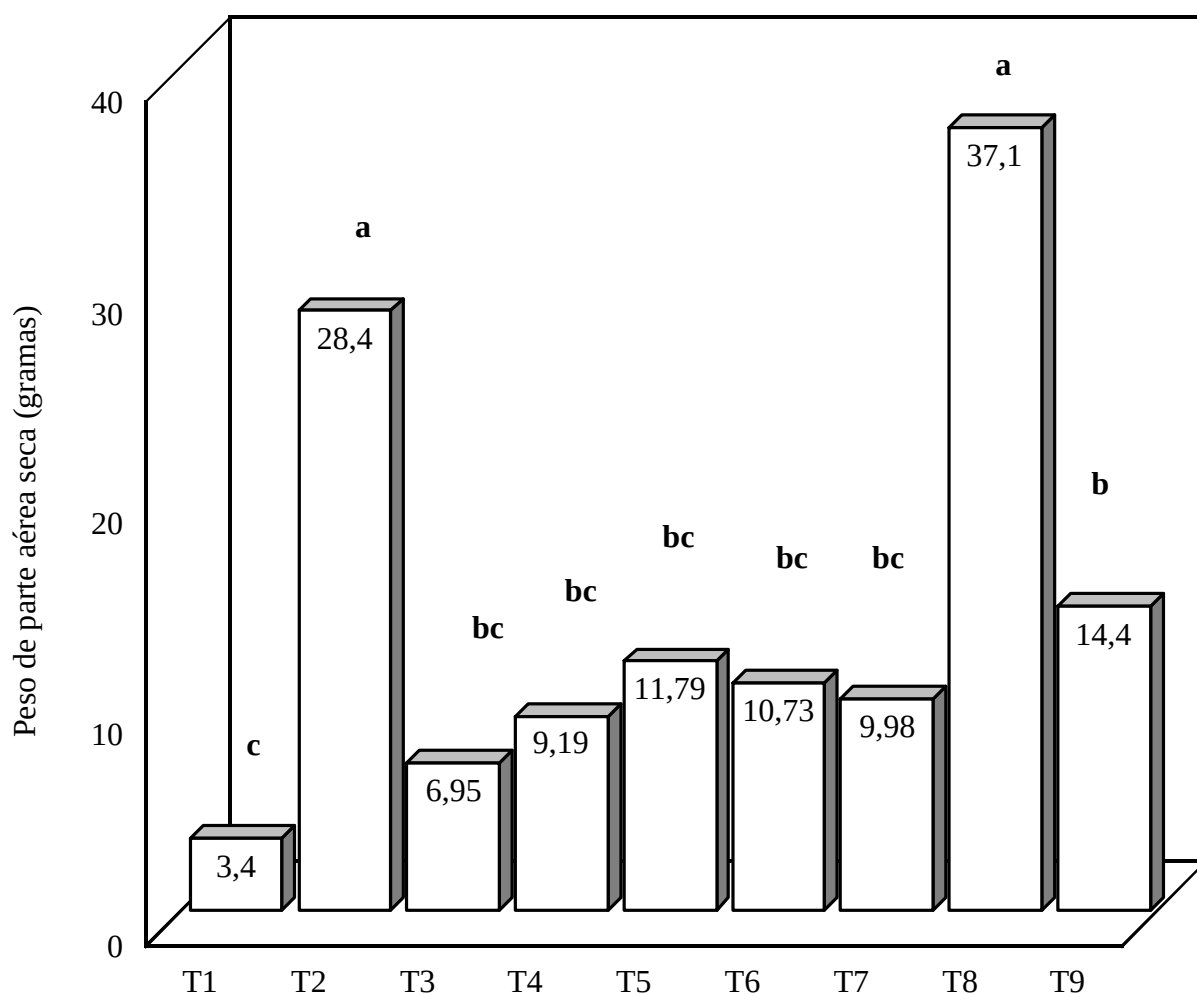
T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: *Scutellospora gregaria* + *Scutellospora heterograma* + *Glomus clarum* (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

Fig 27. **Peso das raízes secas de mudas de dendezeiro, após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e FMAs**



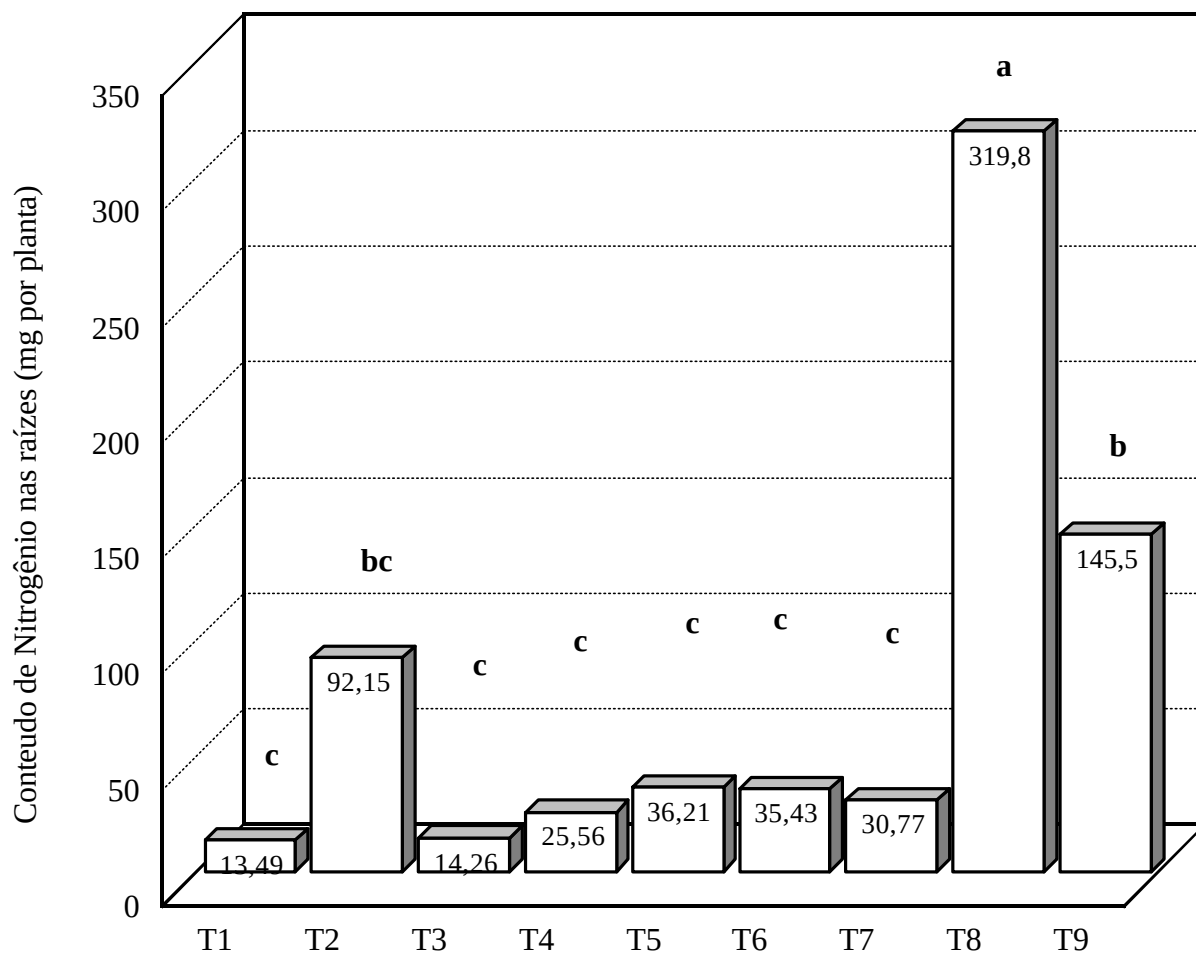
T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: Scutellospora gregaria + Scutellospora heterograma + Glomus clarum (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

Fig 28. Peso de **parte aérea seca de mudas de dendezeiro**, após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e FMA



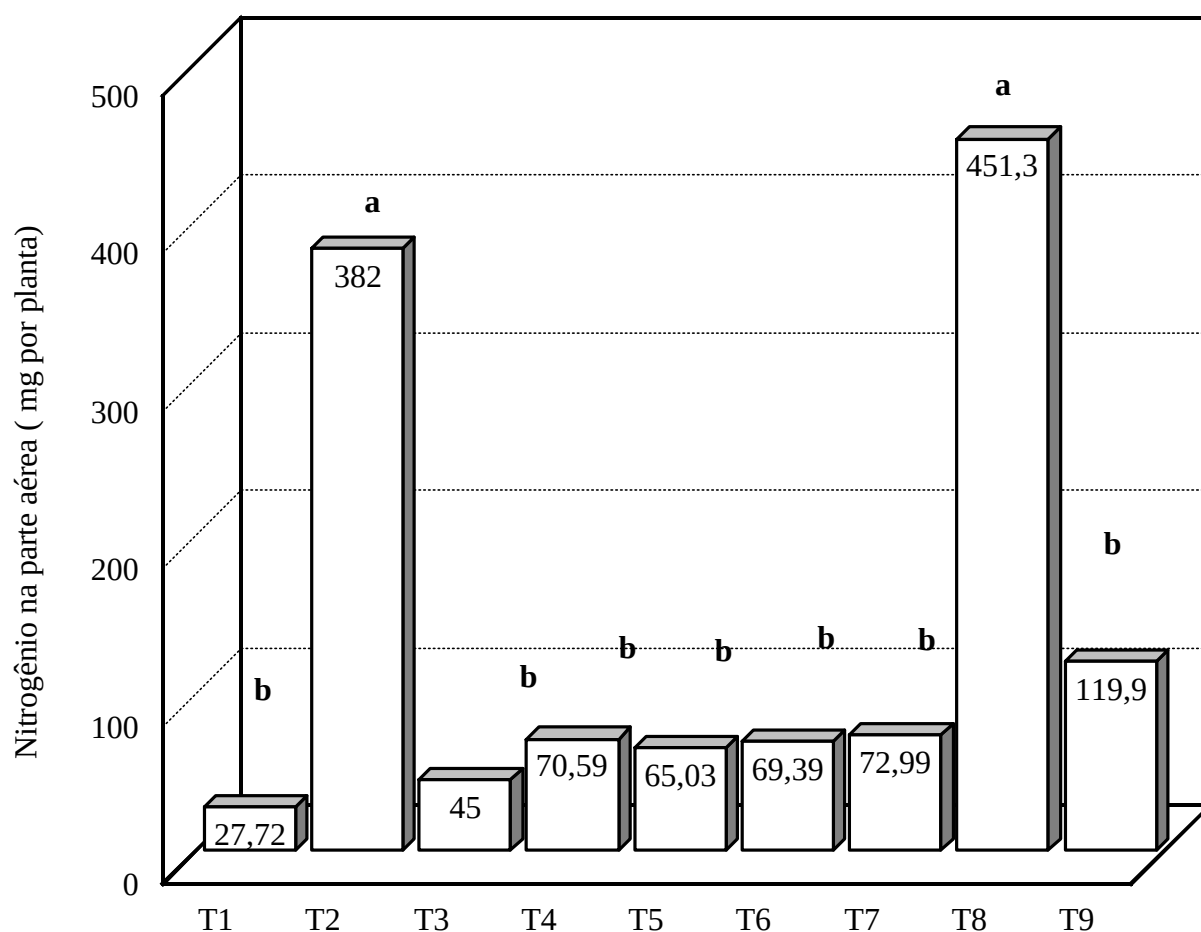
T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: Scutellospora gregaria + Scutellospora heterograma + Glomus clarum (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

Fig 29. **Nitrogênio total nas raízes de mudas de dendezeiro 270 dias após inoculação com bactérias diazotróficas e FMA .**



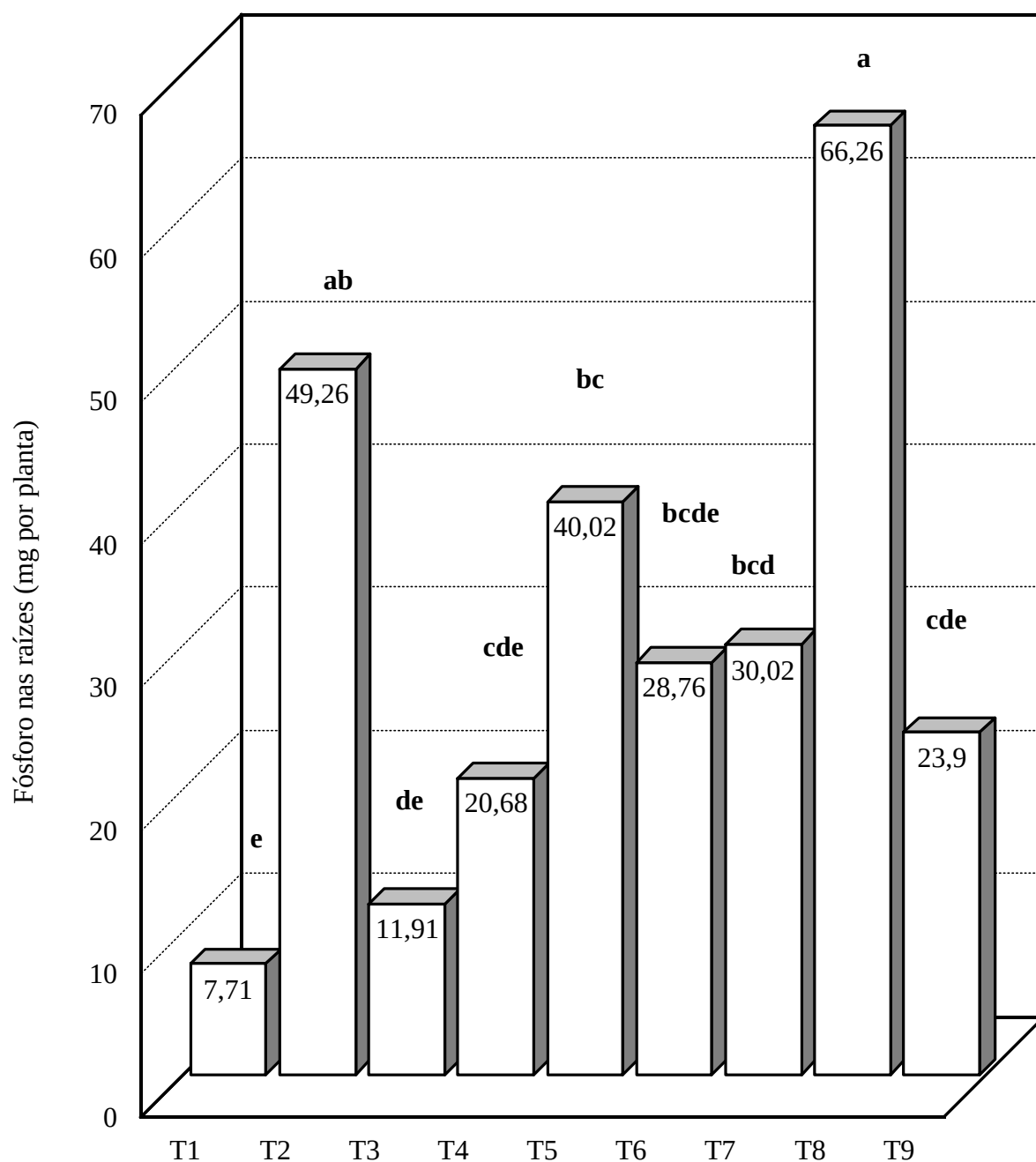
T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: *Scutellospora gregaria* + *Scutellospora heterogama* + *Glomus clarum* (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

Fig 30. Nitrogênio total na parte aérea de mudas de dendezeiro 270 dias após inoculação com bactérias diazotróficas e FMA .



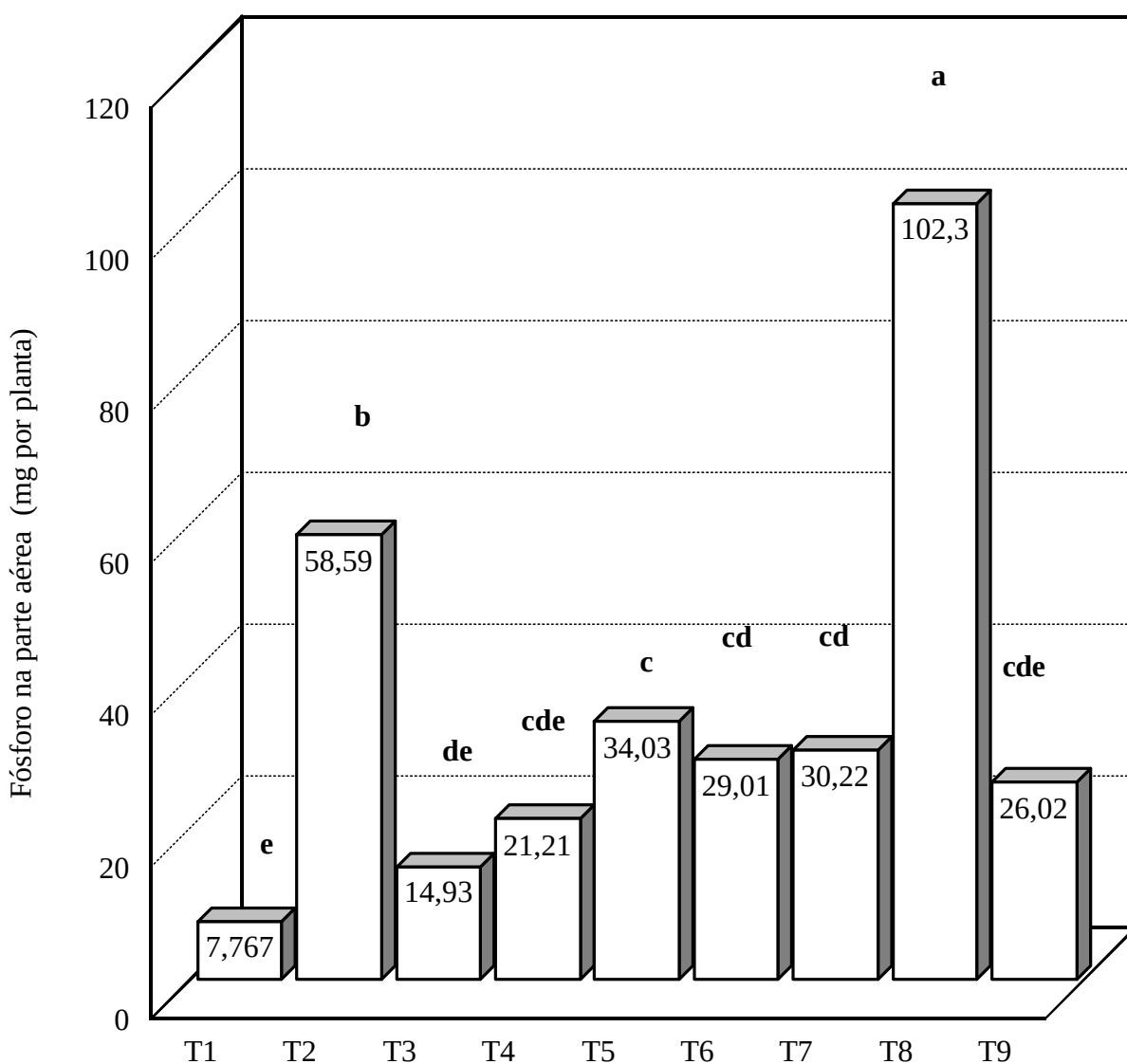
T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: Scutellospora gregaria + Scutellospora heterograma + Glomus clarum (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

Fig 31. Fósforo total nas raízes de mudas de dendezeiro, após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e FMA



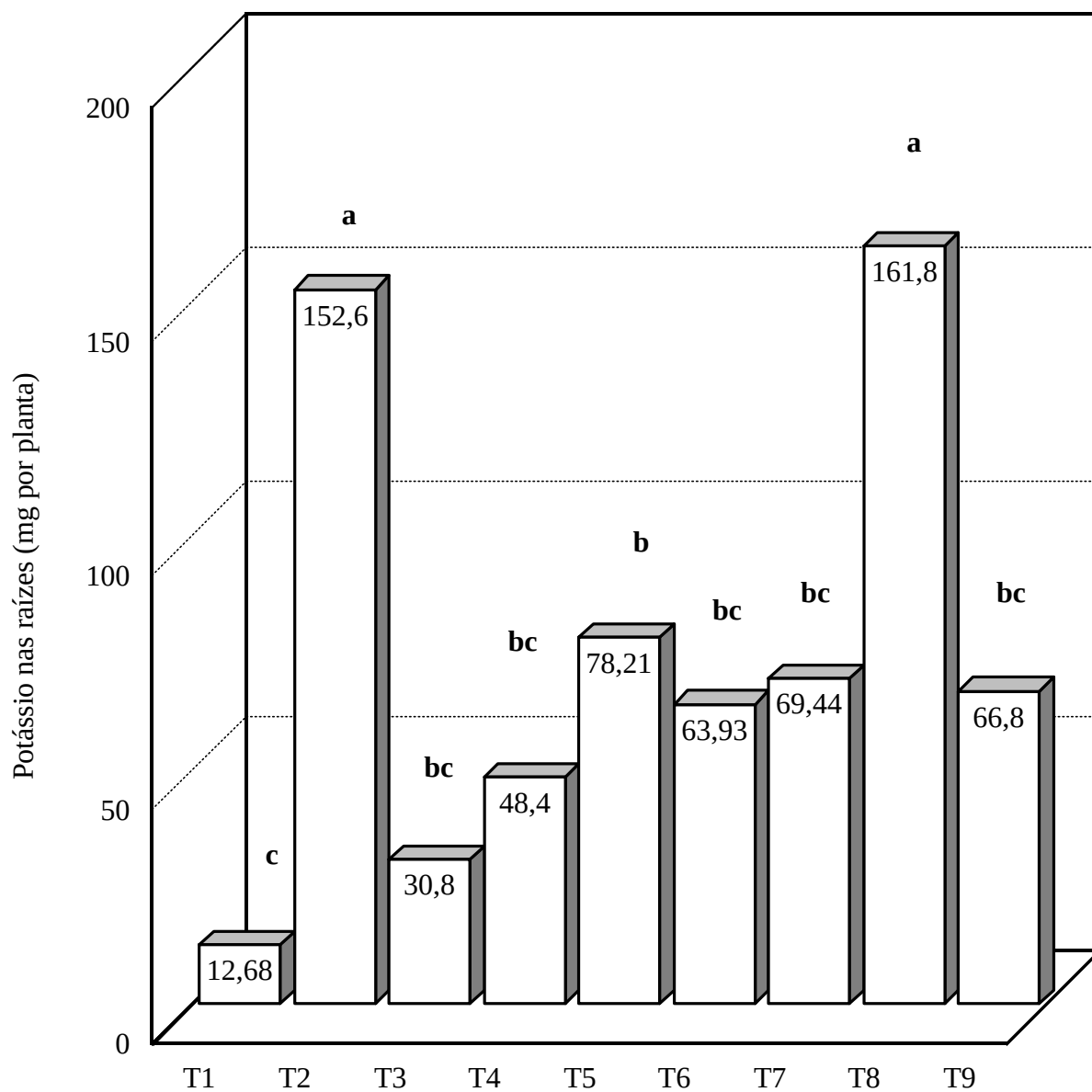
T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: *Scutellospora gregaria* + *Scutellospora heterogama* + *Glomus clarum* (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

