

FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES, BACTÉRIAS
DIAZOTRÓFICAS E ADUBAÇÃO FOSFATADA EM MUDAS DE
MAMOEIRO

KÉSSIA BARRETO LIMA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO - 2010

FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES, BACTÉRIAS
DIAZOTRÓFICAS E ADUBAÇÃO FOSFATADA EM MUDAS DE
MAMOEIRO

KÉSSIA BARRETO LIMA

Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Marco Antonio Martins

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2010

FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES, BACTÉRIAS
DIAZOTRÓFICAS E ADUBAÇÃO FOSFATADA EM MUDAS DE
MAMOEIRO

KÉSSIA BARRETO LIMA

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Aprovada em 19 de fevereiro de 2010

Comissão Examinadora:

Prof. Cláudio Roberto Marciano (D.Sc., Solos e Nutrição de Plantas) – UENF

Prof^a Luciana Aparecida Rodrigues (D.Sc., Produção Vegetal) – IST/FAETEC

Prof^a Marta Simone Mendonça Freitas (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF

Prof. Marco Antonio Martins (PhD. Microbiologia do Solo) – UENF
Orientador

“O papel dos infinitamente pequenos é infinitamente grande.” Louis Pasteur

Em memória de minha inesquecível avó Elsa Lima,
Aos meus pais Irineu e Bernardete
Dedico...

AGRADECIMENTOS

A DEUS pela vida e por todas as conquistas;

Aos meus pais Irineu de A. de Lima Filho e Maria Bernardete Barreto pelo amor, incentivo à educação e cuidados ao longo de toda a minha vida;

Aos meus irmãos Irineu e Iverton e a todos os familiares sempre presentes em minha vida;

Ao meu namorado João Batista, pelo carinho, compreensão e apoio durante os experimentos e nos momentos difíceis;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, pela oportunidade de realizar este curso;

Ao professor Orientador Marco Antônio, agradeço a oportunidade, paciência e a confiança em desenvolver este trabalho;

À Prof^ª. Marta, pela co-orientação, amizade, apoio e valiosos conselhos durante as disciplinas, além do suporte durante toda a elaboração deste trabalho;

Ao Prof. Fábio, pelo incentivo, confiança e aos ensinamentos concedidos desde a minha graduação;

Ao Prof. Cláudio e à Prof^ª. Luciana, agradeço todas as sugestões que foram de grande importância para a apresentação deste trabalho;

À técnica Adriana do LBCT/CBB, e aos técnicos do LSOL/CCTA: Kátia, Vanilda e, em especial, Andréia e Ederaldo, pelo suporte durante toda a condução experimental e durante as análises;

Aos funcionários de apoio ao campo Sr. Zélio e Romualdo pelas coletas do solo e apoio durante o experimento;

Aos colegas de laboratório Élide, José Antônio, Rogério, Letícia, Karolyne, Erineudo e Vanessa pela grande colaboração durante as coletas, que foram imprescindíveis para a concretização deste trabalho;

A CAPES, pela concessão da bolsa de estudo e pela oportunidade de desenvolver este trabalho;

À empresa Caliman Agrícola S/A pelo fornecimento das sementes de mamão;

Aos amigos sempre presentes Juliana, Sheyla, Priscila, Wanderson e Mírian pela ajuda durante os grupos de estudo e pelo agradável convívio durante as disciplinas;

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a elaboração deste trabalho...

Muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO	x
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. A cultura do mamoeiro	3
2.2. Nutrição mineral do mamoeiro.....	5
2.3. Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs).....	7
2.4. Associação micorrízica em mamoeiro	11
2.5. Interação entre FMAs e bactérias diazotróficas	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1. Local e delineamento experimental.....	16
3.2. Preparo do substrato.....	17
3.3. Preparo dos inóculos dos FMAs.....	17
3.4. Preparo dos inóculos das bactérias diazotróficas.....	18
3.5. Produção de mudas de mamoeiro.....	19
3.6. Colheita e variáveis avaliadas.....	20
3.6.1. Avaliação de massa fresca e seca das mudas	20
3.6.2. Contéudos de N, P, K, Ca e Mg na parte aérea das mudas...	21
3.6.3. Porcentagem de colonização micorrízica	21
3.6.4. Contagem de bactérias diazotróficas	21
3.7. Análise Estatística	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1. Altura, área foliar e diâmetro do caule das mudas.....	23
4.2. Massas frescas e secas da parte aérea e das raízes	29
4.3. Contéudos de N, P, K, Ca e Mg na parte aérea das mudas	35
4.4. Porcentagem de colonização micorrízica	43
4.5. Contagem de bactérias diazotróficas através da técnica do Número Mais Provável (NMP)	51

5. RESUMO E CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
APÊNDICE.....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características quanto à morfologia das colônias das bactérias diazotróficas crescidas em meio Dygs sólido	18
Tabela 2: Altura (cm) das mudas de mamoeiro da cultivar Golden em função da inoculação de fungo micorrízico arbuscular (FMA) e das doses de P no substrato, com os incrementos relativos (IR%) aos 150 dias após a semeadura	24
Tabela 3: Diâmetro do caule (mm) e área foliar total (cm ²) de mudas de mamoeiro da cultivar Golden em função da inoculação com fungo micorrízico arbuscular (FMA) aos 150 dias após a semeadura	27
Tabela 4: Diâmetro do caule (mm) e área foliar (cm ²) de mudas de mamoeiro da cultivar Golden em função das doses de P no substrato aos 150 dias após a semeadura	29
Tabela 5: Massas fresca, seca (g planta ⁻¹) e conteúdo relativo de água (CRA) em raízes (R) e parte aérea (PA) de mudas de mamoeiro da cultivar Golden em função da inoculação com fungo micorrízico arbuscular (FMA) aos 150 dias após a semeadura	30
Tabela 6: Massa fresca e seca em mudas de mamoeiro da cultivar Golden em função das doses de P aplicadas no substrato aos 150 dias após a semeadura.....	33
Tabela 7: Conteúdo de N, P, K, Ca e Mg (mg planta ⁻¹) na parte aérea de mudas de mamoeiro da cultivar Golden submetidas à inoculação de fungo micorrízico arbuscular, em função das doses de P no substrato aos 150 dias após a semeadura	36
Tabela 8: Conteúdo de Mg (mg planta ⁻¹) na parte aérea de mudas de mamoeiro da cultivar Golden submetidas à inoculação de fungo micorrízico arbuscular (FMA) em função da presença ou não de bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) aos 150 dias após a semeadura.....	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Árvore filogenética com a recente mudança taxonômica da Classe Glomeromycetes (AMF-Taxonomy e Phylogeny, 2009)	8
Figura 2: Visão geral do efeito da inoculação com FMAs em mudas de mamoeiro da cultivar Golden aos 105 dias após a semeadura, na ausência de bactérias diazotróficas e de P no substrato. SF: Sem fungo; GM: Gigaspora margarita; GC: Glomus clarum; GM+GC: inóculo misto.....	27
Figura 3: Colonização micorrízica em raízes de mudas de mamoeiro da cultivar Golden aos 105 dias após a semeadura. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey em nível de significância de 5%. C.V.= 9,2%	44
Figura 4: Fotomicrografia de raízes de mamoeiro da cultivar Golden aos 150 dias após a semeadura, colonizadas por espécies inoculadas de FMAs. (A) Detalhe evidenciando a extensiva colonização de FMAs (*), com a formação de hifas (→) em raízes inoculadas com G. margarita . (B) formação de arbúsculos (*), vesículas (Δ) e hifas (→) em raízes inoculadas com G. clarum	47
Figura 5: Detalhes das estruturas de esporos de G. clarum (A, B, D) presentes nos fragmentos radiculares de mudas de mamoeiro da cultivar Golden aos 150 dias após a semeadura. C e E: evidenciam a germinação dos esporos, de G. margarita, com a formação de hifas	48
Figura 6: Colonização de esporos (→) na superfície e no interior do tecido radicular de mudas de mamoeiro da cultivar Golden aos 150 dias após a semeadura. A: G. margarita; B: G. clarum; C e D: G. margarita + G. clarum	49
Figura 7: Segmento de raiz de mudas de mamoeiro da cultivar Golden aos 150 dias após a semeadura. Mostrando o aspecto microscópico da penetração e colonização do córtex pelos	

	FMA's com a formação de hifas infectivas (Δ) no interior do tecido radicular, projetando-se além da zona de exploração das raízes. (A) Raízes inoculadas com <i>G. margarita</i> . (B) Hifas (Δ) e vesículas (\rightarrow) presentes em raízes inoculadas com <i>G. clarum</i>	51
Figura 8:	Contagem do número de bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) (expresso em log do número de células por grama de raiz fresca) em mudas de mamoeiro da cultivar Golden aos 150 dias após a semadura. Letras seguidas pela mesma letra diferem entre si com $p= 0.05$. C.V.= 22,4%	52

RESUMO

LIMA, Késsia Barreto, Bióloga Licenciada, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Fevereiro de 2010. Fungos micorrízicos arbusculares, bactérias diazotróficas e adubação fosfatada em mudas de mamoeiro. Orientador: Prof. Marco Antonio Martins. Co-orientadores: Prof. Fábio Lopes Olivares e Prof.^a Marta Simone Mendonça Freitas.

Foi conduzido um experimento em casa de vegetação com o objetivo de avaliar os efeitos dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e das bactérias fixadoras de nitrogênio, na ausência e na presença de fósforo, em mudas de mamoeiro da cultivar Golden. O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados, em arranjo fatorial 4 x 3 x 2, sendo três tratamentos com fungos micorrízicos arbusculares: *Glomus clarum*, *Gigaspora margarita*, inóculo misto (*Glomus clarum* + *Gigaspora margarita*) e o controle sem FMAs; dois tratamentos com bactérias diazotróficas: *Stenotrophomonas maltophilia* e *Azospirillum* sp. TS 15 e o controle sem bactérias diazotróficas; e duas doses de fósforo, 0 e 25 mg dm³. Os tratamentos foram dispostos em blocos casualizados, com quatro repetições e a unidade experimental foi composta por um vaso com duas plantas. As mudas foram produzidas a partir de sementes desinfestadas com hipoclorito de sódio (0,5%) em vasos de 4 dm³, contendo como substrato uma mistura de solo (Cambissolo) e areia na proporção de 1:1(v/v), esterilizado em autoclave por duas vezes a 121°C. Aos 105 dias após a

semeadura as plantas foram coletadas e avaliadas altura, área foliar total, diâmetro do caule, massas frescas da parte aérea e raiz, massas secas da parte aérea, raiz e total, conteúdo de N, P, K, Ca e Mg na parte aérea das mudas, porcentagem de colonização micorrízica e contagem do número de bactérias diazotróficas em amostras de raízes. Independente da presença da bactéria e do P no substrato, a inoculação com todos FMAs proporcionaram aumentos significativos no crescimento e nos conteúdos de N, P, K, Ca e Mg da parte aérea das mudas de mamoeiro. Na ausência de P no solo, os inóculos misto e *G. margarita* se destacaram como os mais promissores para as mudas de mamoeiro. Não houve efeito estimulatório ou supressivo no crescimento das mudas com a inoculação de bactérias diazotróficas na ausência ou na presença dos FMAs.

ABSTRACT

LIMA, Késsia Barreto, Biologist, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. February 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi and diazotrophic bacteria and phosphate fertilization on papaya seedlings. Adviser: Prof. Marco Antonio Martins. Co-adviser: Prof. Fábio Lopes Olivares and Marta Simone Mendonça Freitas.

An experiment was conducted in greenhouse to evaluate the effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and nitrogen fixing bacteria in the absence and presence of phosphorus in papaya cultivar Golden. The experimental was performed using a randomized experimental design factorial $4 \times 3 \times 2$, corresponding to: three treatments with mycorrhizal fungi: *Glomus clarum*, *Gigaspora margarita*, mixed inoculum (*Glomus clarum* + *Gigaspora margarita*) plus one control with plants without AMF, two treatments diazotrophic bacteria, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Azospirillum* sp. TS 15 plus one control with plants without diazotrophs, and two phosphorus levels, 0 and 25 mg dm^{-3} . The treatments were arranged in randomized block design with four replications and the experimental unit consisted of one pot with two plants. The seedlings were grown from seeds disinfected with sodium hypochlorite (0.5%) in pots of 4 dm^3 containing as substrate a mixture of soil (Cambisol) and sand 1:1 (v / v) sterile by autoclaving twice to 121°C . At 105 days after sowing the plants were collected and measured for height, leaf area, stem diameter, fresh weight of shoot and root dry masses of shoot, root and total content of N, P, K, Ca and Mg

in the area of seedlings, percentage of mycorrhizal colonization and counting the number of diazotrophic bacteria in samples of roots. It was observed that regardless of the presence of bacteria and the presence in soil inoculated with AMF all provided significant increases in growth and content of N, P, K, Ca and Mg in shoots of papaya seedlings. In the absence of P in the soil, the inoculant mixed and *G. margarita* stood out as the most promising for the papaya. There was no suppressive or stimulatory effect on growth of seedlings with inoculation of diazotrophic bacteria in the absence or presence of AMF.

1. INTRODUÇÃO

Dentre o quadro de frutos tropicais produzidos no Brasil, o mamão (*Carica papaya* L.) encontra-se em destaque, conferindo ao país uma grande importância econômica. O Brasil é considerado o maior produtor mundial e o terceiro maior exportador de mamão em 2007 (IBGE, 2007), com a produção estimada de aproximadamente 1,9 milhões de toneladas, em 36700 ha de área cultivada (FAO, 2009).

O mamoeiro está sendo disseminado em, praticamente, todo o território nacional. Entretanto, a maior parte da produção desta cultura está concentrada no norte do Estado do Espírito Santo e sul da Bahia, que apresentam solos de baixa fertilidade, principalmente no que se refere aos teores de fósforo (P), levando os produtores a utilizarem altas doses de fertilizantes (Oliveira, 2004). Segundo Costa e Costa (2007), o P é o nutriente que mais limita o crescimento do mamoeiro do grupo Solo.

Considerando-se a potencialidade que é conferida a esta cultura para o país e o requerimento crescente de fertilizantes fosfatados e nitrogenados para produções de mudas destinadas a renovação de pomares, existe claramente uma demanda por tecnologias alternativas que passem pela intensificação de uso de processos biológicos, com ganhos econômicos e ecológicos. Vários estudos (Miyachi et al., 2008; Sala et al., 2007; Balota et al., 1997; Paula et al., 1991) demonstraram que a incorporação de microrganismos benéficos, como fungos

micorrízicos arbusculares (FMAs) e bactérias diazotróficas, pode melhorar o desenvolvimento e qualidade das mudas.

Todavia, a literatura ainda carece de estudos sistematizados envolvendo a interação entre bactérias diazotróficas e FMAs à cultura do mamoeiro. Apesar do pouco conhecimento quanto à capacidade de associação entre bactérias diazotróficas e mudas de mamoeiro, Boddey et al. (2007) observaram a capacidade das bactérias diazotróficas epifíticas e endofíticas de colonizarem a superfície, bem como, o interior das raízes na zona de diferenciação e alongamento das cultivares Golden e UENF Caliman 01, além de incrementos no acúmulo de massa de raízes e da parte aérea em ambas as cultivares, indicando uma resposta promissora à inoculação de bactérias diazotróficas em mudas de mamoeiro.

Por apresentar pouca ramificação de raízes e atingir pouca profundidade no solo, o sistema radicular do mamoeiro é considerado um fator que pode gerar deficiências nutricionais (Souza et al., 2000). Neste sentido, a inoculação de FMAs na produção de mudas de mamoeiro tem aumentado a capacidade da planta em absorver nutrientes como o zinco (Zn), o cobre (Cu) e principalmente o P, além da promoção do crescimento da planta, que pode ser atribuída à eficiência desta associação (Dantas et al., 2003; Trindade et al., 2001a; Souza et al., 2000). Em adição, Trindade et al. (2001b) observaram maior absorção de K, nutriente bastante exigido por esta cultura, atingindo teores superiores a 100%, em relação às mudas não micorrizadas. Além disto, estes autores observaram que a inoculação com os FMAs: *Glomus clarum* e *Gigaspora margarita*, pode reduzir até sete vezes a necessidade de aplicação de P no solo para se atingir a produção máxima de parte aérea da planta.

Dentro deste contexto, o trabalho tem como objetivo avaliar a resposta à inoculação com FMAs e bactérias diazotróficas, quanto à capacidade de promoção do crescimento e do acúmulo de nutrientes em mudas de mamoeiro (cultivar Golden), na ausência e na presença de fósforo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura do mamoeiro

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma planta herbácea pertencente à classe Dicotyledoneae, subclasse Archiclamydeae, ordem Violales, subordem Caricinae (Badillo, 2000), inserida na família Caricaceae que compreende seis gêneros e 35 espécies (Van Droogenbroeck et al., 2002). Os gêneros *Carica* (uma espécie), *Horovitzia* (uma espécie), *Jacaratia* (sete espécies), *Jarilla* (três espécies) e *Vasconcellea* (21 espécies) são originários do continente americano, enquanto o gênero *Cylicomorpha* (duas espécies) pertence ao continente africano (Van Droogenbroeck et al., 2004).

