



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTA**

**ASSOCIAÇÕES COM FUNGOS MICORRÍZICOS E BACTÉRIAS FIXADORAS DE
NITROGÊNIO EM *Allagoptera arenaria* (GOMES) O. KUNTZE NA RESTINGA DE
MARAMBAIA, R.J**

THIAGO VENTURA SCORALICK BRAGA

ORIENTADORA : ELIANE MARIA RIBEIRO DA SILVA

**SEROPÉDICA - RJ
JULHO - 2008**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTA**

**ASSOCIAÇÕES COM FUNGOS MICORRÍZICOS E BACTÉRIAS FIXADORAS DE
NITROGÊNIO EM *Allagoptera arenaria* (GOMES) O. KUNTZE NA RESTINGA DE
MARAMBAIA, R.J**

THIAGO VENTURA SCORALICK BRAGA

Monografia apresentada ao Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheiro Florestal.

Sob orientação da Prof.:
ELIANE MARIA RIBEIRO DA SILVA

Aprovada em 24 de Julho de 2008

**ASSOCIAÇÕES COM FUNGOS MICORRÍZICOS E BACTÉRIAS FIXADORAS DE
NITROGÊNIO EM *Allagoptera arenaria* (GOMES) O. KUNTZE NA RESTINGA DE
MARAMBAIA, R.J**

Monografia aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA:

PROF^a. Dra. ELIANE MARIA RIBEIRO DA SILVA
ORIENTADORA
AGROBIOLOGIA/UFRRJ

PROF. Dr. ALEXANDRE MONTEIRO DE CARVALHO
Membro Titular
DPF/IF/UFRRJ

PROF. Dr MARCOS GERVASIO PEREIRA
Membro Titular
DS/IA/UFRRJ

AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares, em especial a minha avó Mery, por sua sede de conhecimento o que desperta em todos a sua volta a vontade de aprender. Ao meu avô Augusto que apesar de todas as dificuldades que a vida lhe impôs foi sempre um homem correto e que contribuiu em muito para o surgimento da família de que hoje eu tanto me orgulho. À minha avó Juveni, que mesmo com o pouco contato conseguiu me passar que com tranqüilidade e uma voz mansa é capaz de se ir longe. Ao meu avô Geraldo, do qual antes de tudo herdei o nome pelo qual sou conhecido pela maioria das pessoas, Ventura, acredito ter herdado dele também um pouco da malandragem do bom boêmio. Aos Meus Tios Vitor e Marcos, cada qual com suas características, vencedores desde o início de suas vidas. Ao meu pai Apolônio, do qual a única coisa que não copiaria seria o nome, pois é exemplo de homem correto e que batalha até o fim por seus sonhos e princípios sem nunca, em momento algum, perder o senso de humor, acredito que boa parte do meu tenha advindo dele. À minha mãe Vera exemplo de lutadora, que mesmo para dar uma bronca mede todas as suas palavras e que apesar da aparência frágil, acredito ser a pessoa mais forte que eu conheço, acredito ter herdado dela a força que me fez chegar até onde estou, pois como já disse Euclides Rodrigues Pimenta da Cunha “o sertanejo é, antes de tudo, um forte”. Ao meu irmão Renato, sem o qual este trabalho provavelmente não existiria, pessoa de incrível brilho e acredito que a melhor exemplificação de amor fraterno, tenho orgulho de dizer “este é meu irmão”.

À Minha companheira de todas as horas, Marina, pessoa de incrível bom humor que esteve ao meu lado desde o início da minha caminhada universitária até a sua finalização, e que sem a qual o lapso de tempo existente entre início e fim seria muito mais difícil, espero poder retribuir todo o carinho, atenção e acima de tudo incentivo a mim dispensado.

À “dona” Lourdes por ser exemplo de que a verdadeira idade é decidida a cada dia por nós e por nossas ações, ao “Tio” Samuel por ser sempre um incentivador em relação a minha carreira e por ser um dos provedores de minha estadia ao lado da sua filha em Seropédica.

À “Tia” Regina, por todo incentivo, e por ser exemplo de eficiência em todas as atividades que realizava, por ser uma das minhas maiores incentivadoras em relação à leitura e que adoçou em muito minha vida com sua presença e seu inesquecível bolo de cenoura, obrigado.

Aos amigos de “República” Victor, Daniel Motta, Daniel Carvalho, Leonardo, Ricardo, Bruno, Pedro e Rodrigo pelos momentos de intensa discussão científica as quais travávamos na sala, obrigado a todos por tornarem o confinamento em Seropédica algo digno de saudade.

Às amigas Juliana e Monique por me acolher sempre de maneira agradável em sua casa nas intermináveis tardes de estudo, e pelos ótimos assuntos os quais conversávamos, em especial pelas broncas da Jú em relação a minha “irresponsabilidade” calculada. À minha querida amiga Mi, por ser uma pessoa carinhosa e atenciosa. À minha amiga Manon por todos os momentos bons que dividimos, e por ser um bom exemplo de perseverança, uma pessoa que nunca desiste dos seus sonhos. À minha amiga Silvinha por tornar o bate papo de fim de tarde sempre mais divertido.

Ao meu filho Duck por ser um grande representante da minha família ao meu lado em Seropédica, por todas as lambidas e trombadas que tornaram a minha vida muito mais feliz.

A Luis Fernando Ex-professor da UFRJ, por me proporcionar à chance de conhecer a Restinga de Marambaia, local onde este trabalho foi realizado.

À Tiara por ter me “salvado“ varias vezes nesta trajetória de pesquisa, por ter dedicado suas horas livres a me ajudar e pela atenção a mim dispensada.

À minha orientadora Eliane Maria Ribeiro da Silva, que desde o inicio acreditou no meu potencial e que foi peça fundamental na construção desde trabalho, enriquecendo-o a cada momento com seus conselhos, muito obrigado.

Ao Técnico de laboratório e futuro Biólogo Itamar Garcia Ignácio por sua ajuda e atenção.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro que através de seus funcionários e professores, contribuíram de forma decisiva para a consolidação de mais um profissional capacitado. A *Embrapa agrobiologia*, em especial aos Laboratórios de Micorrizas e de Gramíneas pelo acolhimento caloroso que recebi. À pesquisadora Vera Baldani pela grande contribuição neste trabalho e por sua animação contagiante.

Aos meus amigos de faculdade e a Deus, que me guiou até aqui, ao qual entrego o meu caminho todos os dias.

RESUMO

O termo restinga, em seu sentido fitogeográfico, designa todas as formações vegetais que ocorrem sobre as planícies quaternárias litorâneas decorrentes da última regressão marítima e que foram colonizadas pela flora e fauna provenientes de ecossistemas adjacentes. As restingas correspondem a uma extensão de 70% do litoral brasileiro, e correspondem a cerca de 1.200 km² no estado do Rio de Janeiro. A *Allagoptera arenaria* é uma palmeira que possui altura variável de 0,5 até 3 m, caule tipo estipe, normalmente indiviso e subterrâneo. Está presente desde Pernambuco até o Paraná e no Estado do Rio de Janeiro é de larga expressão, ocorrendo em todas as restingas, desde as mais preservadas até as mais impactadas. Formam populações densas em determinados trechos do cordão arenoso, caracterizando a formação arbustiva de Palmae na restinga da Marambaia. Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são organismos simbiotróficos obrigatórios da maioria das plantas vasculares, constituindo exceção a sua ausência. Além disso desempenham importante papel no ciclo de nutrientes em florestas tropicais. A maximização na obtenção de nutrientes por plantas micorrizadas, contribui para o crescimento do vegetal e para o aumento de sua resistência a situações adversas. A fixação biológica do nitrogênio (FBN) constitui-se como importante forma de aumento na produção vegetal, dada à importância do elemento na síntese de proteínas e enzimas que garantem a vida do vegetal. A FBN destaca-se como uma alternativa aos adubos nitrogenados de origem fóssil, sendo os mesmos responsáveis por graves problemas ambientais, pois a sua lixiviação contamina severamente solos e águas superficiais, além disso o uso de bactérias diazotróficas diminui os custos de produção e maximizam a produtividade. Considerando a intensa antropização a que está sujeito, torna-se cada vez mais importante o conhecimento da florística e estrutura de áreas de Restinga a fim de auxiliar em sua conservação e recuperação de áreas degradadas. No presente trabalho foram coletadas 10 amostras das áreas de pré e pós-praia, e 5 de cada área experimental, que eram compostas de 200g de solo com raízes coletadas a aproximadamente 2/3 da projeção de copa. As raízes foram clarificadas e quantificadas quanto à presença de colonização por fungos. Os esporos foram identificados e quantificados na amostra. As bactérias foram estimadas pela técnica do número mais provável nas diferentes áreas. *A. arenaria* realiza associação com fungos micorrízicos arbusculares e bactérias fixadoras de nitrogênio, sendo as áreas de pré e pós-praia as de maior incidência de esporos. As raízes apresentaram taxa de colonização média de 68,2%, sendo este mais um fator que contribui para a afirmação acima. Quanto às bactérias o presente estudo permite apenas confirmar a sua associação com a palmeira.

Palavras-chave: palmeira, fixação biológica do nitrogênio, simbiose, ambientes costeiros, associação mutualista.