Fig 32. **Fósforo total na parte aérea de mudas de dendezeiro, após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e FMA**



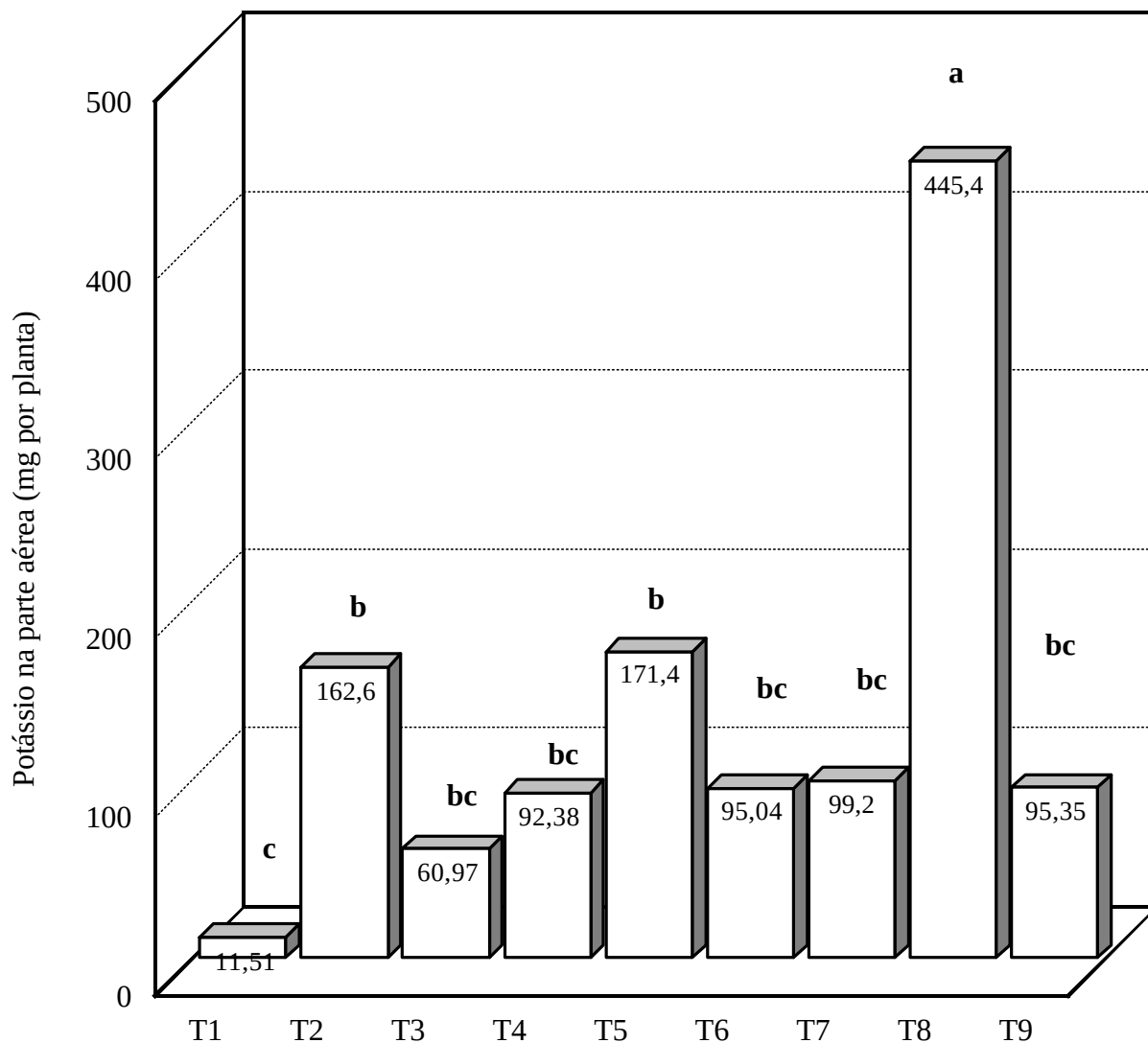
T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: Scutellospora gregaria + Scutellospora heterograma + Glomus clarum (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

Fig 33. **Potássio total na raiz de mudas de dendezeiro 270 dias após inoculação com bactérias diazotróficas e FMA .**



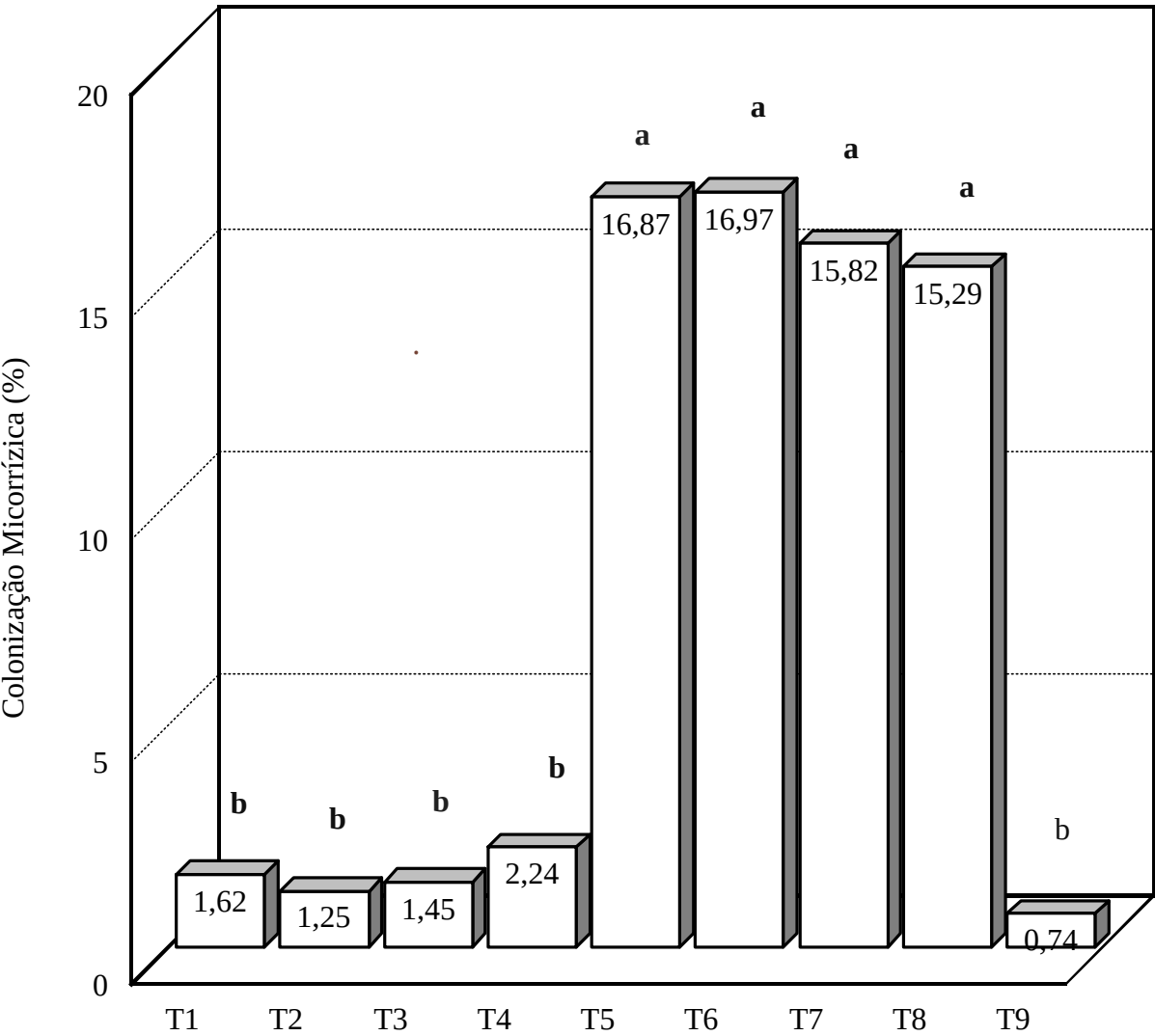
T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: *Scutellospora gregaria* + *Scutellospora heterogama* + *Glomus clarum* (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

Fig 34. **Potássio total na parte aérea de mudas de dendezeiro 270 dias após inoculação com bactérias diazotróficas e FMA .**



T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: Scutellospora gregaria + Scutellospora heterograma + Glomus clarum (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

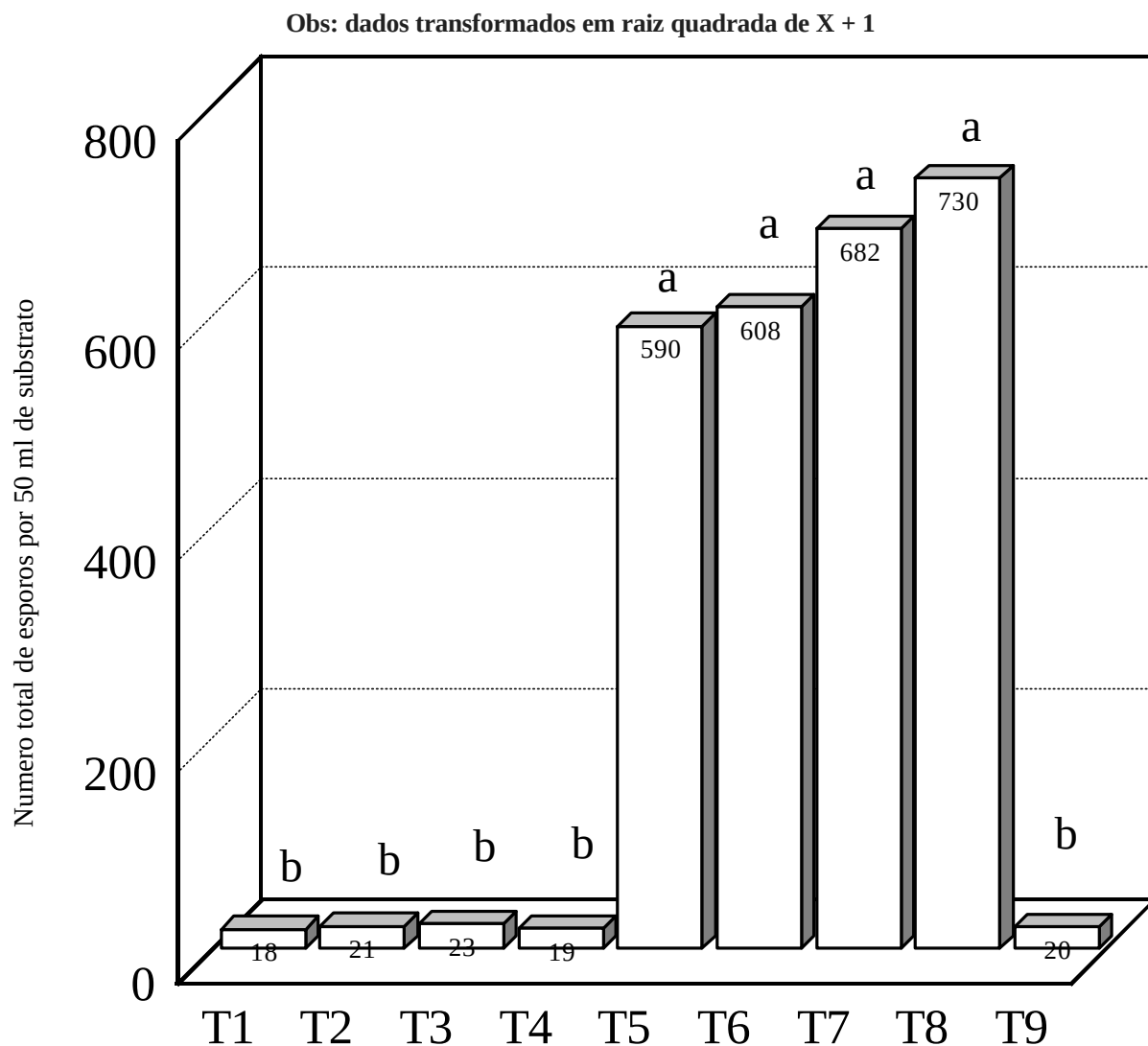
Figura 35. Porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares **em mudas de dendezeiro após 270 dias** de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares



T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: Scutellospora gregaria + Scutellospora heterograma + Glomus clarum (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

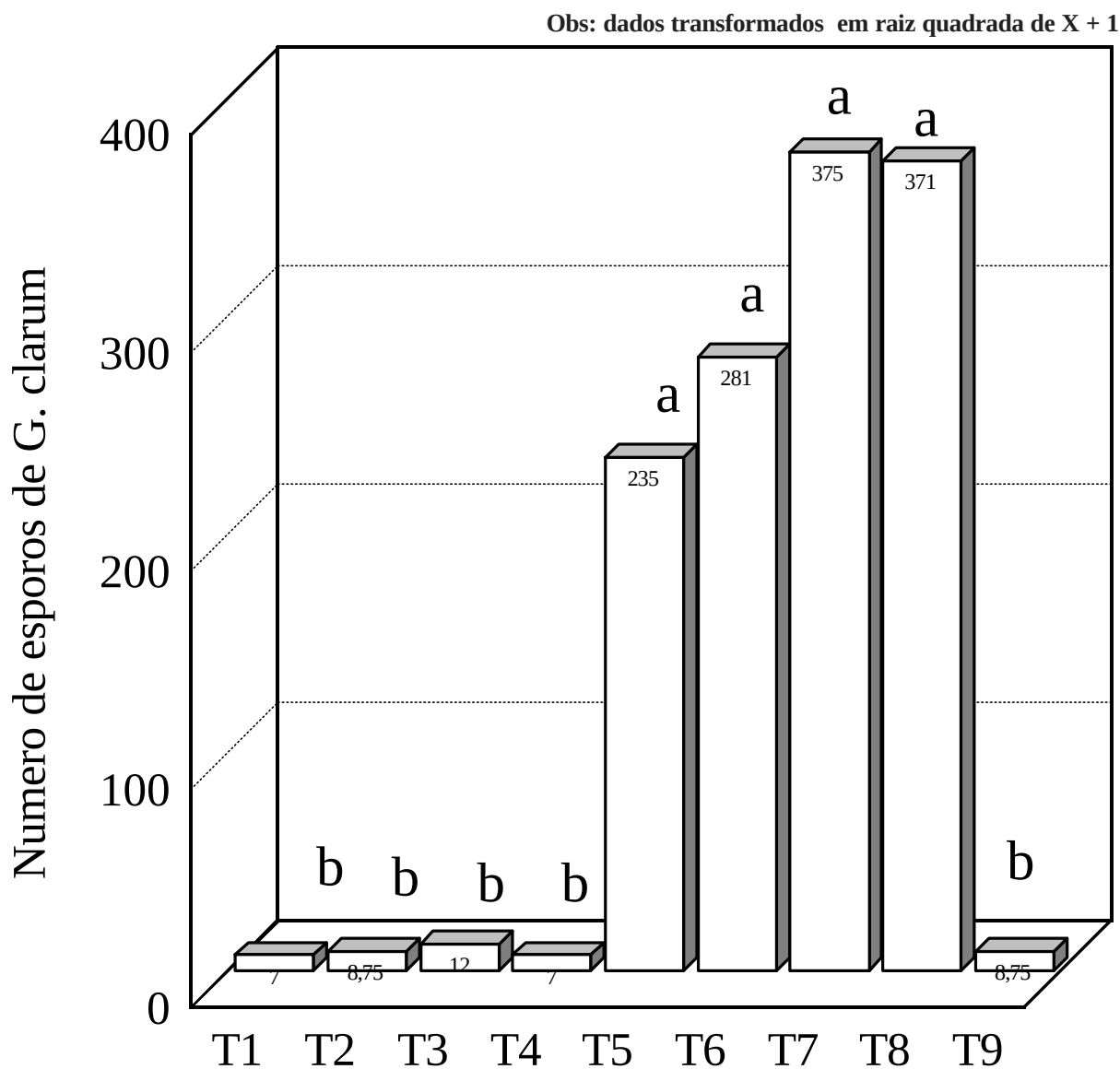
Dados transformados em raiz de $x + 1$,

Fig 36. Numero total de esporos de *G.clarum* , *S.heterogama* e *S. gregaria* por 50 ml de substrato oriundo de rizosfera de mudas de dendezeiro 270 dias após inoculação com bactérias diazotróficas e FMA.



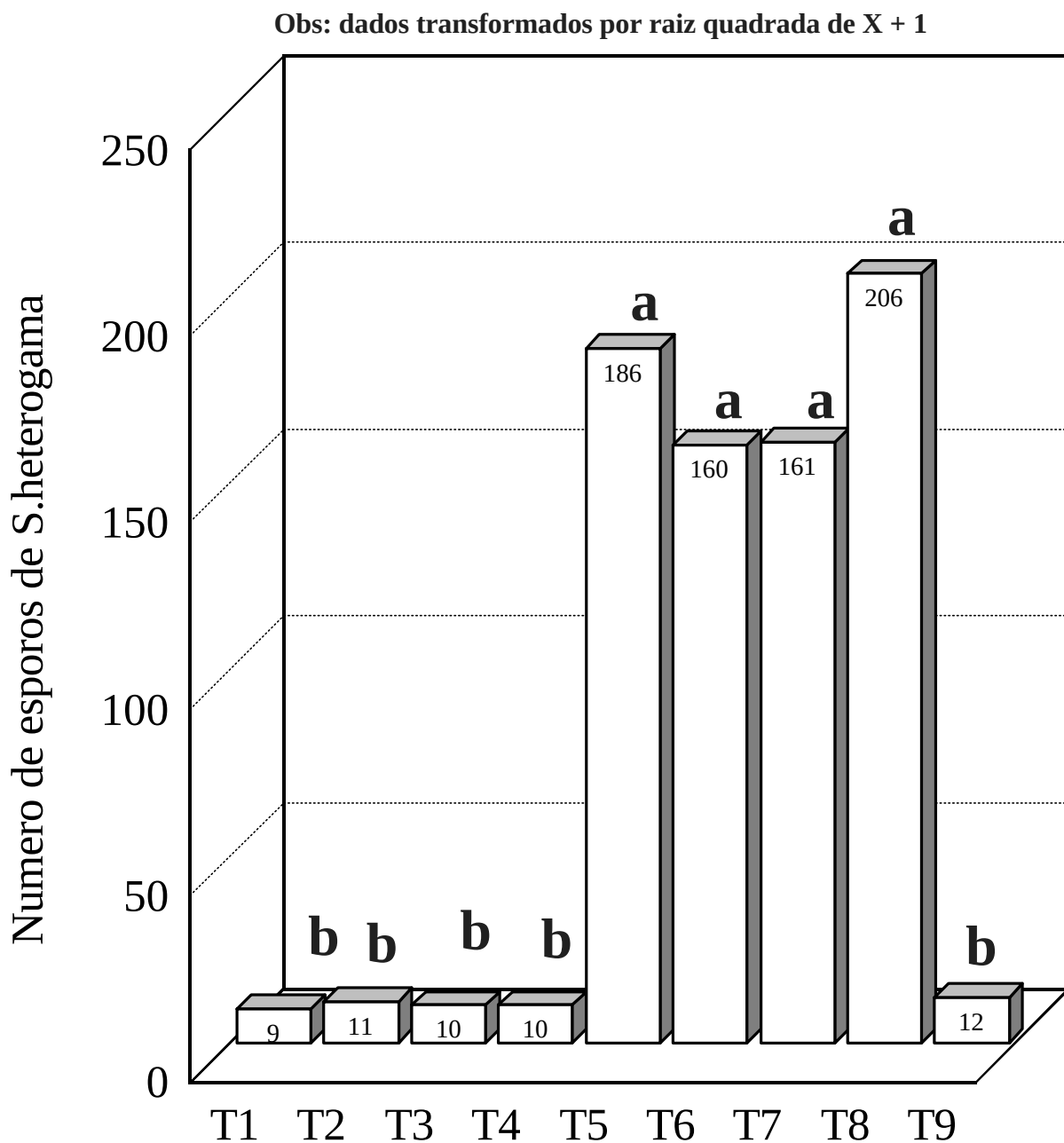
T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: *Scutellospora gregaria* + *Scutellospora heterogama* + *Glomus clarum* (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

Fig 37. Número total de esporos de *Glomus clarum* por 50 ml de substrato oriundo da rizosfera de mudas de dendezeiro 270 dias após inoculação com bactérias diazotróficas e FMA .



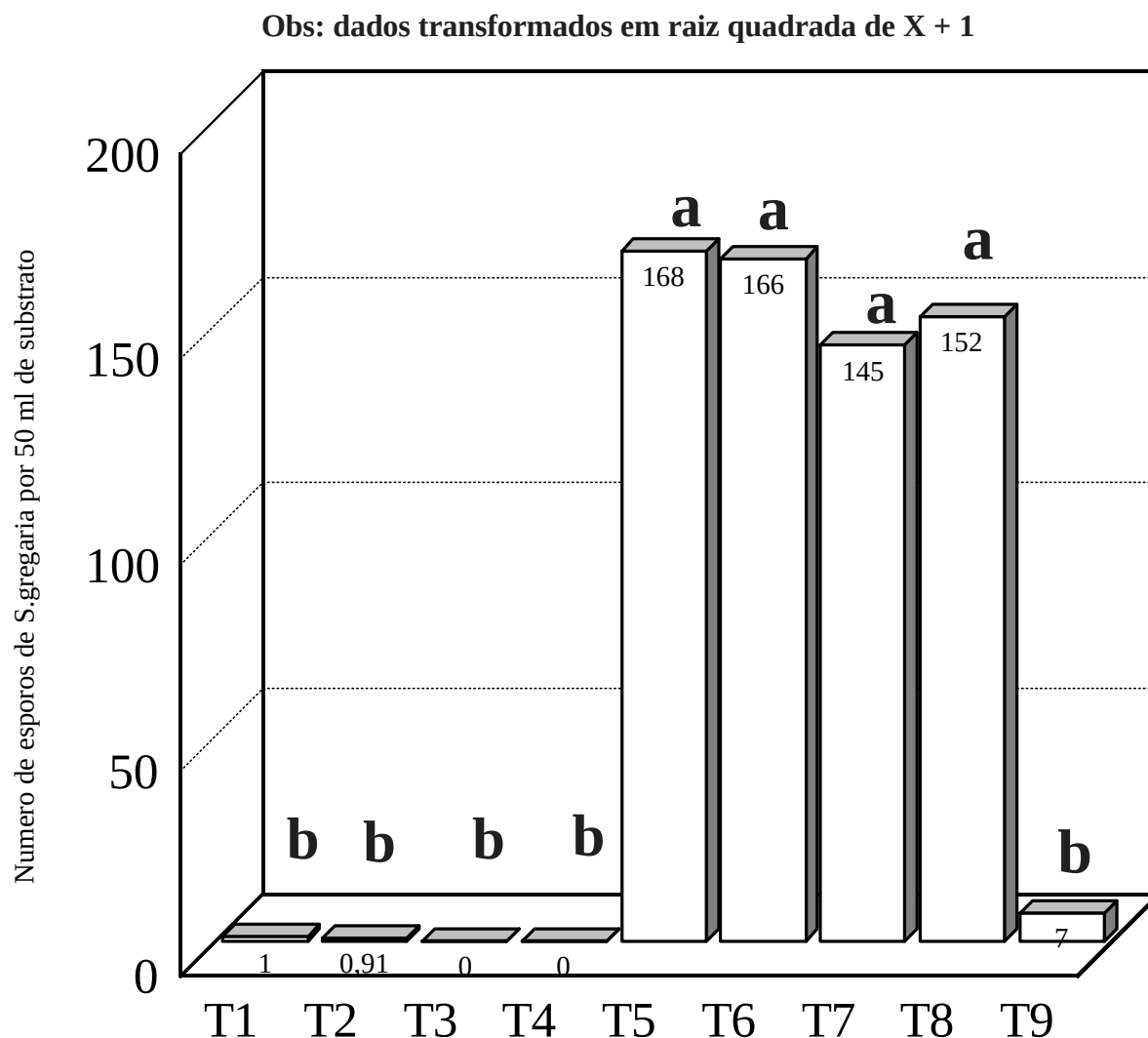
T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões
T 5: Scutellospora gregaria + Scutellospora heterogama + Glomus clarum (FMA)
T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA +
N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

Fig 38. Numero de esporos de *Scutellospora heterogama* por 50 ml de substrato oriundo da rizosfera de mudas de dendezeiro 270 dias após inoculação com bactérias diazotróficas e FMA .