De acordo com Simão (1998), o mamoeiro apresenta sistema radicular pivotante, com raiz principal bastante desenvolvida. A concentração do sistema radicular do mamoeiro encontra-se em um raio de 0,35 m a partir do tronco da planta, sendo que esses valores podem variar em função da textura e da estrutura do perfil do solo (Coelho et al., 2000). O caule é ereto, único, flexível, cilíndrico, variando entre 10 a 30 cm de diâmetro, as folhas são grandes, com longos pecíolos fistulosos. As flores do mamoeiro podem apresentar três tipos de sexo: masculino, hermafrodita e feminino (Dantas e Castro Neto, 2000). Contudo, as plantas hermafroditas são preferencialmente utilizadas para a produção comercial, por apresentarem frutificação contínua, favorecendo produções significativas (Ritzinger e Souza, 2000). O início de florescimento e frutificação do

mamoeiro ocorre entre 8 a 9 meses após o semeio. O fruto do mamoeiro é uma baga, com formato ovóide, esférico-periforme, tamanho e peso com grandes variações (Dantas e Castro Neto, 2000).

As cultivares de mamoeiro são classificadas em dois grupos, de acordo com o fruto: Solo e Formosa (Dantas, 2000). O grupo Solo, no qual se encontra a maioria das variedades de mamoeiro (ex.: Sunrise Solo, Improved Sunrise Solo “Line” 72/12 e Baixinho de Santa Amália), apresenta frutos com peso médio de 350 a 600 g. O grupo Formosa é composto por mamoeiros híbridos (ex.: Tainung N°1 e N°2) que apresentam frutos com peso médio de 800 a 1100g (Dantas et al., 2003; Dantas, 2000). Os frutos do grupo Solo apresentam polpa firme, cor vermelha e sabor agradável. Dentre este grupo, encontra-se inserida a cultivar Golden, cujos frutos foram selecionados entre 1993 e 1996 em Linhares, ES, pela Caliman Agrícola S/A, a partir de uma mutação natural de plantas ‘Sunrise Solo’, que foram introduzidas no país entre 1975 e 1976 (IBRAF, 2008).

A cultivar Golden é considerada como a líder nas exportações, sendo a principal responsável pelos 16,7 milhões de toneladas de mamão exportadas em 2007 (IBRAF, 2008). Isto se deve a determinadas vantagens, como a sua menor susceptibilidade à Mancha Fisiológica do Mamão e à coloração da casca mais uniforme, resultando em um produto de melhor aparência (Marin et al., 1995). Cerca de 90% das lavouras do Espírito Santo cultivam o mamão Golden, responsável por 59% das exportações brasileiras da fruta (IBRAF, 2008).

A propagação do mamoeiro pode ser realizada por meio de semente, estaquia e enxertia, contudo, estes dois últimos métodos de propagação vegetativa são economicamente ineficientes e, do ponto de vista do vigor da planta e da produtividade, não apresentam vantagens (Trindade e Oliveira, 2000). Segundo Dantas et al. (2003), para as condições brasileiras, o uso mais indicado como meio de propagação é o de sementes por ser um método mais barato e de fácil execução. Como não se conhece o sexo das plantas no início do plantio, os agricultores plantam pelo menos três mudas por cova, o que aumenta os custos de produção (Costa et al., 2003b).

Apesar da grande importância da cultura do mamoeiro na fruticultura nacional, de modo geral, poucas pesquisas têm sido desenvolvidas com essa frutífera, principalmente em relação à formação de mudas (Mendonça et al., 2003). Quando as mudas alcançam cerca de 5 cm, deve-se fazer a eliminação

das mais fracas e menos sadias, deixando apenas uma por recipiente. Ao atingirem 15 a 20 cm de altura, as mudas estão aptas para serem plantadas no campo, totalizando um período de 45 a 60 dias de cultivo (Lima et al., 2007; Chaves et al, 2000).

O ciclo de produção com aproveitamento comercial é relativamente curto. Lima et al. (2005) afirmam que é possível que com dois anos de ciclo se obtenha de 60 a 80% da produção esperada e ainda apontam que o mamoeiro da cultivar Golden apresenta picos produtivos decrescentes ao longo do ciclo e a produção de final de ciclo apresenta maior quantidade de frutos de menor peso unitário.

Desta forma, a necessidade de produção de mudas requeridas para a renovação de pomares desta cultura, incentiva a implantação de técnicas alternativas no processo produtivo dessas mudas. Segundo Trindade et al. (2000), o aperfeiçoamento das técnicas de produção de mudas de mamoeiro é de suma importância, uma vez que o crescimento inicial das mudas tem relação direta com a precocidade e produção de frutos.

2.2. Nutrição mineral do mamoeiro

A nutrição do mamoeiro é um dos principais fatores que interferem na produtividade e qualidade da fruta, dependendo da disponibilidade de água e nutrientes para atender às exigências nutricionais desta cultura (Costa e Costa, 2003a). Durante o primeiro ano, o mamoeiro apresenta maior demanda por nutrientes devido ao crescimento contínuo e início de floração (Coelho e Oliveira, 2003). Os solos mais adequados para o plantio do mamoeiro são os de texturas médias ou areno-argilosas, com pH variando de 5,5 a 6,7 (Oliveira, 2002).

Os macronutrientes extraídos em maior quantidade pelo mamoeiro são respectivamente, o nitrogênio (N), potássio (K) e cálcio (Ca), enquanto o fósforo (P) é o nutriente extraído em menor quantidade. Os micronutrientes ferro (Fe), manganês (Mn), e boro (B) são os mais exigidos pelo mamoeiro, enquanto o molibdênio (Mo) é o que se destaca com menor extração (Coelho e Oliveira, 2003).

O N é um elemento químico fundamental na formação de biomoléculas como proteínas, aminoácidos e ácidos nucleicos. Segundo Marinho et al. (2001), este é um dos nutrientes cujo fornecimento está relacionado aos maiores

incrementos na produtividade do mamoeiro. O K possui uma grande importância após o estágio de florescimento e frutificação, por proporcionar frutos maiores, com teores mais elevados de açúcares, além de sólidos solúveis totais, desempenhando uma melhor qualidade do fruto (Oliveira et al., 2000).

Nas regiões tropicais, onde o mamoeiro é tradicionalmente cultivado, podem ocorrer limitações de ordem nutricional causadas pelo N e P (Fernandes et al., 1990). Por essa razão os agroecossistemas dependem fortemente da adição desses nutrientes ao solo para garantir a produtividade das culturas, uma vez que frequentemente estão disponíveis no solo em quantidades insuficientes (Gomes et al., 2000). Apesar da elevada demanda por nutrientes, o mamoeiro apresenta um sistema radicular com pouca ramificação de raízes e atinge pouca profundidade no solo, podendo ocasionar deficiências nutricionais na planta (Souza et al., 2000).

Cruz et al. (2004) relatam que o mamoeiro sob deficiência de nitrogênio pode apresentar redução no crescimento e alteração no particionamento de massa seca. Para a variedade Golden todos os parâmetros de crescimento das plântulas do mamoeiro podem ser prejudicados pela deficiência de nitrogênio, sendo a área foliar o componente mais afetado (Cruz et al., 2007).

Apesar do P ser o macronutriente requerido em menor quantidade pelo mamoeiro, este elemento se acumula na planta de forma crescente e uniforme, apresentando grande importância na fase inicial do desenvolvimento radicular e fixação do fruto na planta, sendo imprescindível a adubação das plantas jovens com fósforo prontamente disponível (Oliveira et al., 2004; Oliveira et al., 2000). Costa e Costa (2007) observaram que o P foi o nutriente que mais limitou o crescimento do mamoeiro do grupo Solo, seguidos de K, Ca e Mg.

As limitações na disponibilidade de P no início do ciclo vegetativo podem resultar em restrições no desenvolvimento, das quais a planta não se recupera posteriormente, mesmo aumentando o suprimento de P em níveis adequados. Oliveira (2002) cita que na deficiência de fósforo, é possível observar no mamoeiro um mosqueado amarelo nas margens das folhas novas, e necrose das suas extremidades. Com a evolução da carência, as áreas amarelas tornam-se necróticas e as pontas dos lóbulos e as margens das folhas, enrolam-se para cima. Sendo assim, o suprimento adequado de P é essencial desde os estádios

iniciais de crescimento da planta, garantindo o desenvolvimento e a qualidade das mudas, além de proporcionar maior produtividade (Grant et al., 2001).

Durante o crescimento inicial do mamoeiro, alguns autores recomendam a utilização de dosagens na formulação do substrato correspondendo a 1.800 mg de N dm⁻³ em cobertura de uréia (Mendonça et al., 2009), 138 mg dm⁻³ de KCl (Souza Filho et al., 2006) e 10 kg m⁻³ de superfosfato simples (Mendonça et al., 2006), atingindo maiores taxas de incremento no crescimento e proporcionando melhor qualidade na formação das mudas.

2.3. Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs)

A capacidade das raízes das plantas estabelecerem relações simbióticas mutualistas com certos fungos do solo é conhecida como micorrizas (Silveira, 1992), que foi inicialmente proposto pelo botânico alemão Albert Bernard Frank, em 1885 (Siqueira e Franco, 1988).

Sete diferentes categorias de micorrizas têm sido distinguidas com base em suas características morfológicas e espécies de fungos e plantas envolvidas: arbuscular, ecto, ectendo, arbutóide, monotropóide, ericóide e orquidóide (Finlay, 2008; Smith e Read, 1997). Dentre estes, a micorriza arbuscular (MA) é a mais ancestral e apresenta melhor distribuição e ocorrência nas plantas tropicais e de interesse agrícola, devido à sua capacidade de colonizar várias espécies de plantas de importância econômica (Michereff e Barros, 2001).

Os FMAs pertenciam à ordem Glomerales inserida no Filo polifilético, Zigomycota (Morton e Benny, 1990). Entretanto, Schüßler et al. (2001) demonstraram que os FMAs constituem um grupo monofilético claramente distinto de outros grupos conhecidos. Desta forma, os FMAs foram ascendidos a uma nova categoria taxonômica, o Filo Glomeromycota. Neste trabalho foram propostas também as ordens Archaeosporales, Diversisporales, Glomerales e Paraglomerales, inseridas na Classe Glomeromycetes (glomeromicetos). Apesar disto, o grupo de fungos que deu origem aos glomeromicetos ainda não é conhecido na literatura. A atual classificação da Classe Glomeromycetes pode ser observada na Figura 1.

São conhecidas 214 espécies de FMAs descritas formalmente e distribuídas em treze famílias e dezenove gêneros (AMF-Taxonomy e Phylogeny, 2009).

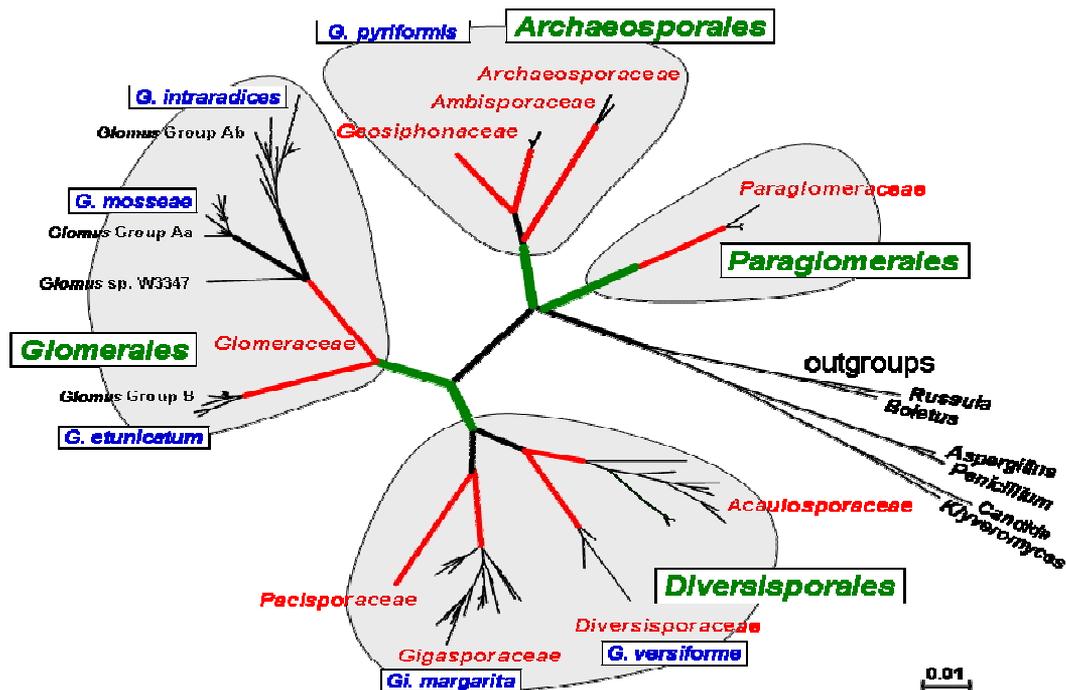


Figura 1: Árvore filogenética com a recente mudança taxonômica da Classe Glomeromycetes (AMF-Taxonomy e Phylogeny, 2009).

Os FMAs formam associações simbióticas mutualistas, que ocorrem em mais de 80% das plantas vasculares (Schubler et al., 2001; Smith e Read, 1997). Em relação às plantas tropicais, Trappe (1987) relata que cerca de 13,4% das espécies são não-micorrízicas, 70,9% formam micorrizas arbusculares e 15,7% formam outros tipos de simbiose radicular com fungos.

Na família Glomeraceae, encontra-se o gênero *Glomus* que é considerado o mais diverso, contendo 105 espécies, correspondendo ao maior número de espécies descritas (AMF-Taxonomy e Phylogeny, 2009; INVAM, 2009). Contudo, o Brasil, até o momento, apresenta apenas 31% da diversidade total deste gênero. Apesar disto, o gênero *Glomus* aparece como predominante na maioria dos ecossistemas brasileiros (Moreira et al., 2008). Dentre este grupo, encontra-se a espécie *Glomus clarum* descrita por Nicolson e Schenck (1979). O gênero *Gigaspora*, pertencente à família Gigasporaceae, possui 9 espécies descritas

(AMF-Taxonomy e Phylogeny, 2009), na qual está inserida a espécie *Gigaspora margarita*, descrita por Becker e Hall (1976).

Os FMAs são considerados biotróficos obrigatórios e incapazes de completar seu ciclo de vida sem formar simbiose com uma planta autotrófica (Smith e Read, 2007), entretanto, este fato tem sido contestado por alguns autores. Hildebrandt et al. (2006) demonstraram que a espécie de FMA *Glomus intraradices* é capaz de completar o seu ciclo de vida na ausência de uma planta hospedeira quando acompanhado de uma rizobactéria promotora de crescimento *Paenibacillus*, sugerindo que os FMAs podem ser capazes de crescer na ausência de uma planta hospedeira.

A troca de nutrientes entre os FMAs e a planta associada, além da transferência recíproca, são requisitos para um bom funcionamento da simbiose (Javot et al., 2007). O fluxo de carbono na raiz da planta é direcionado ao fungo sob a forma de açúcares (Solaiman e Saito, 1997), e, juntamente, ocorre a transferência de nutrientes minerais a partir do fungo à raiz (George et al., 1995).

O estabelecimento das micorrizas arbusculares resulta em uma seqüência de eventos complexos coordenados pelo fungo, pela planta e suas interações, cujos mecanismos de regulação ainda são pouco conhecidos (Kiriachek et al., 2009). Apesar disso, estudos sugerem que moléculas sinalizadoras de plantas, como estrigolactonas, exsudadas pelas raízes de espécies hospedeiras e não hospedeiras de FMAs, atuam como compostos sinalizadores da formação ou regulação da simbiose micorrízica arbuscular (Garrido et al., 2009; Reinhardt, 2007) e induzem à ramificação das hifas, favorecendo a colonização das raízes pelos FMAs, conforme demonstrado por Akiyama et al. (2005) ao utilizar a espécie *Gigaspora margarita*.

O desenvolvimento da simbiose micorrízica arbuscular conduz a um aumento na formação de raízes laterais (Harrison, 2005). A colonização tem início com o crescimento de uma hifa infectiva, a partir de um esporo germinado, segmento de raiz ou de hifa no solo. O fungo coloniza os espaços inter e intracelulares das células da epiderme e córtex das raízes, formando arbúsculos através das hifas intercelulares terminais, que atuam primordialmente na transferência bi-direcional de nutrientes entre os simbiossitos (Finlay, 2008; Bonfantes-Fasolo e Perotto, 1992; Bonfantes-Fasolo e Perotto, 1991).

Os arbúsculos apresentam ciclo curto (em média de quatro a cinco dias) localizados na parte mais interna do córtex, que se diferenciam através da contínua ramificação dicotômica de suas extremidades (Khachatourians e Arora, 2002). Após a degradação do arbúsculo, a célula vegetal retoma seu metabolismo normal e esta apta para abrigar um novo arbúsculo. Após a infecção, e durante a colonização do tecido cortical da raiz, além da diferenciação de arbúsculos, pode ocorrer a formação de hifas intracelulares, vesículas ou células auxiliares (Kiriachek et al., 2009). Os FMAs apresentam grande quantidade de micélio externo que pode atingir sítios fora da zona de depleção de nutrientes, aumentando a absorção e o aproveitamento de água e nutrientes da solução do solo (Smith e Read, 2008).