ABSTRACT

The term sandbank, in its phytogeographical sense, designates all the vegetable formations that happens on the coastal quaternary plains current of the last marine regression and that were colonized by the flora and fauna coming from adjacent ecosystems. The sandbanks correspond to an extension of 70% of the Brazilian coast, corresponding to about 1.200 km² of the state of Rio de Janeiro. The *Allagoptera arenaria* is a palm tree that has a variable height up to 3 meters, stem of the estipe type, usually undivided and underground. It can be seen from Pernambuco to Paraná, and in the state of Rio de Janeiro it has a widely occurrence, happening on all the sandbanks, from the most preserved to the most impacted. They form dense populations at certain points of the sandy string, characterizing the formation of Palmae bushes on the Marambaia sandbank. The arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are obligatory organisms to most of the vascular plants, constituting an exception its absence. Besides, they play an important role in the nutrients cycle in tropical forests. The maximization in the obtaining of nutrients for inoculated plants contributes to the vegetable growth and the increase of your resistance to adverse situations. The FBN stands out as an important alternative to nitrogen fertilizers, and it's important to know the associations made by this bacterium. Considering the intense destruction that it's aware of, it is more and more important to know the floristic and the structure of the areas of sandbanks in order to help with the conservation and recovery of degraded areas. This work had the objective of evaluating and quantifying the existence of the association of arbuscular mycorrhizal fungi and the fixation of nitrogen bacteria in *A. arenaria* on the Marambaia Sandbank. Ten samples of the pre and post-beach and five of each experimental area were collected, and they were composed of 200g of soil with roots collected in approximately 2/3 of the projection of copa. The roots were clarified and quantified according to the colonization presence of fungi. The spores were identified and quantified. *A. arenaria* accomplishes association with (AMF) and the nitrogen fixing bacterium, finding the largest incidence of spores on the pre and post beaches. The roots presented an average rate of colonization of 68,2%, and this factor contributes to confirm the statement above. The bacterium study allows us only to confirm its association to the palm. This research suggests what this palm tree offers to the maintenance and conservation of the sandbank soils, standing up as an excellent option for the selection of seedlings for reforestations.

Keywords: sandbank, palm, sandcost, mutual association, symbiosis, biology of nitrogen fixation.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix
1- INTRODUÇÃO.....	1
2- REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 A Importância dos Fungos Micorrízicos Arbusculares.....	2
2.2 A Importância da Fixação Biológica do Nitrogênio.....	3
2.3 A Escolha da espécie	4
3- MATERIAL E MÉTODOS.....	6
3.1 Descrição da Área de estudo	6
3.2 Descrição da Metodologia de coleta.....	7
3.3 Metodologia de análise das amostras quanto à presença de fungos micorrízicos arbusculares	8
3.4 Metodologia de análise das amostras quanto à presença de bactérias fixadoras de nitrogênio	9
4- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
5- CONCLUSÕES.....	15
6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	16

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Coleta de solo contendo raiz.....	7
Figura 2: Presença de hifas aderidas à peneira.....	8
Figura 3: Montagem das amostras compostas.....	9
Figura 4: Amostra de solo pronta para ser diluída e inoculada em meio de cultura.....	10
Figura 5: Amostra de raiz pronta para ser diluída e inoculada em meio de cultura.....	10
Figura 6: Meios de cultura semi sólidos semi seletivos.....	10
Figura 7: Frascos já inoculados e prontos para ser levados à estufa.....	11
Figura 8: Meio de cultura repicado para o meio batata.....	11

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Localização das áreas utilizadas para a coleta das amostras de rizosfera de <i>Allagoptera arenaria</i>	6
Tabela 2: Percentagem do comprimento de raízes de <i>Allagoptera arenaria</i> colonizadas por FMA.....	12
Tabela 3: Espécies de fungos micorrízicos arbusculares por grupo de amostra de solo. (cada grupo foi composto por um total de 10 amostras), sendo G1(área de pré praia), G2 (área de pós praia) e G3(área experimental).....	13
Tabela 4: Número total de esporos de FMA em 50 cm ³ de solo.....	13
Tabela 5: Presença de bactérias fixadoras de nitrogênio nas amostras de raiz e solo. (sendo JMV, LGI e JNFB os meios de cultura utilizados, semi sólidos e semi seletivos e os símbolos + indicando a presença e – indicando ausência de bactérias).....	14

1. INTRODUÇÃO

Rizosfera pode ser definida como a zona do solo ao redor da raiz que se encontra sob influência imediata do sistema radicular. Essa zona é rica em nutrientes, devido ao acúmulo de uma variedade de compostos orgânicos liberados pelas raízes por exsudação, secreção e deposição. O crescimento e atividade microbianos são intensos na rizosfera, porque os compostos orgânicos liberados pelas raízes podem ser utilizados como fonte de energia e carbono (DOBBELAERE et al., 2003).

Segundo VELOSO et. al (1991), restinga enquadra-se na categoria de sistema edáfico de primeira ocupação ou formações pioneiras, juntamente com as formações dos manguezais, dos brejos, pântanos e áreas ribeirinhas, sendo tratada sob o nome específico de “vegetação com influência marinha.”

A forma de delimitação de uma restinga é algo complexo, dado o grande número de conceitos populares e científicos historicamente adotados. A vegetação que ocupava as planícies costeiras antigamente era uma contínua “mancha verde”, interrompida ocasionalmente por dunas ou afloramentos rochosos próximos ao mar (ULE, 1901).

Atualmente no entanto as restingas são representadas por um conjunto descontínuo e reduzido de manchas de vegetação, dificultando ainda mais a elaboração de um conceito definitivo para a mesma (TAVARES, 1998).

No Rio de Janeiro assumem forma de extensas planícies como Macaé e Carapebus, grandes dunas como em Massambaba, ou braços de terra que avançam mar adentro como na Marambaia, juntas chegam a ocupar área aproximada de 1.200Km² (ARAUJO & MACIEL 1998).

Em geral os ecossistemas de restinga caracterizam-se por solos arenosos, pobres em argilas e matéria orgânica, além de baixa capacidade de reter água e nutrientes. Tem na salinidade um importante aliado na entrada de nutrientes (VAN DE VALK, 1974; HAY & LACERDA, 1984).

A restinga de Marambaia apresenta como característica, braços de terra que avançam mar adentro, que ao contrário das demais restingas do litoral do Rio de Janeiro apresenta sua fisionomia inalterada devido à sua posição geográfica e à presença de instalações militares, a presença de espécies características das florestas inundadas demonstra a importância deste fragmento para a conservação da diversidade da região. A área de estudo apresenta-se com extensas áreas de cristas praias, sendo recoberta por comunidade arbustiva de *Palmae* (MENEZES, 1996).

Esta comunidade é dominada pela palmeira *Allagoptera arenaria*, que recobre o topo das cristas praias assim como o declive entre estas, dando aspecto homogêneo à paisagem (MENEZES, 1996).

A. arenaria é uma palmeira de caule subterrâneo, nativa das restingas da costa do Brasil, ocorre desde o Paraná até Pernambuco (HERNDESON et. al, 1995).

No estado do Rio de Janeiro ocorre em todas as restingas de norte a sul, desde as mais preservadas até as mais impactadas (MENEZES 1996).

Possui uma peculiar capacidade de sobreviver ao fogo (ARAUJO & PEIXOTO 1977).

De acordo com TAVARES (1998), os solos de restinga, especialmente os degradados são deficientes em fósforo para culturas agrícolas e florestais, fato este que ainda é agravado pela elevada capacidade de adsorção do mesmo.

Dada esta característica dos solos em questão, qualquer fator que possibilite a captura de fósforo de maneira mais eficiente por determinada espécie, garantirá à mesma maior capacidade adaptativa (TAVARES, 1998).

Os fungos micorrízicos têm sido muito estudados no que se refere à aquisição de fósforo, a mais eficiente captura deste elemento pelas espécies micorrizadas tem sido atribuída à capacidade das hifas extra- radicais dos fungos de explorar maior volume de solo e assim absorver P mesmo em menores concentrações, aumentando assim o raio de captura da planta (TAVARES, 1998).

Segundo COLOZZI-FILHO et. al.(1976), a maximização na obtenção de nutrientes, principalmente o fósforo por plantas micorrizadas, contribui para o crescimento do vegetal e para o aumento de sua resistência a situações adversas.

Um outro processo de grande importância envolvendo microorganismos é a fixação biológica do nitrogênio (FBN) que constitui-se como importante forma de aumento na produção vegetal, dada a importância do elemento na síntese de proteínas e enzimas que garantem a vida do vegetal (CARVALHO 2002).

Graças ao seu potencial biotecnológico as bactérias diazotróficas quando interagindo com o vegetal, proporcionam ganhos diretos e indiretos, como o aumento da produtividade, a redução dos custos de produção e a melhor conservação dos recursos naturais (BALDANI et.al., 2002; ELBELTAGY et.al.,2001).

O objetivo deste trabalho foi verificar se existe associação de fungos micorrízicos arbusculares e bactérias fixadoras de nitrogênio com a palmeira *Allagoptera arenaria*.

O presente trabalho, ao verificar a ocorrência de FMA e bactérias diazotróficas, pretende obter subsídios para que pesquisas posteriores possam verificar a contribuição desses microorganismos no estabelecimento da palmeira e o seu grau de dependência aos FMAs.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 – A Importância dos Fungos Micorrízicos Arbusculares

Com o aumento da degradação de áreas naturais nas últimas décadas, cada vez mais os cientistas e ambientalistas se empenham para recompor a flora original e assim recuperar o potencial genético das mesmas (BARBOSA et al. 1989;KAGEYAMA et al., 1989).