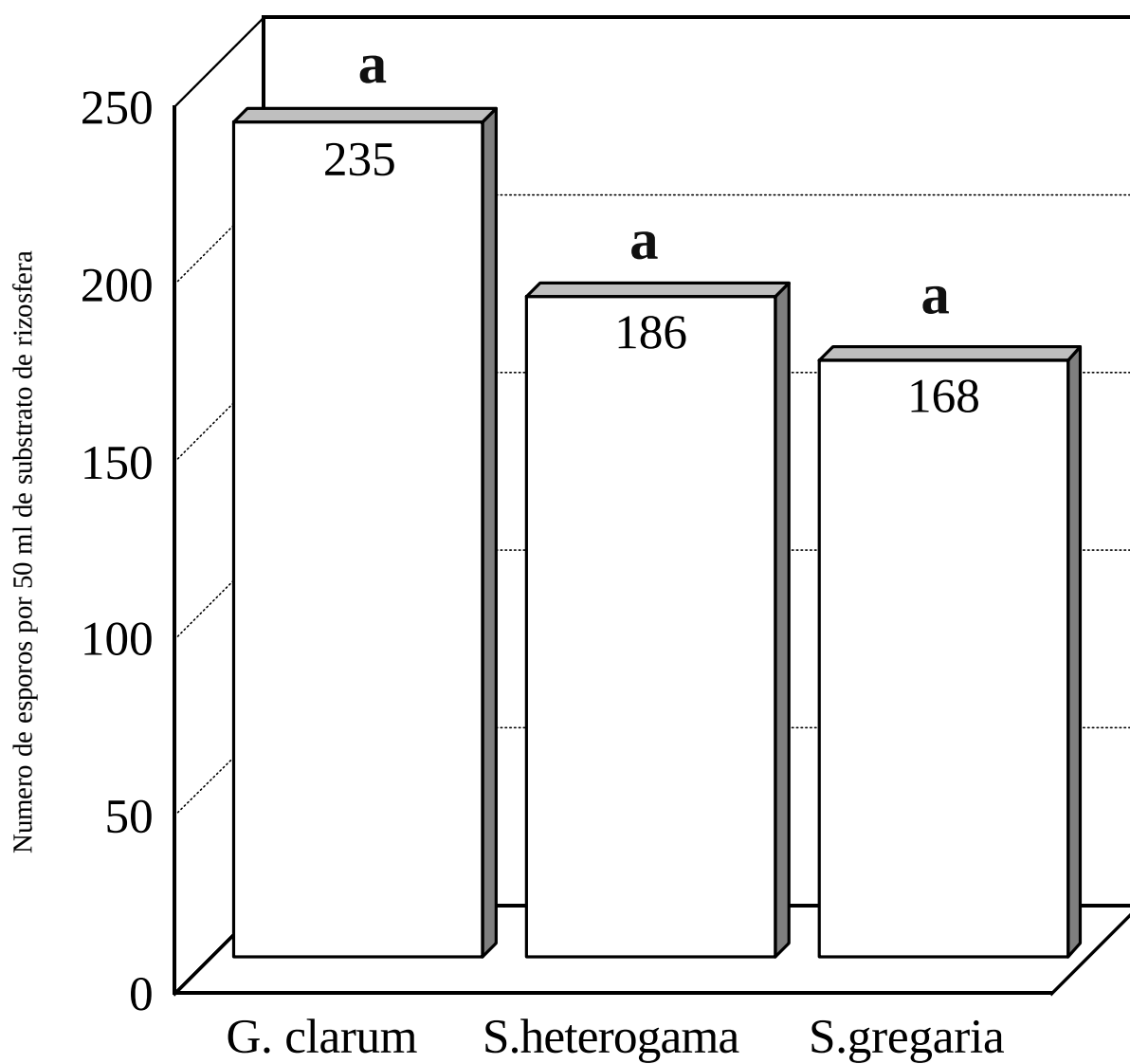
T 1: Testemunha T 2: N-mineral T 3: Isolados de Palmeiras T 4: Isolados Padrões T 5: *Scutellospora gregaria* + *Scutellospora heterogama* + *Glomus clarum* (FMA) T 6: Isolados de Palmeiras + FMA T 7: Isolados Padrões + FMA T 8: FMA + N-mineral T 9: Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

Fig 39. Numero de esporos de *Scutellospora gregaria* por 50 ml de substrato oriundo da rizosfera de mudas de dendezeiro 270 dias após inoculação com bactérias diazotróficas e FMA .



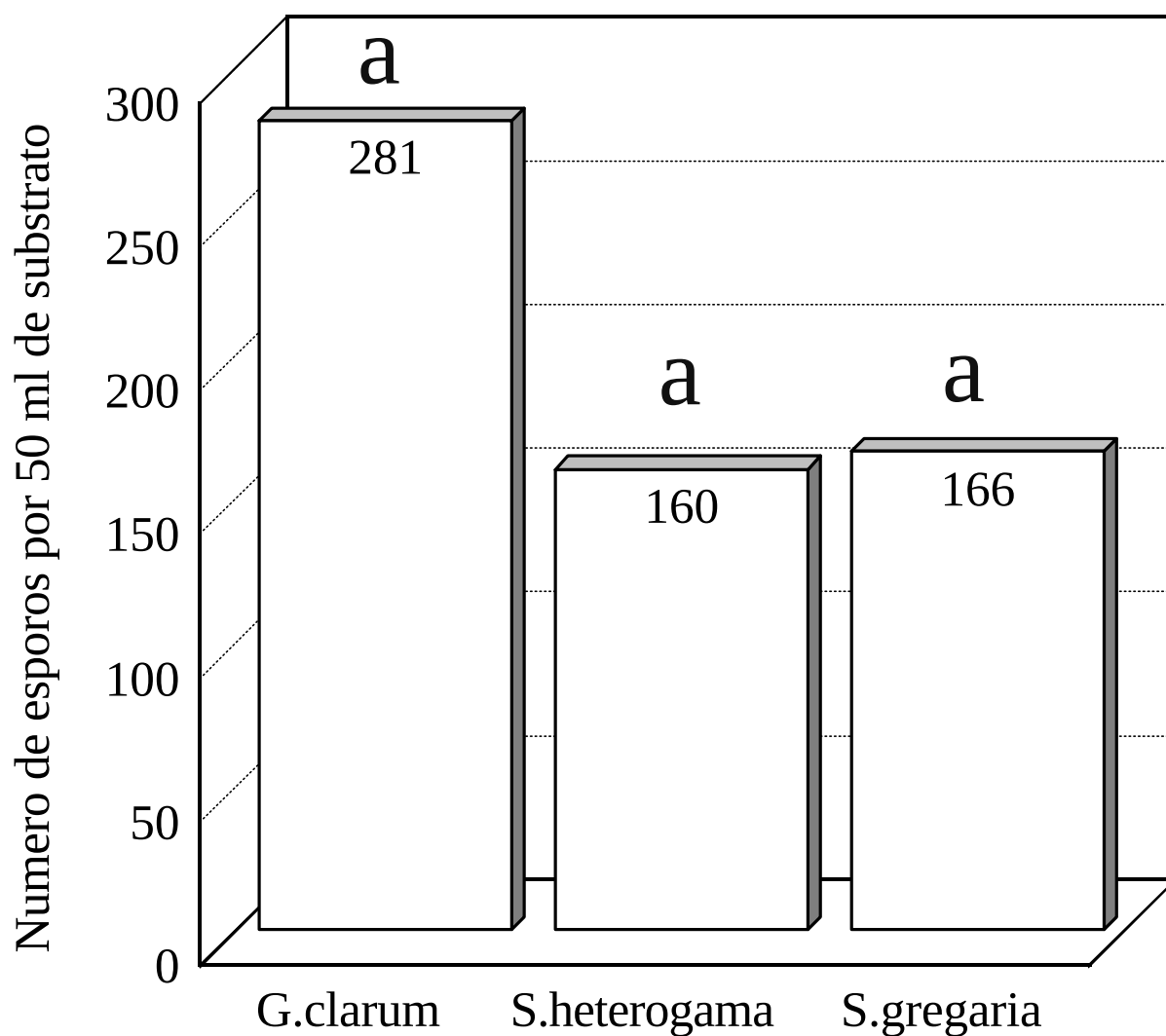
T 1 Testemunha T 2 N-mineral T 3 Isolados de Palmeiras T 4 Isolados Padrões T 5 *Scutellospora gregaria* + *Scutellospora heterograma* + *Glomus clarum* (FMA) T 6 Isolados de Palmeiras + FMA T 7 Isolados Padrões + FMA T 8 FMA + N-mineral T 9 Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

Fig 40. Numero de esporos de *G.clarum* , *S.heterogama* e *S. gregaria* por 50 ml de substrato oriundo da rizosfera de mudas de dendezeiro 270 dias após inoculação com bactérias diazotróficas e FMA no tratamento 5 (FMA sem inoculação de bactérias diazotróficas) .



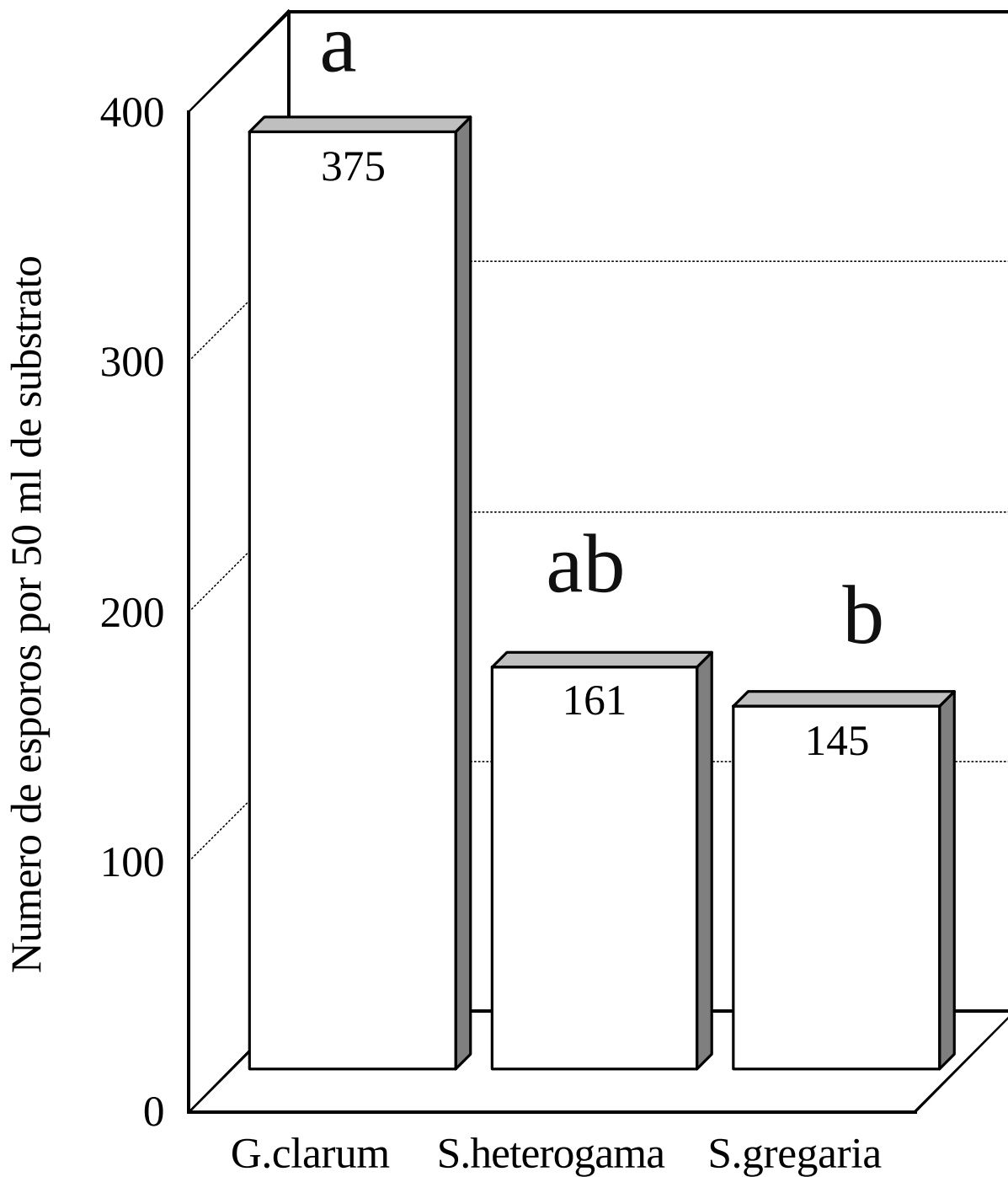
Obs: dados transformados em raiz quadrada de X + 1

Fig 41. Numero de esporos de *G.clarum* , *S.heterogama* e *S. gregaria* por 50 ml de substrato oriundo da rizosfera de mudas **de dendezeiro 270 dias após inoculação** com bactérias diazotróficas e FMA no tratamento 6 (Isolados de palmeiras + FMA sem inoculação de bactérias diazotróficas) .



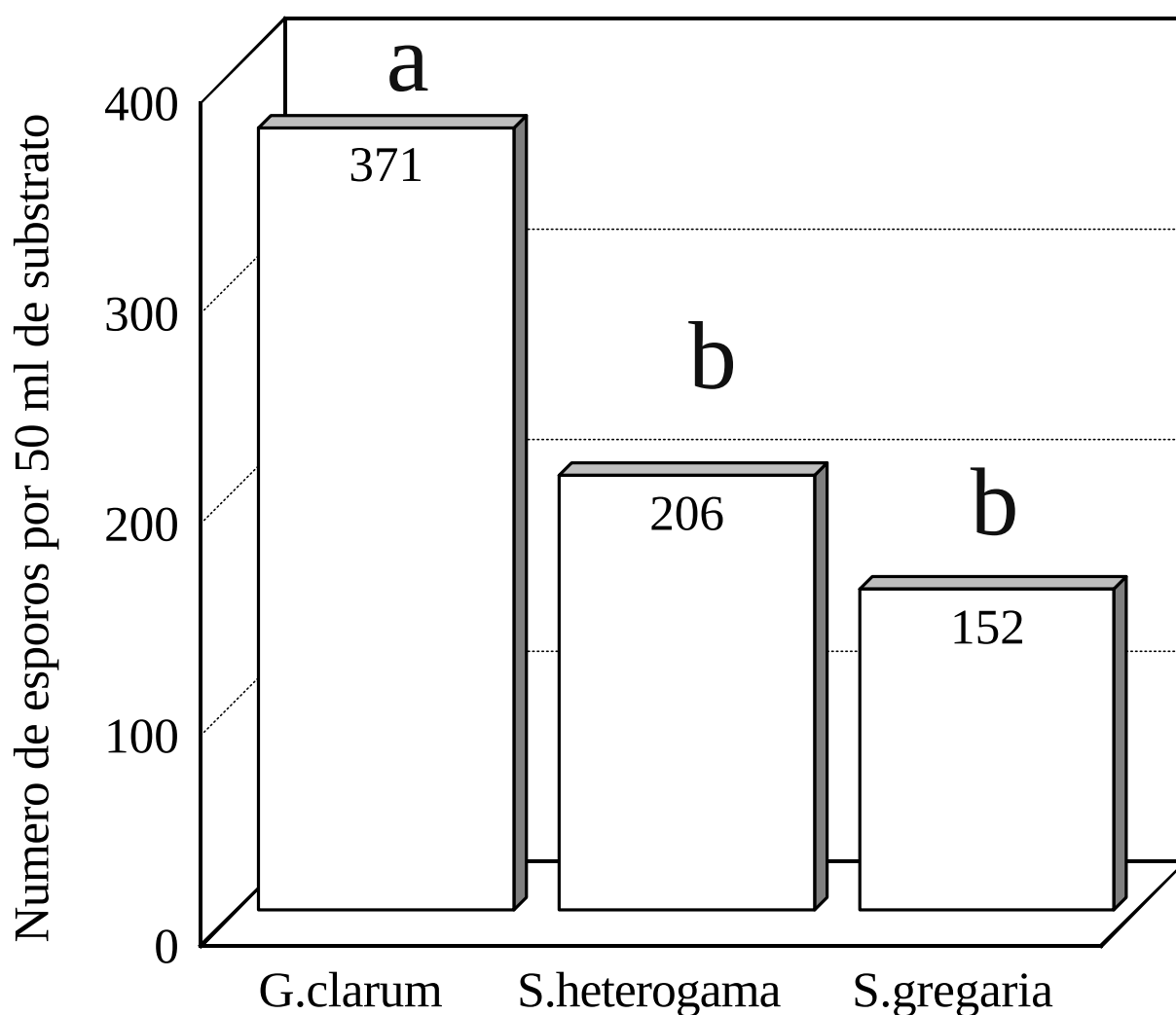
Obs: dados transformados em raiz quadrada de X + 1

Fig 42. Número de esporos de *G.clarum* , *S.heterogama* e *S. gregaria* por 50 ml de substrato oriundo de rizosfera em mudas de dendezeiro 270 dias após inoculação com bactérias diazotróficas e FMA no tratamento 7 (Isolados padrões + FMA sem inoculação de bactérias diazotróficas) .



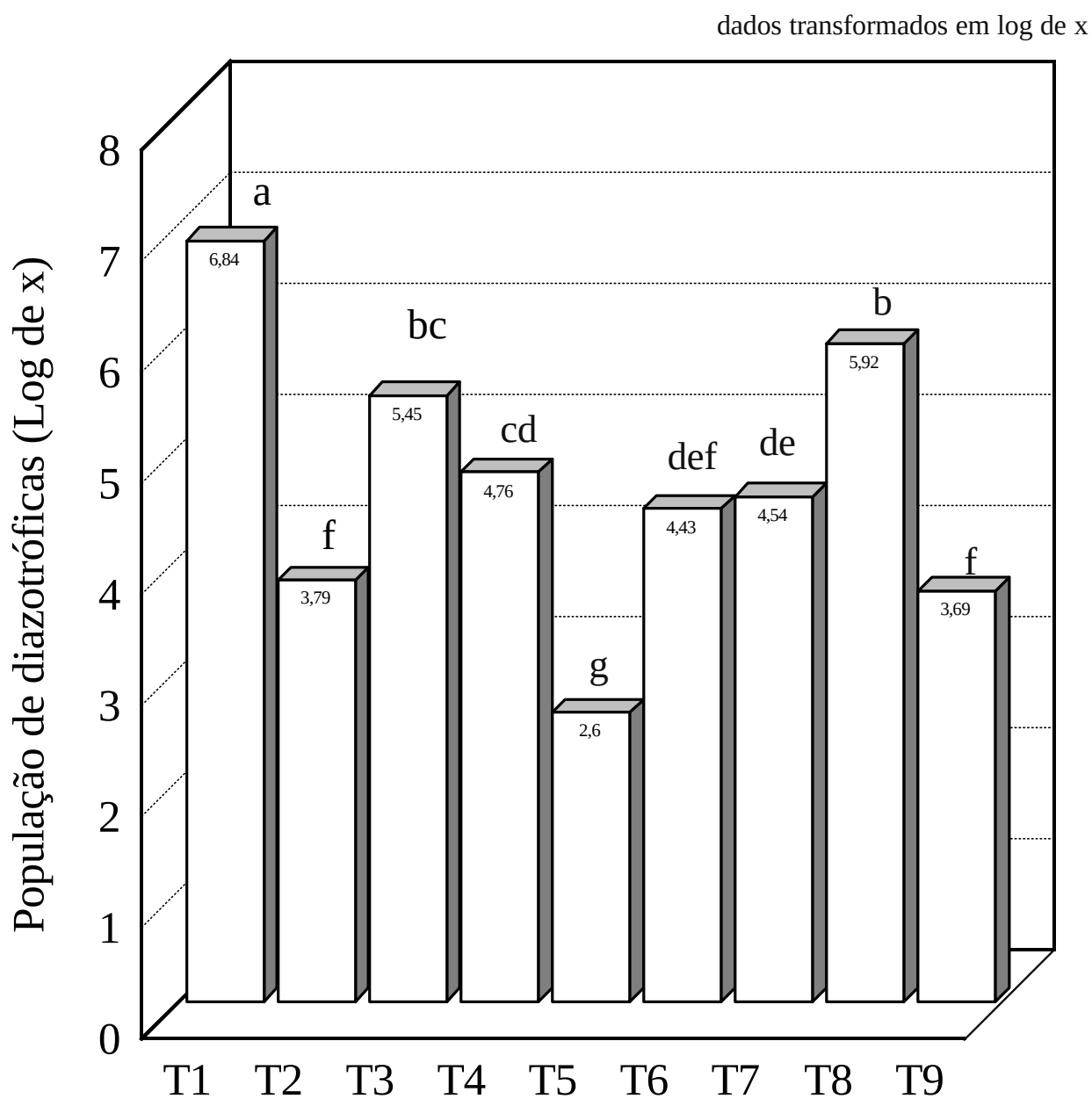
Obs: dados transformados em raiz quadrada de X + 1

Fig 43. Numero de esporos de *G.clarum* , *S.heterogama* e *S. gregaria* por 50 ml de substrato oriundo da rizosfera de mudas **de dendezeiro 270 dias após inoculação** com bactérias diazotróficas e FMA no tratamento 8 (FMA + o N-mineral sem inoculação de bactérias diazotróficas) .