Para uma eficiente absorção de nutrientes, a maioria das plantas precisa se associar a fungos micorrízicos para suprir os minerais necessários, aumentando sua produtividade e conferindo resistência a condições de estresses (Reinhardt, 2007). A exploração destas simbioses em ambientes naturais e agronômicos é de alto valor ambiental e econômico (Bonfante e Anca, 2009). O aumento da absorção de nutrientes ocorre através da extensão do sistema radicular pelas hifas dos FMAs, que proporcionam aumento da área da superfície de contato com o solo, favorecendo a maior absorção de nutrientes como: P, Cu, Zn (Kirkby e Römheld, 2007; Fernandes, 2006; Kahneh et al., 2006; Chu, 2001 Marschner e Dell, 1994), Fe (Kahneh et al., 2006), N (Govindarajulu et al., 2005), K (Gupta et al., 2002).

A contribuição dos FMAs para a nutrição fosfatada das plantas está amplamente aceita e documentada na literatura nacional e internacional. Em muitos ecossistemas, os níveis de fósforo disponível para as plantas são limitantes para o crescimento, e isso tem um significativo impacto na agricultura (Vance et al., 2003). Diversos trabalhos evidenciam que em solos com baixa disponibilidade de P, há um aumento da taxa de crescimento, assim como das concentrações de P total nos tecidos das plantas micorrizadas, nos estágios iniciais de desenvolvimento da planta (Smith e Gianinazzi-Pearson, 1988).

De modo geral, o estabelecimento da simbiose resulta em diversos benefícios para a planta hospedeira como: a redução da suscetibilidade a certos patógenos, tolerância ao estresses climáticos e edáficos como, melhor resistência ao estresse hídrico, às temperaturas elevadas, à acidez, à salinidade e à maior

tolerância às condições de toxidez do solo (Fernandes, 2006; Bacon e White, 2000; Smith e Read, 1997). Além de acúmulo de estoques de carbono (Smith et al., 2009; Treseder e Allen, 2000), estruturação e maior estabilidade dos agregados no solo (Sylvia, 1999).

2.4. Associação micorrízica em mamoeiro

No Brasil, a maior parte da cultura do mamoeiro encontra-se em áreas com solos de baixa fertilidade (norte do Estado do Espírito Santo e Extremo Sul da Bahia), notadamente baixos teores de fósforo (Oliveira, 2004). Entretanto, Minhoni e Auler (2003) observaram que o mamoeiro necessita de teores elevados de fósforo disponível para o seu crescimento inicial e que a inoculação com FMAs pode reduzir substancialmente esta necessidade.

A inoculação de FMAs para a produção de mudas de mamoeiro tem demonstrado a eficiência dessa associação na promoção do desenvolvimento da planta, aumentando a sua capacidade em absorver nutrientes como o Zn, Cu, K (bastante exigido por esta cultura) e principalmente o P (Souza et al. 2000; Dantas et al., 2003). Em doses menores de P, o efeito de FMAs associados a compostos fenólicos proporcionam aumentos significativos no crescimento e no conteúdo de P em mudas de mamoeiro (Martins et al., 2000). Diferenças na absorção de nutrientes em mudas de mamoeiro inoculadas com FMAs podem estar associadas às diferenças na porcentagem de colonização micorrízica radicular (Khade e Rodrigues, 2009).

Ao estimar o coeficiente de determinação genotípica representado por quatro genótipos de mamoeiro (grupos 'Solo' e 'Formosa'), quanto à capacidade de se associar à espécie de FMA (*Gigaspora margarita*), Trindade et al. (2001a) concluíram que todos os genótipos testados responderam à inoculação. O grupo Formosa apresentou menor comprimento de raiz e maior demanda na forma da proporção entre parte aérea e comprimento de raiz, enquanto a eficiência micorrízica e a colonização radicular média para ambos os grupos de plantas foram similares, situando-se em 60% e 50%, respectivamente, além da inoculação ter aumentado a absorção de Cu, K, e Cu.

Trindade et al. (2001b) demonstraram que cultivares pertencentes aos grupos Solo e Formosa, podem ser beneficiadas pela inoculação com *Glomus*

clarum e *Gigaspora margarita*, reduzindo-se até sete vezes a necessidade de aplicação de P no solo para se atingir a máxima da produção de parte aérea, em resposta a uma maior eficiência simbiótica. Além da maior absorção de K para todos os genótipos de ambos os grupos, atingindo valores superiores a 100% em relação às não micorrizadas.

Da mesma forma, é possível que outras cultivares possam ser beneficiadas pela inoculação destas espécies de FMA (*Glomus clarum* e *Gigaspora margarita*). Entretanto, Khade e Rodrigues (2009) apontam que nem todas as combinações de endófitos e hospedeiros têm efeitos similares de estimulação de crescimento e este fato pode ser interpretado como um tipo de especificidade hospedeira funcional ou compatível, sendo necessários estudos desta associação. Considerando a limitação de crescimento do mamoeiro do grupo Solo pela ausência de P (Costa e Costa, 2007) e a inexistência de relatos na literatura envolvendo a associação micorrízica arbuscular à cultivar Golden, bem como, a sua relevância econômica para o país, ainda se faz necessário o desenvolvimento de pesquisas que permitam avaliar as diferentes potencialidades proporcionadas no que se refere à promoção de crescimento vegetal e aquisição de nutrientes.

Segundo Dantas et al. (2003), as associações micorrízicas tendem sempre a serem benéficas para o mamoeiro, contudo algumas variedades podem ser beneficiadas mais do que as outras. O híbrido Tainung N^o1 apresenta menor crescimento de raízes em relação às variedades Sunrise Solo e Improved Sunrise Solo Line 72/12, gerando maior necessidade de associação com fungos micorrízicos.

Trindade et al. (2000) empregando solo desinfestado ou não por fumigação e fungos nativos e exóticos selecionados em solo fumigado, concluíram que todos os fungos inoculados apresentaram, eficiência simbiótica para o mamoeiro em solo não fumigado, destacando-se os exóticos: *G. clarum* e *G. margarita* e um isolado nativo (*Gigaspora* sp.). Os fungos, previamente selecionados em solo fumigado, mostraram alta eficiência simbiótica em solo não fumigado, ainda que na presença de uma comunidade de fungos micorrízicos nativos. De acordo com Chu et al. (2001), *Gigaspora margarita* é a espécie mais promissora para ser usada como inóculo das mudas de gravioleira, em solos fumigado e não fumigado, por ser mais competitivo mantendo os mesmos níveis de colonização antes que as raízes sejam colonizadas pelos FMAs nativos. Visto a eficiência

simbiótica apresentada pelos FMAs: *G. clarum* e *G. margarita*, em baixas concentrações de P no solo, tanto desinfestado e não desinfestado existe um indicativo de que estes microrganismos são promissores podendo emergir futuramente como produtos biotecnológicos em programas de inoculação de plantas em escala comercial. Da mesma forma, Minhoni e Auler (2003) observaram que a fumigação do solo não interferiu no crescimento das mudas de mamão colonizadas por *G. macrocarpum*. Os maiores efeitos da micorrização ocorreram com adição de 60 mg dm^{-3} de P ao solo e foram equivalentes à adição de 240 mg kg^{-1} de P ao solo para as mudas não micorrizadas. Estes autores observaram também que a inoculação reduziu a necessidade de P para plantas de mamoeiro, medida pelos ganhos em diâmetro de caule, altura e número de folhas, confirmando o potencial de utilização de FMAs para o mamoeiro.

Estes estudos indicam que a utilização dos FMAs na produção de mudas de mamoeiro pode, não somente influenciar na nutrição e crescimento da planta, reduzir o tempo de permanência das mudas no viveiro, reduzindo os custos de insumos e mão-de-obra, mas também, proporcionar maior vigor e sobrevivência das mudas após transplântio para o campo, reduzindo os custos adicionais com o replântio.

2.5. Interação entre plantas, FMAs e bactérias diazotróficas

Complexas interações microbianas com raízes de plantas podem envolver tanto microrganismos endofíticos e simbióticos, quanto os de vida livre, associativos ou que ocorrem casualmente na natureza (Richardson et al., 2009).

Existe uma interação funcional entre as bactérias endofíticas e os FMAs (Paula et al., 1992). A transmissão das bactérias diazotróficas para as plantas pode ocorrer através de esporos de FMAs (Bhowmik e Singh, 2004; Li e Strzelczyk, 2000; Paula et al., 1991) ou pela colonização bacteriana em hifas extra-radulares de FMAs (Toljander et al., 2006).

Os FMAs além de fornecerem nutrientes para as bactérias que colonizam as superfícies ou o interior dos esporos, conferem proteção contra dessecação, radiação, predação e salinidade (Levy et al., 2009). Durante o processo de penetração das hifas infectivas ocorre maior exsudação de nutrientes pela planta, acelerando o crescimento das bactérias (Paula et al., 1991).

De forma recíproca, as bactérias associadas aos esporos de FMAs podem promover aumento e rápida colonização pelo fungo, conforme sugerido por Bhowmik e Singh (2004). Hildebrandt et al. (2006) demonstraram que algumas espécies da BPCP *Paenibacillus* são altamente eficientes em sustentar o crescimento dos FMAs pela produção de novos esporos germinantes na ausência de planta hospedeira. É provável que algum componente químico possa ser excretado pelas bactérias e utilizado pelos fungos, embora isto ainda não tenha sido descoberto (Hildebrandt et al., 2002). Estes resultados permeiam a possibilidade de FMAs serem capazes de crescer na ausência da raiz de uma planta, como um parceiro alternativo, o que mudaria radicalmente a compreensão atual do papel da FMAs nos ecossistemas do solo, além de abrir novas possibilidades para a exploração destes fungos na produção de plantas (Larsen et al., 2009).

Segundo Artursson et al. (2006), os benefícios da interação FMA-bactéria diazotrófica podem ser atribuídos, principalmente, ao incremento na absorção de P pelas plantas micorrizadas, propiciando melhores condições para o estabelecimento da associação com bactérias diazotróficas, o que representa, por sua vez, alto custo energético para o funcionamento da nitrogenase. Como as bactérias diazotróficas associativas não estão separadas dos FMAs (Bandara et al., 2006), esta interação pode resultar em competição por nutrientes e espaço entre os dois microrganismos, ou ainda, em sinergismo, proporcionando benefícios para planta hospedeira.

Soares et al., (2009) observaram que através da dupla inoculação de BPCP e FMAs em mudas micropropagadas do abacaxizeiro, a germinação de esporos de FMAs pode ser estimulada ou inibida em presença de BPCP, enquanto a simbiose micorrízica pode ser inibida. Resultados similares foram obtidos por Larsen et al., (2009) em mudas de *Cucumis sativus*, através de efeitos estimulatórios e supressivos em relação ao crescimento da planta em resposta à dupla inoculação.

De modo geral, a inoculação conjunta de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos é uma estratégia já comprovada pela pesquisa em diferentes espécies, conferindo benefícios tanto na nutrição, quanto na proteção das mudas (Borges et al., 2003). Existem vários relatos dos efeitos benéficos propiciados pela interação FMA-bactéria diazotrófica (Barea et al., 2005; Bhowmik e Singh,

2004), no crescimento de várias culturas, como milho (Miyuchi et al., 2008), trigo (Sala et al., 2007), arroz (Raimam et al., 2007), mandioca (Balota et al., 1999; Balota et al. 1997), batata-doce, cana-de-açúcar e sorgo (Paula et al., 1991).

Perante a complexidade das interações ecológicas existentes entre FMAs e as bactérias diazotróficas, é importante ressaltar a necessidade do desenvolvimento de estudos que permitam ampliar o entendimento dos benefícios e dos efeitos inibitórios proporcionados por esta associação. De forma geral, essas interações podem ser de extrema importância para uma agricultura sustentável, contribuindo para redução de insumos químicos, uma vez que estes microrganismos podem, além de estimular o crescimento vegetal, conferir à planta hospedeira maior resistência ao ataque de patógenos e condições adversas do solo.

O aumento na fixação biológica de nitrogênio em plantas micorrizadas, através de relações sinérgicas com sistemas fixadores, é de grande interesse em várias culturas tropicais importantes (Fernandes, 2006). Todavia, apesar de muitos estudos evidenciarem diferentes contribuições destes microrganismos no desenvolvimento de diversas culturas, a literatura ainda carece de relatos que demonstrem o efeito desta associação em fruteiras tropicais. Nesse sentido, conhecimentos sistematizados que envolvam a interação entre BFN e FMAs à cultura do mamoeiro quanto à promoção de crescimento, proteção vegetal e acúmulo de nutrientes são necessários.

Outro fator que dificulta a compreensão desta interação é o pouco conhecimento existente quanto à capacidade de associação entre bactérias diazotróficas à cultura do mamoeiro. Boddey et al. (2007) observaram a capacidade de bactérias diazotróficas epifíticas e endofíticas de colonizarem a superfície, bem como, o interior das raízes de mudas de mamoeiro, na zona de diferenciação e alongamento das cultivares Golden e UENF Caliman 01. Além disso, ao selecionar diferentes isolados bacterianos diazotróficos, sob diferentes formas de inoculação e genótipos, estes autores observaram incrementos no acúmulo de massa vegetal entre todos os genótipos avaliados, indicando uma resposta promissora à inoculação de BFN em mudas de mamoeiro.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local e delineamento experimental

O experimento foi realizado em casa de vegetação, localizada na unidade de apoio do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), em Campos dos Goytacazes - RJ (Latitude= 21° 19' 23"; Longitude = 41° 10' 40" W; Altitude= 14 m), entre 16/04/2009 a 31/07/2009. Diariamente foram registrados os valores de temperatura máxima e mínima no interior da casa de vegetação. As temperaturas diárias máximas variaram de 41,5 °C a 20,0 °C, com médias de 33,9 °C, e as temperaturas diárias mínimas entre 12,0 °C a 22,0 °C, com média de 18,6 °C.

O delineamento experimental foi um arranjo fatorial 4 x 3 x 2, sendo três tratamentos compostos por espécies de fungos micorrízicos arbusculares: *Glomus clarum* (Nicolson e Schenck, 1979), *Gigaspora margarita* (Becker e Hall, 1976) e inóculo misto (*Glomus clarum* + *Gigaspora margarita*) e o controle sem FMAs; dois tratamentos com bactérias diazotróficas: *Stenotrophomonas maltophilia* (NCBI J293470) e *Azospirillum* sp. TS 15 (NCBI AB114194), e o controle sem bactéria diazotrófica; e duas doses de fósforo no solo, 0 e 25 mg dm⁻³. Os tratamentos foram dispostos em blocos casualizados, com quatro repetições.

A unidade experimental foi composta por um vaso plástico de 4 dm³ de substrato, contendo duas mudas de mamoeiro por vaso.

3.2. Preparo do substrato

O solo destinado ao preparo do inóculo de FMAs e para o experimento foi classificado como Cambissolo Háplico Tb Distrófico típico, coletado na profundidade de 0-20 cm, peneirado, misturado com areia 1:1 (v/v) e esterilizado em autoclave por 2 vezes, a uma temperatura de 121°C por 1 hora.

Após a autoclavagem, o substrato apresentou as seguintes características químicas: pH em água = 5,9; matéria orgânica= 12,24 g dm⁻³; P= 5,0 mg dm⁻³; S= 7,0 mg dm⁻³; K⁺=0,7 mmol_c dm⁻³; Ca²⁺=13,0 mmol_c dm⁻³; Mg²⁺= 12,1 mmol_c dm⁻³; Al³⁺= 0,0 mmol_c dm⁻³; H+Al= 12,5 mmol_c dm⁻³; SB= 26,3 mmol_c dm⁻³; CTC= 38,8 mmol_c dm⁻³; Fe= 42,8 mg dm⁻³; Cu= 0,50 mg dm⁻³; Zn= 1,06 mg dm⁻³; Mn= 59,3 mg dm⁻³ e B= 0,24 mg dm⁻³.

Ao substrato foram adicionadas duas doses de P (0 e 25 mg dm⁻³), utilizando-se como fonte KH₂PO₄. Os teores de K do substrato foram elevados para 100 mg dm⁻³, utilizando-se, como fonte, KH₂PO e KCl. O substrato foi mantido por 42 dias incubado, devidamente molhado. Posteriormente foram realizadas extrações de P (Mehlich⁻¹) nas amostras com as doses de 0 P e 25 P, obtendo-se 5 e 20 mg dm⁻³ de P, respectivamente.

3.3. Preparo dos inóculos dos FMAs

As espécies de FMAs testadas (*Glomus clarum*, *Gigaspora margarita* e inóculo misto) foram provenientes do Banco de Inóculo do Setor de Microbiologia da UENF do Laboratório de Solos.

Para multiplicação do inóculo, foram semeadas em vasos de cultura contendo 3 dm³ de substrato esterilizado, sementes de *Brachiaria decumbens* desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 0,5%, durante 15 minutos, posteriormente lavadas com água destilada, por quatro vezes consecutivas. Após o plantio, os vasos foram mantidos em casa de vegetação por um período de 90 dias para a multiplicação dos fungos. Seqüencialmente, as partes aéreas foram podadas e os vasos cobertos com folhas de papel, sem irrigação, por um mês,

para facilitar a esporulação dos fungos. Transcorrido este período, a mistura do solo contendo, raízes colonizadas e os esporos dos FMAs, foi utilizada como inóculo, sendo conservados em câmara fria a 4°C até a execução do experimento.

Para a inoculação das mudas de mamoeiro foram adicionados 50 cm³ vaso⁻¹ do inóculo fúngico de cada espécie. Para os tratamentos com inóculo misto foram adicionados 25 cm³ vaso⁻¹ do inóculo de cada espécie. A aplicação foi realizada entre 2 a 3 cm abaixo da superfície do substrato.