Os fungos micorrízicos arbusculares têm papel muito importante no ciclo dos nutrientes no solo, pois os mesmos são capazes de absorver nutrientes além da zona de esgotamento da raiz, porém informações relacionadas aos mesmos, com ecossistemas desequilibrados são ainda escassas (BRUNDRETT et. al.,1996; JOHNSON & WEDIN1997).

Devido à ausência de pelos radiculares e ao seu sistema radicular (fasciculado, pouco profundo, com raízes grossas) os FMA tornam-se particularmente importantes para as palmeiras em geral (VANDERMEER, 1977; FERREIRA et al., 1980; MORALES & VARGAS, 1990; SUDO et al., 1996).

Alguns FMA desempenham papel tão crucial em relação à nutrição mineral de determinadas espécies, que quando as mesmas após se desenvolverem em solução estéril são transplantadas para solos pobres, tem seu desenvolvimento prejudicado, podendo até morrer por má nutrição.

Porém se uma pequena quantidade (0,1% do volume) de solo contendo FMA apropriado, for adicionado ao redor das raízes, a tendência é o desenvolvimento ocorrer normalmente (RAVEN et.al 1996).

Segundo BRUNDRETT (1991) e SIQUEIRA (1998), os principais benefícios dos FMA à planta hospedeira são a maximização na obtenção de fósforo (P) e o aumento na resistência a estresses diversos, principalmente o estresse hídrico.

Segundo MARSCHNER (1995), sem um suprimento adequado de fósforo o crescimento e a reprodução das plantas fica comprometido, impedindo que a mesma atinja seu potencial máximo de produção.

Dentre as funções do P no vegetal destacam-se, o fosfato presente nas moléculas de açúcares, intermediários da respiração e da fotossíntese, e dos fosfolipídios que compõem as membranas vegetais. Sendo ainda componente de nucleotídeos utilizados no metabolismo energético das plantas, como ATP, e de ácidos nucléicos (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Em solos tropicais a baixa disponibilidade de P é uma das causas que mais limita a produção e o crescimento do vegetal (FRANCO 1994).

De acordo com NOVAIS & SMYTH (1999), ainda que se tenha uma quantidade considerável de P no solo, na maioria das vezes, menos de 0,1% encontra-se em solução (P-disponível), ou seja, imediatamente disponível para a absorção do vegetal. Tal fato ocorre devido ao solo de regiões tropicais ser de caráter geralmente ácido, apresentando quantidades significativas de oxidróxidos de Fe, Al, com carga positiva, fixando assim o P, que fica adsorvido às superfícies dos colóides (MEURER et. al.,2004).

De acordo com BAREA (1991) e SIQUEIRA & SAGGIN JUNIOR (1992), quando se tem baixa quantidade de P e água no solo, normalmente a associação da planta ao FMA é benéfica, porém em altas concentrações de P, ocorre à diminuição da colonização radicular.

A capacidade de maximizar o aproveitamento dos nutrientes realizada por FMA já foi demonstrada em experimentos usando ^{32}P radiativo (RAVEN et al., 1996).

Logo se conclui que determinados fatores associados são fundamentais para o sucesso desta simbiose, sendo eles , a eficiência do fungo e a dependência da planta, modulada pelo ambiente.

Segundo JASPER et al. (1991), a inoculação com FMA na fase de produção de mudas, para espécies florestais, é fundamental para programas de reflorestamento, dada a baixa fertilidade natural do solo e o baixo potencial de inóculo de áreas a serem reflorestadas.

A inoculação com fungos micorrízicos arbusculares estimula o crescimento inicial de mudas transplantadas e o aumento da produção florestal, estas respostas variam em menos de 10% em culturas anuais a 8.000% em espécies arbóreas com elevada dependência (SIQUEIRA & FRANCO 1988).

Segundo SOUZA et al. (2006), quando são consideradas as características edafo-climáticas, a aptidão agro-silvo-pastoril e a escassez de recursos financeiros, percebe-se que o Brasil se caracteriza como um local de grande potencial para o uso de FMA.

2.2 Importância da Fixação Biológica do Nitrogênio

O nitrogênio é elemento de conhecida importância nas funções metabólicas dos vegetais, sendo constituinte de moléculas de proteínas, coenzimas, ácidos nucléicos, citocromos, clorofila, dentre outros (SABATA & MASON, 1992).

Apesar de 78% da atmosfera ser composta de N₂ (STACEY et al., 1992), um grande problema para a fixação do mesmo é a presença da tripla ligação, tornando o gás extremamente estável às condições normais de temperatura e pressão (SPRENT & SPRENT, 1990; EVANS & BURRIS, 1992). Logo, apesar da abundância deste nutriente na atmosfera, os seres Eucariontes têm dificuldade de assimilá-lo diretamente. Assim a FBN torna-se um mecanismo de suma importância para suprir as necessidades do vegetal quanto à aquisição de N₂.

A fixação biológica do nitrogênio realizada pela associação de bactérias com plantas não leguminosas vem sendo freqüentemente relatada (LI & MACRAE, 1992; BALOTA et al., 1998; CHIARINI et al., 1998).

A aquisição de N utilizando-se do mecanismo de FBN é bastante utilizada pelos diferentes ecossistemas do planeta. Em 1893 foi realizada a primeira descrição de bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico, também conhecidas como diazotróficas, e até hoje os rizóbios são os mais estudados (FERNANDES, 2006).

Um grande salto nos estudos relacionados a FBN, foi a descoberta de uma nova bactéria fixadora de N₂, denominada *Acetobacter diazotrophicus*. Esta nova bactéria criou um grande interesse internacional devido à capacidade de crescer em ambientes ácidos (pH até 2,5), em soluções de até 30% de açúcar e por ser incapaz de usar nitrato como fonte de nitrogênio (DÖBEREINER et al., 1998).

Quando promovem os efeitos benéficos ligados ao crescimento do vegetal, as bactérias que colonizam o sistema radicular são denominadas PGPR-Plant growth promoting rhizobacteria-Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (TAVARES 1998).

Estima-se que o nitrogênio fixado biologicamente varia de 139 a 170 toneladas/ano, pelo menos o dobro da fixação química (PEOPLES & CRASWELL, 1992).

Em alguns casos, inoculantes contendo bactérias substituem por completo a adubação química nitrogenada. No Brasil o melhor exemplo desta utilização é na soja, onde o uso desta tecnologia representa uma economia de cerca de US\$ 3 bilhões para o país, que seriam gastos em fertilizantes nitrogenados (MERCANTE, 2007).

Outro fator a ser considerado sobre a fixação biológica do nitrogênio é que a mesma é regulada pela própria necessidade da espécie pelo nutriente, não havendo fixação em excesso, constituindo este como o processo mais eficiente na utilização deste elemento na natureza (TAVARES 1998).

Fatores edafoclimáticos como temperatura, umidade, pH do solo, resistência a substâncias tóxicas, dentre outros, têm influência nesta relação simbiótica (RUMJANEK et al., 2005).

A temperatura apesar de ser um dos fatores limitantes mais importantes em relação ao desempenho e crescimento do rizóbio, tem sido pouco estudada, mesmo sendo fator limitante ao processo simbiótico nos trópicos (VARGAS & HUNGRIA, 1997).

De acordo com FALEREIRA et al., (2007), estas bactérias também apresentam tolerância variada em relação à salinidade.

2.3 A Escolha da espécie

Segundo GUERRA (1993), o dinamismo construtivo e destrutivo das águas do mar contribui para formar vastas planícies sedimentares arenosas. Estas planícies são normalmente muito diversas, apresentando campos ralos de gramíneas, matas fechadas ou brejos com densa vegetação aquática. A todo esse conjunto dá-se o nome genérico de restinga.

Em geral os ecossistemas de restinga caracterizam-se por solos arenosos, pobres em argilas e matéria orgânica, além de baixa capacidade de reter água e nutriente.

Tem na salsugem um importante aliado na entrada de nutrientes (VAN DE VALK,1974;HAY & LACERDA,1984).

A restinga de Marambaia apresenta como característica, braços de terra que avançam mar adentro, com extensas áreas de cristas praias, sendo recoberta por comunidade arbustiva de Palmae (MENEZES 1996).

Esta comunidade é dominada pela palmeira *Allagoptera arenaria*, que recobre o topo das cristas praias assim como o declive entre estas, dando aspecto homogêneo à paisagem (MENEZES1996).

A *Allagoptera arenaria* é uma palmeira de caule subterrâneo, nativa das restingas do sudeste do Brasil (HOODGE,1964). Sua área de ocorrência abrange desde o litoral do Paraná até o litoral de Pernambuco (BONDAR,1939). É conhecida pelos nomes vulgares de guriri, guri, buri, guri-da-praia, buri-da-praia , buriri-da-praia, pissandó (CORRÊA,1926), cachandó (BONDAR,1939) e coco-da-restinga (LEITE,1990).

Sobre seus possíveis usos BARBOSA (1948) sugeriu seu aproveitamento como fixadora de dunas na restinga de Marambaia, e HOODGE (1964) recomendou-a como paisagística nas dunas arenosas da Califórnia.

Segundo TAVARES & ARAÚJO (2004), após a passagem de fogo em área amostral da Restinga de Marambaia, 100% dos indivíduos de *A. arenaria* apresentou resistência ao fogo, e 7 dias após a queimada desenvolveram em média 8cm de tecido foliar novo emergindo da base do pecíolo.