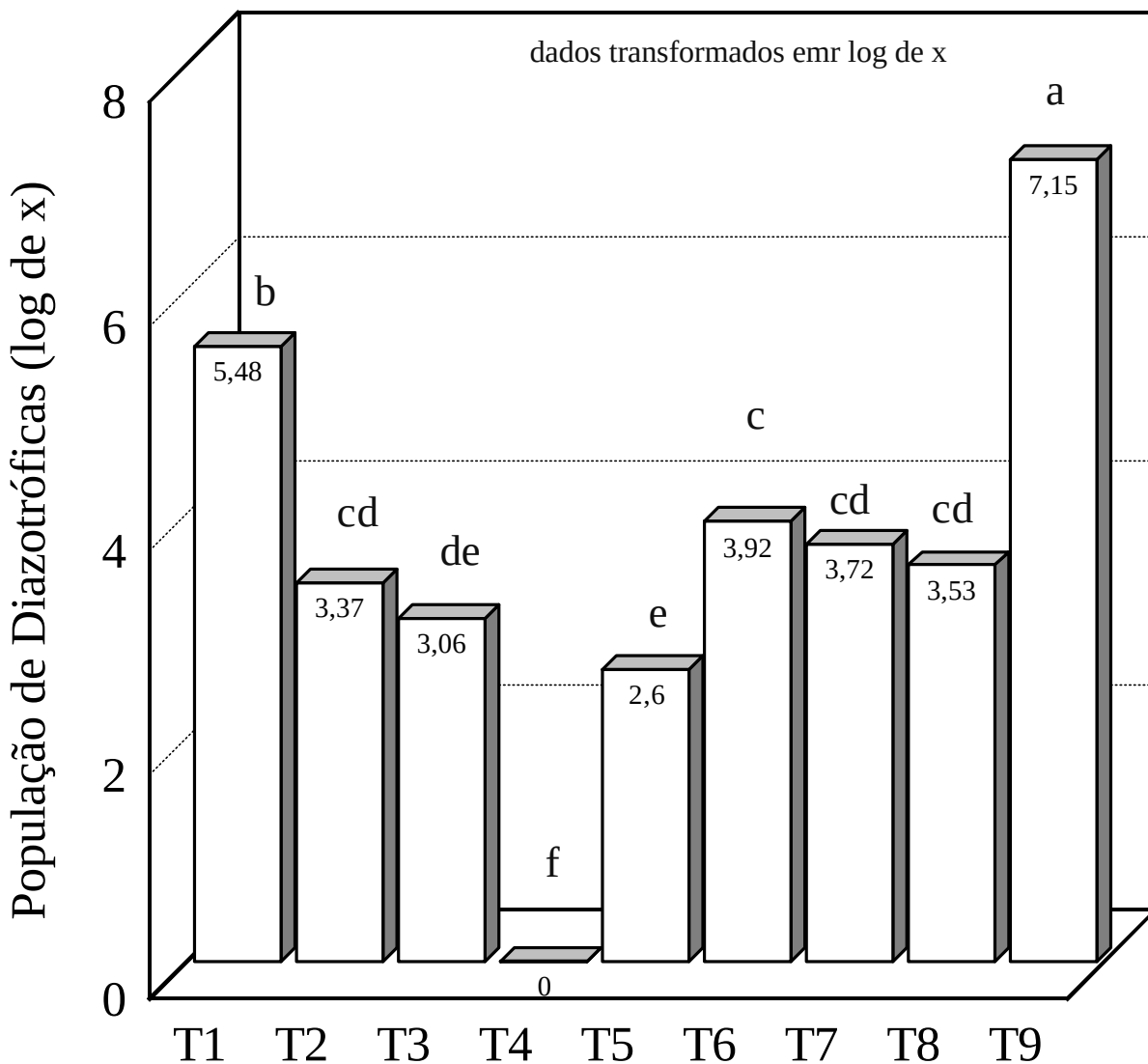
Obs: dados transformados em raiz quadrada de X + 1

Fig 44 **População total de Bacterias Diazotróficas nos meios JNFB, LGI, JMV e NFB em raízes de mudas de dendezeiro** apos 270 dias da inoculação de bacterias diazotroficas e FMA.



T 1 Testemunha T 2 N-mineral T 3 Isolados de Palmeiras T 4 Isolados Padrões T 5 *Scutellospora gregaria* + *Scutellospora heterograma* + *Glomus clarum* (FMA) T 6 Isolados de Palmeiras + FMA T 7 Isolados Padrões + FMA T 8 FMA + N-mineral T 9 Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

Fig 45. **População total de Bacterias Diazotróficas nos meio JNFB, LGI, NFB e JMV na parte aérea** de mudas de dendezeiro apos 270 dias apos a inoculação de bacterias diazotroficas e FMA.



T 1 Testemunha T 2 N-mineral T 3 Isolados de Palmeiras T 4 Isolados Padrões T 5 *Scutellospora gregaria* + *Scutellospora heterograma* + *Glomus clarum* (FMA) T 6 Isolados de Palmeiras + FMA T 7 Isolados Padrões + FMA T 8 FMA + N-mineral T 9 Isolados de Palmeiras + Isolados padrões

7.0 QUANTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS EM 3 GENÓTIPOS DE DENDEZEIROS E UM GENÓTIPO DE PUPUNHEIRAS ADULTAS NA REGIÃO DE UNA, NO SUL DO ESTADO DA BAHIA.

Do material coletado na Estação Experimental da CEPLAC “Lemos Maia” procedente de plantações adultas de dendezeiro e pupunheira quantificou-se a população de bactérias diazotróficas que se encontravam colonizando diferentes partes destas palmeiras. Os resultados foram os seguintes: (média de 5 repetições):

Parte da Planta : Raiz

Genótipo Dupey (dendezeiro) : População 1.22×10^4 células por g de raízes frescas, com crescimento nos seguintes meios:

46,46 % em NFb (Meio típico de crescimento de *Azospirillum* spp)

51.94 % em JNFb (Meio típico de crescimento de *Herbaspirillum* spp)

2.17 % em LGI (Meio típico de crescimento de *Azospirillum amazonense*)

Parte da Planta : Folhas **(não foi constatado a presença de bactérias diazotróficas em nenhum meio utilizado).**

Parte da Planta : Raiz

Genótipo Dura (dendezeiro) : População 1.13×10^4 células por g de raízes frescas, com crescimento nos seguintes meios.

46.46 % em NFb (Meio típico de crescimento de *Azospirillum* spp)

51.94 % em JNFb (Meio típico de crescimento de *Herbaspirillum* spp)

2.17 % em LGI (Meio típico de *Azospirillum amazonense*)

Parte da Planta: Folhas (não foi constatado a presença de bactérias diazotróficas em nenhum meio utilizado).

Parte da Planta : Raiz

Genótipo Tenera (dendezeiro) : População 1.05×10^4 células por g de raízes frescas.

46.46 % em NFb (Meio típico de crescimento de *Azospirillum* spp)

51.94 % em JNFb (Meio típico de crescimento de *Herbaspirillum* spp)

2.17 % em LGI (Meio típico de *Azospirillum amazonense*)

Parte da Planta: Folhas (não foi constatado a presença de bactérias diazotróficas, em nenhum meio utilizado).

Parte da Planta : Raiz

Genótipo Alaranjado (pupunheira): População $1,4 \times 10^4$ células por g de raízes frescas.

37,38 % em NFb (Meio típico de crescimento de *Azospirillum* spp)

64,45 % em JNFb (Meio típico de crescimento de *Herbaspirillum* spp)

2.17 % em LGI (Meio típico de *Azospirillum amazonense*)

Parte da Planta: Folhas (não foi constatado a presença de bactérias diazotróficas em nenhum meio utilizado).

Como pode ser observado havia predominância de ocorrência de bactérias diazotróficas no meio JNFb, meio este próprio para o crescimento de *Herbaspirillum seropedicae*. FERREIRA et al., (1997), identificou isolados desta espécie procedentes de raízes de dendezeiros a nível molecular com o uso de ácidos nucleicos (DNA/RNA) em experimentos de hibridização com o uso de sondas de oligonucleotídeos de acordo com a metodologia proposta por OELMULLER et al., (1990). Observa-se também que havia uma ocorrência significativa de bactérias diazotróficas no meio NFb (46,46%), nos 3 genótipos de dendezeiro analisados (Dura, Dupey e Tenera), meio este típico de *Azospirillum* spp (Exceto o *Azospirillum amazonense*). SHAMUSDIM, et al., (1995), realizaram um levantamento das principais espécies de bactérias diazotróficas que colonizavam dendezeiros em idade adulta, em diferentes regiões da Malásia e observaram que predominavam principalmente as bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* spp (meio LGI e NFb).

Quanto ao fato de não ter sido observado a ocorrência de bactérias diazotróficas na parte aérea tanto de plantas adultas de dendezeiro (em todos os genótipos estudados), como também do único genótipo de Pupunha analisado, resultado semelhante também foi obtido por FERREIRA et al., (1995), como também por MAGALHÃES & DOBEREINER (1984). Nenhum destes autores observaram a ocorrência de bactérias diazotróficas na parte aérea destas palmeiras neste estágio fenológico onde se encontrava as plantas. É notório

destacar também que a população de bactérias diazotróficas não variou muito de um genótipo para o outro, sendo encontrado sempre valores bastante próximos. A maior população observada foi de $1,4 \times 10^4$ células por g de raízes frescas no genótipo Alaranjada (Pupunheira) e a menor foi de $1,05 \times 10^4$ células por g de raízes frescas no genótipo Tenera (Dendê). Constatou-se também que a população de bactérias diazotróficas encontrada nas raízes de pupunheira em idade adulta era mais elevada do que a população destas bactérias encontradas por MAGALHÃES & DOBEREINER (1984), na região amazônica que foi de $2,5 \times 10^2$.

Quantificou-se também a população de bactérias diazotróficas (média de 5 repetições) em frutos de 3 genótipos de dendezeiro (Dupey, Dura e Tenera) e de um genótipo de pupunheira (alaranjada). Os respectivos resultados estão em células por grama de matéria fresca:

Mesocarpo, meio NFb

Dupey : $4,5 \times 10^2$

Dura : $1,2 \times 10^2$ células por g de mesocarpo fresco

Tenera : $1,2 \times 10^2$

Alaranjada (pupunha) : $1,3 \times 10^2$

Endosperma, meio NFb

Dupey : $4,5 \times 10^4$

Dura : $1,5 \times 10^3$ células por g de endosperma fresco

Tenera : $1,6 \times 10^3$

Alaranjada : $1,2 \times 10^4$

Mesocarpo , meio JMV

Dupey : $4,5 \times 10^4$

Dura : $4,6 \times 10^4$

Tenera : $1,8 \times 10^4$ células por g de mesocarpo fresco

Alaranjada : $1,4 \times 10^2$

Endosperma , meio JMV

Dupey : $1,5 \times 10^4$

Dura : $1,2 \times 10^4$ células por g de endosperma fresco

Tenera : $1,5 \times 10^4$

Alaranjada : $1,4 \times 10^4$

Mesocarpo, meio LGI

Dupey : $2,0 \times 10^4$

Dura : $1,2 \times 10^4$ células por g de mesocarpo fresco

Tenera : $1,5 \times 10^4$

Alaranjada : $1,5 \times 10^2$

Endosperma , meio LGI

Dupey : $4,5 \times 10^2$

Dura : $2,0 \times 10^2$ células por g de endosperma fresco

Tenera : $1,5 \times 10^3$

Alaranjada : $1,3 \times 10^2$

Mesocarpo , meio JNFb

Dupey : $1,5 \times 10^3$

Dura : $1,5 \times 10^3$ células por g de mesocarpo fresco

Tenera : $1,2 \times 10^3$

Alaranjada : $1,4 \times 10^2$

Endosperma , meio JNFb

Dupey : $4,0 \times 10^4$

Dura : $1,2 \times 10^4$ células por g de endosperma fresco

Tenera : $4,5 \times 10^4$

Alaranjada : $1,2 \times 10^2$

Como pode ser observado havia ocorrência de bactérias diazotróficas em todos os meios utilizados, como também em todos os mesocarpos e endospermas analisados. A menor população observada foi de $1,2 \times 10^2$ células por g de matéria fresca no endosperma fresco no genótipo Alaranjada (Pupunha), como também no mesocarpo do genótipo de dendezeiro Dura e no mesocarpo do genótipo Tenera. Enquanto que a maior população de bactérias diazotróficas foi encontrada no genótipo Dura ($4,6 \times 10^4$ células por g de mesocarpo fresco). Como pode ser observado não existia uma variação muito elevada entre as populações de bactérias diazotróficas encontradas nas raízes em relação às populações encontradas nos endospermas, como também nos mesocarpos dos frutos dos genótipos analisados.

No mesocarpo havia ocorrência de bactérias diazotróficas principalmente no meio JMV. Meio este típico de *Burkholderia* sp. O segundo meio que tinha a maior ocorrência de diazotróficas no mesocarpo foi o LGI. O terceiro meio era o NFb e logo em seguida vinha o JNFb.

Quanto ao endosperma o JNFb era o que proporcionava a maior ocorrência de diazotróficas. Meio este que é típico de crescimento de *Herbaspirillum seropedicae*. O JMV era o meio de cultura que apresentava a segunda maior população, vindo logo em seguida o NFb e o LGI. O fato de ocorrer bactérias diazotróficas no endosperma das sementes de todos os genótipos analisados evidencia que estes microrganismos colonizam as raízes destas palmeiras através das sementes, após a germinação.

Quantificou-se também a população de bactérias diazotróficas encontradas nas plântulas de pupunheira sem espinhos (*Bactris gasipaes* H.B.K.), pré germinadas oriundas da cidade de Santa Maria Madalena - RJ, que foram utilizadas no ensaio 1. Utilizou-se 5 plantas para a obtenção da média. Os resultados foram:

Parte aérea : $2,0 \times 10^2$ células por gramas de parte aérea fresca (Com predomínio de crescimento nos meios NFb e LGI)

Raiz:

Meio JMV: não havia crescimento

Meio NFb 1.4×10^5 células por g de raízes frescas

Meio JNFb 1.5×10^4 células por g de raízes frescas

Meio LGI 1.4×10^5 células por g de raízes frescas

Como pode ser observado existiam bactérias diazotróficas pré-existentes tanto nas raízes como também na parte aérea destas plântulas, antes da inoculação com as bactérias diazotróficas nos respectivos tratamentos impostos. A ocorrência de bactérias diazotróficas nestas plantas pode ser justificada pela presença de bactérias diazotróficas no endosperma das sementes, como foi mencionado anteriormente. Com a germinação estas passariam a colonizar também as raízes e a parte aérea destas plântulas. Na parte aérea, era observada a presença de bactérias diazotróficas principalmente nos meios NFb e no LGI, próprios para o crescimento de bactérias diazotróficas das espécies *Azospirillum* sp e da espécie *Azospirillum amazonense* respectivamente. Com relação às raízes foi observada a ocorrência de bactérias diazotróficas nos três meios utilizados (NFb, LGI e JNFb).

É notório destacar que a ocorrência de bactérias diazotróficas tanto nas raízes como também na parte aérea destas plântulas foi observada em todas as repetições analisadas. Quantificou-se a população de bactérias diazotróficas encontradas nas plântulas de dendezeiro (*Elaeis guineensis*, Genótipo Dupey), pré germinadas oriundas da Estação Experimental Lemos Maia-CEPLAC, na cidade de Una Ba, que seriam utilizadas no ensaio 2. Utilizou-se 5 plantas para cada média obtida. Os resultados foram os seguintes:

Parte aérea (Folhas): $1,2 \times 10^4$ células por grama de parte aérea fresca (meio LGI, apenas)

Raiz:

Meio JMV: não havia crescimento

Meio NFb : população $2,0 \times 10^3$ células por g de raízes frescas

Meio LGI: população $1,1 \times 10^3$ células por g de raízes frescas

Meio JNFb: população $1,5 \times 10^4$ células por g de raízes frescas

Assim como nas plântulas pré germinadas de pupunheira, foi também observado a ocorrência de bactérias diazotróficas tanto nas raízes como também na parte aérea destas plântulas pré germinadas do genótipo Dupey (Dendezeiro). A ocorrência destas diazotróficas nas raízes foi observada nos meios NFb, LGI e JNFb, sendo, no

entanto, uma população menor do que foi encontrada nas raízes das plântulas de pupunheira. Quanto a população de bactérias diazotróficas na parte aérea das plântulas de dendezeiro, observou-se que esta parte da planta tinha uma maior população de bactérias diazotróficas do que a parte aérea das plântulas de pupunheiras e que só havia ocorrência de bactérias diazotróficas no meio LGI, meio este típico de crescimento de *Azospirillum amazonense*. Enquanto que na parte aérea das plântulas de pupunheira havia crescimento de bactérias diazotróficas nos meios LGI e NFb.

É importante destacar que a ocorrência de bactérias diazotróficas tanto nas raízes como também na parte aérea destas plântulas foi observada em todas as repetições analisadas.

8.0 Levantamento e Quantificação de Fungos Micorrízicos Arbusculares em 3 diferentes genótipos de dendezeiros adultos e um genótipo de pupunheira adulta na região de Una, no Sul do Estado da Bahia (Época de coleta: meados do outono).

Quanto ao levantamento quantitativo e qualitativo de Fungos Micorrízicos Arbusculares em solo de rizosfera de dendezeiros adultos, realizados na Estação Experimental Lemos Maia - CEPLAC, na cidade de Una - Bahia, os resultados mostraram que não haviam diferenças estatísticas entre o número de esporos de FMA encontrados para cada 50 cm³ de solo de rizosfera (Figura 46), como também em relação à porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares (Figura 47), nos diferentes genótipos investigados desta palmeira. Todos apresentavam um número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares por 50 ml de solo rizosférico, como também uma porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por FMA semelhante estatisticamente. Embora existisse um número relativamente elevado de esporos em ambos os genótipos, verificou-se uma colonização extremamente baixa destes fungos. A ausência de uma maior quantidade de raízes finas dificultou consideravelmente a coleta deste material. SUDO et al., (1996), também relataram dificuldade de encontrar raízes finas em mudas de pupunheiras para efetuar tal operação. O que é ainda mais agravado quando se tratava de plantas adultas no campo.

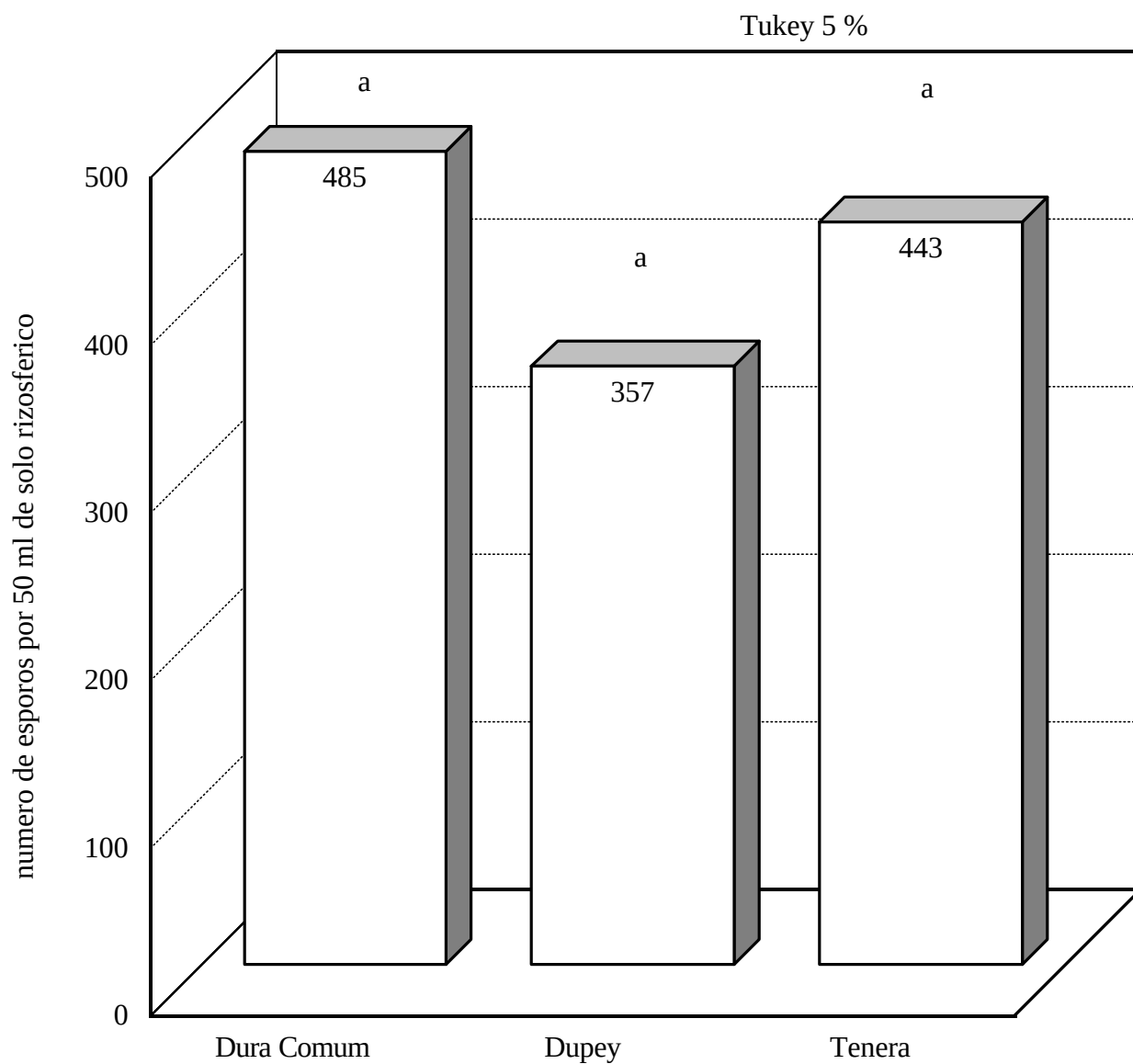
As espécies de FMA constatadas na rizosfera do genótipo de dendezeiro Dupey, foram as seguintes: *Glomus macrocarpum*, uma espécie de *Glomus* sp. e uma espécie de *Acaulospora* sp. Com relação às espécies de FMA que foram encontradas na rizosfera do genótipo Dura (Dendezeiro), observou-se as mesmas espécies de FMA

encontradas na rizosfera do genótipo Dupey (*Glomus macrocarpum*, *Glomus* sp e *Acaulospora* sp). Quanto as espécies oriundas da rizosfera do genótipo Tenera, foi observado que predominavam as mesmas espécies observadas nas dois genótipos anteriormente mencionados, além da presença de uma outra espécie de *Acaulospora* sp não observada na rizosfera dos genótipos anteriores. A presença da espécie *Glomus macrocarpum* no solos do sul da Bahia já foi também relatado por EZETA & SANTOS (1980). Estes além de encontrarem esta espécie de FMA, os autores constataram também as espécies *Gigaspora margarita* (Becker & Hall) e *Scutellospora heterogama*.

Com relação ao levantamento quantitativo e qualitativo de Fungos Micorrízicos Arbusculares em solo de rizosfera do genótipo de Pupunha adultas (alaranjado), os resultados mostraram que havia 234 esporos de FMA para cada 50 cm³ de solo de rizosfera deste genótipo (Figura 48). Quanto a porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por FMA (Figura 48), esta foi de 5,76 %. As 2 espécies de fungos micorrízicos arbusculares que predominaram na rizosfera deste genótipo foi a mesma espécie de *Acaulospora* sp encontrada na rizosfera do genótipo Tenera (Dendê) e a espécie *Glomus macrocarpum*.