3.4. Preparo dos inóculos das bactérias diazotróficas

As seguintes estirpes de bactérias diazotróficas foram utilizadas: *Stenotrophomonas maltophilia* (NCBI AJ293470) e *Azospirillum* sp. TS 15 (NCBI AB114194), advindas da Coleção de Culturas de Bactérias Fixadoras de Nitrogênio do Setor de Citologia Vegetal da UENF/Laboratório de Biologia Celular e Tecidual. Estas estirpes foram previamente selecionadas como promissoras para promoção de crescimento em mudas de mamoeiro (Boddey et al., 2007) e são oriundas do Grupo Solo obtidas a partir de raízes da cv. Golden e da rizosfera da cv. Baixinho de Santa Amália, respectivamente.

As estirpes selecionadas foram estocadas em água Milli-Q estéril. As características culturais das bactérias diazotróficas utilizadas apresentam-se na Tabela 1.

Tabela 1. Características quanto à morfologia das colônias das bactérias diazotróficas crescidas em meio Dygs sólido

Estirpes	Caracterização morfológica das colônias					
	Tamanho	Forma	Elevação	Bordo	Superfície	Cor
<i>S. maltophilia</i>	Puntiforme	Circular	Lente	Inteiro	Lisa	Amarelo/ Translúcido
<i>Azospirillum</i> sp.	2 (mm)	Circular	Convexa	Inteiro	Lisa	Branco/ opaco

A produção do inoculante bacteriano foi realizada a partir da obtenção de colônias isoladas e crescidas em pré-inóculo contendo 5 mL de meio de cultivo líquido Dygs (Dobereiner et al., 1995) e mantidos sob agitação (250 rpm, por ± 24 h a 30°C). O pré-inóculo obtido foi utilizado para produzir um volume maior de inoculante (1,5 L de meio líquido Dygs), sob as mesmas condições. Os inóculos foram padronizados em absorvância (leitura da densidade óptica em 560 nm) mediante a diluição e contagem em câmara de “Neubauer”, correspondendo a uma densidade de 10^8 células por mL.

3.5. Produção de mudas de mamoeiro

Sementes de mamoeiro (*Carica papaya* L.) da cultivar Golden (Grupo Solo) foram fornecidas pela empresa Caliman Agrícola S/A. As sementes foram desinfestadas com hipoclorito de sódio (0,5 %), por 10 minutos, e colocadas para germinar em vasos plásticos contendo 4 dm³ de substrato autoclavado, previamente adubados com duas doses de fósforo 0 e 25 mg dm⁻³. Em cada vaso foram plantadas cinco sementes.

No momento do plantio foram inoculados os FMAs e as bactérias diazotróficas. Os tratamentos contendo os FMAs foram inoculados a partir de uma mistura de solo e raízes colonizadas (item 3.2.) (50 cm³ vaso⁻¹ de inóculo) com *Glomus clarum*, *Gigaspora margarita* e inóculo misto (*Glomus clarum* + *Gigaspora margarita*), deixando-se o tratamento controle sem inoculação. Cada inóculo fúngico foi aplicado a uma profundidade aproximada de 3 cm, nos vasos dos tratamentos correspondentes, procedendo-se em seguida com a semeadura. Para os tratamentos contendo bactérias diazotróficas, a inoculação consistiu na aplicação direta ao substrato de 1 mL do inóculo (na concentração de 10^8 células por mL) ao redor de cada semente contida no vaso.

Aos 22 dias após a germinação, foi aplicada em todos os tratamentos uma dose correspondente a 20 mg dm⁻³ de N na forma de NH₄NO₃ (34% N), parcelada em duas aplicações, em intervalos de 15 dias.

Após 45 dias de germinação foi realizado o desbaste das mudas, deixando-se duas plantas mais vigorosas por vaso. Em adição, foi reaplicado 1 mL de inóculo bacteriano diretamente ao redor de cada muda tratada com bactérias diazotróficas.

Irrigações diárias foram realizadas, utilizando-se água desionizada durante o período de condução experimental.

3.6. Colheita e variáveis avaliadas

Antes da colheita, foi realizada a avaliação de características biométricas, sendo mensurados, a altura das plantas (determinada a partir da região do colo até a gema apical por meio de uma régua milimetrada) e o diâmetro do caule (a partir de 2 cm do colo da planta com auxílio de um paquímetro digital).

Aos 105 dias após a semeadura, foi realizada a coleta das plantas (parte aérea e raiz). A área foliar total foi quantificada por meio do analisador de gás por infravermelho de leitura direta (LI-6200, LI-COR). As raízes das mudas de mamoeiro foram lavadas, seqüencialmente, com água comum e desionizada, e foram coletadas amostras de raízes mais finas para determinação da porcentagem de colonização micorrízica e outra amostra (aproximadamente 1g de massa fresca) para contagem bacteriana. A parte aérea e a raiz foram acondicionadas individualmente em sacos de papel e, após a pesagem, colocadas em estufa de ventilação forçada.

Após a coleta, foram quantificados as massas frescas e secas e os conteúdos de N, P, K, Ca e Mg da parte aérea das plantas. Além disso, foi realizada a avaliação da colonização de raízes pelos microrganismos.

3.6.1. Avaliação de massa fresca e seca das mudas

As plantas obtidas foram divididas em parte aérea (folhas e caule) e raízes, sendo pesadas em seqüência, utilizando-se uma balança digital com precisão de três casas decimais. Posteriormente, os materiais vegetais foram acondicionados em sacos de papel e colocados em estufa com circulação de ar forçada, a 75 °C por 48 horas, sendo, posteriormente, pesados para a determinação da massa seca (Malavolta et al., 1989).

3.6.2. Contéudos de N, P, K, Ca e Mg na parte aérea das mudas

Após a determinação da massa seca, toda a parte aérea das plantas de mamoeiro foram trituradas (com exceção das folhas senescentes) em moinho tipo Willey, usando peneira de 20 mesh. Em seguida, foram acondicionadas em recipientes plásticos hermeticamente fechados.

Posteriormente, o material triturado foi submetido à oxidação através da digestão sulfúrica (H_2SO_4 e H_2O_2), obtendo-se um extrato onde foram determinados os teores de nutrientes. O N foi determinado pelo método de Nessler (Jackson, 1965). O P foi determinado colorimetricamente, pelo método azul de molibdato (Malavolta et al., 1997) por espectrofotometria, e o K através da espectrofotometria de emissão de chama. Os nutrientes Ca e Mg foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica (Zeiss AAS4).

3.6.3. Porcentagem de colonização micorrízica

As amostras de raízes obtidas foram coletadas, lavadas com água corrente e as raízes finas foram cortadas em aproximadamente 2 cm de comprimento e armazenadas em álcool etílico 50% para a avaliação seqüencial da porcentagem de colonização micorrízica. A coloração das raízes em azul de metila foi efetuada de acordo com a metodologia descrita por Grace e Stribley (1991), adaptada com KOH (5%) a 80°C por 10 minutos e H_2O_2 alcalina 5% por 7 minutos. Após a coloração com azul de metil, 10 segmentos de raízes foram depositados, com o auxílio de uma pinça, sobre lâminas, onde foram adicionadas algumas gotas de glicerol ácido sobre as raízes, sendo posteriormente cobertas por uma lamínula. Para determinar a porcentagem de colonização micorrízica, os segmentos de raízes foram levados ao microscópio óptico para a observação da presença de estruturas de FMAs.

3.6.4. Contagem de bactérias diazotróficas

Para estimar o número de células das bactérias diazotróficas associativas presentes nas raízes foi utilizada a técnica do número mais provável (NMP). Para tanto, foram utilizadas 1g de amostras de raízes frescas de cada tratamento,

sendo maceradas em 9 mL de solução salina estéril (diluição 10^{-1}), seguidas de diluições seriadas de 10^{-1} até 10^{-6} . Alíquotas (100 μ L) das respectivas diluições de 10^{-2} até 10^{-6} foram inoculadas em vidros de penicilina contendo 5 mL de meio semi-seletivo semi-sólido NFB (Oliveira et al., 2002) e, posteriormente, incubados em estufa a 30 °C por 7 dias. Após este período, os frascos inoculados foram avaliados quanto à presença de crescimento típico de bactérias fixadoras de nitrogênio, caracterizado pela formação de uma película aerotóxica, formada na superfície do meio. O número populacional foi obtido com o uso da tabela de McCrady, tomando-se por base o número de frascos positivos em cada diluição (Döbereiner et al., 1995).

3.7. Análise estatística

Os dados experimentais obtidos foram submetidos à análise de variância e à comparação entre as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Os valores do número mais provável (NMP) das bactérias diazotróficas nas raízes foram normalizados pela transformação em $\log x$. Foi utilizado o Sistema de Análise Estatística (SANEST), desenvolvido pelo CIAGRI (Centro de Informática na Agricultura) da Universidade de São Paulo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Altura, área foliar e diâmetro do caule das mudas

A altura das mudas de mamoeiro foi influenciada tanto pela inoculação com FMAs quanto pelas doses de fósforo (Tabela 2). No entanto, não foi influenciada pela inoculação com as bactérias diazotróficas. A altura média encontrada nas mudas foi de 23,1 cm, com variações entre 5,4 cm (tratamento sem FMA e sem fósforo) e 29,5 cm (tratamento inoculado com *G. margarita* ou inóculo misto com fósforo). De forma geral, foi possível observar que a inoculação com todos os FMAs proporcionaram maior crescimento em altura, comparativamente aos controles (sem FMAs), independente da presença de bactérias diazotróficas no substrato, em ambas as doses de P avaliadas (0 e 25 mg dm⁻³).

Na ausência da adubação fosfatada, a altura das mudas de mamoeiro foi maior nos tratamentos inoculados com inóculo misto (29,3 cm) e *G. margarita* (28,0 cm), que proporcionaram incrementos de 443% e 419%, respectivamente, em relação ao tratamento sem FMA (5,4 cm) (Tabela 2). O mesmo desempenho foi observado com a inoculação destes mesmos inóculos na presença do P no substrato, proporcionando incrementos de 198% na altura das mudas. Os resultados obtidos no presente trabalho demonstram a eficiência destes fungos em promover o crescimento das plantas de mamoeiro, mesmo em condições de baixa disponibilidade de P no solo.

Tabela 2. Altura (cm) das mudas de mamoeiro da cultivar Golden em função da inoculação de fungo micorrízico arbuscular (FMA) e das doses de P no substrato, com os incrementos relativos (IR%) aos 150 dias após a semeadura

Altura das plantas (cm)								
Doses de P	FMA							
	Sem FMA	G. margarita	IR _F %	G. clarum	IR _F %	Inóculo Misto	IR _F %	Médias
0 mg dm ⁻³	5,4 cB	28,0 aA	419	25,3 bB	369	29,3 aA	443	21,9
25 mg dm ⁻³	9,9 bA	29,5 aA	198	28,1 aA	184	29,5 aA	198	24,3
IR _P %	83%	5%	-	11%	-	1%	-	
Médias	7,7	28,8		26,7		29,4		23,1
C. V. (%)	10,3							

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Incremento relativo à inoculação com FMA [IR_F% = 100(x-y)/y, sendo x: altura da planta inoculada e y: altura da planta controle (não inoculada)]; Incremento relativo à presença de P no substrato [(IR_P% = 100(x-y)/y, sendo x: com P e y: sem P)];

As médias obtidas pelas mudas inoculadas com FMA no presente trabalho, em ambas as doses de P no substrato, foram superiores aos valores verificados em alguns trabalhos. Trindade et al. (2001a) observaram que a inoculação com FMAs aumentou significativamente a altura e o número de folhas da maioria dos genótipos de mamoeiro do Grupo Solo e Formosa. Além disso, o valor máximo de altura obtido por estes autores foi correspondente a 12 cm, aos 41 dias após o transplântio, quando inoculadas com *G. margarita*, utilizando-se 20 mg dm⁻³ de P no substrato. Trindade et al. (2000), utilizando esterco na composição do substrato para produção de mudas de mamoeiro da cv. Sunrise Solo inoculadas com *G. etunicatum*, observaram que as médias das alturas das mudas variaram de 7 a 19,5 cm aos 45 dias após o transplântio.

Mendonça et al. (2006), trabalhando com mudas de mamoeiro 'Formosa', aos 140 dias após a semeadura, conseguiram obter médias de alturas que variaram entre 15 a 18 cm, adicionando-se a dose de 10 kg m⁻³ de superfosfato simples com a adição de 20% ou 40% de composto orgânico. Da mesma forma, Medeiros et al. (2009) obtiveram o valor de altura máxima de 22,2 cm, na produção de mudas de mamoeiro na dose de 10 kg m⁻³ de superfosfato simples, com a utilização de diferentes proporções de matéria orgânica. Repinaldo Filho et al. (2008) verificando o efeito de diferentes proporções de N, K, P e Ca para as mudas do mamoeiro e sua relação durante o estágio inicial de crescimento, cultivadas em solução nutritiva por 35 dias, observaram que a altura máxima das mudas de mamoeiro 'Golden' foi de 16 cm.

A altura média ideal para que as mudas de mamoeiro sejam levadas ao campo é de 15 a 20 cm, que pode ser obtido entre um período entre 45 a 60 dias de cultivo (Lima et al., 2007; Chaves et al., 2000). No presente trabalho, na dose 0 de P, foram obtidos valores de altura mínimo de 25,3 cm e máximo 29,5 cm, quando inoculadas com FMAs, independente da inoculação bacteriana, aos 105 dias após a semeadura. Estes resultados foram superiores aos trabalhos mencionados acima, mesmo sem a aplicação de adubos fosfatados.

Isso demonstra a capacidade dos FMAs em potencializar a produção de mudas de qualidade, reduzindo a aplicação de insumos químicos necessários para esta cultura.

A associação simbiótica mutualística formada entre os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e as raízes de fruteiras é de grande importância para as

plantas que passam por fase de viveiro, pois antecipa o tempo de transplante para o campo, estimulando o crescimento precoce da muda e, conseqüentemente, reduzindo o seu tempo de aclimação, o que aumenta a produtividade, a rotatividade na ocupação da infra-estrutura e a eficiência de utilização da mão-de-obra especializada (Silveira et al., 2003). Esses benefícios foram observados em várias frutíferas como aceroleira (Costa et al., 2001), maracujazeiro amarelo (Silveira et al., 2003; Cavalcante et al., 2002; Cavalcante et al., 2001), maracujazeiro doce (Anjos et al., 2005), cajueiro (Weber et al., 2004b) e bananeira (Lins et al., 2003). Além disso, tem a possibilidade de reduzir a adubação fosfatada (Silva et al., 2008; Cavalcante et al., 2001; e Trindade et al., 2000).

A adubação fosfatada não influenciou significativamente a altura das mudas inoculadas com inóculo misto e *G. margarita*. O incremento com a adição de P ao substrato foi de apenas 1% e 5% para o inóculo misto e *G. margarita*, respectivamente. Isto demonstra que a inoculação de *G. margarita* de forma isolada ou combinada ao *G. clarum* pode potencializar o desenvolvimento das mudas de mamoeiro favorecendo o seu crescimento, mesmo em condições de baixa disponibilidade de P, independentemente da presença da bactéria. A Figura 2 mostra o desenvolvimento das mudas de mamoeiro inoculadas com os FMAs, na ausência de adubação fosfatada e de bactérias diazotróficas aos 105 dias após a semeadura.

Em relação ao diâmetro do caule e à área foliar das mudas de mamoeiro foi possível observar que as médias foram significativamente maiores em todas as mudas micorrizadas, quando comparadas às não inoculadas com FMA, independentemente da presença de bactérias diazotróficas e das doses de P no solo (Tabela 3).



Figura 2. Visão geral do efeito da inoculação com FMAs em mudas de mamoeiro da cultivar Golden aos 105 dias após a semeadura, na ausência de bactérias diazotróficas e de P no substrato. SF: Sem fungo; GM: *Gigaspora margarita*; GC: *Glomus clarum*; GM+GC: inóculo misto.

Tabela 3. Diâmetro do caule (mm) e área foliar total (cm²) de mudas de mamoeiro da cultivar Golden em função da inoculação com fungo micorrízico arbuscular (FMA) aos 150 dias após a semeadura

FMA	Diâmetro do caule		Área Foliar Total	
	mm	IR _F %	cm ²	IR _F %
Sem FMA	1,95 c	-	13,8 b	-
<i>G. margarita</i>	9,28 a	376	249,51 a	1708
<i>G. clarum</i>	7,85 b	303	243,61 a	1665
Inóculo misto	9,31 a	377	276,40 a	1903
Médias	7,10	-	195,85	-
C. V. (%)	13,5	-	34,0	-

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, em nível de 5% de probabilidade; Incremento relativo [(IR_F%) = 100(x-y)/y, sendo x: planta inoculada e y: planta controle (sem FMA)].

Minhoni e Auler (2003), verificando os efeitos das doses da adubação fosfatada, da fumigação do substrato e da inoculação com o FMA *G. macrocarpum*, observaram que o crescimento em termos de altura, número de folhas e diâmetro de caule das mudas de mamoeiro inoculadas na ausência de

adubação fosfatada foi equivalente ao de plantas não inoculadas submetidas à dose de 240 mg dm^{-3} de P no solo.