Vale ressaltar que mesmo em savanas, onde a temperatura do ar no ponto máximo das chamas pode assumir valores da ordem de 800⁰ C, quando se atinge a profundidade de 2 a 5cm abaixo da superfície do solo a temperatura eleva-se apenas alguns graus, devido ao poder isolante do solo, resguardando assim os órgãos subterrâneos das plantas.(RAMOS & ROSA 1992)

No litoral sudeste, as áreas de restingas queimadas, principalmente naquelas em que houve sucessivas passagens do fogo, geralmente são dominadas pela *A.arenaria* (LACERDA ET AL., 1993). Esta dominância tem sido relacionada à sua reprodução por rizomas (TOMLINSON, 1960; RIZZINI, 1979; LEITE, 1990;MENEZES, 1996), a alta capacidade de sobreviver às queimadas (ARAÚJO & PEIXOTO, 1977; ALMEIDA & ARAÚJO, 1997; CIRNE & SCARANO, 1996), e a disponibilidade de frutos durante todo o ano (LEITE, 1990). Apesar dos vários fatores já descritos que explicam a dominância da espécie nas áreas onde a mesma já estava previamente estabelecida, não se consegue explicar o motivo pelo qual uma espécie com tantos fatores que propiciam uma boa capacidade adaptativa não consiga se estabelecer em ambientes onde a mesma não exista, apresentando baixa capacidade de adaptação tanto no viveiro como no campo. (LUIZ ROBERTO ZAMITH COELHO LEAL- informações pessoais)

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Descrição da área de estudo

A Restinga de Marambaia (23°02'S; 44°39'W) apresenta-se com uma faixa de areia de aproximadamente 40km de extensão separando a Baía de Sepetiba do Oceano Atlântico. Localiza-se, em parte, na Zona Oeste do município do Rio de Janeiro e, em parte, nos municípios de Itaguaí e de Mangaratiba. A temperatura média anual atinge 23,6°C, sendo o mês de fevereiro mais quente, com temperatura média de 26,7°C, e julho, mais frio, com temperatura média de 21,0°C. O total médio anual de precipitação é de 1.027,2 mm, sendo o mês de agosto o mais seco, com uma média de 47,4 mm, e março, o mais chuvoso, com uma média de 140,6 mm(MENEZES, 1996), possui macroclima Aw (Clima Tropical Chuvoso) segundo KÖEPPEN (1948). Todas as áreas de coleta foram georeferenciadas. (Tabela .1)

Tabela 1: Localização das áreas utilizadas para a coleta das amostras de rizosfera de *Allagoptera arenaria*.

Nº da amostra	Cord1(S)	Cord2(WO)	Cota (m)	Obs. da área
1	23°02'56,7''	43°36'32,6"	0	Moitas esparsas
2	23°02'56,6''	43°36'32,9"	0	Moitas esparsas
3	23°02'56,5''	43°36'33,2"	1	Moitas esparsas
4	23°02'56,7''	43°36'33,4"	2	Moitas esparsas
5	23°02'56,6''	43°36'34,1"	1	Moitas esparsas
6	23°02'56,6''	43°36'34,3"	1	Moitas esparsas
7	23°02'56,6''	43°36'34,9"	0	Moitas esparsas
8	23°02'56,7''	43°36'35,7"	0	Moitas esparsas
9	23°02'57,6''	43°36'35,5"	0	Moitas esparsas
10	23°02'57,0''	43°36'36,6"	0	Moitas esparsas
11	23°02'57,4''	43°36'37,3"	3	Moitas adensadas
12	23°02'57,2''	43°36'36,6"	4	Moitas adensadas
13	23°02'57,5''	43°36'35,4"	5	Moitas adensadas
14	23°02'57,5''	43°36'35,9"	3	Moitas adensadas
15	23°02'56,8''	43°36'31,5"	7	Moitas adensadas
16	23°02'56,9''	43°36'31,1"	7	Moitas adensadas
17	23°02'57,2''	43°36'30,9"	6	Moitas adensadas
18	23°02'57,0''	43°36'29,8"	6	Moitas adensadas
19	23°02'56,9''	43°36'28,0"	5	Moitas adensadas
20	23°02'57,2''	43°36'28,0"	4	Moitas adensadas
21	23°02'56,8''	43°36'28,0"	2	Exp. Sem casca
22	23°02'56,8''	43°36'28,0"	2	Exp. Sem casca
23	23°02'56,8''	43°36'28,0"	2	Exp. Sem casca
24	23°02'56,8''	43°36'28,0"	2	Exp. Sem casca
25	23°02'56,8''	43°36'28,1"	2	Exp. Sem casca
26	23°02'56,6''	43°36'28,1"	2	Exp. Com casca
27	23°02'56,6''	43°36'28,1"	2	Exp. Com casca
28	23°02'56,6''	43°36'28,1"	2	Exp. Com casca
29	23°02'56,6''	43°36'28,1"	2	Exp. Com casca
30	23°02'56,6''	43°36'28,1"	2	Exp. Com casca

*coordenadas determinadas com o uso de GPS

O local de estudo foi dividido da seguinte forma :

- Grupo 1 : Área de pré praia
- Grupo 2 : Área de pós praia
- Grupo 3.1: Área experimental (Sementes sem casca)
- Grupo 3.2: Área experimental (Sementes com casca)

Entende-se por pré-praia as áreas mais abertas e próximas do mar, com influência direta do spray marinho, conhecido como salsugem; já a área de pós-praia é mais fechada, com maior distância do mar e assim com menor interferência dos fatores marinhos. No caso da Restinga da Marambaia, o pós praia apresenta também áreas mais elevadas (MENEZES 1996)

A área experimental é fruto de um estudo realizado com *Allagoptera arenaria*, constituído de duas parcelas de aproximadamente 100m², onde foram colocadas sementes com polpa e sementes despulpadas a fim de se avaliar a germinação da espécie nos dois casos. Na época da coleta as mudas apresentavam-se com aproximadamente dois anos de idade (DANIEL COSTA DE CARVALHO dados não publicados).

3.2 Descrição da metodologia de coleta

Foram coletadas de forma aleatória 10 amostras nas áreas 1 e 2 (áreas de pré e pós praia respectivamente) , e 5 amostras nas áreas 3.1 e 3.2 (área experimental de sementes sem e com casca respectivamente), perfazendo um total de 30 amostras (pelo reduzido tamanho das áreas 3.1 e 3.2 não havia viabilidade para um número maior que 5 amostras).

Cada amostra foi constituída por 200g de solo, contendo raiz, sendo o mesmo coletado a aproximadamente na área de 2/3 de projeção de copa, a profundidade de aproximadamente 5cm. (Figura.1)



Figura 1: Coleta de solo contendo raiz.

3.3 Metodologia de análise das amostras quanto à presença de fungos micorrízicos arbusculares.

As trinta (30) amostras de solo foram separadas de suas respectivas raízes, já nesta etapa, que serviu como um processo primário de triagem foi possível localizar hifas presas à estrutura da peneira (figura.2). O solo após este processo foi reconduzido a sua respectiva amostra.



Figura 2: Presença de hifas aderidas à peneira (Foto Tec. Lab. Itamar Garcia Ignácio)

Após a separação das raízes, o material deu origem a amostras de solo que foram colocadas em sacos plásticos numerados de um a trinta (1-30) .

As raízes que ficaram aderidas à peneira foram transferidas para erlenmeyers numerados também de um a trinta (1-30).

Para avaliação da taxa de colonização de raízes, as 30 amostras foram divididas em 6 grupos, cada um contando com 5 amostras.

A clarificação e coloração das raízes para análise da colonização foram procedidas de acordo com a metodologia proposta por PHILIPS & HAYMAN (1970) e adaptada por KOSKE & GEMMA,(1989) e GRACE & STRIBLEY,(1991). A percentagem de colonização foi obtida segundo McGONIGLE et.al.,(1990).

A identificação dos esporos foi realizada no laboratório de micorrizas da Embrapa Agrobiologia. Os esporos foram extraídos do solo por peneiramento úmido e feita a contagem dos mesmos em microscópio estereoscópio, conforme GERDEMANN & NICOLSON (1963) e centrifugação em solução de sacarose (JENKINS,1964).

3.4 Metodologia de análise das amostras quanto à presença de bactérias fixadoras de nitrogênio.

Para se fazer a análise quanto à presença de bactérias diazotróficas, procedeu-se da seguinte maneira: das 30 amostras simples foram montadas amostras compostas de cinco gramas (5g) de peso de raiz úmida (Figura.3), divididas da seguinte maneira, amostra composta um (1), composta das amostras da área de pré-praia; amostra composta dois (2), derivada da junção de alíquotas das amostras de pós-praia . As amostras da área experimental não foram utilizadas nesta amostragem pois a soma de todas não atingia o peso mínimo de cinco gramas (5g) para a realização dos testes.



Figura 3: Montagem das amostras compostas

Com o solo foi realizado processo similar sendo a única diferença a inclusão das amostras de área experimental .

No laboratório de gramíneas as raízes foram trituradas, colocadas em tubos de ensaio com 90 ml de solução salina e mantidas sob agitação a 150 rpm por 30 minutos em cima da bancada do laboratório (Figuras.4e5). A partir desse extrato de maceração, foram feitas diluições sucessivas (10^{-2} até 10^{-5}). De cada diluição, foram retiradas alíquotas de 0,1 ml, e procedeu-se à inoculação em frascos contendo os meios semi-sólidos semi-seletivos JNFb (neste meio crescem, preferencialmente, as bactérias do gênero *Herbaspirillum* sp), LGI (neste meio crescem preferencialmente as bactérias *Azospirillum amazonense*), JMV (neste meio crescem preferencialmente as bactérias do gênero *Burkholderia*) (Figura.6).