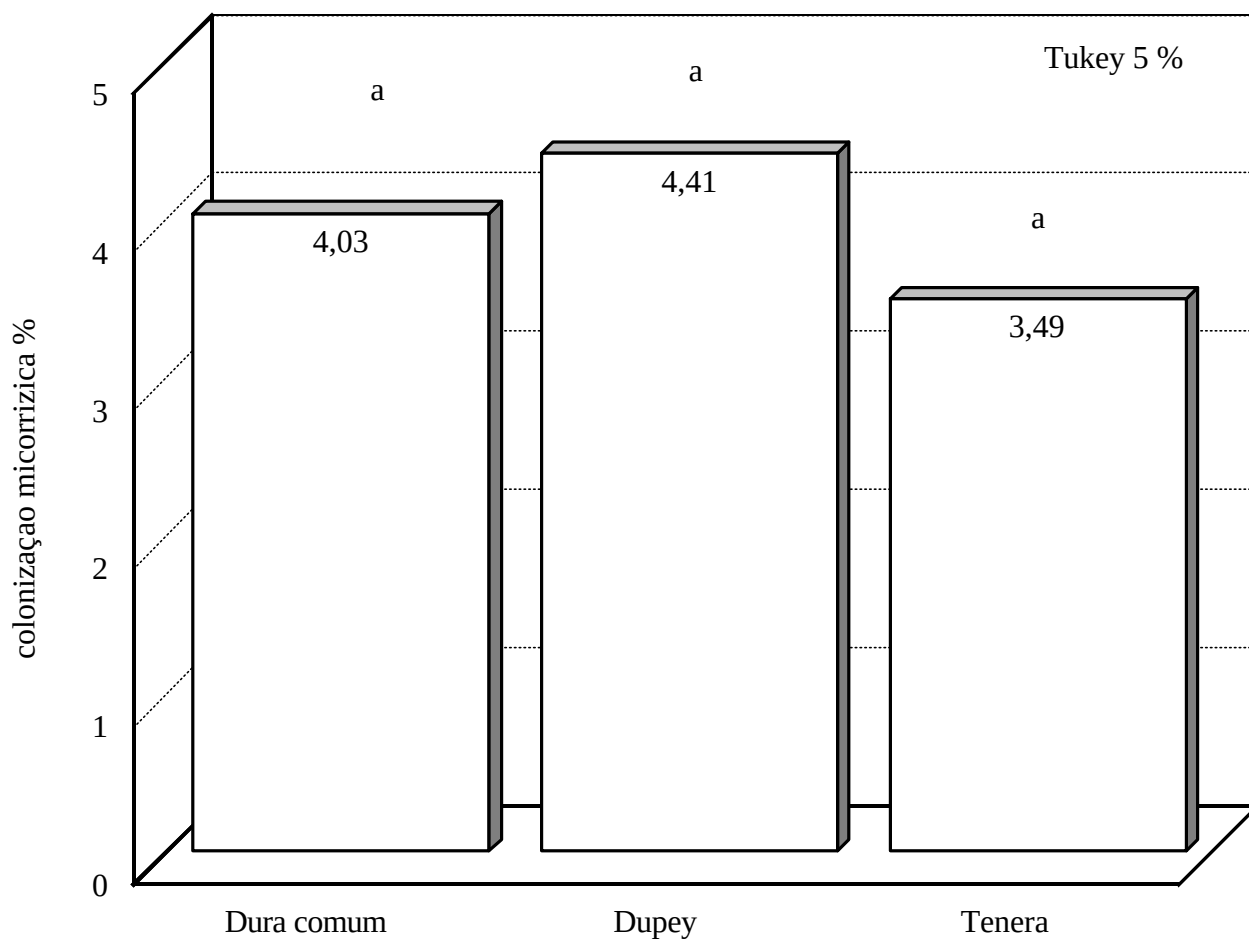
Com relação à presença de bactérias diazotróficas nos esporos de fungos micorrízicos arbusculares utilizados tanto no ensaio com as mudas de pupunheiras, como também com as mudas de dendezeiro, os resultados evidenciaram que não havia crescimento de diazotróficas em nenhum meio utilizado. Fato este que é diferente do que foi observado por BAGHARAJ (1984) e VANCURA et al., (1989), onde os autores reportaram que certos componentes da microbiota do solo, como as bactérias diazotóficas, podem interagir com FMA na rizosfera e até mesmo na hifosfera, como também por BIANCIOTTO et al., (1996). Estes autores também constataram através de técnicas de biologia molecular a presença da espécie de diazotrófica *Burkholderia* sp no interior de esporos das espécies de fungos micorrízicos *Gigaspora margarita* e de *Scutellospora* spp.

Figura 46. Número de esporos por 50 ml de solo rizosférico oriundo de 3 diferentes genótipos de dendezeiro adultos



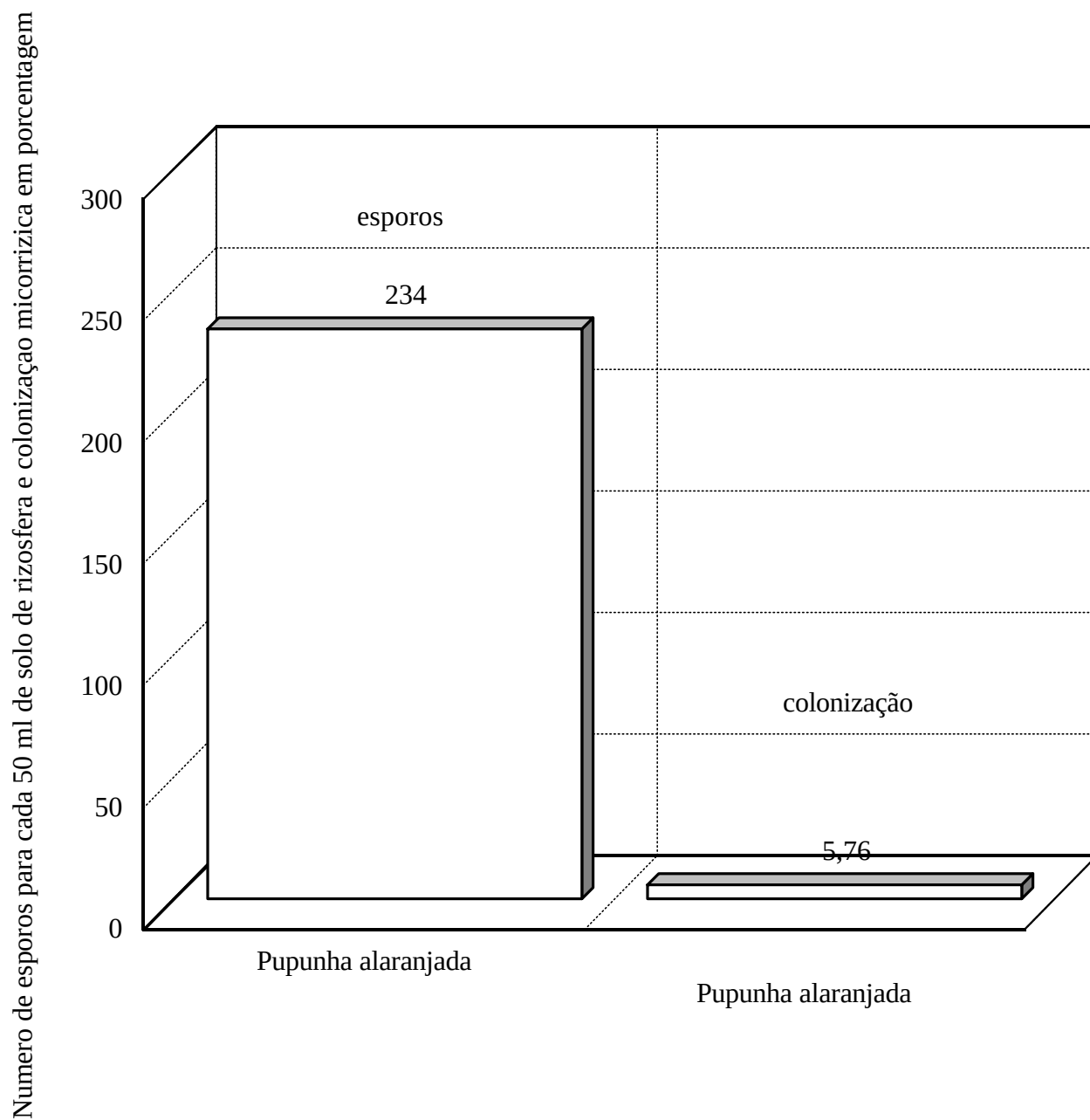
OBS: Médias de 4 repetições

Figura 47. Porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por FMA em 3 diferentes genótipos de dendezeiro adultos.



OBS: Médias de 4 repetições

Figura 48. Número de esporos por 50 ml de solo rizosférico e Porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por FMA oriundo do genótipo alaranjado (Pupunheira). Média de 4 repetições



9.0 CONCLUSÕES FINAIS

- Tanto no ensaio de inoculação com mudas pupunheira, como também com as mudas de dendezeiro o tratamento micorrizado nitrogenado foi o que apresentou o comportamento mais satisfatório.
- A interação de bactérias diazotróficas (estirpes padrões ou isolados de palmeiras) - fungos micorrízicos arbusculares não se mostrou satisfatória para a maioria dos parâmetros analisados tanto no ensaio de inoculação com mudas de pupunheira, como também para as mudas de dendezeiro.
- A inoculação individualmente de estirpes padrões de bactérias diazotróficas, ou de isolados de palmeiras não se mostrou satisfatória para a maioria dos parâmetros analisados tanto no ensaio de inoculação com mudas de pupunheira, como também para as mudas de dendezeiro.
- As estirpes padrões inoculadas conjuntamente com as bactérias diazotróficas oriundas de palmeiras contribuíram para uma melhoria de área foliar, conteúdo de nitrogênio nas raízes, peso da parte aérea seca, como também do diâmetro e altura das mudas de dendezeiro aos 270 dias de inoculação.
- Tanto as mudas de pupunheira como de dendezeiro apresentaram um grau elevado de dependência ao nitrogênio na fase da mudas.
- O fungo micorrízico arbuscular da espécie *Glomus clarum* utilizado no ensaio com a pupunheira em nenhum momento mostrou-se inferior à testemunha. Sendo em alguns parâmetros superior a esta.
- Os fungos micorrízicos arbusculares associados ou não às bactérias diazotróficas utilizadas no ensaio com as mudas de dendezeiro contribuíram para a melhoria da nutrição fosfática das mudas de dendezeiro.

- Os fungos micorrízicos arbusculares quando não associados às bactérias diazotróficas utilizadas no ensaio com as mudas de dendezeiro contribuíram para a melhoria da nutrição potássica das mudas de dendezeiro.

- Foi observado a ocorrência de bactérias diazotróficas nas raízes, mesocarpo e endosperma de frutos dos três genótipos de dendezeiros analisados (Dura Comum, Dupey e Tenera), e no genótipo de pupunheira (Alaranjada), provenientes da Estação Experimental Lemos Maia-Bahia.

10.0 LITERATURA CITADA

- AE. M.; ARIHARA, J.; OKADA, K.; YOSHIDA, T.; OTANI, T.; JOHANSEN, C. The role of piscidic acid secreted by pice on pea roots growth in an Alfisol with low - P – fertility. In: RANDAL, P.J. et al., (eds) **Genetic Aspects of Plant Mineral Nutrition**. Netherland: Kluwer. 1993, p 279-288.
- ALLEN, M.F. Phytohormone Action: An integrative approach understanding diverse mycorrhizal response. Bend Forest Research Laboratory ARS. **Abstracts of 6th North American Conference Mycorrhiza**, 1985, p 158-160.
- ALLEN, M.F.; SMITH, W.K.; MOORE Jr., T.S.; CRISTENSEN, M. Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal, *Bouteloua gracilis* (H.B.K.) Lag ex. **New Phytologist**, London: v.88, p.683-693, 1981.
- AMES, R.N. Nitrogen source and “A” values for VA micorrhizae and non mycorrhizal sorghum grown at three rates of N¹⁵ ammonium sulphate, **New Phytologist**, London: v.97, p. 269-276, 1984.
- AMES, R.N.; REID, C.P.P. ; PORTER, L.K.; CAMBARDELA, C. Hyphal uptake and transport of nitrogen from two N¹⁵-labelled sources by *Glomus mossae*, a vesicular-arbuscular fungus. **New Phytologist**, London: v.5, p.381-386, 1983.
- ANADAN, M.; KRISHNAN, P. Neen (*Azadiractha indica*) Response to inoculation with VAM fungi, *Azospirillum* and *Phosphobacter*. **Abstracts of International Symposium on Nitrogen Fixation with Non Legumes**, 7., Faisalabad, Paskitan: 1996. National Institute for Biotechnology and Genetic Engineering (NIBGE), 1996. p.26-27. Editores: Kauser A. Malik; Muhammad Sajjad Mirza.

- ARAÚJO, A.P.; ROSSIELLO, R.O.P.; SILVA, E.M.R.; ALMEIDA D.L. Growth analysis of tomato colonized with arbuscular mycorrhizal fungi. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas-SP: v.20, p.233-240, 1996.
- ARAÚJO, S.C. Produção e uso de inoculante no Brasil. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J.C., ed. **A Soja no Brasil**. Campinas: ITAL, 1981. p. 447-452.
- AZCON, R. Selective interaction between free-living rhizosphere bacteria and VAM fungi. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford: v. 21, p. 639-644, 1989.
- AZCON, R.; AZCON-AGUIAR, C.; BAREA, J.M. Effects on interactions of different culture fractions of phosphorobacteria and *Rhizobium* on mycorrhizal infection, growth and nodulation of *Medicago sativa*. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa: v. 24, p. 520-524, 1978.
- AZCON, R.; RUBIO, R. Interactions between different VA mycorrhizal fungi and *Rhizobium* strains on growth and nutrition of *Medicago sativa*. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam: v. 29, p. 5-9, 1989.
- AZIZAZAH C.; RAGU, P. Growth of Cacao (*Theobroma cacao* L.) seedlings to inoculation with VAM fungi. **Plant and Soil**, Dordrecht: v.96, p.279-285, 1986.
- BAATH, E.; SPOKES, J. The effect of added nitrogen and phosphorus on mycorrhizal growth response and infection in *Allium schoenoprasum*, **Canadian Journal of Botany**, Ottawa: v. 67, p. 3227-3232, 1989.
- BAGYARAJ, D. J. Biological interactions with VA mycorrhizal fungi. In: POWELL, C. L. ; BAGYARAJ, D.J., eds . **VA Mycorrhiza**. Boca Raton: CRC, 1984. p 131-154.

BAGYARAJ, D.J.; MENGE, J.A. Interaction between a VA mycorrhiza and *Acetobacter* and their effects on rhizosphere microflora and plant growth, **New Phytologist**, Oxford: v.80, p.567, 1978.

BALANDREAU, J. Comments on some aspects ecophysiological of the plant-microbe interactions. Relevants for their improvement. **Abstracts of International Symposium on Nitrogen Fixation with Non Legumes 7.**, Faisalabad, Pakistan: 1996. National Institute for Biotechnology and Genetic Engineering (NIBGE), 1996. p.22-23. Editores: Kauser A.Malik, Muhammad Sajjad Mirza and Ahmad M.Khalid.

BALDANI, J.I. Inoculation of field grown wheat (*Triticum sativum*) with *Azospirillum* spp in Brazil. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin: v.4, n. 1, p.37-40, 1987.

BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D.; SAMPAIO, M.J.A.M.; DÖBEREINER, J.. A fourth *Azospirillum* species from cereal roots. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro: v.56, n.3, 1984

BALDANI, V.L.D. **Efeito da inoculação de *Herbaspirillum* spp no processo de colonização e infecção de plantas de arroz e ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica.** Itaguaí-RJ: UFRRJ, 1996. 234p. Tese de Doutorado.

BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I.; DÖBEREINER, J. Identification and ecology of *Herbaspirillum rubrisulbacaens* and the closely related *Pseudomonas rubrisulbacaens*. **Symbioses**, Rehovot: v.13, p.65-73, 1992.

BALDANI, V.L.D.; ALVAREZ, M.A.B.; BALDANI, J.I.; DÖBEREINER, J. Characterization of *Herbaspirillum* spp. in the rhizosphere and in roots of field grown wheat and sorghum. **Plant and Soil**, Netherlands: v 90, p 35-45, 1986.

- BALI, M.; MURKRJ, V.G. Interaction between VA mycorrhizal fungi and root microflora of Jute (*Corchorus ollitorius*). **Dev - Agriculture - Manage - For- Ecol**. Amsterdam: Elsevier Society Publishing , Company, 1991, v 24 , p. 396-401
- BALOTA, E.L **Interação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares em Mandioca**. Itaguaí-RJ: UFRRJ, 1994. 280 p. Tese de Doutorado.
- BALOTA, E.L.; BALDANI, J.I.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de Bactérias Diazotróficas e de Fungos MVA na cultura da mandioca. **Resumos da Reunião Brasileira sobre Micorrizas, 4.**, 1991, Mendes (RJ). Itaguaí (RJ): EMBRAPA- CNPBS, UFRRJ, 1991. p.200.
- BALOTA, E.L.; FILHO, A. C.; LOPES, E.S.; HUNGRIA, M.; DOBEREINER J., Efeito dos fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas e bactérias diazotróficas no desenvolvimento e nutrição de plântulas micropropagadas de mandioca. **Resumos da Reunião Brasileira Sobre Micorrizas, 5**, 1994, Florianópolis. Florianópolis: ED,EME, 1994. p.99.
- BALOTA, E.L.; KANASHIRO, M.; HUNGRIA, M.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de Bactérias Diazotróficas e de Fungos Micorrízicos Arbusculares na cultura de Mandioca. **Resumos Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 24.**, 1993, Goiânia- GO. Goiânia: SBCS, 1993. v 3. ; p.361-362.
- BALOTA, E.L; CAMACHO, L. Efeito de Fungos micorrízicos vesículo arbusculares e bactérias diazotróficas plantas micropropagadas de mandioca sobre diferentes níveis de N e P. **Anais do Simpósio Brasileiro sobre Microbiologia do Solo, 3.**, 1994, Londrina. Londrina: IAPAR/EMBRAPA/CNPSO, 1994. p.404-407.
- BARCELOS, E.; PACHECO, A.R.; MULLER, A.A.; VIEGAS, I.J.M. **Dendê, Informações Básicas para o seu cultivo**. Brasília: 1987; p.1-10.

- BAREA, J.M. Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility. **Advances in Soil Science**, New York: v.15, p.1-40, 1991.
- BAREA, J.M.; AZCON-AGUILAR, C. Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen - fixing plant. **Advances in Agronomy**, New York: v.36, p.1-54, 1983.
- BAREA, J.M.; AZCÓN-AGUILAR, C. Production of Plant Growth Regulating Substance by the Vesicular - Arbuscular Mycorrhizal Fungus *Glomus mossae*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington: v.43, n.4, p.810-813, 1982.
- BAREA, J.M.; BONIS, A.F.; OLIVARES, J. interactions between *Azospirillum* and VA mycorrhiza and their effects on growth and nutrition of maize and ryegrass. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford: v.15, p.705-709, 1982.
- BECKING, J. Genus, *Beijerinckia* PERX, 1984. In: KRIEG, N.R.; HOLT, J.G., eds. **Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore: Williams, 1984. v.1. p.311-221.
- BELLONE, C.H. Incrementos de la atividade celulolítica en tejidos no diferenciados de cana de azucar cultivados " in vitro " e inoculados con dos especies de *Azospirillum* . **Revista Agronomica del Noroeste Argentino**, Tucuman: v.20, n 1-4, p.5-15, 1983.
- BELLONE, C.H.; BELLONE, S. Nitrogenase, Cellulase and Pectinase. Activity in Sugar Cane roots inoculated together with VA mycorrhiza and Nitrogen Fixing bacteria. **Abstracts of International Symposium on Nitrogen Fixation With Non-Legumes, 6.**, 1993, Ismailia. Ismailia: 1993. p.11.
- BELLONE, C.H.; BELLONE, S.C. de. Morphogenesis of strawberry roots infected by *Azospirillum brasilense* and VA mycorrhiza, NATO -Asi, Ser - G. ; **Ecolog.-Sci.** Berlin; New York : Springer - Verlag, 1995, v 37 , p 251-255.

- BELLONE, C.H.; CARRIZO, S.; PEDRAZA, R.O. Colonization of sugar cane root by *Acetobacter diazotrophicus* and FMA. **Abstracts of International Symposium Agriculture for the Tropics, the Role of Biological Fixation of Nitrogen**, 1995. p.204-209.
- BELONE, C.H.; BELLONE, S.C. Interactions citologicas de FMA y Bacterias fijadoras en nitrogen. **Resumos do Congresso Latino Americano de Ciência do Solo 13.; Reunião Brasileira de Biologia do Solo, 1.; Simpósio Brasileiro sobre Microbiologia do Solo 4**, 1996, Águas de Lindóia. Águas de Lindóia, SP: USP / SCLS/ SBCS, 1996. 1 Cd-Room.
- BERGER, K.G.; ONG, S.H. The industrial usus of palm and cocunut oils. **Oleagineux**, Paris: v. 40, n. 12, p.413-421, 1985.
- BERTHEAU Y.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Developpement et expression de L" association endomycorriziemme chez le ble; I- Mise en evidence d\ un effet varietal- An Amelion. **Plantes**, Paris: v.30, p.67-68, 1980.
- BIANCIOOTTO, V.; BANDI, C.; MINERERDI, D.; SIRONI, M.; TICHY, H.V.; BONFANTE, P. An Obligately Endosymbiotic Mycorrhizal Fungus It self Harborus Obbligately Intracelular Bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington: p.3005-3010, 1996.
- BLAL, B. ; MOREL, C.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; FARDEAV, J.C.; GIANINAZZI, S. Influence of VAM mycorrhizae on phosphate fertilizer efficiency in two tropical acid soils planted with micropropagated Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jaquim.). **Biology and Fertility of Soils**, Berlin: v.9, p.43-48, 1990.
- BLAL, B.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; RENARD, J.L.; GIANINAZZI, S. Recherches sur le role des endomicorrizes dans la croissance du Palmier a hulle - Actes du 112 , Congress National des Societes Savantes, **Sciences** , fasc. III, p. 103-113,1987.
- BODDEY, R. Green energy from sugar cane. **Chemistry and Industry**, London: 1993, p.355-358.