Ao avaliarem o efeito, em condições de campo, do desenvolvimento de mudas de mamoeiro inoculadas com *G. margarita* e *G. etunicatum* em diferentes formas de adubação, Trindade et al. (2003b) observaram que mudas micorrizadas por *G. etunicatum* apresentaram maior diâmetro do caule nos primeiros meses de crescimento da planta após o plantio, embora não tenham resultado em aumento de produtividade nas condições avaliadas. Entretanto, poucos experimentos são realizados objetivando constatar se a eficiência da micorrização na fase de muda se mantém após o transplante para o campo. Collozi Filho e Carvalho (1993) relataram que as mudas de maracujazeiro previamente micorrizadas por *G. margarita*, produziram mais que as mudas não micorrizadas no campo.

A inoculação com os FMAs proporcionaram aumento na área foliar das mudas de mamoeiro, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 3). Dentre os valores obtidos, a inoculação combinada de *G. margarita* e *G. clarum* proporcionou a maior média ($216,98 \text{ cm}^2$), com incremento máximo de 1903% em comparação com as mudas não micorrizadas.

Resultados similares foram obtidos em outras fruteiras. Os maiores valores de incremento obtidos por Costa et al. (2001) em área foliar foram alcançados nas mudas de aceroleira do genótipo Barbados quando colonizadas por *G. margarita* (3520,94%). Influência positiva da inoculação de FMA também foi observada na área foliar de maracujazeiro amarelo (Cavalcante, 1999). Benefícios no crescimento foliar foram demonstrados em mudas de maracujazeiro doce por Anjos et al. (2005), que observaram que a inoculação com *G. albida*, *S. heterogama* e FMA nativos, proporcionaram incrementos acima de 130%, independentemente do nível de P e da condição do solo estudada. Da mesma forma, Silva et al. (2004) observaram que mudas de maracujazeiro doce proporcionaram aumento de 2671% na área foliar quando inoculadas com *G. albida*.

É possível observar que, independente dos tratamentos microbiológicos, a adubação com P (25 mg dm^{-3}) beneficiou significativamente o diâmetro do caule e área foliar, proporcionando incremento de 15% e 24%, respectivamente (Tabela 4). De acordo com Melo et al. (2007), a altura da planta e o diâmetro do caule têm

maior expressão na formação de fitomassa da parte aérea em mudas de mamoeiro.

Tabela 4. Diâmetro do caule (mm) e área foliar (cm²) de mudas de mamoeiro da cultivar Golden em função das doses de P no substrato aos 150 dias após a semeadura

Doses de P	Diâmetro do caule	Área Foliar Total
	mm	cm ²
0 mg dm ⁻³	6,60 b	174,72 b
25 mg dm ⁻³	7,59 a	216,98 a
IR _P %	15	24
Médias	7,10	195,85
C. V. (%)	13,5	34,0

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, em nível de 5% de probabilidade. Incremento relativo à presença de P no substrato [(IR_P% = 100(x-y)/y, sendo x: com P e y: sem P)];

Os resultados demonstram que os inóculos *G. margarita*, *G. clarum*, inóculo misto contribuíram significativamente para a produção de mudas de mamoeiro da cultivar Golden, proporcionando incrementos expressivos na altura, diâmetro do caule e área foliar total das plantas, tanto na ausência, quanto na presença de P no substrato.

4.2. Massas frescas e secas da parte aérea e das raízes

As variáveis, massas fresca e seca da parte aérea e da raiz das mudas de mamoeiro, foram influenciadas pela inoculação com FMAs independente das doses de P e da inoculação com as bactérias (Tabela 5).

Tabela 5. Massas fresca e seca (g planta^{-1}) em raízes (R) e parte aérea (PA) de mudas de mamoeiro da cultivar Golden em função da inoculação com fungo micorrízico arbuscular (FMA) aos 150 dias após a semeadura

FMA	Massa Fresca				Massa Seca					
	Raiz		Parte Aérea		Raiz		Parte Aérea		Total	
	g planta^{-1}	IR _F %								
Sem FMA	0,56 c	-	0,58 c	-	0,07 c	-	0,11 c	-	0,18 d	-
G. margarita	10,32 a	1743	13,95 ab	2305	1,09 a	1457	2,40 a	2082	3,49 b	1839
G. clarum	8,19 b	1363	12,56 b	2066	0,78 b	1014	2,11 b	1818	2,90 c	1511
Inóculo misto	11,16 a	1893	15,07 a	2498	1,24 a	1671	2,65 a	2309	3,89 a	2061
Médias	7,56		10,54		0,80		1,82		2,61	
C. V. (%)	21,2		27,1		26,8		18,6		19,5	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, em nível de 5% de probabilidade; Incremento relativo das massas fresca e seca, respectivamente, $[(\text{IR}_F\%) = 100(x-y)/y]$, sendo x: massa da planta inoculada e y: massa da planta controle (sem FMA)];

As mudas de mamoeiro inoculadas com FMAs apresentaram valores significativos, em relação ao acúmulo de massa fresca e seca, sendo superiores ao controle não micorrizado (Tabela 5). Para a produção de massa fresca a inoculação com o inóculo misto e *G. margarita* proporcionaram incrementos de 1893% e 1743%, para as raízes, e 2498% e 2305%, respectivamente, para parte aérea em relação às mudas sem FMA. Os mesmos inóculos proporcionaram ganhos de 1671% e 1457% e de massa seca para a raiz e 2309% e 2082% de parte aérea em relação às mudas não inoculadas com FMA.

Dentre os tratamentos fúngicos, o inóculo misto se destacou apresentando valores de 1,24, 2,65 e 3,89 g planta⁻¹ para as massas secas da raiz, parte aérea e total, respectivamente. O inóculo misto também proporcionou incremento na massa seca total das mudas de mamoeiro, em relação aos demais tratamentos, foi de 2061% em comparação às mudas não micorrizadas.

O mamoeiro apresenta elevada resposta à micorrização, conforme observado em vários trabalhos já realizados (Minhoni e Auler, 2003; Trindade et al., 2001a; Martins et al., 2000). Com o objetivo de avaliar a eficiência simbiótica e o potencial de inoculação de FMAs em solo não fumigado, em mudas de mamoeiro, Trindade et al. (2000) observaram que o benefício da inoculação com *Glomus clarum* e *Gigaspora margarita* situou-se em 67,7% e 73,1%, respectivamente, sobre o peso de matéria seca da parte aérea das mudas, mesmo na presença de outros competidores. Isto demonstra a eficiência dos FMAs na produção de mudas desta cultura.

Silva et al. (2004) ao determinar o efeito de cinco espécies de FMAs sobre o crescimento de mudas de maracujazeiro doce, observaram que a inoculação com *G. albida* proporcionou incrementos de 2138% e 1430% nas biomassas fresca e seca da parte aérea, 1937% na biomassa fresca da raiz. Segundo Costa et al. (2001), as mudas de aceroleira do genótipo Barbados tiveram maior incremento de biomassa seca quando colonizadas por *G. margarita*.

Os tratamentos inoculados com a espécie *G. clarum*, foi o que proporcionou os menores resultados em comparação aos demais fungos, no que se refere ao acúmulo de massas fresca e seca das mudas de mamoeiro da cultivar Golden. Martins et al. (2000) observaram que na dose 0 mg dm⁻³ de P no solo, a inoculação de *G. clarum* aumentou significativamente a produção de massa seca das mudas de mamoeiro, independentemente da adição de

compostos fenólicos no solo. Leal et al. (2005) demonstraram que a inoculação com o *G. clarum* em mudas de bananeira, produzidas em blocos prensados, proporcionaram incrementos na produção de matéria seca da parte aérea de 829% em relação às não micorrizadas.

O efeito da inoculação com os FMAs tende a ser maior na ausência de fósforo. Com a adição de fósforo ao substrato, este efeito pode ser reduzido, pois uma maior disponibilidade desse nutriente inibe o processo micorrízico, diminuindo os benefícios da inoculação (Minhoni e Auler, 2003). A resposta do mamoeiro na fase de mudas, tem sido verificada mesmo em doses elevadas de P disponível (228 mg dm^{-3}) no substrato (Trindade et al., 2001b). Entretanto, Martins et al. (2000) observaram que na dose 50 mg dm^{-3} de P, não foi verificado aumento significativo na produção de massa seca e no conteúdo de P da parte aérea das mudas de mamoeiro.

Repinaldo Filho et al. (2008) avaliando diferentes concentrações de N, K, P e Ca em plantas de mamoeiro, em seu estágio inicial de desenvolvimento, e sua relação com o crescimento e produção de massa seca, observaram que a maior parte da massa seca da cultivar Golden foi acumulada no caule, enquanto o híbrido Formosa acumulou nas raízes. Vichiato et al. (2009) estudando a influência das doses de P e Mg no substrato, concluíram que, mesmo na ausência da adubação fosfatada, o híbrido Tainung nº 1 apresentou massa seca da parte aérea muito superior ao Improved Sunrise Solo 72/12. Isso sugere que existem diferenças entre a eficiência no acúmulo de matéria vegetal entre os genótipos de mamoeiro.

Lima et al. (2007) apontaram a cultivar Golden como o material mais promissor para a obtenção de maior rendimento, uma vez que é considerado 65% superior ao híbrido no acúmulo de massa seca. Estes autores também observaram que as mudas da cultivar Golden apresentaram valores superiores ao híbrido Tainung Nº1, em todo o período de condução experimental, no que se refere a rendimento da área foliar e por apresentar menor porte, refletindo em maior fotossíntese líquida. Dentro deste contexto, é possível que a eficiência fotossintética apresentada por esta cultivar durante o seu desenvolvimento inicial tenha favorecido a capacidade de se associar e responder à inoculação com FMAs, em função da maior disponibilidade de carbono, promovendo acréscimos no acúmulo de nutrientes durante a fase de muda.

As doses de fósforo influenciaram a produção das massas fresca e seca das mudas de mamoeiro, independente dos tratamentos microbiológicos utilizados (Tabela 6). A adição de 25 mg dm^{-3} de P ao substrato favoreceu a produção de massa fresca e seca das mudas, apresentando incremento na massa seca total de 24% em relação às mudas cultivadas na ausência de P.

Tabela 6. Massa fresca e seca em mudas de mamoeiro da cultivar Golden em função das doses de P aplicadas no substrato aos 150 dias após a semeadura

Doses de P	Massa Fresca		Massa Seca		
	Raiz	Parte Aérea	Raiz	Parte Aérea	Total
	g planta ⁻¹		g planta ⁻¹		
0 mg dm ⁻³	6,76 b	9,48 b	0,68 b	1,66 b	2,34 b
25 mg dm ⁻³	8,35 a	11,60 a	0,91 a	1,98 a	2,89 a
IR _P %	24	22	34	19	24
Médias	7.6	10.5	0,80	1,82	2,61
C. V. (%)	21,2	27,1	26,8	18,6	19,5

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, em nível de 5% de probabilidade. Incremento relativo à presença de P no substrato [(IR_P% = 100(x-y)/y, sendo x: com P e y: sem P)];

As médias de massa seca da parte aérea e total nas doses 0 e 25 mg dm^{-3} de P (Tabela 6) foram superiores às obtidas por Vichiato et al. (2007) na dose de 20 mg dm^{-3} de P, que apresentou médias de 1,55 e 1,99 g planta⁻¹, respectivamente, em mudas de mamoeiro 'Improved Sunrise Solo 72/ 12' aos 120 dias após a semeadura.

Da mesma forma, os resultados obtidos no presente trabalho, em relação à massa seca foram superiores ou equivalentes aos valores máximos estimados por outros autores em mudas de mamoeiro 'Formosa'. Mendonça et al. (2006), encontraram valores médios para massa seca de 0,89, 2,01 e 2,90 g planta⁻¹ para raiz, parte aérea e total, respectivamente, com a adição de 10 g dm^{-3} de superfosfato simples e 40% de composto orgânico, após 140 dias de semeadura.

Mendonça et al. (2009) obtiveram o valor máximo estimado para as massas secas da raiz, parte aérea e total de 0,99, 1,81 e 2,71 g planta⁻¹, quando aplicada a dose de 1,8 g de N dm⁻³ no substrato Plantmax® + areia + solo na proporção de 1:1:3 em volume (contendo 49,8 mg dm⁻³ de P), respectivamente, aos 150 dias após a semeadura.

No presente trabalho não houve efeito significativo da inoculação isolada das bactérias diazotróficas ou em conjunto com os FMAs. Também não foi observado efeito supressivo no desenvolvimento das plantas de mamoeiro, quando inoculado os FMAs. Em condições de baixa disponibilidade de P, a inoculação conjunta pode gerar competição entre os microrganismos, prejudicando o desenvolvimento das plantas.

Efeitos estimulatórios e supressivos em relação ao crescimento da planta em resposta à dupla inoculação com os FMA (*Glomus intraradices*) e as bactérias promotoras de crescimento (*Paenibacillus polymyxa* e *P. macerans*) foram obtidos por Larsen et al. (2009) em mudas de *Cucumis sativus*. Balota et al. (1997) observaram, em mudas de mandioca, que as bactérias diazotróficas apresentaram efeito estimulatório apenas na presença de *G. clarum*, proporcionando maior colonização micorrízica e esporulação dos FMAs, enquanto as inoculações do FMA isoladamente e em conjunto com bactéria incrementaram todas as variáveis de crescimento e nutricionais.

Entretanto, Raimam et al. (2007) avaliando os efeitos de quatro espécies bactérias fixadoras de N de vida livre, inoculadas na presença ou não de *G. clarum*, sobre o desenvolvimento de plantas de arroz sob duas formas de cultivo, observaram que a presença de *G. clarum* diminuiu ou não afetou significativamente o crescimento das plantas sob as diferentes condições de cultivo. Sala et al. (2007) concluíram que as plantas associadas à *Glomus* sp., na presença dos isolados bacterianos, apresentaram maior crescimento, acúmulo e aproveitamento dos nutrientes do que as plantas colonizadas por *Acaulospora* sp., entretanto, não superaram os tratamentos em que as bactérias e os fungos foram inoculados isoladamente. Estes resultados demonstram que a eficiência da inoculação conjunta de bactérias diazotróficas e FMAs varia na promoção do crescimento de diferentes culturas.

Os benefícios da interação FMA e bactéria diazotrófica podem ser atribuídos ao incremento na absorção de P pelas plantas micorrizadas,

propiciando melhores condições para o estabelecimento da associação com bactérias diazotróficas e para o funcionamento da nitrogenase (Artursson et al., 2006). Acréscimos de 25% no acúmulo de massa seca da parte aérea das mudas de mamoeiro 'Formosa' foram obtidos pela inoculação isolada da bactéria diazotrófica do gênero *Stenotrophomonas* por Boddey et al. (2007), quando se utilizou o substrato Plantmax®. É possível que a dose de P testada no presente trabalho (25 mg dm^{-3}) tenha sido menor que a necessária para manter o funcionamento da nitrogenase que possui alto custo energético. Mendonça et al. (2009) observaram dentre as diferentes combinações de Plantmax® avaliadas, que o volume plantmax® + areia + solo na proporção 1:1:3 (contendo $49,8 \text{ mg dm}^{-3}$ de P no substrato) foi o que promoveu os melhores resultados na produção das mudas do mamoeiro. Em adição, estes autores afirmam que este substrato apresentou valores mais expressivos em relação a quase todos os nutrientes, principalmente em relação aos macronutrientes de grande importância para a cultura do mamoeiro como K, Mg, e, em especial, P e Ca.

Negreiro et al. (2005), estudando tipos de substratos na produção de mudas de mamoeiro, relacionaram o melhor substrato com o maior teor de fósforo presente no mesmo. Isso mostra a importância do suprimento deste nutriente no solo para o desenvolvimento das mudas de mamoeiro.

4.3. Conteúdos de N, P, K, Ca e Mg na parte aérea das mudas

Os conteúdos de N, P e K na massa seca da parte aérea foram influenciados pela inoculação com os FMAs e pelas doses de P (Tabela 7). No entanto, não foram influenciados pela aplicação das bactérias diazotróficas.

Os valores referentes aos conteúdos de N, P e K na parte aérea das mudas de mamoeiro, proporcionadas pela inoculação com FMAs, demonstram a sua capacidade em promover o aumento na absorção destes nutrientes do solo.