O mesmo procedimento foi realizado para as amostras de solo, que no caso só não foram maceradas, apenas misturadas e agitadas.



Figura 4: Amostra de solo pronta para ser diluída e inoculada em meio de cultura .



Figura 5 : Amostra de raiz pronta para ser diluída e inoculada em meio de cultura.

Para cada meio de cultura foram realizadas inoculações em triplicata para cada uma das diluições, perfazendo um total de 12 frascos para cada tipo diferente de meio de cultura e 36 frascos para cada grupo amostral de raiz , totalizando assim 72 frascos para as amostras de raiz.

Seguindo a mesma linha de raciocínio foi utilizado um total de 108 frascos para a amostra de solo , sendo assim o total de frascos contendo meios de cultura, e suas respectivas diluições, foi de 180.

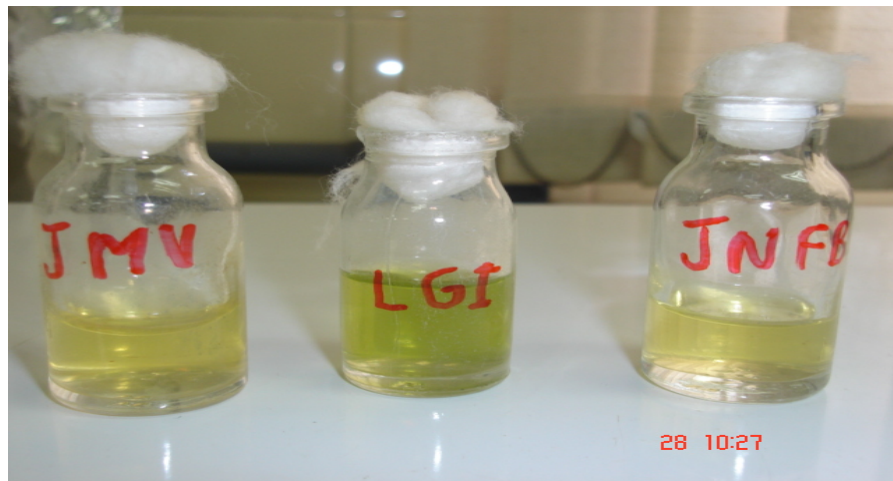


Figura 6: Meios de cultura semi sólidos semi seletivos

Terminado o processo de inoculação levou-se a bandeja contendo os 180 frascos até a estufa onde o material foi incubado a 30°C pelo período de 120 horas (Figura.7).

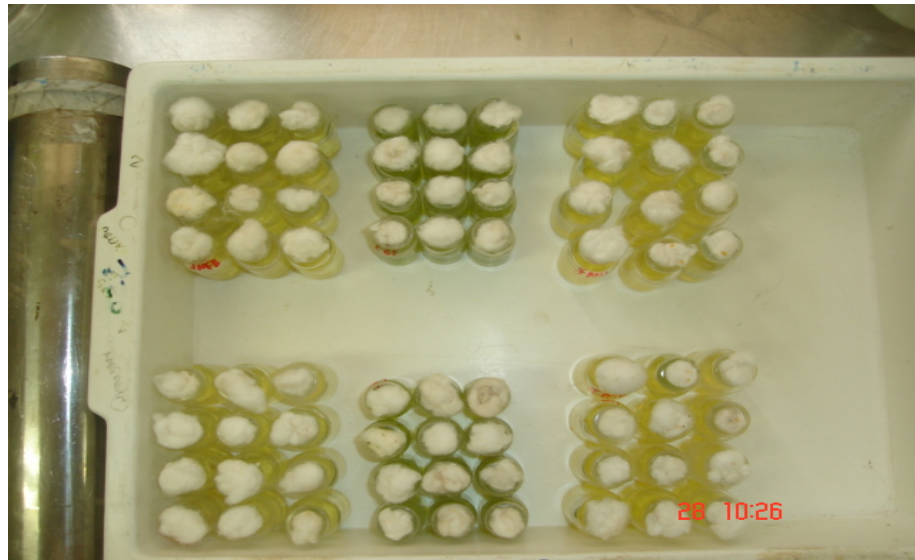


Figura 7: Frascos já inoculados e prontos para ser levados à estufa.

A partir dos frascos de maior diluição que apresentaram a película característica (“papel”) as amostras foram repicadas, novamente em triplicada e colocadas por 96 horas a 30°C. Posteriormente foram selecionadas as que apresentaram melhores resultados e procedeu-se nova repicagem para placa com o meio semi-sólido, após mais 96 horas isolou-se as colônias de interesse e estas foram repicadas para placa contendo meio batata (DÖBEREINER et al., 1995) (Figura.8).

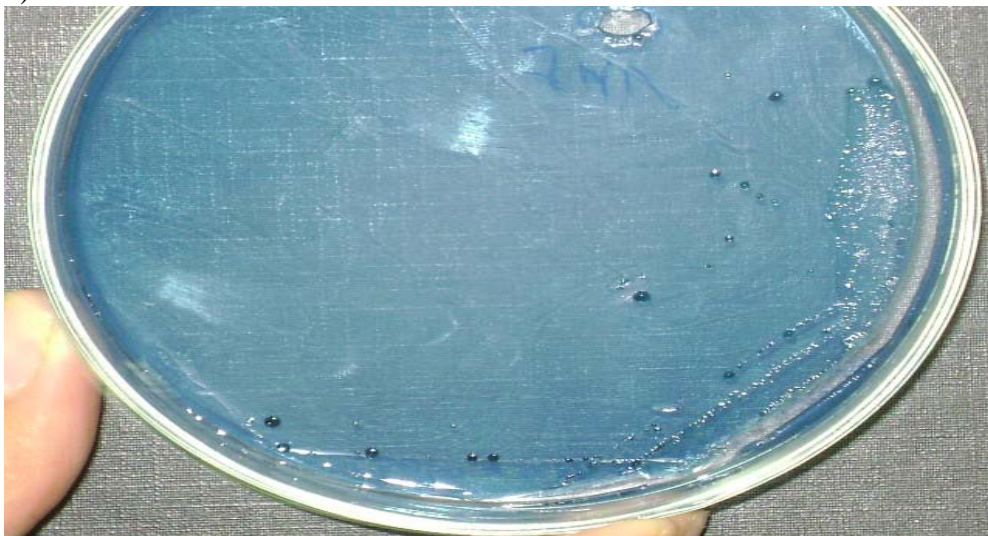


Figura 8: Meio de cultura repicado para o meio batata

A estimativa da população de bactérias diazotróficas foi realizada pela técnica do Número Mais Provável (NMP), utilizando a tabela de McCrady para três repetições por diluição (DÖBEREINER et al., 1995). Utilizou-se o teste de Tukey com nível de significância de 5% para avaliar a probabilidade de as diferenças encontradas nos quatro tratamentos das amostras serem devidas ao acaso, partindo do pressuposto que, na verdade, não há diferenças entre os quatro grupos na população donde provêm. Observou-se também a Riqueza das espécies.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A espécie de palmeira estudada (*Allagoptera arenaria*), apresentou colonização com fungos micorrízicos arbusculares e bactérias fixadoras de nitrogênio. Sendo identificada colonização por fungos em todas as amostras de raiz (Tabela 2). Como não há estudos anteriores relatando a presença de fungos micorrízicos arbusculares e bactérias fixadoras de nitrogênio em *Allagoptera arenaria*, outros estudos de simbiose destes microorganismos foram utilizados como base comparativa.

Tabela 2: Percentagem do comprimento de raízes de *Allagoptera arenaria* colonizadas por FMA

Tratamento	Colonização das raízes.	
Área de pré praia	69%	a
Área de pós praia	71%	a
Área experimental sem casca	61%	a
Área experimental com casca	68%	a

Letras iguais indicam que não há diferenças entre os tratamentos a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A taxa de colonização micorrízica em todas as áreas avaliadas pode ser considerada alta quando comparada com as de SILVA JUNIOR (2004), que encontrou 5,5 a 23% no cupuaçu e de 10,5 a 45,5% na pupunha.

Foi observada também a presença de esporos em todas as amostras. Sendo contabilizada a presença total das espécies (Tabela.3). As espécies *Glomus macrocarpum* (100%), *Glomus sp1.*(46,7%), *Acaulospora foveata* (33,3), *Gigaspora sp.* (33,3%), foram as de maior ocorrência .

Toda comparação relacionada ao número de espécies de fungos micorrízicos arbusculares, deve ser observada com cautela, dada a grande diversidade de escala de área em que os estudos são realizados.

Em comparação a outros estudos realizados nos trópicos, o número total de espécies encontradas neste estudo foi inferior (13 espécies) ao encontrado em plantações de *Terminalia* spp. na Costa do Marfim, onde foram encontradas 41 espécies de FMA (WILSON et al. 1994), na Costa Rica em áreas de floresta e pastagens JOHNSON & WENDIN (1997) encontraram 29 espécies de FMA.

A predominância dos gêneros *Glomus* e *Acaulospora* observados neste trabalho (Tabela.3) , confirmam a ampla capacidade de distribuição destes gêneros na zona tropical, distribuição esta já descrita por outros autores (CUENCA & MENESES, 1996; FELDMANN et al.:2002).