- BODDEY, R. M. ; VICTORIA, R. L. 1986. Estimation of biological nitrogen fixation associated with *Brachiaria* e *Paspalum notatum* using ^{15}N labelled organic matter and fertilizer. **Plant & Soil**, Dordrecht: v. 90, p. 265-292, 1986.
- BODDEY, R.M.; BALDANI, V..L.D.; DÖBEREINER, J. Effect of inoculation of *Azospirillum* sp on nitrogen accumulation by field grown Wheat. **Plant and Soil**, Dordrecht: p.109-121, 1986.
- BODDEY, R.M.; DOBEREINER, J. 1982. Association of *Azospirillum* and other diazotroph with tropical gramineae. In: Non Simbiotic Nitrogen Fixation and Organic Matter in The Tropics. New Delhi: Indian **Society of Soil Science**, p.18-47.
- BODDEY, R.M.; DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grass and cereals recent results and pespectives for future research. **Plant and Soil**, Dordrecht: v.108, p.53-65, 1988.
- BOLAN, N.S. A critical reviwew on the role mychorrhizal fungi in the uptake of phosphorous by plants, **Plant and Soil** , The Hague, v 134, n 2, p. 189-207, 1991.
- BOTELHO, S.M., VIEGAS, I. J. M.de , CORRADO, O.C.H.R. Efeito do N,P,K, sobre o crescimento nutrição e produção do dendezeiro, pg 25-27, trabalho 14. **Anais da Reunião Brasileira de fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, 21**. Petrolina –PE: SBSCS/EBRAPA-CPTASA, 1994, 444p.
- BOTELHO, S.M., VIEGAS, I.de; CORRADO, F.O.C.H. Comparação de fontes de adubos fosfatados e seus respectivos efeitos no equilíbrio da nutrição em K, Ca e Mg no Dendezeiro. p 62 , trabalho número 210. , **Resumos do Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 24**, Goiânia-GO: 1993, Cerrados: Fronteira Agrícola no século XXI, SBSCS, V3, p 361-362.
- BOTELHO, S.M.; SILVEIRA, R.I.; VIEGAS, I.M.J.; CONCEIÇÃO, H. ; OLIVEIRA, R.P. Exportação de micronutrientes pelo dendezeiro, em função da idade, nas condições de

- Tailândia-PA. **Resumos expandidos do Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 25**, SBSCS, p. 1789, 1239-1241, Viçosa-MG: 1995.
- BOVI, M.L.A.; GODOY JUNIOR, G.; SAES, L.A. Pesquisa com gêneros *Euterpe* e *Bactris* no I.A.C. **O Agrônomo**, Campinas: v 39 (2), 1987. 174p.
- BOWEN G.D. ; SMITH S.E. The effect of micorrizae on nitrogen uptake by plants. In CLARK F. E. & ROSSWALL T. (eds) *Terrestrial Nitrogen Ayeles Processes Ecosystems Strategies and Management Impact* Stockholm Swedish, **Natural Science Research** Council; 1981, p. 237-247. (Buletin Ecological, n 38).
- BREMER, J.M. Total nitrogen. In BLACK, C.A. ed. *Methods of soil analysis*, Madison: **American Society of Agronomy**, 1965, p. 1149-1178.
- BROW, R.W.; SCHULTZ, R.C.; KORMANIK, P.P. Response, P response to VA endomycorrhizal sweetgum seedlings to three nitrogen fertilizers. **Forest Science**, Washigton: v. 27, p 413-420, 1981.
- BROWN, M.E. ; CARR G.H. Rothamsted, **Explt Station**, Report, Part 1, 189 p, 1975.
- BULLOW, J.F.W. VON, ; DOBEREINER, J. 1975. Potential for nitrogen fixation in maize genotypes in Brazil. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 72: p. 2389-2393.
- BUWALDA, J.G. ; GOH, K.M. Host-fungus competition for carnion as a cause of growth depressions in vesicular-arbuscular mycorrhizal regrass. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford: v 14, n 2, p 103-106, 1982.
- CANTARELLA, H.; BOVI, M.L. Extração e Reciclagem de Nutrientes em plantas de Pupunha, **Resumos expandidos Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 25**., SBSCS, v 4, 1158 p, 788-789, Viçosa MG: 1995.

CARDOSO, J. B. N.; ANTUNES E., SILVEIRA V.; OLIVEIRA, M.H.A.; Eficiência de fungos micorrízicos arbusculares em porta enxertos de citrus. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas SP: v.10: p. 25-30, 1986.

CARLETTE S.,E.R.;LORENTE L. BERTA. Inoculation en plantas micropropagadas de portainjerto de manzano en la etapa de aclimatation. **Resumos do Congresso Latino Americano de Ciência do Solo 13**; Reunião Brasileira de Biologia do Solo, 1º) Simpósio Brasileiro sobre Microbiologia do Solo 4, 1996, Águas de Lindoia SP: Resumos: USP / SCLS/ SBCS, 1996, Cd Room.

CARPANEZZI, A.A. ; CARVALHO, P.E.R. Espécie Florestais com associações simbióticas promissoras ou indicadas para plantio no sul do Brasil . **Anais do Seminário sobre Atualidades e Perspectivas Florestais e Microrganismos para o aumento da Produtividade Econômica dos Reflorestamentos**, 1982, EMBRAPA-URPFCS, p 53-65, (EMBRAPA-UPFCS, Documentos 12)

CARVALHO, J.G. de ; MATOS, A.O. de ; GUERREIRO, J.B. ; VARGAS, J.A. Relação Cl:S em pupunheira cultivada em areia e solução nutritiva; **Resumos expandidos do Congresso Brasileiro de Ciência do solo**, 25, SBCS, 1157 p ; p1023-1025, Viçosa MG: 1995.

CARVALHO, P.C.L. Estudos sobre a afinidade entre fungos micorrízicos arbusculares e mandioca (Cultivar cigana preta). **Revista Brasileira de Mandioca**. Cruz das Almas; v. 3: p 83-89, 1984.

CHAMBERS, C.A.; SMITH S.E.; SMITH, F.A. Effects of ammonium and nitrate ions on mycorrhizal infection, nodulation and growth of *Trifolium subterraneum*, **New Phytologist**, Oxford: v 85: p. 47-62, 1980.

CHATURVERDI, C. ; SINGH, R. Response of Chickpea to inoculation with *Rhizobium* and VAM fungi. **Proceeding National Academy of Science**, India: v 59, p 443-446, 1989.

CHU E.; BOTELHO, S.M.; Comportamento de mudas de dendê (*Elaeis guineensis* Jaquim.) inoculadas ou não, em condições de campo. **Programas e Resumos da IV Reunião Brasileira sobre Micorrizas**. Itaguaí-RJ : EMBRAPA- CNPBS, UFRRJ, p 146, 1991.

CHU E.Y. Efeito de inoculação de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares e níveis de nutrientes de dendê durante a fase de viveiro. **Programas e resumos da Reunião Brasileira sobre Micorrizas, 2**. Piracicaba –SP: 104 p, p 34, 1989 b

CHU, E.Y. Efeito de inoculação de fungos micorrízicos vesiculo-arbusculares e níveis de nutrientes em Dendê durante a fase de pré viveiro. **Programas e resumos da . Reunião Brasileira sobre Micorrizas. 2**; Piracicaba-SP: 104 p; p 33, 1989 a

CHU, E. Y. 1987. Efeito da micorríza arbuscular endofítica no crescimento e absorção de nutrientes de Dendê (*Eleais guineensis* Jaquim.) tipo Tenera e do híbrido (*Eleais guineensis* x *Eleais oleifera*) na fase de pré-viveiro. **Programa e resumos da Reunião Brasileira sobre Micorrizas, 2**. São Paulo-SP: p 35.

CLARK, A.G. Indole acetic production by *Agrobacterium* and *Rhizobium* species. **Microbios**, Cambridge: v 11, p 29-35, 1974.

COIC Y. ; M.C. LESAINT M.C., 1971. The equilibrium between potassium and other cations in the organs of higher plants. IPI **Colloquium Potassium in Biochemistry and Physiology International**. Potash Institute CH 3000, Bern: 142, Switzerland.

COOPER, K.M.; Physiology of VA mycorrhizae In. POWELL C.L. B ; BAGYARAJ D.J. ed. **VA Mycorrhizal**, p 165-166. CRC Press, Inc. Boca Raton: 1984.

- COOPER, K.M.; Physiology of VA mycorrhizal associations . In **VA Mycorrhiza**. Eds, by C.L. POWELL ; BAGAYARAJ , 1994; p 155-186. CRC, Press, Flórida.
- COOPER, K.M. ; **Physiology of mycorrhiza vesiculo-arbuscular association**. In POWELL, C.L. ; BAGYARAJ, D.I.; eds. Florida: CRC, Press inc, 1984, p 155-186
- CORNET, F., DIEM, H.G.; DOMMERGUES, Y.R. de l'inoculation avec *Glomus mosseae* sur la Croissance d *Acacia holosericea* en pépinière et après transplantation sur le terrain . In Les Mycorrhizae, **Biology et utilisation**, Dijon: INRA., p 287-93 (les colloques de , INRA número 13), 1982.
- CRAVO M.S.; MORAES C.R.A.; CRUZ, L.A.A. **Extração de nutrientes por palmito pupunha**, p. 624, 1996.
- CROSSMAN, S.M.HILL,W.Inoculation of sweet potato with *Azospirillum*. **Hort Science**, Alexandria: v 22, p. 420-422, 1987
- CRUZ D.C.; PACHECO R.G., CARDOSO A.A., MARTINEZ P.H., BOVI M.L. , BARROS N.F., Efeito do alumínio sobre a composição mineral de mudas de pupunheira. **Resumos do Congresso Latino-Americano de Ciência do Solo, 13, Reunião Brasileira do Solo, Simposio Brasileiro sobre Microbiologia do Solo, 4**, 1996, Águas de Lindoia SP; Águas de Lindoia, USP/ SCCS/SBCS, 1996 , CD-Room.
- DAFT, M.J.; NICOLSON, T.H. Effect of *Endogone* mycorrhiza on plant growth. **The New Phytologist**, Oxford; v 65, p 343-350, 1966.
- DAY, J.M., DOBEREINER J. , Physiological aspects of fixation of nitrogen by *Spirillum* from *Digitaria* root. **Soil Biology and Biochemistry** , Oxford: v 8, p 45-50, 1976.
- DEAL, D.R.; MAI. W. F.; BOOTHROYD, C.W. A survey of biotic relationships in grape replant situations. **Phytopathology**. May, 1972, v.62: p. 503-507.

- DEAN, K.G. **Response of Citrus seedlings, Tomato, Pepper and Sweet Potato, plants to inoculation with endomycorhyzal fungi**, Illinois: University of Illinois at Urbanchampaign , 1972, Tese de Doutorado.
- DE-POLLI,H.; DOBEREINER J. et al. A Biologia do Solo na Agricultura. Itaguaí -Seropédica RJ: EMBRAPA/UAPNPBS, 1988, 48p. (**Documentos**, 5).
- DIAS, L.E. ; FARIA, S.M. ; Deficiências nutricionais em *Acacia mangium*.. **Anais da Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas**, PCB, SBCS, 1992, p 26-31, 226 p.
- DIDONET, A.D.; RODRIGUES, O. e KENNER, M.H.; Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília-DF: v 31, n 9, p 645-651, 1996.
- DOBEREINER , J.; NETO J.S.A. ; ARKOLL, D. B. ; Energy alternatives from agriculture , **Pontifica and Academiae Scientivm Scripta Varia**, Roma: v 46, 457p, pg 437-449 pg, 1992.
- DOBEREINER J. ; BALDANI, J. I., 1982. Bases científicas para uma Agricultura Biológica. **Ciência e Cultura**, 34: 869-880.
- DOBEREINER J. ; SALOMONE I. Fixação Biológica do Nitrogênio na Cultura do Milho In: **Simpósio Internacional sobre Estresse Ambiental** : O milho em perspectivas 1: 1992. Belo Horizonte: EMBRAPA/CYMMYT, 1995, p 281-294.
- DOBEREINER J. ; REIS V.M. ; CAZARINI A.C. New N_2 fixing bacteria in associations with cereals and sugar cane in BOTHE , H.BRUIJN, F.J. NEWTON W.E. eds . Nitrogen Fixation : Hindreded years After . **Procedings of the 7 th inc of FBN** , Kok , March 13 -20 . 1988 , FINHER , Stugart : p 712-722.

DOBEREINER J. Recent changes in concepts of plant bacteria interactions endophytic N₂ fixing bacteria. **Ciência e Cultura**, São Paulo: 44, 310-313, 1992.

DOBEREINER J., BALDANI V.L.D. BALDANI J.I. **Como isolar e identificar Bactérias Fixadoras de Nitrogênio** em não leguminosas. Brasília DF: EMBRAPA-SPI : Itaguaí RJ, EMBRAPA-CNPAB, 1995, 60 p , p 11-35.

DOBEREINER J., DAY J. M. Associative symbioses in tropical grasses ; characterization of micro-organismos and dinitrogen fixing-sites, In Newton W.E. Nyman eds **Nitrogen Fixation Pulman** : University of Press ,1976, p 518-538.

DOBEREINER, J.; Influence of environmental factors on occurrence of *Spirillum lipoferum* in soils and root . In: GRANHALL, V. Ed. Environmental Role of Nitrogen Fixing Blue-Green Algae and Asymbiotic Bactery, Stockolm, **Science Reserarch Council**, p 343-352, (Ecology Bulletins, 26), 1978.

DOBEREINER, J. Recent changes in concepts of plant bacteria interactions: soils and roots. In Granhhall, Endophytic N₂ fixing bacteria. **Ciência e Cultura** , 1986.

DOBEREINER, J. ; DAY, J.M. **Associative symbioses in tropical grasses; characterization of micro organismos and dinitrogen fixing sites**, In: Newton W.E. Nyman eds. Nitrogen Fixation Pulman: University of Press, 1976, p 518-538.

DOBEREINER, J. 1987, Nitrogen-fixing bacteria in non leguminous . Crop Plants, 155p, Brock 15 pringer. **Series in Contemporary Biosciencies**. Tech, publishers, Madison.

DOBEREINER, J. 1988, Isolation and identification of root associated *diazotrophs*, **Plant and soil**. Kluwer Academic Publishers, 110, 207-212.

DOMMERGUES Y. ; MANGENOT F. **Ecology Microbianne du sol** , Paris: Masson et Cia, 1970.

- DUPONNOIS, R.; GARBAYE, J. Some mechanisms involved in growth stimulation of ectomycorrhizal fungi by bacteria. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa: v 68, p 2148, 1990.
- EIRA, A. F. Solubilização microbiana de fosfatos, **Microbiologia do Solo**, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 341 pg, 243-255, Campinas SP: 1992
- EI-RAHEEM, A.; SHANSHOURY, R.; HANSSAN, M. A. ; ABDEL-GHAFFAR, B. A. 1989. of plants **Synergistic effect of vesicular-arbuscular and *Azotobacterh croococumon* the growth and the nutrient contents tomato**. *Phyton*.
- EL-RAHEEM; A.E.L. SHANSHOURY, R.HANSSAN M.A: ABDEL-GHAFFAR B.A. Synergisc effect of VAM fungi and *Acetobacter chroocum* on the growth and the nutrient contents of tomato. **Plants Phyton** Austria: 29: 203-212, 1989.
- EMBRAPA-CENARGEM (Brasília DF) Palmeiras Nativas, da poesia para a economia , **Cenargem Informa** , número 5, p 3 , 1990.
- EMBRAPA-EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos, (Rio de Janeiro, RJ). **Manual de Métodos de Análise de Solos**. Rio de Janeiro: SNLCS,1979.
- ENGLELSTAD O.P. ; ALLEN, S.E. 1971 Effect of form and proximity of added nitrogen on crop uptake of phosphorus. **Soil Science**, 112 : 330-337.
- EZETA, F,N., SANTOS, O.M. Benefício da introdução de endomicorriza eficiente na utilização de nutrientes em Latossolos do sul da Bahia, **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas SP: v 4, p 13-17, 1980.
- FALLIK E. OKON Y. EPSTEIN E. , GOLDMAN A.A. FISHER M. Identification and quantification of IAA and IBA in *Azospirillum brasilense* inoculated maize root. **Soil Biology & Biochemistry** , Oxford: 21, 147-153, 1989.

- FALLIK, E.; OKON, Y. FISCHER M. The effect of *Azospirillum brasilense* inoculation on metabolic enzyme activity in maize roots seedlings **Symbioses**, Rehovot: 6 : 17-28, 1988.
- FERNANDES, M.S.; ARRÉLAGA, L.E.; SANTOS, G.A. Fontes de nitrogênio, absorção e distribuição de fósforo em milho. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília-DF: v 1, n 15, p 79-84, 1980.
- FERREIRA A. C., K .COZZOLINO, A. R. V. DE CARVALHO & J. DOBEREINER. Isolation and Characterization of Diazotrophic Bacteria in Oil Palm tree. **Abstracts of International Symposium on Sustainable Agriculture for Tropics**, Angra dos Reis – RJ: 1995; V. 1; 249, p 210-212.
- FERREIRA A.C.; COZZOLINO K.; DOBEREINER, J.; Identificação de Bactérias Diazotróficas colonizando raízes e colmos de dendezeiro. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro-RJ: 1997; v 69 (1).
- FERREIRA, A. C.; COZZOLINO, K. ; DOBEREINER, J. 1994. Ocorrência de bactérias fixadoras de nitrogênio em palmeiras oleaginosas. **Resumos do Simposio Brasileiro sobre Microbiologia do Solo**, 3 Londrina- PR: p. 76.
- FERRI, M.G. **Fisiologia Vegetal 1**; Volume 1; São Paulo; EPU, USP, 362, 1995.
- FRANCIS R. ; READ D.J. Direct transfer of carbon between plants connected by vesicular-arbuscular mycorrhizal micelium ;**Nature**, London: 307 : 53-56, 1984.
- FRANCO A.A. ; M.C.P. NEVES, Fatores limitantes à fixação biológica do nitrogênio In: **Microbiologia do Solo**, p 219-230. CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI S.M. e NEVES M.C.P.; SBCE, Campinas- SP: 360 p, 1992
- FRANCO, A. A.; SIQUEIRA, J.O., **Biotechnologia do Solo, Fundamentos e Perspectivas**, primeira edição, 222 p , p 166-167, Lavras MG: 1988

- FREDEEN, A.L.; RAO, I.M.; TERRY N. Influence of phosphorus nutrition on growth and carbon partitioning in *Glycine max*, **Plant Physiology**, Madison: v 89, 432 p; p 225-230, 1989.
- GARBAYE, C.; 1991,.Biological Interactions in the Mycorrhizosphere, **Experientia**, v 47: p 370-375.
- GARCIA-SALOMONE, I.; 1993; **Influência de las bacterias do gênero *Azospirillum* en el rendimiento y nutrition nitrogenada del cultivo de maize**. Msc Thesis, Escuela p/ graduados, Facultad de Agronomia, Universidad de Buenos Aires.
- GARCIA-GARRIDO, J.M.; OCAMPO, J.A.; Interactions between *Glomus mossae* and *Erwinia carotovora* and its effects on the growth of tomato plants. **The New Phytologist**, London: v 110, p 551-555, 1988
- GASKINS & HUBBEL, **Response of non legum plants to root inoculation with free living diazotrophic bacteria**, 1979. In: The soil root interface, p 175-182, 1979.
- GERDEMANN, J. W. ; VAM and plant growth. **Review Phytopathology**, Palo Alto: v 6: p. 397-418, 1968.
- GERDEMANN, J.W. ; NICOLSON, T.H.; 1963 Spores of Mycorrhizal edogone species extracted from soil by wet sieving and decating. **Trans. Br Mycology Soc.**, v 46, p. 235-246.
- GERDEMANN, J.W.; 1964. The effect of mycorrhiza on the growth of maize. **Mycologia**, v 56: p 342-349.
- GERMEK, E.B.; A cultura experimental da pupunha no Estado de São Paulo. **Anais do Congresso Brasileiro de Fruticultura**.v 4, 1977. Cruz das Almas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1978. p. 409-11

- GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Influence of increasing soil phosphorus levels on interactions between VAM and Oil Palm African. **Journal of Botany**, London: v. 58:220-205, 1980.
- GIANINAZZI-PEARSON, V.; Mycorrhizae: A potential for better use of phosphate fertilizer, **Fertilizer and Agriculture**, Dijon: n 92, p 3-12, jun 1986
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B.; An evaluation of techniques for measuring VA Mycorrhizal infection in root. **The New Phytologist**, London: v 84, p. 489-500, 1980.
- GOMES, F.P.; ALVIM, P.T.; Exigências Nutricionais da pupunheira em solos representativos do sudeste da Bahia, **Resumo Expandido do Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, 25, SBSCS, 1157 p; p. 918-919, Viçosa MG: 1995
- GOMES, J.A. , 1967. **Agricultura Tropical** Vol XXIII, n 3; Março 1967.
- GORI, A.; FAVILLI , F. First results on individual and dual inoculation with *Azospirillum* - *Glomus* on Wheat. NATO-ASI-Ser- G.: **Ecology-Sci**, Berlin: NY, Springer - Verlag, 1995 , v 37, p 245-249.
- GRACE, C. ; STRIBLEY, D.P.; A safer procedure for routine staining of vesicular arbuscular mycorrhizae fungi : **Mycology** , v 95, p 1160-1162, 1991.
- GRAHAM , J.H. ; LEONARD, R. T. ; MENGE, J. A.; Membrane mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular bacteria fixadoras de N₂ em palmeiras oleaginosas. In: Simpósio arbusculares mycorrhizas formation . **Plant Physiology**, Lancaster: v 68; p.548-552, 1981.
- GRUNES, D.L.; VIETS, F.G.; J.; S.H. SHIH, ; 1958, Proportionate uptake of soil and fertilizer phosphorus by plants, as affected by nitrogen fertilization. In: Growth chamber experiment **Soil Sci. Soc Am.** Proc. v 22; p 43-48.

- HADAS, R.; OKON, Y.; Effects of *Azospirillum brasilense* on morphology and respiration in tomato seedlings, **Biology and Fertility of Soils**, Berlin: v 5: p. 241-247, 1989.
- HALL, I.R.; 1978, Effect of vesicular - arbuscular mycorrhizas on two varieties of maize of sweetcorn. New Zealand: **Journal of Agricultural Research**, v 21; p. 517-519.
- HANSEN, F.; Establishment and Nitrogen Fixation of Ammonium - excreting *Azospirillum* in auxine induced para nodules of maize. **Abstract of 6 th International Symposium on Nitrogen Fixation with non - legumes**, Set. 6-10, 1987, Ismailia: Egypt, p. 64; 179 p.
- HARLEY, J.L.; SMITH, S.E.; **Mycorrhiza Symbioses**, London: Academic Press, 483 p; 1983.
- HAYMAN, D.S. ; MOSSE, B.; Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. III - Increased uptake of labile phosphorus from soil. **New Phytologist**, London: v 71: p. 41-47, 1972
- HEAP, A.J. ; NEWMAN, E.I.; The influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on phosphorus transfer between plants, **New Phytologist**, London: v 85 : p.173-179, 1980 **b**.
- HEAP, A.J. ; NEWMAN E.I.; Links between roots by hyphae of vesicular arbuscular mycorrhizae. **New Phytologist**, v 85 : p. 169-171; 1980 **a**.
- HILL, W. ; CROSSMAN, S.M.; Inoculation of seed potato with *Azospirillum* , **Hort Science**, Alexandria: v 22, p. 420-422, 1987.
- HILL, W.A.; MORTLEY, D.G.; CROSSMAN, S.M.; Fertilizer N independent and dependent sweet potato cultivars; **Abstract of 7 th Symposium of International Society for Tropical Root Crop**, GOISER (Guadeloupe) 1-6 July 1985, INRA , Paris: 1988.
- HILL, W.A. ; BACON, H.P.; CROSSMAN, S.M.; STEVEANS, C.; Characterization of nitrogen fixing bacteria associated with sweet potato roots, **Canadian Journal Microbiology**; Ottawa: v 29, p 860-862, 1983.