Tabela 7. Conteúdo de N, P, K, Ca e Mg (mg planta⁻¹) na parte aérea de mudas de mamoeiro da cultivar Golden submetidas à inoculação de fungo micorrízico arbuscular, em função das doses de P no substrato aos 150 dias após a semeadura

Doses de P	FMA				
	Sem FMA	G. margarita	G. clarum	Inóculo Misto	Médias
N (mg planta ⁻¹)					
0 mg dm ⁻³	1,38 bB	39,33 aA	43,54 aB	42,54 aA	31,60
25 mg dm ⁻³	9,39 cA	37,57 bA	48,34 aA	40,36 bA	33,91
Médias	5,39	38,45	45,94	41,45	32,76
C. V. (%)	17,8				
P (mg planta ⁻¹)					
0 mg dm ⁻³	0,03 bA	3,38 aB	3,54 aB	4,05 aB	2,75
25 mg dm ⁻³	0,21 bA	4,78 aA	5,19 aA	5,20 aA	3,85
Médias	0,12	4,08	4,37	4,63	3,30
C. V. (%)	19,6				
K (mg planta ⁻¹)					
0 mg dm ⁻³	0,48 cA	53,25 abA	46,93 bA	57,36 aA	39,51
25 mg dm ⁻³	3,43 bA	52,86 aA	53,11 aA	48,83 aB	39,56
Médias	1,96	53,10	50,02	53,10	39,53
C. V. (%)	20,5				
Ca (mg planta ⁻¹)					
0 mg dm ⁻³	0,22	10,02	11,34	11,85	8,36 b
25 mg dm ⁻³	1,31	10,05	13,41	13,08	9,46 a
Médias	0,77 c	10,04 b	12,38 a	12,46 a	8,91
C. V. (%)	21,0				
Mg (mg planta ⁻¹)					
0 mg dm ⁻³	0,26	12,96	13,14	13,44	9,95 b
25 mg dm ⁻³	1,62	13,52	15,43	15,96	11,63 a
Médias	0,94	13,24	14,27	14,67	10,79
C. V. (%)	17,8				

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A capacidade de *G. clarum* e *G. margarita* de aumentar o acúmulo de N, P e K nas plantas já foi demonstrada em fruteiras. Chu et al. (2001) observaram

aumento nos conteúdos de N, P e K na parte aérea de mudas de gravioleira através da inoculação com *G. margarita*. Schiavo e Martins (2002) concluíram que mudas de goiabeira inoculadas com *G. clarum* promoveram aumento de 45% e 57% nos conteúdos de N e P da parte aérea, respectivamente, quando cultivados sob sistema de produção de mudas em blocos prensados. Da mesma forma, Leal et al. (2005) demonstraram que mudas de bananeira produzidas em blocos prensados e inoculadas com *G. clarum* proporcionaram incrementos no acúmulo de N, P e K, de 2774%, 249% e 403%, respectivamente.

O nitrogênio é um nutriente essencial para as plantas e pode ser suprido também pelos FMAs (Bonfante e Anca, 2009). No que se refere à absorção de N, na ausência de adubação fosfatada o incremento foi superior em 2750%, 3055% e 2983% para *G. margarita*, *G. clarum* e inóculo misto, respectivamente, em relação ao tratamento sem FMA. A média geral foi de 31,60 mg planta⁻¹, variando de 1,38 a 43,54 mg planta⁻¹ entre os tratamentos sem FMA e *G. clarum*, respectivamente. A adição de P favoreceu o acúmulo de N em mudas inoculadas com *G. clarum*, destacando-as dos demais tratamentos fúngicos. O incremento foi de 11% em relação às mudas inoculadas com *G. clarum* na ausência de P,

Diversos trabalhos demonstram a eficiência do *G. clarum* em aumentar o conteúdo de N nas plantas. Sala et al. (2007) demonstraram que o fungo micorrízico do gênero *Glomus* foi o mais eficiente em aumentar o crescimento, acúmulo e aproveitamento do nitrogênio e do fósforo pelas plantas de trigo. Balota et al. (1997) concluíram que os tratamentos inoculados com *G. clarum* apresentaram maior acúmulo de N na parte aérea das plantas do que os sem fungos em mudas de mandioca. Raimam et al. (2007) observaram que a inoculação de *G. clarum* na presença de bactérias diazotróficas acarretou efeitos negativos em todas as características avaliadas, exceto no conteúdo de N total em mudas de arroz.

Não houve influência da dupla inoculação com bactérias diazotróficas e FMAs no conteúdo de N nas mudas de mamoeiro. Tellechea (2007) observou que a inoculação isolada das bactérias diazotróficas *Gluconacetobacter diazotrophicus* e *Herbaspirillum seropedicae*, independentemente da presença do *G. clarum*, não proporcionaram aumentos nos conteúdos de N da parte aérea das plantas, mesmo quando presentes nas raízes das mudas de cana-de-açúcar. Sala et al. (2007) obtiveram melhor desempenho em mudas de trigo colonizadas por

Acaulospora sp. na ausência da bactéria diazotrófica e apesar da maior colonização radicular das bactérias endofíticas, a inoculação isolada destas apresentaram menor crescimento, teor, acúmulo e índice de eficiência de utilização do N, em comparação ao controle cultivado na ausência de nitrogênio. Estes autores sugerem ainda que os resultados observados em seu trabalho possam ser indicativos de um desbalanço nutricional e/ou energético do hospedeiro, causados pela presença concomitante dos microrganismos endofíticos (FMA-bactéria diazotrófica).

Embora os resultados obtidos pela inoculação isolada com as bactérias diazotróficas *S. maltophilia* e *Azospirillum* sp. não terem influenciado nos conteúdos dos nutrientes para a cultura do mamoeiro, os microrganismos associativos e de vida livre do solo podem contribuir significativamente na nutrição das plantas através de uma variedade de mecanismos, incluindo efeitos diretos sobre disponibilidade de nutrientes (como a fixação do N₂ e solubilização de P), o aumento do crescimento da raiz (através da associação com rizobactérias promotoras de crescimento de plantas) (Richardson et al., 2009).

Considerando a interação entre bactéria e FMA, Miyauchi et al. (2008) observaram que isolados de *Azospirillum* aumentaram a concentração de N em cinco genótipos de milho (*Zea mays* L.) em condições não micorrizadas. Efeitos sinérgicos entre a inoculação conjunta de bactérias diazotróficas e *G. clarum* foram observados por Balota et al. (1997) em mudas de mandioca, principalmente, no acúmulo de N da parte aérea e das raízes com aumento de até 88% e 173% e no de fósforo em até 83% e 158%, respectivamente.

Em relação ao conteúdo de fósforo na parte aérea das mudas inoculadas com FMAs, foi observada a influência da adubação fosfatada (Tabela 7). A inoculação com os FMAs proporcionou incrementos significativos no conteúdo de P na parte aérea aliado à adição de P no substrato, obtendo-se médias de 4,78, 5,19 e 5,20 mg planta⁻¹, para os FMAs *G. margarita*, *G. clarum* e misto, respectivamente.

Trindade et al. (2000) mostraram que o *G. clarum* possui grande capacidade de absorção deste nutriente e menor custo relativo para a planta. Esses autores também demonstraram que a inoculação de FMAs, incluindo *G. margarita* e *G. clarum*, aumentou a eficiência de utilização do P nas mudas de mamoeiro avaliadas, sendo este efeito proporcionalmente maior nas doses de 20

e 40 mg dm⁻³ de P no solo. Trindade et al. (2001a), utilizando diferentes genótipos de mudas de mamoeiro inoculadas com *G. margarita*, observaram que a maior média de conteúdo de P foi de 1 mg planta⁻¹ obtida pelas mudas de 'Improved Sunrise Solo 72/12' após 41 dias de cultivo, aplicando-se a dose 20 mg dm⁻³ de P ao solo, valor este abaixo dos valores obtidos com a inoculação com os FMAs no presente trabalho.

Entretanto, as mudas de mamoeiro quando inoculadas com espécies de FMAs nativas, *G. clarum* e *G. macrocarpum*, na dose 50 mg dm⁻³ de P não apresentaram aumento no conteúdo de P da parte aérea, conforme verificado por Martins et al. (2000). Da mesma forma, Samarão (1998), avaliando os efeitos das espécies dos fungos *G. clarum* e *G. margarita* e das doses de P sobre o crescimento e conteúdo de nutriente em mudas micropropagadas de bananeira, concluiu que ambas as espécies de fungos, nas doses 0 e 10 mg dm⁻³ de P, proporcionaram aumentos significativos nos conteúdos de P e K da parte aérea das mudas e que, na dose 50 mg dm⁻³, não houve diferença significativa em relação ao tratamento controle.

Em relação ao conteúdo de P nas mudas de mamoeiro não inoculadas com FMAs, as médias (0,03 e 0,21) obtidas foram consideradas baixas e não diferiram entre si, mesmo com adição de P ao substrato. Valores superiores aos obtidos neste trabalho em relação ao conteúdo de P, em ambas as doses de P avaliadas, na ausência de FMA foram verificados por Martins et al. (2000) nas doses 0 (0,29 mg planta⁻¹) e 50 mg dm⁻³ de P (4,04 mg planta⁻¹). Possivelmente as doses de P avaliadas no presente trabalho não se adequaram às necessidades nutricionais requeridas pelas mudas de mamoeiro em relação ao conteúdo de P. Sem a inoculação com os FMAs, as plantas não conseguiram extrair do solo valor significativo do P que foi aplicado, por outro lado, as mudas micorrizadas extraíram e transferiram para as plantas, mesmo na ausência de adubação fosfatada no substrato.

Limitações na disponibilidade de P durante a fase inicial do ciclo vegetativo podem resultar em restrições no desenvolvimento, tornando-se irreversíveis posteriormente, mesmo com o aumento do suprimento de P em níveis adequados (Grant et al., 2001). Considerando a importância de teores elevados de P disponível para o crescimento inicial do mamoeiro e a limitação no crescimento das mudas do grupo Solo por este nutriente (Costa e Costa, 2007), a inoculação

com FMAs pode ser utilizada para reduzir substancialmente esta necessidade (Minhoni e Auler, 2003).

A maior absorção de fósforo relacionada à colonização micorrízica arbuscular pode ser o resultado da completa inativação da via de absorção direta de P por pêlos radiculares e epiderme, obtendo-se P exclusivamente da via micorrízica (Smith et al., 2004). Burleigh et al. (2002) mostraram que plantas podem responder diferentemente a inoculação com FMA, não apenas pelo nível de colonização, ou aquisição de nutrientes e crescimento, mas também pelo nível de expressão de genes. Além disso, o genótipo do vegetal desempenha um papel central na forma como FMAs podem influenciar suas plantas hospedeiras, tanto em nível fisiológico quanto molecular, em termos de alterações na concentração de P da parte aérea e na expressão de genes transportadores de P da planta.

Quanto ao acúmulo de K na parte aérea das mudas de mamoeiro, foi possível observar que em condições de baixa disponibilidade de P, estas foram beneficiadas pela inoculação mista, com a maior média de $57,36 \text{ mg planta}^{-1}$, enquanto a média do controle não micorrizado foi de $0,48 \text{ mg planta}^{-1}$.

Com a adubação de P, não foi possível observar diferença entre as espécies de FMA e as médias foram superiores ao controle, variando entre 48,83 a $52,86 \text{ mg planta}^{-1}$ de K, para inóculo misto e *G. margarita*, respectivamente. Além disso, o conteúdo de K nas mudas de mamoeiro inoculadas com inóculo misto foram afetadas pela aplicação de P ao substrato.

Estudos mostram que a inoculação com FMAs pode aumentar o acúmulo de K na parte aérea das mudas de mamoeiro. Trindade et al. (2001a) demonstraram que a inoculação promoveu maior absorção de K em todos os genótipos dos grupos Formosa e Solo quando inoculados com *G. margarita* na dose de $20 \text{ mg de solo dm}^{-3}$, atingindo valores acima de 100% em relação às plantas não colonizadas pelos FMAs. Aumentos na absorção de K por plantas micorrizadas podem ocorrer, já que é considerado como o segundo nutriente mais limitante para as mudas de mamoeiro, sendo bastante exigido por esta cultura (Costa e Costa, 2007; Souza et al. 2000).

Khade e Rodrigues (2009) avaliando o efeito da inoculação isolada e combinada entre as espécies *Glomus mosseae* e *Glomus intraradices* sobre a nutrição mineral das mudas de mamoeiro da variedade Surya, concluíram que as mudas inoculadas com FMA *G. mosseae*, seguido pelo inóculo misto, foram os

mais eficientes em proporcionar maiores conteúdos de K e P no pecíolo das folhas das plantas em relação às mudas não micorrizadas. Estes resultados mostram que os FMAs podem estar de fato contribuindo para maior absorção deste elemento, tornando-se mecanismo de grande importância para as mudas de mamoeiro, conforme também foi verificado por Trindade et al. (2000).

O cálcio é o terceiro nutriente mais requerido pelo mamoeiro, contribuindo para o crescimento e a multiplicação de suas raízes (Oliveira et al., 2004; Souza et al., 2000). Dentre os FMAs avaliados, os inóculos misto e *G. clarum* proporcionaram o aumento do conteúdo de Ca, obtendo-se médias acima de 12 mg planta⁻¹, sendo estatisticamente superiores e em relação aos demais tratamentos (Tabela 7), contribuindo com incremento de, respectivamente, 5286% e 5054% quando comparados às plantas não inoculadas com FMA na ausência de adubação fosfatada.

A capacidade de FMAs proporcionar maior acúmulo de nutrientes como Ca e Mg já foi demonstrada por outros autores como Chu et al. (2001) em mudas de gravioleira quando inoculados com *G. margarita*, tanto em solo fumigado quanto não fumigado com brometo de metila. Da mesma forma, foi observado por Carvalho et al. (2007) maior conteúdo de Ca e Mg em mudas de capim andropogon inoculadas com *G. clarum* sob diferentes doses de P em substrato não estéril.

A adubação fosfatada favoreceu o aumento no conteúdo de Mg e Ca nas plantas, independentemente da inoculação de FMAs e BFN no substrato (Tabela 7). As médias de conteúdo de Ca e Mg obtidas em mg planta⁻¹ em mudas de mamoeiro na dose 25 mg dm⁻³ de P foram de 9,46 e 11,63, respectivamente, correspondendo ao incremento de 13% e 17% em relação às mudas cultivadas na ausência de P. Entretanto, Vichiato et al. (2009) observaram que os teores de P na parte aérea em mudas de mamoeiro foram influenciados por interações entre as doses de P e Mg no substrato entre os genótipos Tainung e Improved Sunrise Solo, sendo inversamente relacionados ao aumento dos níveis de P no substrato.

O conteúdo de Mg na parte aérea de mudas de mamoeiro foi influenciado pela inoculação com bactérias diazotróficas e FMAs, independentemente das doses de P avaliadas (Tabela 8). As mudas inoculadas com FMAs na presença ou não de bactérias diazotróficas, foram estatisticamente maiores do que as inoculadas somente com BFN, no que se refere ao conteúdo de Mg. Apesar

disso, não foi observada diferença significativa no conteúdo de Mg entre as inoculações contendo somente os FMAs. Da mesma forma, Tellechea (2007) observou que as médias obtidas pelas mudas de cana-de-açúcar em relação ao conteúdo de Mg variaram em função dos tratamentos de bactérias diazotróficas e dos FMAs, sendo que inoculadas com os fungos *G. clarum* e *G. etunicatum*, sem a inoculação das bactérias *G. diazotrophicus* e *H. seropedicae*, apresentaram incrementos de 59 e 49%, respectivamente, quando comparados com o tratamento controle sem fungo e sem bactéria.

Tabela 8. Conteúdo de Mg (mg planta^{-1}) na parte aérea de mudas de mamoeiro da cultivar Golden submetidas à inoculação de fungo micorrízico arbuscular (FMA) em função da presença ou não de bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) aos 150 dias após a semeadura

BFN	FMA				Médias
	Sem FMA	<i>G. margarita</i>	<i>G. clarum</i>	Inóculo Misto	
Mg (mg planta^{-1})					
Sem BFN	0,93 cA	13,50 bA	13,76 bA	17,03 aA	11,30
<i>S. maltophilia</i>	0,98 bA	13,02 aA	14,31 aA	14,04 aB	10,59
<i>Azospirillum</i>	0,91 bA	13,18 aA	14,79 aA	13,03 aB	10,48
Médias	0,93	13,23	14,29	14,70	10,79
C. V. (%)	17,8				

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Maior conteúdo de Mg observado entre as mudas inoculadas com FMA foi proporcionado pelo inóculo misto (na ausência da bactéria diazotrófica) com a média de $17,03 \text{ mg planta}^{-1}$, representando o incremento de 1731% em relação ao controle (sem BFN e FMA). Além disso, as mudas contendo inóculo misto foram afetadas pela inoculação de *S. maltophilia* e de *Azospirillum* sp. É possível que a inoculação combinada entre *G. margarita* e *G. clarum* e as bactérias diazotróficas tenham resultado em competição, reduzindo o conteúdo do Mg na parte aérea do mamoeiro.

O Mg faz parte da molécula da clorofila e auxilia na absorção e translocação de fósforo (Souza et al., 2000). Fageria (2001) aponta que existe uma inter-relação positiva entre fósforo e magnésio como consequência da necessidade de magnésio que é utilizado como ativador de enzimas quinases, além de ativar a maioria das reações, envolvendo transferência de fosfato na célula.

De modo geral, *G. margarita* e *G. clarum* e inóculo misto foram superiores às mudas de mamoeiro não inoculadas com FMAs. Os incrementos proporcionados em relação às mudas não inoculadas, na ausência de P no substrato, foram de até de 3055% de N, pelo *G. clarum* e 13400% de P, 11850% de K, 5286% de Ca e 5069% de Mg pelo inóculo misto. Estes resultados obtidos evidenciam a capacidade dos FMAs *G. margarita* e *G. clarum*, inoculados individualmente ou em mistura, de promover o melhor estado nutricional das mudas de mamoeiro, tornando-se uma ferramenta promissora a ser explorada no desenvolvimento de inoculantes em tecnologias alternativas de produção, visando à redução de aplicação e dependência de adubos fosfatados necessários para esta cultura.

4.4. Porcentagem de colonização micorrízica

As porcentagens da colonização micorrízica evidenciam o efeito dos FMAs, independentemente da ausência ou da presença de bactéria diazotrófica e da adição de P ao solo (Figura 3). As plantas não inoculadas não apresentaram colonização micorrízica.