Em relação à pupunha por exemplo a interação planta X FMA tem tido respostas positivas, exercendo papel importante no desenvolvimento da espécie. Dependendo do genótipo da planta

inoculada e do fungo, os ganhos podem chegar a 125% (CARVALHO, 1997; SILVA et.al; 1998).

Segundo SILVA et al.(2004), a inoculação de *Gigaspora albida* promoveu respostas significativas no crescimento de mudas de Maracujazeiro-doce (*Passiflora alata curtis*).

Em estudos realizados com acerola (*Malpighia glabra*), a interação com FMA acarretou benefícios em incremento de altura, resistência a patógenos e a redução do tempo de viveiro (CHU 1993).

Tabela 3 : Espécies de fungos micorrízicos arbusculares por grupo de amostra de solo.(cada grupo foi composto por um total de 10 amostras)

Espécies de FMA	G1	G2	G3	TOTAL	%
<i>Acaulospora foveata</i>	5	3	2	10	33,3%
<i>Acaulospora mellea</i>	4	3	2	9	30,0%
<i>Acaulospora rehmmi</i>	1	2	0	3	10,0%
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	1	0	0	1	3,3%
<i>Archaeospora leptoticha</i>	1	1	0	2	6,7%
<i>Espécie com esporocarpo</i>	1	2	1	4	13,3%
<i>Gigaspora</i> sp.	3	3	4	10	33,3%
<i>Glomus agregatum</i>	1	2	1	4	13,3%
<i>Glomus</i> sp.1	7	3	4	14	46,7%
<i>Glomus macrocarpum</i>	10	10	10	30	100,0%
<i>Glomus</i> sp.2	0	3	1	4	13,3%
<i>Scutellospora cerradensis</i>	0	0	1	1	3,3%
<i>Sclorocystis</i> sp.	0	0	1	1	3,3%
TOTAL	34	32	27	93	

G1= Área de pré praia; G2=Área de pós praia; G3=Área experimental

Foi contabilizado também o número total de esporos nos três grupos analisados (Tabela 4), Sendo que as áreas de pré e pós praia não apresentaram diferenças significativas em relação ao número de esporos, não havendo também diferença entre as áreas experimental com e sem casca.

No entanto foi possível observar que o número de esporos foi maior nas áreas de pré e pós praias quando comparadas com as áreas experimentais.

Provavelmente este fato está ligado à palmeira já estar bem estabelecida nas áreas de pré e pós praias levando assim a mesma a realizar um maior número de associações.

Tabela 4: Número total de esporos de FMA em 50 cm³ de solo

Tratamentos	Média	cv	
T1Área de pré praia	479,2	0,10	a
T2 Área de pós praia	390,8	0,11	a
T3 Área experimental (sementes s/casca)	33,8	0,11	b
T4 Área experimental (sementes c/casca)	39,8	0,15	b

Letras diferentes indicam diferenças a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Na avaliação de fixação biológica do nitrogênio todos os meios de cultura proporcionaram respostas positivas para a presença de bactérias fixadoras de nitrogênio. (Tabela 5)

Tabela 5: Presença de bactérias fixadoras de nitrogênio nas amostras de raiz e solo. (sendo JMV, LGI e JNFB os meios de cultura utilizados, semi sólidos e semi seletivos e os símbolos + indicando a presença e – indicando ausência de bactérias).

Amostra de Raiz (1-10)	Diluição	JMV1	JMV2	JMV3	LGI1	LGI2	LGI3	JNFB1	JNFB2	JNFB3
	-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-3	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-4	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-5	+	+	+	+	-	+	-	-	+
Amostra de Raiz (11-20)		***	***	***	***	***	***	***	***	***
	-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-3	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-4	-	-	+	+	-	-	+	+	+
	-5	-	-	-	-	-	-	+	-	+
Amostra de Solo (1-10)		***	***	***	***	***	***	***	***	***
	-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-3	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-4	-	-	+	+	+	+	+	+	-
	-5	-	-	+	-	-	-	+	-	-
Amostra de Solo (11-20)		***	***	***	***	***	***	***	***	***
	-2	+	+	+	+	-	+	+	+	+
	-3	+	+	+	+	-	+	+	+	+
	-4	+	+	+	-	-	+	-	-	+
	-5	-	-	+	-	-	+	-	-	+
Amostra de Solo (21-30)		***	***	***	***	***	***	***	***	***
	-2	+	+	+	+	+	+	-	+	-
	-3	+	-	+	+	+	+	-	+	-
	-4	-	-	-	-	-	+	-	+	-
	-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Há uma tendência a uma maior presença de resultados positivos quanto às bactérias fixadoras de nitrogênio nas amostras de raiz, dada a relação mais íntima das bactérias com esta área (BALDANI et al., 1981; SOUTO, 1982; MAGALHÃES et al., 1983; BALDANI, 1984; OLIVARES, 1997; REIS JUNIOR, 1998; BRASIL et al., 1999).

A repicagem não apresentou resultados conclusivos, pois não foi possível identificar colônias individualizadas com bom crescimento, sendo as médias do NMP de bactérias obtidos os seguintes :

Raiz da área de pré-praia : JMV $1,40 \times 10^5$; LGI $3,05 \times 10^5$; JNFB $6,33 \times 10^5$
Raiz da área de pós-praia : JMV $4,83 \times 10^5$; LGI $4,83 \times 10^4$; JNFB $1,40 \times 10^4$
Solo da área de pré-praia : JMV $4,83 \times 10^4$; LGI $2,50 \times 10^5$; JNFB $5,58 \times 10^6$
Solo da área de pós-praia : JMV $4,83 \times 10^6$; LGI $2,50 \times 10^6$; JNFB $2,5 \times 10^5$
Solo da área experimental : JMV $2,5 \times 10^5$; LGI $1,00 \times 10^5$; JNFB $1,01 \times 10^6$

Ainda que as bactérias não tenham sido identificadas ao nível de espécie, a constatação se sua associação com a palmeira já nos permite inferir sobre determinados pontos, talvez seja esta associação que possibilita que a *Allagoptera arenaria* mantenha suas folhas verdes e vistosas independente do época do ano e das condições climáticas. Mesmo que já exista uma absorção de nitrogênio pela planta independente da associação com bactérias fixadoras de nitrogênio, estudos comprovam que a obtenção do nutriente aumenta com a simbiose, como é o caso da variedade CB 47-89 de cana de açúcar que acumula 150 kg de N₂ por hectare derivado da FBN, aproximadamente 60% a mais do nitrogênio incorporado sem a associação (LIMA et al., 1987).

Em testes realizados com feijão, as plantas inoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio apresentaram produtividade superior da ordem de 40% em relação a testemunha (RUMJANEK, 2005).

Na avaliação da resposta do dendezeiro, As mudas de dendezeiro mostraram-se bastante responsivas ao nitrogênio, sendo o tratamento micorrizado nitrogenado o que melhor contribuiu para o desenvolvimento das plantas. Foi verificado também que todos os tratamentos que foram inoculados com os fungos micorrízicos arbusculares associados ou não às bactérias diazotróficas apresentaram um conteúdo de fósforo na parte aérea estatisticamente superior à testemunha.(CARVALHO 1997)

SAGGIN-JÚNIOR et al. (1995) verificou que de cinco espécies florestais analisadas (Cedro, Ipê amarelo, Guatambu, Saboneteira, Jacarandá-roxo e Pau pereira), apenas duas não apresentaram dependência micorrízica, são elas o Jacarandá-roxo e o Pau pereira.

“Trabalhos de pesquisas realizadas nas décadas de 60 a 80 evidenciaram a contribuição considerável da FBN para a nutrição nitrogenada de algumas gramíneas forrageiras. Pelo uso da técnica de diluição isotópica de N¹⁵, BODDEY et al. (1983) demonstraram que a gramínea *Paspalum notatum* cv. batatais obteve 10 % de seu N (20 kg ha⁻¹ ano⁻¹) via FBN. BODDEY & VICTORIA (1986), usando essa mesma técnica, observaram que *Brachiaria humidicola* e *B. decumbens* obtiveram 30 a 40 % de N via FBN. Estes percentuais correspondem a 30 e 45 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N, respectivamente.”

5. CONCLUSÕES

A palmeira *Allagoptera arenaria* realiza associação com fungos micorrízicos arbusculares, sendo as áreas de pré e pós-praia as de maior incidência de esporos.

As raízes apresentaram taxa de colonização média de 68,2%, sendo este mais um fator que contribui para a afirmação acima.

Quanto à presença de bactérias fixadoras de nitrogênio a palmeira apresentou resultados positivos em todos os tipos de meio de cultura, porém como o meio não foi seletivo não foi possível identificar as mesmas ao nível de espécie.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A . L. & ARAUJO, D. S. D., 1997, **Comunidades vegetais do cordão arenoso externo da reserva ecológica estadual de Jacarepiá, Saquarema, RJ.** Oecol. Brasil, 3: 45-61.

ARAUJO, D. S. D. DE & MACIEL, N. C. 1998. **Restingas fluminenses: biodiversidade e preservação.** Boletim FBCN 25: 27-51

ARAUJO, D. S. D. & PEIXOTO, A . L., 1977, **Renovação de uma comunidade vegetal de restinga após queimada.** In: **Congresso Nacional de Botânica, 27^o.** Rio de Janeiro. Anais. Acad. Ci., pp. 1-17

BALDANI, J.I.; PEREIRA, P.A.; ROCHA, R.E.M. & DÖBEREINER, J. **Especificidade na infecção de raízes por *Azospirillum* spp. em plantas com via fotossintética C₃ e C₄.** Pesq. Agropec. Bras. 16:323-325, 1981.