- HO, I.; Interactions between VA Mycorrhizal fungus and *Azotobacter* and their combined effects on growth of tall fescue. **Plant and soil**, Dordrecht: v 105, p 291-293, 1988.
- HOWELER, R.H. ; SIEVERDING, E.; SAIF, S.; Practical aspect micorrhizal technology in some tropical crops and pastures. **Plant and Soils**, Dordrecht: v 100, p 249-283, 1987.
- HOWELER, R.H.; CADAVID, L.F.; BUCKHARDT, E.; Response of cassava to VA mycorrhizal inoculation and phosphorus application in greenhouse and field experiments. **Plant and Soil**, The Hague, v 69, p. 327-339, 1982.
- HUNG, L.L.; SYLVIA, D.M.; O'KEEFE, D.M.; Isolate selection and phosphorus interaction of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in biomass crops. **Soil Science Society of America Journal**, Madison: v 51, p 762-768, 1990.
- HUNTER, W.; SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas** , Piracicaba SP: v 22, n. 3; p 233-243, 1975.
- ISOPI, R.; FABBBRI, P., DEL GALLO, PUPPI G. Dual inoculation of *Sorghum biocolor* with VA fungi and diazotrophs, **Symbioses** , Philadelphia: In: BALABAN Pub. , 1992, v 18 (1) , p 43 -55.
- JAKOBSEN, I.; ANDERSEN, A. J.; Mycorrhiza VA and growth in barley : Effects of irradiation and heating of soil, **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford: v 14, p 171-178, 1982.
- JAMES, E.R.; REIS, M.V.; OLIVARES, F.L.; BALDANI, J.I. ; DOBEREINER, J.; Infection on sugar cane by the nitrogen fixing bacterium *Acetobacter diazotrophicus*, **Journal of Experimental Botany**; Oxford: v. 45 ; n 275 ; p. 757-766; 1994.
- JANOS, D.P.; Mycorrhizae influence tropical succession. **Biotrópica**, Washington: v. 12, p 56-64, p 83-95, 1980.

JENKINS, W.R.; A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Dis. Rep.** ; Bettsville: 48 (9): p 692; 1964.

JIMÉNEZ-SALGADO,T.; FUENTES-RAMIREZ, L.E.; TAPIA, H.; MASCARVA-ESPARZA, M.A.; MARTINEZ-ROMERO, E.; CABELLERO-MELLADO, J. *Acetobacter* endophytic bacteria from *Coffea arabica* **Abstracts of International Symposium on Sustainable agriculture for Tropics**, Angra dos Reis-Brazil: 1995; v 1, 249 p , p 212-213.

KANDASAMY, D. ; PLANISAMY, D. ; OBLISAMIG, O P.; 1988. Screening of germoplasm of sweet potato for VA mycorrhizal fungal occurrence and response of VAM fungi and *Azospirillum* **Journal Root Crop** , v 14 : p. 37-42.

KAPULINK, Y.; OKON, Y.; HENIS, Y. Changes in roots morphology of wheat caused by *Azospirillum* cultivation, **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa: v. 31 : p. 881-887, 1985.

KAPULNIK, Y.; SARIG, S.; NUR, I.; OKON, Y.; The effect of *Azospirillum* inoculation on growth and yield of Corn. **Israel Journal Botany**, Jerusalem: v 31, n 1, p 247-255, 1982.

KAPULNIK, Y.; KIGEL, J.; OKON, Y.; NUR, I.; HENIS, Y. Effect of *Azospirillum* inoculation on some growth parameters and N-content of Wheat, Sorghum and Panicum. **Plant & Soil**. The Hague, v 61, n 1 : p 65-70, 1981.

KATO, O.R.; **Efeito de micorriza vesicular-arbuscular no crescimento e nutrição da Mandioca (*Manihot esculenta*) em solo adubado com doses crescentes de superfosfato triplo.** Lavras, ESAL: 1987, 177p. Tese de Mestrado.

KENNEDY, Y. I. R. ; Auxin-induced N fixing associations between *Azospirillum brasilense* and Wheat. **Abstract of 6th International Symposium on Nitrogen Fixation with non-legumes**, Set. 6-10, 1993, Ismailia, Egypt: p 11, 179 p.

- KLEINSCHMIDT, G.D. ; GERDEMAN, J.W.; Stunting of Citrus seedlings infumigated nurse soil related to the absence of endomycorrhizae, **Phytopathology**, v. 62, p. 1477-1453; 1972.
- KLYUCHIKOV, A.; KOZEUN P.A. Dynamics of *P. flouresciens* and *Azospirillum brasiliense* populations during the formation of VAM. **Microbiology**, NY: Consultants Bureau: Jan 1991, v 59 (4), p. 449-452.
- KLYUCHNIKOV, A. A.; KOZHEVIN, P. A.; Dynamics of *Pseudomonas flourescens* and *Azospirillum brasiliense* populations during the formation of the FMA. **Microbiology**, New York: v. 59, p. 449-452, 1990.
- KOLB, W. ; MARTIN, P. ; Response of plant to inoculation with *Azospirillum brasiliense* and to application of indole acetic in Klingmuller W. ed *Azospirillum*. **III Genetics physiology, ecology** , Spriger-Verlag, Berlin: 1985; p 215-221.
- KOSKE, R.E.; GEMMA, J.N.; A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas **Mycological Research**, Cambridge: v 92, p. 480-488; 1989.
- KRAVCHENKO, L. U. ; LEONOVA, E.I.; Effect of plant genotype on the response of auxins production by associated nitrogen fixers. **Abstract of 6 th International Symposium on Nitrogen Fixation with non-legumes**, Set. 6-10, 1993, Ismailia, Egypt: p. 111, 179 p.
- KRISHNA, K.R.; SHETTY, K.G.; DART, P.J.; ANDREWES, D.J.; Genotype dependent variation in FMA colonisation and response to inoculation of pearl millet, **Plant and Soil**. v.86: p.113-125; 1985.
- KRISHNAN, P.; KALAVATHI, B.P.; Influence of combined inoculation of *Azospirillum* and FMA (*Glomus fasciculatum*) on growth of Neem seedlings, **Abstracts of 7 th International Symposium on Bacteria Nitrogen Fixation with Non legumes**, Oct. 16-21, 1996, p 24-25, Faisalabad, Pakistan.

- LILY, V.G.; Note on the development of vesicular-arbuscular *Endogone fasciculatum* in root Coconut (*Cocos nucifera*) . **Curr. Sci.** ; 44 (6); p. 201-202; 1975.
- LIPMAN, J.G.; Soil bacteriological studies. Further contributions to the physiology and morphology of members of the *Azotobacter* sp groups. **Report of the New Jersey State Agricultural Experiment Station**, New Jersey: v 25, p 237-289, 1904.
- LOPES, E.S.; SIQUEIRA, J.O.; ZAMBOLIM, L.; Caracterização das micorrizas vesículo arbusculares e seus efeitos no crescimento de plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas-SP: v. 7, p 1-19, 1983.
- LOPES, E.S.; **Eficiência e especificidade das associações de microrganismos do tipo VA em gramíneas forrageiras e no cafeeiro**. Piracicaba: ESALQ (USP), 1980, 111p , Tese de Doutorado.
- LOPES, E.S.; SIQUEIRA, J.O.; ZAMBOLIM. L. ; Caracterização das Micorrizas Vesículo-arbusculares e seus efeitos no crescimento de plantas, **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas: v.8; p. 1-19, 1983.
- LORENZI, H.; SOUZA. H.M.; MEDEIROS-COSTA, J.T.; CERQUEIRA, L.S.C.; BEHR N.V.; **Palmeiras no Brasil: exóticas e nativas** / Harri Lorenzi. 303 p. ; p. 2, Editora Plantarum, Nova Odessa, SP: 1996.
- MAGALHÃES, F.M.; M. PATRIQUIN, D.; DOBEREINER, J. 1979 Infection of field grow maize with *Azospirillum* spp. **R. Brasileira de Ciência de Biologia**. v. 39: p. 587-596.
- MAGALHÃES, F.M.M.; DOBEREINER J. Ocorrência de *Azospirillum amazonense* em alguns ecossistemas da Amazônia. **Revista Microbiol.** São Paulo (SP): 15 (4): p. 246-252, 1984.
- MAGALHÃES, A.C.N.; **Análise Quantitativa do Crescimento**. In. FERRI, M.G., Coord., 2ª ed, rev. atual. São Paulo: EPU, p. 330-350; Fisiologia Vegetal, 1985.

MAGALHÃES, F. M. M.; 1981.; **Caracterização e distribuição de uma nova espécie de bactérias FBN.** Universidade de Manaus, INPA, Manaus-AM: (89 p.) Tese de Mestrado.

MAGALHÃES, F.M.M.; **Nitrogen-fixing bacteria isolated from diverse soils and grass roots in Amazônia.** In: Vose, P.B. & Ruschel, A.P., eds. Associative N₂ fixation. USA Press, vol. 2, p 37-46, 1981

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C. ; OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas. **Principios e Aplicações**; Piracicaba SP: Associação Brasileira para a pesquisa do potássio e do fosfato, 1989, 201p.

MALAVOLTA, E. 1976, **Manual de Química Agrícola-Nutrição de Plantas e Fertilidade do Solo.** Editora Agronômica CERES, São Paulo SP: Um enfoque agrícola para a nutrição mineral de plantas, 528 p.

MANJUNATH, A. MOHAN, R.; BAGYARAJ, D.J.; 1981. Interactions between *Beijerinckia mobilis*, *Aspergillus niger* and *Glomus fasciculatum* and their effects on growth of Onion. **New Phytologist**, v. 87 : p. 723-727.

MARSCHNER, H.; ROMHELD,V.; Mesurement of root-induced ph change at soil root interface. Effect of plant species and nitrogen source. **Planzem Pltshiology Bot.**, Stuttgart: v. 111; p. 241-251, 1983.

MATIN, G. ; PRIOUX L.; Les effets de la fumure phosphatée sur le palmier a huile ou Brésil. **Oléagineux**, Paris: 27 (7) :p. 351-4, juil,1972.

MATOS, R.M.B. ; SILVA, E.M.R. da ; Effect of inoculation by FMA on the growth of micropropagated pineapple plant , **Fruits**, 1996, v 51, p 115-119, El sevier, Paris-France.

MATOS, R.M.B. ; SILVA; E.M.R. ; CARVALHO A. C. P.; 1994. Fungos micorrízicos vesículo arbusculares e bactérias FBN em plantas micropropagadas de batata inglesa (*Solanum*

Tuberosum L), variedade Achat. **Programas e Resumos da V Reunião Brasileira de Micorrizas**, Florianópolis SC.

MATOS, R.M.B.; **Fungos micorrízicos arbusculares em plantas micropropagadas de Abacaxizeiro, Bananeira e Batata Inglesa**. Seropédica-RJ: 1995, 107 p, Tese de Mestrado.

MAY, E.B.; Early manuring experiments on oil palms in Nigeria. Journal of the West African Institute for **Oil Palm Research** 2 (5): p. 47-72, 1956.

MENGE, J.A., 1983 Effects of Soil fumigants and fungicides on VAM fungi. **Phytopathology**, St. Paul: v 72, p. 1125-32, 1982.

MENGE, J.A., DANIS, R.M.; JOHNSON, E.L.U. ; ZENTMY, G.A.; MA fungi increase growth and reduce, trought injury in avocado. California, **Agriculture**, Berkeley: v 02, p 6-7, 1978.

MILLER, M.H.; OHLROGGE O.; 1958, Principles of nutrient uptake from fertilizer bands : Effects of placement of nitrogen fertilizer on the uptake of band-placed phosphorus at diferent soil phosphorus at diferent soil levels of phosphorus, **Agronomy Journal**, v. 50: p. 95-97.

MIRANDA, C.H.B.; BODEY, R.M.; Estimation of biological nitrogen fixation associated with 11 ecotipes of *Panicum maximum* grown in nitrogen 15 labelled soil , **Agronomy Journal**; Mandison: v. 79: p. 558-563, 1987.

MOAWAD, M.; Nutzung der vesikular-arbuscular mykorrhiza in tropisachem Pflanzenbau-Ang. **Botany**, v. 53: p. 99-109, 1979.

MOHAN, S.; PRASAD, K.G.; GUPTA, G.N.; Fertilizer response to selected social forestry species under varyng soil texture. **The Indian Forester**, New Deli: v 116, n 1, p 49-57, jan 1990.

MONTEIRO, E.M.da S.; **Respostas de leguminosas arbóreas com *Rhizobium* e fungos micorrízicos vesículo arbusculares em solos ácidos.** Itaguaí RJ: UFRRJ, 221p, Tese de Doutorado, 1990.

MORTON, J.B.; BENNY, G. L. **Classification of Vam , fungi (Zygomycetes) a new order, glomales, two new suborders , Glomineae and Gigasporineae, and two families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae with an emendation of Glomaceae,** Mycotaxon , Ithaca: v 38, p 471-491, 1990.

MOSQUIM, P.R., CORDEIRO, A.T., ZAMBOLIM, L.,; BELLEI; M.M. ; NEVES J.C.L. Influência do alumínio sobre o crescimento e a micorrização *do Sylosatnthes guianensis* associado a *Rhizobium*. **Anais of 1 ed. Reunião Brasileira de Micorrizas,** 251 p, p.145, Lavras- MG: 1986

MOSSE, B.; Advances in the study of VA mycorrhizal. **Manual Review of Phytophatology,** Palo Alto: v. 11, p 171-196; 1986.

MOSSE, B.; The role of mycorrhiza in phosphorus solubilization, Giam IV **Abstracts of 4, Global Impacts of th International Conference,** São Paulo –SP: Brasil , 1973.

MOSSE, B., Advances in the study of VAM . **Annual Review of Phytophatology applied Microbiology** Palo Alto: v 11, p. 171-196, 1986.

MOSSE, B.; The regular germination of resting spores and some observations on the growth requirements of an *Endogone* sp causing vesicular-arbuscular mycorrhiza. **Transactions of the Bristh Mycological Society,** London: v. 42, p 273-286, 1959.

MUNNS, D.N.; FRANC,O A.A.; **Soil contrains to legume production.** In. GRAHAM, P.H.; HARRIS, S.C.; eds. Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture, Cali: CIAT, 1982. p. 133-152

- MURATA Y.; MATSHUSHIMA S. Rice In: EVANS L.I. (eds). **Crop. Physiology** Some Case Histories. Cambridge University Press, Cambridge: p. 73-99, 1975.
- MURATA, Y.; OSADA, A.; Studies on the photosynthesis in rice plant. Proc. **Sci Soc.** Tokio-Japan: v. 27 : p.12-14, 1958
- MURATA, Y. Physiological responses to nitrogen in plant. In EASTIN J.D. HASKINS F.A. SULLIVAN C.Y. & VAN BAUEL C.H. M. **Physiological Aspects of Crop Yield**, ASA, p. 73-99, Madison : 1975.
- MURATA, Y.; Physiological responses to nitrogen in plants In: EASTIN, J.D.; HASKINS F.A.; SULLIVAN, C.Y. ; VAN BAVEL, CHM. Eeds. **Physiological Aspects of Crop yield**, ASA, p. 235-259, 1969.
- NEGI, M.; SACHDEY, M.S.; TILAK, K.V.B.R.; Influence of soluble phosphorus fertilizer on the interactions between a VA Mycorrhizal Fungi and *Azospirillum brasilenses* In: Barlet (*Hordeum vulgare*), **Bifertility Soils**, Berlin: Springer International, 1990, 10 (1), p 57 - 60.
- NELSON, C.E., 1987, The water relations of VA mycorrhizal systems . In: **Scofisiology of VA mycorrhizal Plants**. Ed. by G.R. SAFIR, p 71 - 92, CRC, Press, Flórida.
- NEWMAN, E.J.; A method of estimating the total lenght of root sample . **Journal of Applied Ecology**, Oxford: v. 3: p.139-45, 1966.
- NEYRA, C. A. ; DOBEREINER, J. 1977. Nitrogen fixation in Grasses. **Adv. Agronomia**, 29: p. 1-38.
- NIE, Y. F.; JIANG, Y. Nodulation and nitrogen fixation of *Ipomea batatas* induced by 2,4 D and inoculation with *Azospirillum*. **Abstracts of 7 th International Symposium on Bacteria Nitrogen Fixation with Non legumes**, Oct. 16-21, 1996, p 146 -147, Faisalabad, Pakistan.

O CAMPO, J. A. Micorrizas VA II. Effecto sobre el crecimiento de las plantas. An **Edafol. Agrobiolo**. Madrid: 39-1049-1069, 1980.

O'HARA, G.W. ; DAVEY, M.R.; LUCAS, J.A.; 1981, Effect of inoculation of *Zea mays* with *Azospirillum brasilense* strains under temperate condition : **Canadian Journal of Microbiology**, v. 27, p. 871-877.

OELMULLER O., et al., **Journal of Microbiology**. Methods, v.11: p. 73-84, 1990.

OKON, Y. *Azospirillum* as potential inoculant for agriculture. Trends in Biotechnology, **Essex** v .3; p. 223-228, 1985.

OLIVARES, F.L.; BALDANI, V.L.; REIS, V.M.; BUENO, F. BALDANI, J.I.; DOBEREINER, J.; Ecologia das bactérias diazotróficas endofíticas do gênero *Herbaspirillum spp* In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 26, 1993- Aracajú-Sergipe (Brasil);, **Fitopatologia Brasileira**, Brasília DF: v. 18; p. 313; 1993.

OLSEN, S.R.; COLE, C.V. ; WATANABE, F.S.; DEAN, L.A. **Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate** v.1: U.S. Departament of Agriculture, 1954. (Circular. 939).

OLSON, R.A.; DREIR, A.F., 1956. Nitrogen a key factor in fertilizer phosphorus efficiency soil. **Soil Sci. Soc. Am Proce.** v. 20: p. 259-514.

ONWUBUYA,I.I.; REMISON, S.U.; Frequency of potassium application to the palm (*Elaeis guineensis* Jaquim.); **Journal Nigery Institut Oil Palm Reserch.** 6 (24): 335-348 p., dec., 1983.

ORLANDO FILHO, J. HAAG; ZAMBELLO, H.P. Jr. E.; Crescimento e absorção de macronutrientes em cana de açúcar (variedade CB 41-76) em função da idade em solos de São Paulo. (**Boletim Técnico Plano-Açúcar**), Piracicaba- SP: 2: p.1-128, 1980.

- PACHECO, A.R.; TAILLIEZ, B.J.; VIEGAS, I.J. de; Resposta de N, P, K, Ca e Mg no desenvolvimento de mudas de Dendê (*Elaeis guineensis* Jaquim.) na região de Manaus-AM, **Boletim Técnico**, número 4, Belém-PA: EMBRAPA-UEPAE de Belém, 1987, 21p ; p. 11-13.
- PACHECO, R.G., CARDOSO, A.A.; MARTINEZ, H.P., BARROS, F.N., CRUZ, C.D., BOVI, M.L.; Efeito do alumínio sobre a eficiência de utilização e translocação de P e Ca e eficiência de enraizamento de mudas de pupunheira. **Resumos do Congresso Latino-Americano de Ciência do Solo**, 13, Reunião Brasileira do Solo, Simposio Brasileiro sobre Microbiologia do Solo, 4, 1996, Águas de Lindoia SP: Águas de Lindoia: USP/SCCS/SBCS, 1996 , CD-Room.
- PACHECO, A.R. ; TAILLIEZ, B.J.; SOUZA, R.L.R. ; LIMA, E.J. de Les deficiences minerales du palmier á huile (*Elaeis guineensis* Jaquim.) dans la region de Belém, Pará (Bresil). **Oleagineux**, Paris: 40 (6): p. 295-309. Juin, 1985 .
- PACOVSKY, R.S.; Influence of inoculation with *Azospirillum brasilense* and *Glomus fasciculatum* on sorghum nutrition. **Plant and Soil** , Dordrecht: v.110, p. 283-287; 1988.
- PACOVSKY, R.S.,; Diazotrophicus establishment and maintenace in the *Shorghum* - *Glomus* - *Azospirillum* associations. **Canadian Journal. Microbiology**; Ottwa: National Research Council of Canadian, Nov 1989, v 35 (11), p 977-981, 1989 **b**
- PACOVSKY R.S.; Metabolic diferences in *Zea mays* - *Glomus* - *Azospirillum*. Symbioses. **Soil Biology - Biochemistry**, Exeter: Pergamon Press, 1989 **a**, v 21 (7), p. 953 - 960.
- PASSOS, E.E.M.; Impacto sofrido pelo coqueiro após o plantio definitivo. II Mudas com 4 a 7 meses de enviveiramento, Aracajú (SE): EMBRAPA-CNPCo, 1987, 7 p. (**Boletim de Pesquisas 41**).

- PATRIQUIM, D.G. ; DOBEREINER, J.; Light Microbiology Observation of Tetrazolium-reducing Bacteria in the endorhizosphere of Maize and other Grasses. **Journal of Mycobiology**, Ottawa: v. 24, p. 734-742, 1978.
- PATRIQUIM, P.G.; DOBEREINER, J.; JAIN, D.K.; Sites and processes of associations between diazotrophs and grass; **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa: v. 29; p. 900-915, 1983.
- PAULA, M.A. ; DOBEREINER, J.; Crescimento micelial de *Gigaspora gigantea* in vitro: Efeitos de sacarose, fitohormônios, bactérias diazotróficas e células vegetais. **Programas e Resumos da IV Reunião Brasileira sobre Micorrizas**. Itaguaí-RJ : EMBRAPA- CNPBS, UFRRJ, p. 194, 1991.
- PAULA, M.A.; SIQUEIRA, J.O.; Influência da adubação fosfatada e de micorrizas arbusculares no desenvolvimento da Soja. **Anais da I Reunião Brasileira de Micorrizas**, 251 p , p 164, Lavras MG: 1986
- PAULA, M.A. de ; DOBEREINER, J.; SIQUEIRA, J.O.; Nutrição e produção de Batata Doce micropropagada e inoculada com fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas **Programas e resumos da II Reunião Brasileira sobre Micorrizas**. Piracicaba –SP: 104 p; p 36; 1989.
- PAULA, M.A.; REIS, V.M.; DOBEREINER, J.; Interactins *G.clarum* with *Acetobacter diazotrophicus* infection of roots and tops Sweet Potato, Sugar Cane and Sorghum Swewet. **Biology and Fertility of Soils**, Berlim: v 11, p 11-115, 1991.
- PAULA, M. A.; SIQUEIRA, J. O.; DOBEREINER J. 1993. Ocorrência de FMVA e de bactérias FBN na cultura da Batata-doce (*Ipomea batatas* L.). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.17: p.349-356.