As médias obtidas pelos inóculos misto e *G. clarum* foram estatisticamente superiores aos tratamentos inoculados com *G. margarita* e ao controle (sem fungo), correspondendo a 97,1 e 95,8%, respectivamente. A maior colonização radicular apresentada por *G. clarum* pode estar relacionada aos maiores conteúdos de nutrientes como P, N, K e Ca (item 4.3) direcionados a parte aérea das plantas, através de sua inoculação, ainda que na ausência da bactéria. Khade e Rodrigues (2009) apontam que diferenças na absorção de nutrientes em mudas de mamoeiro inoculadas com FMAs podem estar associadas às diferenças na porcentagem de colonização micorrízica radicular.

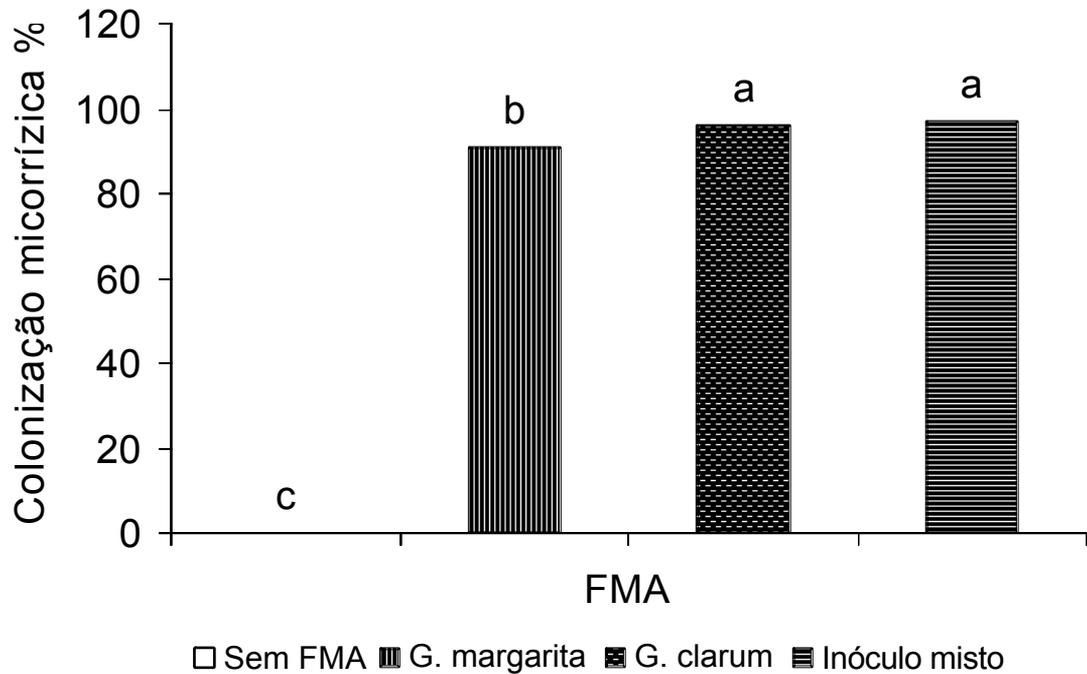


Figura 3. Colonização micorrízica em raízes de mudas de mamoeiro da cultivar Golden aos 105 após a sementeira. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey em nível de significância de 5%. C.V.= 9,2%.

Por sua vez, a elevada taxa de colonização do inóculo misto pode estar relacionada com a sua capacidade de desempenho superior ou igual aos demais tratamentos contendo FMAs, em todas as características biométricas de crescimento e nutricionais avaliadas no presente trabalho, principalmente em condições de baixa disponibilidade de P no solo. Desta forma, a inoculação combinada de *G. margarita* e *G. clarum* pode ser considerada promissora na produção de inoculantes, em função dos efeitos sinérgicos apresentados.

A porcentagem de colonização de *G. margarita* foi menor do que as demais espécies de FMAs, podendo estar relacionada com as menores médias obtidas no que se refere à absorção dos nutrientes P, N, Mg e Ca quando comparados aos demais tratamentos fúngicos. Apesar disso, a taxa de colonização micorrízica radicular do *G. margarita*, assim como dos demais FMAs, foi consideravelmente alta, com a média de 90,8%, sendo superior aos obtidos por Trindade et al. (2000), Trindade et al. (2001a), Trindade et al. (2001b). Trindade et al. (2003a) observaram que *Gigaspora margarita* colonizaram intensamente as mudas de

bananeira. Este elevado potencial de colonização radicular nas mudas de mamoeiro pode explicar os resultados significativos obtidos nas características avaliadas referentes à promoção de crescimento.

Trabalhos mostram que *G. clarum* e *G. margarita* são eficientes para o mamoeiro, tanto em solo fumigado (com brometo de metila) quanto em solo não fumigado, indicando capacidade de competir com os fungos nativos nas mesmas condições utilizadas (Trindade et al., 2001b; Trindade et al., 2000). Esta capacidade foi demonstrada em capim forrageiro (Carvalho et al., 2007) e em mudas de gravioleira (Chu et al., 2001), respectivamente.

Trindade et al. (2006), estudando amostras de solos e raízes em plantações comerciais de mamão no Norte do Espírito Santo e Sul e Oeste da Bahia, mostraram que existe uma alta diversidade de fungo micorrízicos na rizosfera em condições de campo. Além disso, todas as famílias do filo Glomeromycota estiveram representadas e foram encontradas nas amostras de esporos, espécies dos gêneros *Gigaspora* e *Glomus*, indicando que estas regiões, as quais concentram a maior parte da produção de mamão no Brasil, podem apresentar condições edafoclimáticas favoráveis à colonização destes FMAs.

Dentre os microrganismos capazes de manter complexas interações com os FMAs no solo estão as bactérias diazotróficas. A presença das bactérias diazotróficas não afetou a colonização micorrízica, corroborando os resultados obtidos por Vázquez et al. (2000) através da co-inoculação de *Azospirillum* e os FMAs *Glomus deserticola* e *Glomus mosseae*, em mudas de milho. No entanto, as bactérias associadas aos esporos de FMAs podem promover aumento e rápida colonização pelo fungo (Bhowmik e Singh, 2004). Isto já foi demonstrado em outros trabalhos, utilizando-se a inoculação conjunta de *G. clarum* e bactérias diazotróficas (como *A. diazotrophicus* e *Klebsiella* sp.) em mudas de cana-de-açúcar, sorgo-sacarino (Paula et al., 1991) e batata-doce (Paula et al., 1992; Paula et al., 1991).

A colonização micorrízica não foi influenciada pela adubação fosfatada, o que demonstra a capacidade das espécies *G. clarum* e *G. margarita* em colonizar raízes de mudas de mamoeiro mesmo com a adubação de P no substrato. Apesar disso, Trindade et al. (2001b) verificaram que ambos os FMAs, principalmente *G. margarita*, com o aumento das doses de P acima de 20 mg dm⁻³ reduziu a

colonização, entre as variedades do grupo Solo e Formosa, tendendo a zero a partir da dose 280 mg dm^{-3} de P.

Takahashi (2005) observou que raízes de cana-de-acúcar colonizadas por *G. clarum*, 12 semanas após o transplântio, proporcionou aumento de 5,5 vezes na porcentagem de colonização micorrízica e em condições de baixa disponibilidade de P no solo, comparado ao solo com alto P, embora a inoculação não tenha afetado a produção de massas da parte aérea das plantas. Este autor sugere ainda que peroxidases possam assumir importante papel no controle da colonização micorrízica, favorecendo a colonização intrarradicular em baixo teor de P.

Takahashi (2005), avaliando raízes de cana-de-acúcar colonizadas por *G. clarum* observou que 12 semanas após o transplântio, a porcentagem de colonização micorrízica foi 5,5 vezes maior do que em condições de alto P no solo, embora a inoculação não tenha afetado a produção de massas da parte aérea das plantas. Este autor sugere ainda que peroxidases possam assumir importante papel no controle da colonização micorrízica, favorecendo a colonização intrarradicular em baixo teor de P.

A colonização micorrízica envolve a penetração e o crescimento dos FMAs no córtex radicular que são pré-requisitos para o desenvolvimento de arbúsculos (Genre e Bonfante, 2002). Embora não ocorram alterações morfológicas macroscópicas nas raízes colonizadas por FMAs, a formação das micorrizas arbusculares é acompanhada de consideráveis mudanças no metabolismo de ambos os simbiontes e pela diferenciação de uma interface simbiótica ao redor dos arbúsculos (Harrison, 2005). Após a infecção, e durante a colonização do tecido cortical da raiz, além da diferenciação de arbúsculos, podem ocorrer a formação de hifas intracelulares enoveladas, vesículas ou células auxiliares (Kiriachek et al., 2009). Presença de arbúsculos, vesículas e hifas presentes no córtex radicular de mudas de mamoeiro aos 105 dias após a semeadura podem ser observadas na Figura 4.

Ao contrário do que ocorre em *G. margarita*, o *G. clarum* (Figura 4B) forma vesículas que variam em seu formato de elípticas a oblongas, e geralmente são produzidas perto do ponto de entrada das raízes, após a rápida formação de uma parede externa espessa que se diferencia em esporos maiores. A produção de arbúsculo atinge o pico no início da colonização micorrízica, com sua formação

distribuída ao longo das células de forma dispersa e fragmentada (INVAM, 2009). Isto pode ser observado na Figura 4B.

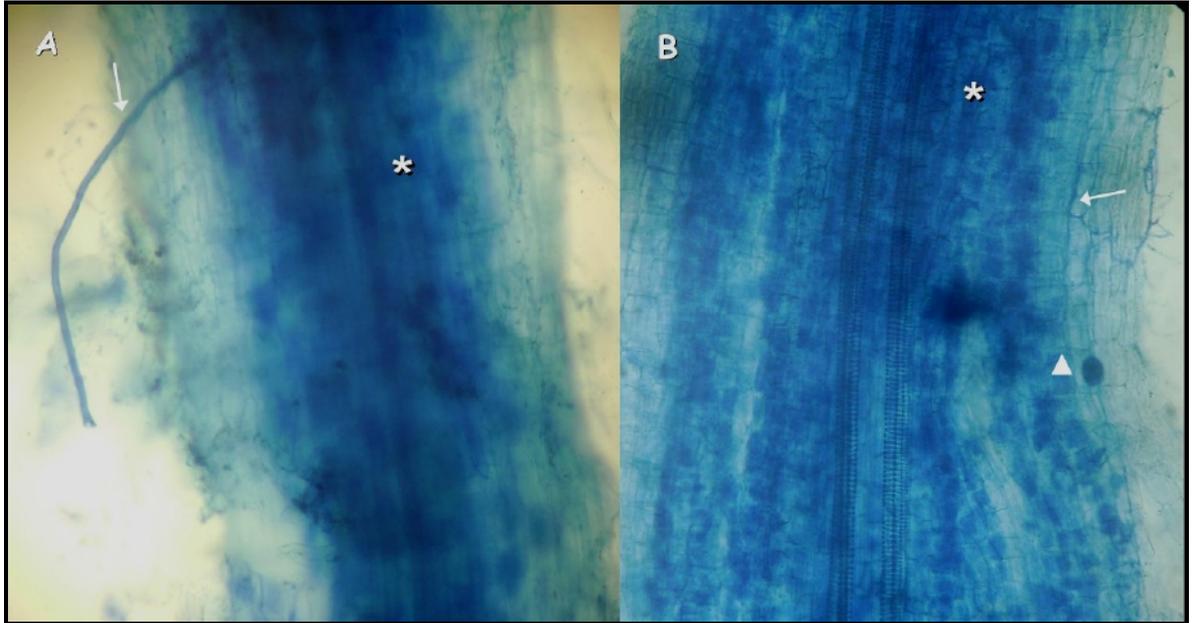


Figura 4. Fotomicrografia de raízes de mamoeiro da cultivar Golden aos 150 dias após a semeadura, colonizadas por espécies inoculadas de FMAs. (A) Detalhe evidenciando a extensiva colonização de FMAs (*), com a formação de hifas (→) em raízes inoculadas com *G. margarita*. (B) formação de arbúsculos (*), vesículas (Δ) e hifas (→) em raízes inoculadas com *G. clarum*.

O ciclo dos FMAs se completa com a formação de esporos, o que usualmente ocorre no solo, porém a colonização da raiz pode continuar após o início da esporulação (Kiriachek et al., 2009). Foi possível observar a extensiva presença de esporos no sistema radicular do mamoeiro. Maiores detalhes das estruturas dos esporos e da colonização de esporos no tecido radicular das mudas de mamoeiro, através das Figuras 5 e 6, respectivamente.

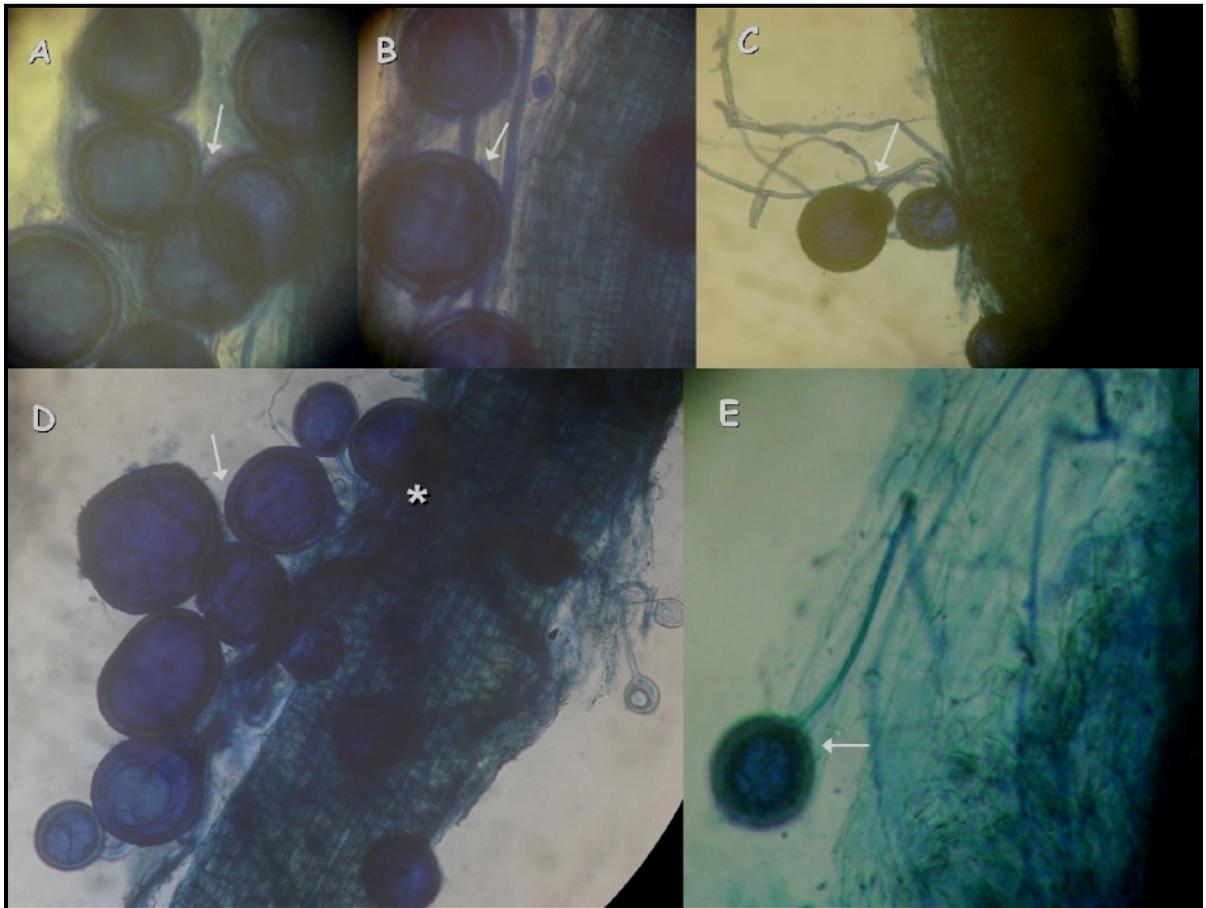


Figura 5. Detalhes das estruturas de esporos de *G. clarum* (A, B, D) presentes nos fragmentos radiculares de mudas de mamoeiro da cultivar Golden aos 150 dias após a sementeira. C e E: evidenciam a germinação dos esporos, de *G. margarita*, com a formação de hifas.

Os esporos de *G. clarum* (100-260 μm) podem apresentar diversas formas: globosa, subglobosa, às vezes, elípticas, oblongas ou irregulares (possivelmente esporos formados nas raízes) (Figura 5). Esporos intrarradiculares freqüentemente se reúnem em grupos e rompem o tecido epidermático da raiz da planta devido ao seu grande tamanho (INVAM, 2009), conforme observado na Figura 5D.

As estruturas dos esporos de *G. margarita* (260-400 μm) são caracterizadas como globosas a subglobosas (INVAM, 2009). As Figuras 5C e 5E mostram a germinação dos esporos formando as hifas em direção ao tecido radicular.