BALDANI, J.I. **Ocorrência e caracterização de *Azospirillum amazonense* em comparação com as outras espécies deste gênero, em raízes de milho, sorgo e arroz.** Itaguaí, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1984. 110p. (Tese de Mestrado)

BALDANI, J. I.; REIS, V. M.; BALDANI, V. L. D.; DOBEREINER, J. **A brief story of nitrogen fixation in sugarcane – reasons for success in Brazil.** *Functional Plant Biology*, v.29, p.417-423, 2002.

BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S. & HUNGRIA, M.R. **Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas.** R. Bras. Ci. Solo, 22:641-649, 1998.

BARBOSA, J. C. de M.H. **Fixação de dunas e seu aproveitamento : o problema das dunas da restinga da marambaia.** Anuário brasileiro de economia florestal . 1(1) : 312-333. 1948.

BARBOSA, L. M., BARBOSA, J.M.; BATISTA, E. A .; MANTOVANI, W.; VERONESE, S. A . & ANDREANI JR, R. 1989. **Ensaio para estabelecimentos de modelos para a recuperação de áreas degradadas de mata ciliar, Moji Guaçu (SP) – nota previa.** Pp. 268-283. In: Anais do simpósio sobre mata ciliar. Fundação Cargill, Campinas.

BAREA, J. M. 1991. **Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility.** Adv. Soil Sci., 15 (1): 1-39.

BODDEY, R.M.; CLARK, P.M.; VICTORIA, R.L.; MATSUI, E. & DÖBEREINER, J. **The use of the ¹⁵N isotope dilution technique to estimate the contribution of associated biological nitrogen fixation to the nitrogen nutrition of *Paspalum notatum* cv batatais.** Can J. Microbiol., 29:1036-1045, 1983.

BODDEY, R.M. & VICTORIA, R.L. **Estimation of biological nitrogen fixation associated with *Brachiaria* e *Paspalum notatum* cv. batatais using ¹⁵N labelled organic matter and fertilizer.** Plant Soil, 90:265-292, 1986.

BONDAR, G. **Palmeiras da Bahia**. Instituto nacional de fomento econômico da Bahia. 6: 14-15. 1939.

BRASIL, M.S.; GUIMARÃES, S.L.; SILVA, R.A.; FERNANDES, F.A.; BALDANI, V.L.D. & ISHII, I.H. **Contagem e isolamento de bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* associadas a três espécies forrageiras no Pantanal da Nhecolândia - MS.** In: Congresso de Microbiologia, 20., Salvador, 1999. Livro de Resumos. Salvador, 1999.p.297.

BRUNDRETT, M. C. 1991. **Mycorrhizas in natural ecosystems.** Advances in Ecological Research 21: 131-171.

BRUNDRETT, M. C.; ASHWATH, N. & JASPER, D. A. 1996. **Mycorrhizas in the Kakadu region of tropical Australia: I. Propagules of mycorrhizal fungi and soil properties in natural habitats.** Plant and Soil 184(1): 159-171.

CARVALHO, A.R.V. **Associação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares em mudas de pupunheira (*Bactris gasipaes* H.B.K.) e dedeizeiro (*Elaeis guineensis* JACK).** Seropédica, 1997. 230p. Tese (Doutorado) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

CARVALHO, E.A. **Avaliação agrônômica da disponibilização de feijão sob sistema de semeadura direta.** 2002. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2002.

CHIARINI, L. et al. **Inoculation of *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas fluorescens* and *Enterobacter* sp. on *Sorghum bicolor*: Root colonization and plant growth promotion of dual strain inocula.** Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v.30, n.1, p.81-87, 1998.

CHU, E. Y. **Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em plântulas de acerola (*Malpighia glabra* L.).** Belém : Embrapa-CPATU, 1993.15 p. (Embrapa-CPATU. Boletim de Pesquisa, 149).

CIRNE, P. & SCARANO, F. R., 1996, **Rebrotamento após fogo de andira legalis (leguminosa) em restinga fluminense.** In: H. S. Miranda, Sato & B. F. S. Dias (orgs.), Impactos de queimadas em áreas de cerrado e restinga. UNB, pp. 128-136

COLOZZI-FILHO, A.; BALOTA, E.L. **Micorrizas arbusculares.** In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R.S. (Eds.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola.** Brasília: Embrapa-SPI, 1994. p.383-418.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das planas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Volume I. Ministério da agricultura . Serviço de informação agrícola. 1926. Rio de Janeiro. XIII + 747 p., iI.

CUENCA, G. & E. MENESES. (1996) **Diversity patterns of arbuscular mycorrhizal fungi associated with cacao in Venezuela**. Plant and Soil. 183(2):315-322

DOBBELAERE, S. et al. **Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere**. Critical Reviews in Plant Sciences, Amsterdam, v.22, n.2, p.107-149, 2003

DÖBEREINER, J. REIS, V.M.; LAZARINI, A.C. **New N₂-fixing bacteria in association with cereals and sugarcane**. In: BOTHE, H.; BRUIJIN, F.J. de; NEWTON, W.E.eds. Nitrogen fixation: hundred years after. Stuttgart: Gustav Fisher, p.717-722, 1988.

DÖBEREINER, J., BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas**. – Brasília: EMBRAPA – SPI,Itaguaí, RJ, 1995,60

DÖBEREINER, J., BALDANI, V.L.D.; CARVALHO, A.R.V., COZZOLINO, K., REIS, V.M.; **Identificação de associações com bactérias fixadoras em palmeiras nativas**. EMBRAPA – AGROBIOLOGIA,-Itaguaí, RJ, 1998-60p.

ELBELTAGY, A.; NISHIOKA, K.; SATO, T.; SUZUKI, H.; YE,B.; HAMADA, T.; ISAWA, T.; MITSUI, H.;MINAMISAWA, K.**Endophytic colonization and *in planta* nitrogen fixation by a *Herbaspirillum* sp. isolated from wild rice species**. Applied and Environmental Microbiology, v.67, p.5285-5293, 2001.

EVANS, H.J.; BURRIS, R.H. **Highlights in Biological Nitrogen Fixation during the last 50 years**. In: STACEY, G.; BURRIS, R.H.; EVANS, H.J eds. **Biological Nitrogen Fixation**. New York: Chapman and Hall, 1992, p.1-42.

FELDMANN, F.; SILVA JUNIOR, P.J. da; LIEBEREI, R. **AMF spore community composition at natural and agricultural sites in Central Amazonia - a long term study**. In: GERMAN-BRAZILIAN WORKSHOP ON NEOTROPICAL ECOSYSTEMS, 2000,Hamburg. Proceedings. Geesthacht: GKSS, 2002. p.669-682. Editores Reinhard Lieberei, Helmut K. Bianchi, Vera Boehm, Christoph Reisdorff.

FARELEIRA, P.; MATOSI, N.; FERREIRA, E.; MARQUES, J.F. **Tolerância ao sal e às altas temperaturas de estirpes de *Sinorhizobium meliloti* provenientes de zonas secas do Alentejo**. Disponível em:http://www.iniap.minagricultura.pt/ficheiros_public/Microsoft%20Word%20-20paula%20public%208.pdf. Acesso em: 02 jul 2007.

FERNANDES, M. S. **Nutrição mineral de plantas**. 2006. Viçosa-MG: Sociedade Brasileira de Ciência do solo. 432 p.

FERREIRA, S.A.N.; CLEMENT, C.R.; RANZANI, G. **Contribuição para o conhecimento do sistema radicular da pupunheira (*Bactris gasipaes* H.B.K. - *Guilielma gasipaes* (H.B.K.) Bailey):I. Solo Latossolo Amarelo, textura média.** Acta Amazônica,v.10, p.245-249, 1980.

FRANCO, A. A. 1994. **Regevegação de áreas de mineração de bauxita em Porto Trombetas - PA com leguminosas arbóreas noduladas e micorrizadas**, p. 145-154. In Simpósio Sul-Americano e Simpósio Nacional Recuperação de Áreas Degradadas, 1. Foz do Iguaçu, PR, 1994. 680 p. Resumos.

FRANCO, A. A.; FARIA, S. M. **The contribution of N₂-fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics.** Soil Biology and Biochemistry, v. 29, n. 5/6, p. 897-903, 1997.

GERDEMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. 1963. **Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting** Trans. Br. Mycol. Soc. 46:235-244.

GRACE, C. & D.P. STRIBLEY. 1991 . **A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi.** Mycological Research, 95 (9): 1160-1162.

GUERRA, A.T. **Dicionário geológico-geomorfológico.** 8. Ed.-Rio de Janeiro, IBGE, 1993. 446p. il.

HAY, J. D. & LACERDA, L. D. de., 1984, **Ciclagem de nutrientes no ecossistema de restinga.** In: L. D. Lacerda, D. S. D. Araujo, R. Cerqueira & B. Turcq (eds.), **Restingas: Origem, Estrutura, Processos.** CEUFF, Niterói, pp. 459-475.

HENDERSON, A.; GALEANO, G. & BERNAL, R. **A Field Guide to the Palms of the Americas.** New Jersey, Princeton University. 1995.