- PAULA, M.A.; SIQUEIRA J.O.; Efeito da umidade do solo sobre a simbiose endomicorrízica em Soja II, crescimento, nutrição e relação água-plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas SP: v 11, p 289-293, 1987.
- PAULA, M.A.; **Germinação e crescimento micelial de esporos de FMA na presença de calos e suspensão de células vegetais in vitro**. Lavras (MG): ESAL, 1988, 128p Tese de Mestrado
- PAULA, M.A.; **Interação de fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas em Batata doce**, Itaguaí-RJ: UFRRJ, 1992, 168 p, Tese de Doutorado
- PAULA, M.A.; URQUIAGA, S.; SIQUEIRA, J.O.; DOBEREINER, J.; Synergistic effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and diazotrophic bacteria on nutrition and growth of sweet potato. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin: v.14, p. 61-66:1992.
- PAULINO, V.T.; BAREA, J.M.; AZCON, R.; Papel das micorrizas arbusculares na nutrição mineral de Trevo e Azevém. **Programas e Resumos da I Reunião Brasileira de Micorrizas**, 251 p, p 172, Lavras-MG, 1986.
- PEDERSEN, W.L.; CHAKRABARTY, K.; KLACAS, K.R.V.; VIVAVER, K.; Nitrogen fixation, associated with , roots of Wheat and Sorghum. In: **Brassics, applied and Environmental, Microbiology**, Washington: v 35, p. 129-135; 1978
- PEREIRA, E.G.; SIQUEIRA, J.O.; VALE, de F.R.; MOREIRA, F.M.; Influência da fertilização nitrogenada mineral no crescimento e colonização e micorrização de mudas de árvores . **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília-DF: v 31, n 9, p 653-662, 1996.
- PEREIRA, J.A.R.; CALVACANTE, V.A.; BALDANI, J.I.; DOBEREINER, J.; Field inoculation of sorghum and rice with *Azospirillum spp* and *H. seropedicae* , In. SKINNER, F.A.; BODDEY, R.M.; FENDRIK H.; In. Ed. Nitrogen Fixation with non-legumes. Dordrecht: Academic, 1989, p 219-224 , **Plant and Soils**, v 10, p 269-274, 1988.

- PEREIRA, J.A.R.; BALDANI, J.I.; Selection of *Azospirillum* sp and *Herbaspirillum seropedicae* strain to inoculate rice and maize plants. **Abstracts of International Symposium on Sustentable agriculture for Tropics**, Angra dos Reis-Brazil: 1995, v 1, 249 p , p 79
- PIGGOTT, C.J.; The manuring Oil palms (*Elaeis guineensis* Jaquim.) developpment in Malasia. **Proceeddings of the first Malaysia oil palm conference Kuala Lumpur**. Malasia: 132 p, 1968.
- PISHCHIK,V.N.; CHERYAEUA, I.I.; KOZHEMAYKOV,K.; Effect of inoculation with nitrogen-fixing *Klebsiella* on potato yeld : **Abstracts of 7 th International Symposium on Bacteria Nitrogen Fixation with Non legumes**, Oct. 16-21, 1996, p. 88-89, Faisalabad, Pakistan.
- POWELL, C.L.I.; Mycorrizae. In hill country soil. II Effects of several of mycorryza fungi on clover growth in stereliser soils New Zealand. **Journal of Agriculture**. Welligton: 20: p. 59-62, 1977.
- PRICE, N.S.; RONCADORI, R.W., HUSSEY, R.S. Cotton root growth as influenciend by phosphorus nutrition and MA fungi, **The New Phytologisthy**, Cambridge: v 111, p 61-66, 1989.
- PURSEGLOVE, J.W.; **Tropical Crops, dicotyledon and monocotyledons, longmans**, London: 1968.
- RAJU, P.S.; CLARK, R.B.; ELLIS, J.R.; DUNCAN, R.R.; MARAVILLE, J.W.; Benefit and Cost Analyses of Phosphorus Efficiency of VA, Mycorrhizal Fungi Colonizations with Sorghum Genotype Grown at Varius Phosphorus Levels. **Plant and Soils**. The Hauge, v 124. p. 199-204, 1990.
- RAMOS, J.A.P.; **Bactéria Diazotróficas e Fungos Micorrízicos arbusculares em diferentes genótipos de milho (*Zea mayes* L.)**, Lavras MG: UFLA 1995, 60 p: Tese de Mestrado.

REIS,V.M; **Aspectos ecológicos e fisiológicos da bactéria fixadora de nitrogênio *Acetobacter diazotrophica*** , UFRRJ , Itaguaí- RJ: 1991, 119 p, Tese de Mestrado

RENÓ, N.B.; **Requerimentos nutricionais e resposta ao P e espécies de fungos micorrízicos vesículo arbusculares nativas do sudeste do Brasil**, Lavras-MG: ESAL, 1994, 62 p, Tese de Mestrado.

REYNDERS, L.; VLASSAK, K.; Use of *Azospirillum brasilense* as fertilizer intensive in Wheat cropping . **Plant and Soil**, Dordrecht: v.66: p.217-223, 1982.

REYNDERS, L.; VLASSAK, K. **Nitrogen Fixing *Spirillum* species in Belgian**, Soils Agricultura, Piracicaba (SP): v 24, p 329-336, 1976.

ROBERTS O.N.; SMITH, W.K.P.M.; ROGGE, O.H.L.; KINCH, D. M.; 1954, Phosphorus utilizations by corn as afeted by placement and nitrogen and potassium fertilization. **Soil Science**.v. 77: p.219-220.

RODRIGUES, J.E.L.F.; OLIVEIRA, V.C.; COSTA, G.L.E. Efeito de níveis de N e P no desenvolvimento de mudas de Pupunheira, **Resumos expandidos Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, Cerrados: Fronteira Agrícola no século XXI** , v 3, p 111, p 43-44, Goiânia-GO: SBCS, 1993.

RODRIGUES, M.R.L. de; MALAVOLTA, E. E. CHAILLARD, H.; Produção do Dendezeiro em resposta à aplicação de fertilizantes nas condições dó médio amazonas. **Resumos da XXII Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas**, 21-26 de Julho de 1996 a, p. 439-440, Manaus AM.

RODRIGUEZ, M.R.L.; MALAVOLTA, E.; CHAILLAERD, P.; Nutrição Mineral do Dendezeiro nas condições do médio amazonas, **Resumos expandido do Congresso Latino-Americano de Ciência do Solo, 13, Reunião Brasileira do Solo, Simposio Brasileiro sobre**

Microbiologia do Solo, 4, 1996, Águas de Lindoia SP; Águas de Lindoia: USP/SBCS, 1996
b, CD-Room.

RODRIGUEZ, M.R.L. de; MALAVOLTA, E.; CHAILLARD. Nutrição mineral do dendzeiro nas condições do médio amazonas. **Resumos Expandidos do Congresso Brasileira de Ciência do Solo**, 25:, SBCS, v 4, 1158 p, Viçosa MG: 1995.

ROSENQUIST,E.A.; Fertilizer experiments on oil pals in Malaysia.I. Yield dada. **J.West. Ins. Oil Palm Res**; Benin City, 3 (12): p.291-301,1962.

RUIZ, P.O.; El de las micorrizas en pijuayo (*Bactris gasipaes* H.B.K.). **Anais do Congresso Internacional sobre a biologia, agronomia e industrialização del Pijuayo**, 4; Iquitos: 1993, Universidad Costa Rica, 1993, p. 127-134

SAGGIN JUNIOR, O.L.; SIQUEIRA, J.O.; GUIMARÃES, P.T.; OLIVEIRA E. Colonização do cafeeiro por diferentes fungos micorrízicos arbusculares: Efeitos na formação de mudas e no crescimento em solo fumigado. **Rev. Bras. de Ciên. do Solo**, Campinas-SP: 19: p. 230-220, 1995

SANCHES, P. A.; SALINAS, J. B. 1980. Low-input technology for managing oxisols and ultissols in tropical America. **Advances in Agronomy**, 34: p. 279-406.

SCHENCK, N.C.; PEREZ, Y. **Manual for the idefication of VA Mychorryzal Fungi**, 2 edição, Copright, In Cam, University of Florida, 1989, 1453 p , p 215-230.

SCHONBECK, F. VAM Fungi and their interactions with other microrganismos, NATO-ASI, Ser, Ser. G. **Ecology. - Science**. Berlim, New York : Springer , Verlg, 1995, v 37, p 189 - 196.

SHAMSUDDIN, M. M.; O. ROHANI, ; A. W. ROSLINA,; C. N. HO; H. NORAZA ; P. M. CHALK;. Nitrogen Fixation by *Azospirillum* in Association with Oil Palm (*Elaeis*

guineensis Jaquim.) **Abstracts of International Symposium Sustainable Agriculture for Tropics**, Angra dos Reis - RJ: 1995; v. 1; 249, p. 232-233.

SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A.D.M.; Utilization index: A modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Journal. Plant Nutr.** New York: 4: p. 289-302, 1981.

SIEVERDING E.; TORO S.I.; Influence of soil water regimes on VAM fungi different species with Cassava. **Journal & Crop Science**, Mandison: 161, p. 322-332, 1988,

SIEVERDING E. ; GALVEZ, A.L.L. **Performance of different Cassava Clones with varius VA mycorrizal fungi**, Angewandte Botanik, Berlin: v 62, p. 273-282, 1988.

SIEVERDING, E. **Ecology of VAM fungi in tropical agrosystems agriculture and environment**, Amsterdam: v 29, n 1, p. 396-390, 1989.

SILVA, M.M.P.; REIS V.M.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M.; XAVIER, D.F.; DOBEREINER J.; Screening ecotypes *Penisetum purpureum* for Biological Nitrogen Fixation, **Abstracts of International Symposium on Sustentable agriculture for Tropics**, Angra dos Reis-Brazil: 1995, v 1, 249 p , p 236-337.

SILVA, E. M. R.; BOVI, M.L.A.; SILVA, L.R.C. da; SILVEIRA, A.P.D. da; SPIERING, S.H & JUNIOR GODOY, G.; 1994. Estabelecimento de mudas de palmitreiro (*Euterpe edulis*) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares. **Programa e Resumos da Reunião Brasileira sobre Micorrizas**, 5, Florianópolis-SC: p.35

SILVEIRA, A.P.; **Micorrizas**. In: Microbiologia do Solo, CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P.; SBCS, Campinas- SP: 360 p, 1992.

SIMÃO, J.W.; COUTO, H.Z.T. do; **Efeito da omissão de nutrientes na alimentação mineral do Pinheiro do Paraná (*Araucaria agustifolia* BERT.), cultivado em vaso.** IPET, PCB, v 4, n 7, p 3-40, 1973.

SIMPSON, K. 1961; Factoring influence uptake of phosphorus by crops in Southeast. **Soil Science**, 92: p. 1-14.

SIQUEIRA J.O.; FRANCO A.A.; **Biotecnologia do Solo. Fundamentos e Perspectivas**, primeira edição, 235 p. , p. 167, Lavras- MG: 1988.

SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI-FILHO, A.; OLIVEIRA, E.; SHENCK, N.C.; Ocorrência de micorrizas vesicular - arbusculares em agroossistemas naturais do Estado de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.**, v 23; p 23-26; 1988.

SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI-FILHO, SAGGIN JUNIOR, O.J. Efeito da inoculação de plântulas de cafeeiro com quantidades crescentes de esporos de fungos endomicorrízicos *Gigaspora margarita*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília-DF: v 29, p 875-883, 1994.

SIQUEIRA, J.O. , HUBBELL, D.H., ; SCHENCHK, N.C. Spore Germination and germ tube growth of a Vesicular Arbuscular Mycorrizal Fungus, in vitro, **Mycologia**, New York : v 74, p 952-959, 1982.

SIVERDING E.; Vesicular-arbuscular Mycorryza , **Management in tropical Agrosystem**, 367 p. , p. 210, Eschborn: 1991.

SMITH, S.E.; S.T. JOHN, B.J.; SMITH, F.A.; NICHOLAS, D.J.D.; Activity of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in *Trifolium subterraneo* and *Allium cepa*. Effects of mycorrizal infection and phosphate nutrition, **New Phytologist**, London: 99: p. 211-227, 1985.

SMITH, S. E.1980. Mycorrhizas of autotrophic higher plants. **Biological Reviews**, 55: p. 475-510.

SOBRAL, L.F.; Estado nutricional dos coqueiros de Sergipe, Aracajú-(SE): EMBRAPA-CNPCo, 1989, 19 p (**Boletim de Pesquisa**).

SOBRAL, L.F. **Nutrição e Adubação do Coqueiro** In: Cultura do Coqueiro no Brasil. FERREIRA, J.M.S.; WARNICK, D.R.N.; SIQUEIRA, L.A.; (eds), Aracajú (SE): EMBRAPA- SPI, 1994, 309 p.

SOLTAPOUR, P.N.; F. ADAMS; A.C. BENNET. 1974. Soil phosphorus availability as measured by displaced soil solutions, calcium-chloride extracts, dilute-acid extracts, and labile phosphorus. **Soil and Science**. Am. Proc. 38: p.225-228.

SPRENT, J.J.; **The biology of nitrogen, fixing organisms**. London, Mc. Graw - Hill Book Company Ltd., 1979, 196 p.

SUDO, A.; SILVA, E.M.S. da; BOVI, M.L.A.; ALMEIDA, D.L. ; KOZZOLINO, K. Produção de mudas de pupunheira colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas SP: v. 20 , p.529-532, 1996.

SURRE, C.; ZILLER, R. **Le palmier á huile**, Maiseoneuve et Larose. Paris: 1969, 243 p.

TARRAND, J. J.; KREIEG, N. R.; DOBEREINER, J. 1978. A taxonomic study of the *Azospirillum lipoferum* group with description of a new genus *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasiliense* sp. nov. **Canadian. Journal. Microbiology**, 24: p. 967-980.

TEIXEIRA, N.T.; STHEPHANO, R.; TORRACA, J.P.C.; MACIEL; C.A.C.; BOVI, M.L.A.; SERAFINI, F.; Extração de Nutrientes no período de formação de mudas de Pupunha, **Resumos expandidos do Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 25**, SBSCS, 1158p; p 1245-1246, Viçosa – MG: 1995 **a**.

- TEIXEIRA N.T.; MARTINS J.J.R. ; MACIEL C.C.A.; BOVI M.L.A. & SERAFANI F. Deficiência nutricional em mudas de Açaizeiro (*Etuerpe oleraceae*) , **Resumos expandidos do Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, 25, 4 v, 1157 , p 576-577, Viçosa-MG: 1995 **b**.
- THOMAS, G.V.; ROHINI-IYER, R.; BOPAIAH, B.M.; Beneficial microbes in the nutrition of Coconut. **Journal Plantation Crops**; Kerala: 19 (2) : p. 127-138, 1991.
- TIEN, T.M.; GASKENS, M.H.,; HUBBEL, D.H.; Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Enviromental Mycrobilical** , Washington: v 37; p. 1016-1024, 1979.
- TILAK, K.U.B.R.; LI, C.Y.; HO, I. Ocorrence of Nitrogen Fixing *Azospirillum* in MVA **Plant and Soil** , Dordrecht: 116 p , p. 286-288, 1989.
- TISDALL, J.M.; OADES J.M. Stabilization of soil aggregates by the root system of ryegrass, **Aust. Journal Soil Research**,. Victoria: 17; p. 429, 1979.
- TORO, M.; AZACON, R.; HERRERA, R.; Effects on yeld and nutrition of mycorrhizal and nodulated *Pueraria phaseoloides* exerted by P Slubilizing rhizobacteria. **Biol. Fertility Soils**, Berlin: Secaucus, N.J.; Springer International, 1995, v 21 (1/2), p 23-29.
- TOTH R.; TOTH, R.D.; STARKE, D.; SMITH, D.R.; Vesicular aebuscular colonization in *Zea mayes* affectead by breeding for resistance to fungal pathogenns **Canadian Journal Botany**, Ottawa; v 68, p. 1039-1044, 1990.
- TRUFEM, S.F.B.; **Fungos Micorrízicos Vesículo-arbusculares da Ilha do Cardoso, no Estado de São Paulo SP, Brasil** , São Paulo-SP: USP, 1988, 328 p, Tese de Doutorado.

- URENHA, L.C.; PRADELLA, J.G.C.; OLIVEIRA, M.S.; BONOMI, A, 1994; **Produção de Biomassa Celular de Rizóbio**. In: HUNGRIA M. & ARAÚJO R.S.; Manual de Métodos Empregados em Estudos de Microbiologia, p 95-155; 542 p .EMBRAPA-SNI, Brasília-DF.
- URQUIAGA S. ; DOBEREINER J. **Fijacion biolog. de nitrogeno com gramineas forriras cereals y cana de acucar** In: OLIVARES J.; BAREA J.M. (eds). (Fijacion y Movilizacion Biologica de Nutrientes Consejo Superior de Investigacion Cientifica), Madrid: 1991, v II, p. 71-89.
- URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M.; ALVES, B. J. R.; RESENDE, C. P.; 1994. Benefícios da fixação biológica do N₂ (FBN) em pastagens de *Desmodium ovalifolium* l *Brachiaria humidicola*. **Resumos do Simpósio Brasileiro sobre Microbiologia do Solo, 3**. Londrina-PR: p.146.
- USHERWOOD, N.R. **Interação do Potassio com outros íons**. In: Potassio na Agricultura Brasileira, T. YAMADA; IGUE, K.; MUZILLI, O.; USHERWOOD N.R.; Piracicaba: Instituto Potassa & Fosfato: Londrina-PR; Fundação IAPAR, 1982. 556 p, p. 227-228.
- UZMA HASSAN, M.; SAJJAD M.; GHULAM, R., SAMINA M. N.; FAVVETA, HAFEEZ, SIKANDER ALI, RAKHSHANDA BLIAL; KAUSER A. MALIK . Develompemnt of Bioterfitilezer for Wheat and Rice. **Abstracts of 7 th International Symposium on Bacteria Nitrogen Fixation with Non legumes**, Oct. 16-21, 1996, p 169, Faisalabad, Pakistan.
- VAAST, P.H.; ZAROSKI, R.J. Effect of VA-mycorrhizae and nitrogen sources on rhizosphere soil characteristics grown and nutrient acquisition of coffe seedlings (*Coffea arabica* L.) **Plant and Soil**, v 147, n 1, p. 31-39, 1992.

VANCURA , V.; OROSCO, M.O.; GRAVOVA O. , PRIKRYL Z. . Properties of bacteria in the hyphosphere of a vesicular arbuscular mycorrhizal fungus. **Agriculture Ecosystems and Environment**, Amsterdam: v 29, p 421-427, 1989.

VIEGAS, I.J.M. de; SILVEIRA, R.I.; CARVALHO J.G. de OLIVEIRA, R.P. de Acumulação de N,P,K, nas diversas partes do dendzeiro em função da idade, **Resumo Expandido XXII Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas**, 21-26 de Julho de 1996 a, p. 401, Manaus-AM.

VIEGAS, I.J.M. de; SILVEIRA, R.I; BONILHA, W.; CARVALHO, J. G.; **Extração de macronutrientes pelo dendzeiro, em função da idade, Resumo expandidos do Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, 25, SBCS, p 1789, 1233-1235, Viçosa- MG, 1995.

VIEGAS, I.J.M. de ; SILVEIRA, R.I.; OLIVEIRA, de R.P. CARVALHO, J.G. de , Extração de Micronutrientes pelo Dendzeiro em função da idade das plantas, **Resumos expandidos do Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, 25, SBCS, 1789 p, p 1242-1243, Viçosa-MG:1995 b.

VIEGAS I.J.M. de; BOTELHO, S.M.; CONCEIÇÃO, H. da; SILVEIRA, R.I.; CARVALHO J.G. de ; Exportação de macronutrientes pelo dendzeiro em função da idade nas condições da Região de Tailândia-PA, **Resumos expandidos do Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, 25, , SBCS, p 1789, 1236-1238, Viçosa-MG: 1995.

VLASSAK, K.L.; REYNDERERS, L.; Agronomic aspects of biological di nitrogen fixation of *Azospirillum spp* in temperate region. **Associative Nitrogen Fixations**, Boca Ratom; Circ.; 1981, p. 93-101

WALKER, W.M.; MELTED, S.W. Effects of N, P, Mg, K and soils upon Oil palm yields in Sierra Leone. **Tropical Agriculture.Trinidad** 48 (3) : p.237-243, 1971.

WANG, S.; D.S. HAYMAN; Efeito de diferentes concentrações de nitrogenio na atividade de micorrizas arbusculares. **Anais da Reunião Brasileira de Micorrizas**, primeira edição, 251 p. , p.195, Lavras MG: 1986 **A**.

WANG, S.; **Efeito de diferentes concentrações de N na atividade de fungos micorrízicos vesículo arbusculares. Anais da Reunião Brasileira de Micorrizas** primeira edição, 251 p , p 195, Lavras- MG: 1986 **B**.

WANG S. WANG G.; D.S. HAYMAN; Interação entre o nitrogenio e o fósforo sobre o desenvolvimento de VAM, **Anais da Reunião Brasileira de Micorrizas**, 1ª) edição, anais, 215 p. ; p. 197, Lavras-MG: 1986 **C**.

WANG, G.A., STRIBLEY, D.P.; TINKER, P.B.; Soil Ph and VAM in Fitter, A.H., Ed Ecological interactions in soils, Oxoford: Blackwell, **Science Publications**, 1985 p. 219-24.

WATANABE, I.; CHOLITKUL, W.; Nitrogen fixation in acid sulphate paddy soils tropical agric. **Reserch**. Trinidad: v. 5 : p. 219-216, 1982.

WATSON, D. J.; THOANE, G.N.; FRENCH, S.A.W.; Physiological causes of diferences in grain in varietes of barley. **An. Bol.** ; p. 22-321, 1958

WERKOVEN, J. Fertilizacion de la palmeira de aceite. Traduzido do Inglês por Leopoldo Lopz Martinez de Alva.; Hanover: Verlagsgesellschaft Acbercban mdh, 1965 (**Boletim verde número 18**).

WHITTINGHAM, J.; READ, D.J.; Vesicular-arbuscular in natural vegetation systtemes. III Nutrient transfer between plants with mycorrhizal interactions. **New Platation**, London: 90 ; p. 277-284, 1982.

WILKINSON, K.G.; DIXON, K.; SILVA, S.; Interactions of soil bacteria, mycorrhizal fungi and orchid seed in relation to germination of australian, Orchchids. **The New Phytologist**, London: v 112, p 429-435, 1989.

WILL, M. E.; SYLVIA, D. M.; Interaction on rhizosphere bacteria, fertilizer, and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi with sea coats. **Appl. Env. Microbiol.**, 56: p.2073-2079; 1990.

WOOLHOUSE, H.W.; Membrane structure and transport problems considered in realation to phosphorus and carboydratee movementts and regulation of enfophitic mycorrhizhal associations; In: SANDERS, F. E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., eds, Endomycorrhizas. London: **Academic Press**, 1975. p 209-239.

YOST, R.S; FOX, R. L. Contribution of mycorrhizal to P nutrition of crops growing on an Oxisol. **Agronomy Journal**, Madison: v 71, p 903-908, 1979.