HOODGE, W.H. **A strand palm of southeastern Brazil.** Principes. 8(2) : 55-57. 1964

JASPER, D. A, L. K. ABBOTT & A. D. ROBSON. 1991. **The effect of soil disturbance on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soils from different vegetation types.** New Phytologist, 118 (2): 471-476.

JENKINS, W.R. **A rapid centrifugation technique for separating nematodes from soil.** Plant Disease Reporter, v.48, p.692, 1964.

JOHNSON, N. C. & WEDIN, D. A. 1997. **Soil carbon,nutrients, and mycorrhizae during conversion of dry tropical forest to grassland.** Ecological Applications 7(1): 171-182.

KAGEYAMA, P. Y.; CASTRO, C.F.A. & CARPANEZZI, A . A . 1989. **Implantação de matas ciliares : estratégias para auxiliar a sucessão secundaria .** pp. 130-143. In: Anais do simpósio sobre mata ciliar. Fundação Cargill, Campinas.

KÖPPEN, W. 1948. **Climatologia. Fondo de CulturaEconómica.** México.

- KOSKE, R.E.; GEMMA, J.N. **A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas.** Mycological Research, Cambridge, v.92, n.4, p.468-488, June 1989.
- LACERDA, L. D., ARAUJO, D. S. D., & MACIEL, N. C., 1993. **Dry coastal ecosystems.** V. 2. Elsevier, Amsterdam.
- LEITE, C. O., 1990, **Biologia de reprodução de allagoptera arenaria (Gomes) O . Kuntze (Diplothemium maritimum MART.) – Palmae, Rio de Janeiro.** Tese de mestrado, UFRJ, 80p.
- LI, R, MACRAE, I C (1992) "**Specific identification and enumeration of *Acetobacter diazotrophicus* in sugarcane**" Soil Biol. Biochem. 24: 413-419
- LIMA, E.; BODDEY, R. M.; DÖBEREINER, J. **Quantification of biological nitrogen fixation associated with sugar cane using a 15 N aided nitrogen balance.** Soil Biology and Biochemistry, Elmsford, v. 19, p.165-170, 1987.
- MAGALHÃES, F.M.; BALDANI, J.I.; SOUTO, S.M.; KUYKENDALL, J.R & DOBEREINER, J. **A new acid-tolerant *Azospirillum* species.** Acad. Bras. Ci., 55:417-430, 1983.
- MCGONIGLE, T.P.; Miller, M.H.; Evans, D.G.; Fairchild, G.L.; Swan, J.A. 1990. **A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi.** *New Phytol.*, 115: 495-501
- MARSCHNER H. (1995) **Mineral Nutrition of Plants**, Ed 2. Academic Press, Boston.
- MENEZES, L. F. T., 1996, **Caracterização de comunidades vegetais praianas da restinga da marambaia, RJ.** Tese de mestrado, UFRRJ, 89p.
- MENEZES, L.F.T. & ARAUJO, D.S.D, 2004. **Regeneração e riqueza da formação arbustiva de Palmae em uma cronosequência pós-fogo na Restinga da Marambaia, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.** Acta bot. Bras. 18(4): 771-780.
- MERCANTE, F. M. **Uso de inoculante garante economia de 3 bilhões de dólares na cultura da soja no país.** Disponível em: www.embrapa.br/noticias/artigos/folder.2005-02-02.1550581232/artigo.2005-12-05.0506770395/mostra_artigo. Acesso em: 02jul 2007.
- MEURER, F.; HAYASHI, C.; COSTA, M.M. et al. **Uso da *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico para a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual.** In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004.
- MORALES, A.L.; VARGAS, H.S. **Observaciones sobre la distribución radical del peji baye (*Bactris gasipaes* H.B.K.) para palmito en un andosol.** ASBANA, v.14, p.9-15, 1990.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 399 p.

OLIVARES, F.L. **Taxonomia, ecologia e mecanismos envolvidos na infecção e colonização de plantas de cana-de-açúcar por bactérias diazotróficas do gênero *Herbaspirillum***. Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1997. 341p. (Tese de Doutorado)

PEOPLES, M.B.; CRASWELL, E.T. **Biological nitrogen fixation; investments, expectations and actual contributions to agriculture**. Plant and Soil, Dordrecht, v.141, n.1, p.13-39, 1992.

PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. **Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection**. Trans. Br. Mycol. Soc., 55(1) 158-169.1970

RAMOS, A.E. & ROSA, C.M.M. 1992. Impacto das queimadas. Pp. 34-38. In: **Alternativas de desenvolvimento dos cerrados: manejo e conservação dos recursos naturais renováveis**. Brasília, Fund. Pró-natura.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1996. 728p.

REIS JUNIOR, F.B.; REIS, V.M.; TEIXEIRA, K.R.S. & URQUIAGA, S. **Avaliação da diversidade de bactérias diazotróficas em diferentes genótipos de *Brachiaria***. Seropédica, Embrapa Agrobiologia, nov/1999. 4p

RIZZINI, C.T., 1979. **Tratado de fitogeografia de Brasil: aspectos sociológicos e florísticos**. v. II HUCITECEDUSP, 374p.

RUMJANEK, N. G.; MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; NEVES. M. C. P. **Fixação Biológica de Nitrogênio**. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. DE A.; SILVA, P. H. S. DA; VIANA, F.M. P. (Org.). **Feijão caupi: avanços tecnológicos**, 2005, p. 279-335.

SABATA, R.J. AND MASON, S.C. (1992) **Corn hybrid interactions with soil N level and water regime**. Journal of Production Agriculture, 5: 137–142.

SILVA, E.M.R.; SUDO, A.; ALMEIDA, D.L.; MATOS, R.M.B.; PEREIRA, M.G.; BOVI, M.L.A.; MACHADO, C.C.T.; **Ocorrência e efetividade de fungos micorrízicos arbusculares em espécies cultivadas**. Seropédica: EMBRAPA-CNPAB, 1998. 16p. (EMBRAPA_CNPAB. Documentos,83)

SAGGIN-JÚNIOR, O.J.; SIQUEIRA, J.O.; AMADO, L.A. & PEREIRA, M.A.M. **Dependência micorrízica de espécies arbóreas de vegetação clímax nativas do sudeste brasileiro**. In: Congresso Brasileiro de Ciência do solo, 25., Viçosa, 1995.

SILVA JR, **Comunidade de fungos micorrízicos arbusculares associados à pupunha e ao cupuaçu cultivados em sistema agroflorestal e em monocultivo na amazônia central.** Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo.2004

SILVA, M. A.; CAVALCANTE, U. M. T.; SILVA, F. S. B.; SOARES, S. A. G.; MAIA, L. C. **Crescimento de mudas de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis) associadas a fungos micorrízicos arbusculares (*Glomeromycota*).** Acta Botânica Brasílica. São Paulo, v.18, n.4, p.981-985, 2004.

SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C.; CURI, N.; ROSADO, S. C. S. & DAVIDE, A. C. 1998. **Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native wood species as related to sucessional groups in southeastern Brazil.** Forest Ecology and Management 107: 241-252.

SIQUEIRA, J. O. & O. J. SAGGIN JUNIOR. 1992. **The importance of mycorrhizae association in natural in low fertility.** p.240-280. In A. T. MACHADO, R. MAGNAVACA, S. PANDEY & A. F. SILVA (Ed.). Poc. Int. **Symposium on Environmental Stress: maize in perspective**, 3. Embrapa - CNPMS, Sete Lagoas, Minas Gerais, 353 p. Resumos

SOUTO, S.M. **Variação estacional da fixação de N₂ e desnitrificação em gramíneas forrageiras tropicais.** Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1982. 268p. (Tese de Doutorado)

SPRENT, J.I.; SPRENT, P. **Nitrogen fixing organisms.** London: Chapman and Hall,2ed., 1990. 256p.

STACEY, G.; BURRIS, R.H.; EVANS, H.J. **Biological Nitrogen Fixation.** New York:Chapman and Hall, 1992. 943p.

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

TAIZ L.; ZEIGER E., 2004; **Fisiología vegetal**; Universitat Jaume I; 774p

TAVARES, S.R.L. 1998 **Uso de leguminosas arbóreas noduladas e micorrizadas para revegetação de solo de restinga degradado.** Tese de mestrado em ciência do solo UFRRJ.

TOMLINSON, P. B., 1960, **Essays on the morphology of palms. II. The early growth of the palm.** Principes, 4(4): 140-143

ULE, E. 1901. **Die Vegetation von Cabo Frio an der Küste von Brasilien.** In: Engler, A. Botanischen Jahrbüchern 28: 511-528.

VANDERMEER, J. **Observations on the root system of the Pejibaye palm (*Bactris gasipaes* H.B.K.) in Costa Rica.**Turrialba, v.27, p.239-242, 1977.

VAN DER VALK, A. G., 1974, **Mineral Cycling in coastal foredune plant communities in cape hatteras National Seashore**. *Ecol.*, 55: 1349-1358.

VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. **Biologia dos solos dos cerrados**. Embrapa CPAC, Planaltina, DF. 1997. 524 p.

VELOSO, H.P., RANGEL Fo, A.L.R. & LIMA, J.C.A. 1991. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, Rio de Janeiro.

WILSON, J.; INGLEBY, K.; MANSON, P.A.; IBRAHIN, K.; LAWSON G.J.-**Long term changes in V.A.M. spore populatio in *Terminalia* plantation in Côte d' Ivoire** – Wallingford.cabi 1994.