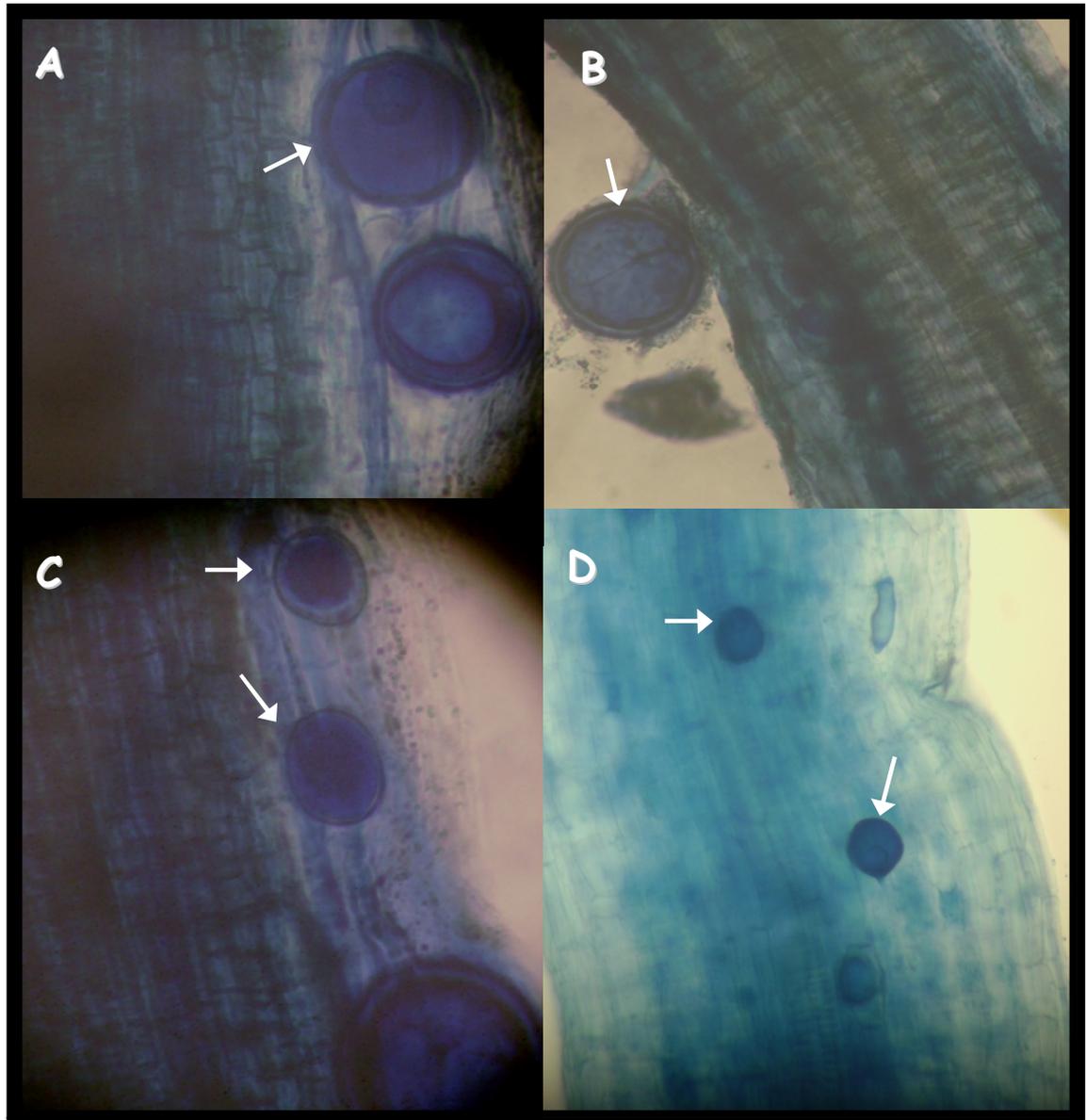


Figura 6. Colonização de esporos (→) na superfície e no interior do tecido radicular de mudas de mamoeiro da cultivar Golden aos 150 dias após a semeadura. A: *G. margarita*; B: *G. clarum*; C e D: *G. margarita* + *G. clarum*.

Os esporos dos FMAs formam verdadeiro micro-habitat adequado para a colonização de diversas espécies de bactérias (Long et al. 2008). Um valor médio de aproximadamente 2400 bactérias por $10^6 \mu\text{m}^3$ é encontrado por esporo de *G. margarita* (Bianciotto et al., 2004). De acordo com Xavier e Germida (2003), diferentes tipos de bactérias estão associados aos esporos de *G. clarum*, algumas das quais têm não só efeito sobre a germinação dos esporos de FMA e

alongamento das hifas in vitro, mas também alteram significativamente as interações entre os FMAs e as suas plantas hospedeiras. Soares et al. (2009) observaram, em mudas de abacaxizeiro, que a germinação de FMA pode ser estimulada ou inibida em presença de bactérias promotoras de crescimento, enquanto a simbiose micorrízica pode ser inibida.

Long et al. (2008), ao analisarem as comunidades bacterianas associadas à superfície de esporos da espécie *G. margarita*, observaram que tanto a planta hospedeira quanto o substrato podem influenciar a composição da população bacteriana associada. Isto permite sugerir que os resultados obtidos podem estar relacionados à influência do genótipo da planta e do substrato testado. Estes autores ainda revelaram, durante as análises de seqüências de bandas de DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) de amostras de esporos de *G. margarita*, que dentre a maioria das seqüências bacterianas associadas, o gênero *Azospirillum* estava presente.

As bactérias associadas aos esporos de FMAs podem promover aumento e rápida colonização pelo fungo (Bhowmik e Singh, 2004), facilitando o processo de penetração das hifas infectivas, obtendo-se maior exsudação de nutrientes pela planta, promovendo simultaneamente a aceleração do crescimento das bactérias (Paula et al., 1991). Segundo Balota et al. (1997), a co-inoculação da “Bactéria E” com *Glomus clarum* aumentou a colonização micorrízica em 40% em mudas de mandioca e a esporulação em 168%, comparada à inoculação do fungo isolado. Estes efeitos benéficos podem ocorrer tanto pela maior absorção de nutrientes pela planta, como pelo estímulo na colonização de FMAs.

A colonização de esporos e a formação de hifas infectivas no interior do tecido radicular do mamoeiro, projetando-se para a zona extra-radicular, podem ser observadas nas Figuras 6 e 7, respectivamente.

De forma geral, as estruturas observadas por microscopia óptica evidenciam a capacidade de FMAs em colonizar as mudas de mamoeiro da cultivar Golden e que podem estar relacionadas com os resultados obtidos neste trabalho, em relação ao aumento da capacidade das plantas em absorver todos os macronutrientes avaliados, assim como a promoção de crescimento e acúmulo de matéria vegetal.

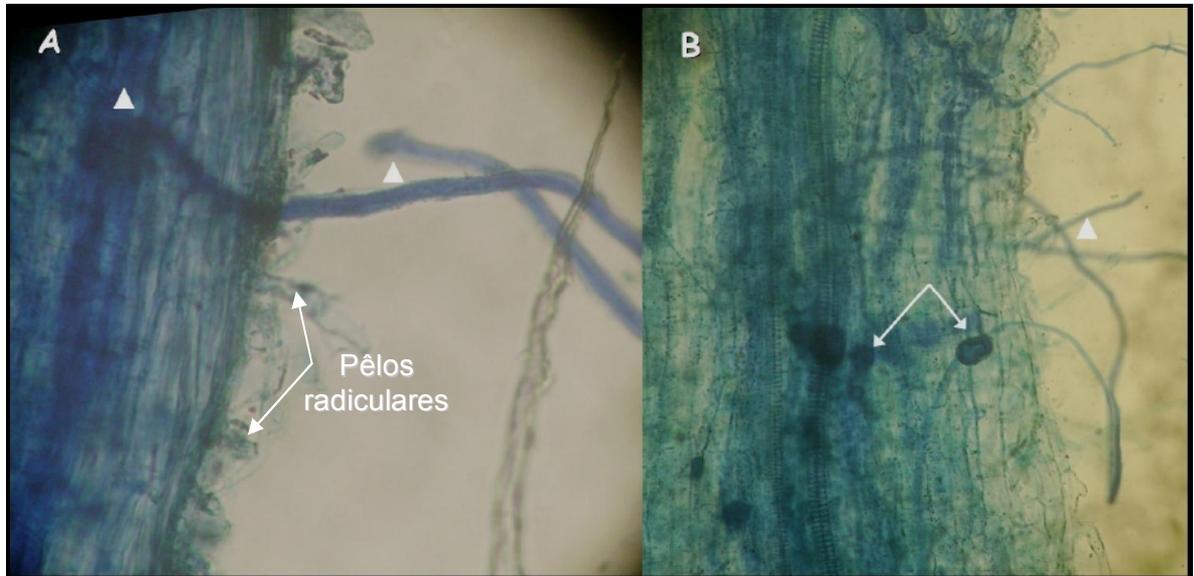


Figura 7. Segmento de raiz de mudas de mamoeiro da cultivar Golden aos 150 dias após a sementeira. Mostrando o aspecto microscópico da penetração e colonização do córtex por FMAs com a formação de hifas infectivas (Δ) no interior do tecido radicular, projetando-se além da zona de exploração das raízes. (A) Raízes inoculadas com *G. margarita*. (B) Hifas (Δ) e vesículas (\rightarrow) presentes em raízes inoculadas com *G. clarum*.

4.5. Contagem de bactérias diazotróficas através da técnica do Número Mais Provável (NMP)

Observou-se aumento significativo no número de bactérias, nos tratamentos inoculados com *S. maltophilia* e *Azospirillum* sp. em relação ao controle de plantas que não receberam a inoculação bacteriana (Figura 8). Os números de células g^{-1} de matéria fresca de raízes de mudas de mamoeiro obtidas para ambas as estirpes bacterianas avaliadas não diferiram significativamente entre si e não influenciaram o crescimento das plantas. Em adição, a dupla inoculação com bactérias diazotróficas e FMAs não resultou em aumento no conteúdo de N na parte aérea das plantas, apesar de estarem presentes nas raízes do mamoeiro. Resultados semelhantes em relação ao conteúdo de N foram encontrados por Tellechea (2007) em mudas de cana-de-açúcar.

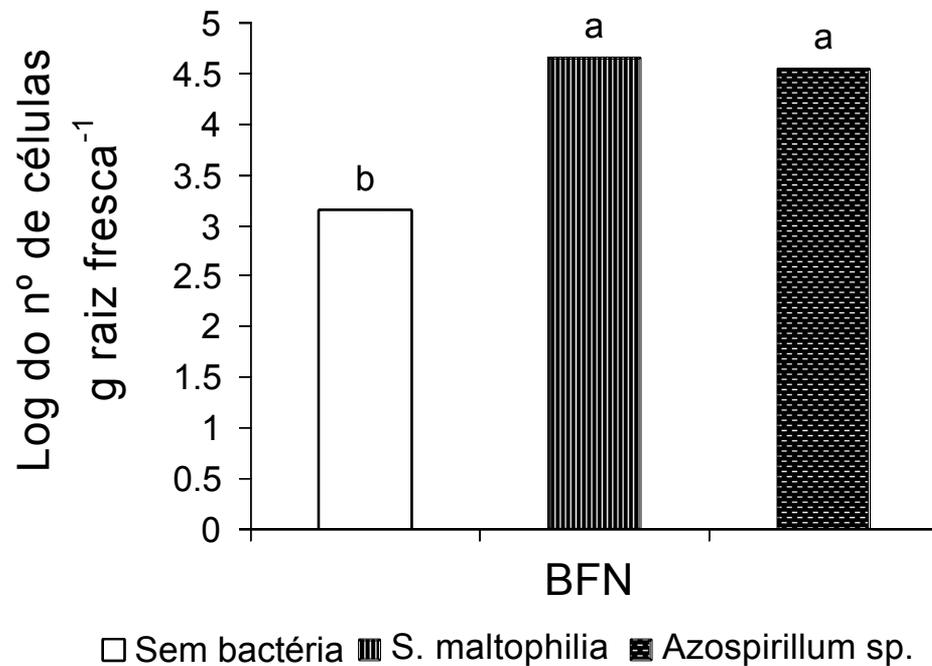


Figura 8. Contagem do número de bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) (expresso em log do número de células por grama de raiz fresca) em mudas de mamoeiro da cultivar Golden aos 150 dias após a semadura. Letras seguidas pela mesma letra diferem entre si com $p=0.05$. C.V.= 22,4%.

A aplicação conjunta de bactérias diazotróficas e FMAs, assim como as doses de P no solo, foram fatores que não influenciaram no estabelecimento das bactérias no tecido radicular das mudas em ambas as estirpes. Apesar de não ter sido observado neste trabalho, estudos demonstram que a colonização das bactérias diazotróficas pode ser estimulada por FMAs que influenciam o número populacional das bactérias. Miyauchi et al. (2008) observaram que *Glomus clarum* estimulou a colonização das raízes pelas bactérias diazotróficas em cinco genótipos de milho avaliados.

Nos tratamentos onde não houve a inoculação de bactérias, houve a presença de bactérias diazotróficas (Figura 8). A presença de bactérias diazotróficas já foi observada anteriormente em tratamentos controles, com mudas de bananeira (Weber et al., 2000) e abacaxizeiro (Weber et al., 2003), indicando que esse grupo de bactérias coloniza com certa facilidade as mudas. Tellechea (2007), avaliando a interação entre FMAs e bactérias diazotróficas em

mudas de cana-de-açúcar em substrato autoclavado também observou a presença de bactérias nos tratamentos não inoculados. Isso, provavelmente, está relacionado à contaminação natural dos tecidos por outros microrganismos diazotróficos capazes de sobreviver em ambientes como o solo, compondo a microbiota nativa (Conceição et al., 2009). Em adição, os meios utilizados pela técnica do NMP não são seletivos para as estirpes avaliadas neste trabalho, mas semi-seletivos, podendo detectar a presença de outros microrganismos diazotróficos. Isso foi observado por Canuto (2003) utilizando a bactéria diazotrófica endofítica *Herbaspirillum seropedicae* Z67.

Algumas pesquisas têm sido desenvolvidas para encontrar endófitos que poderiam aumentar significativamente a produção em diferentes culturas, após a sua inoculação. Entretanto, Martinez et al. (2003) apontam que um problema comum na análise de efeitos de inoculação de endófitos quanto à promoção de crescimento em plantas é a presença de bactérias nativas que subestimam o efeito da aplicação do inóculo. Segundo Rosenblueth e Romero (2006), a eliminação dos endófitos nativos para a obtenção de plantas ou sementes livres de bactérias é um grande desafio e a redundância funcional de endófitos nativos e do inóculo adicionado pode limitar os efeitos observados da inoculação.

Trabalhos demonstram que bactérias diazotróficas são capazes de colonizar os esporos de FMAs. Reis et al. (1999) observaram a ocorrência da bactéria diazotrófica endofítica *Acetobacter diazotrophicus* presente em amostras de raízes de cana-de-açúcar e nos esporos de FMAs nativos em plantios comerciais de cana-de-açúcar, inclusive de Campos dos Goytacazes-RJ. Dentre as espécies de FMAs predominantes, foi encontrada *G. margarita*, demonstrando a capacidade de associação deste FMA às bactérias diazotróficas em condições naturais nos solos desta região. Em cultura de batata-doce, Paula et al. (1991) observaram a presença de *Azospirillum lipoferum*, *Klebsiella* sp. e *A. diazotrophicus* dentro dos esporos de *Glomus clarum*. Da mesma forma, a espécie *Azospirillum brasilense* pode ter efeitos significantes na colonização micorrízica de *Gigaspora margarita* em raízes de milho (Frey-Klett et al., 2007; Rao et al., 1985). Graça et al. (1991) evidenciaram a eficiência de *G. margarita* associada à *Azospirillum brasilense*, resultando em melhores condições de crescimento e produção em solos de baixa fertilidade.

Embora não tenha sido observado benefício da interação entre FMAs e as bactérias diazotróficas no presente trabalho, estudos mostram a capacidade de *S. maltophilia* e *Azospirillum* em promover benefícios no desenvolvimento vegetal.

Importantes potencialidades biotecnológicas têm sido apontadas ao uso da espécie *S. maltophilia*, como o seu efeito de promoção de crescimento das plantas, produção de ácido-indol-3-acético (Park et al., 2005; Suckstorff e Berg, 2003) e sua habilidade de colonizar a rizosfera, atuando como bioherbicida inibindo a emergência e a produção de biomassa de plantas daninhas. Isto foi demonstrado por Mazzola et al. (1995), pela sua eficaz influência, juntamente com outras rizobactérias, no controle de plantas daninhas no cultivo de trigo.

Apesar disso, existem alguns relatos na literatura envolvendo a capacidade da bactéria diazotrófica *S. maltophilia* em atuar como patógeno oportunista humano (Garcia et al., 2002). Bactérias capazes de fixar nitrogênio atmosférico que eventualmente podem causar patologias foram demonstradas por Baldani et al. (1997). Levy et al. (2009) demonstraram que espécies patogênicas de bactérias diazotróficas do gênero *Burkholderia* podem se associar a esporos de FMAs no solo, incluindo espécies do gênero *Gigaspora*. Entretanto, estudos mais detalhados para esclarecer a complexidade dessas associações e identificar as propriedades que distinguem as espécies clínicas e ambientais ainda são necessários (Suckstorff e Berg, 2003).

Estudos demonstram a presença das bactérias diazotróficas *Azospirillum* sp. e *S. maltophilia* na superfície de sementes e no interior das folhas e raízes de arroz (*Oryza sativa*) (Mano et al. 2007; Mano e Morizaki, 2008). Boddey et al. (2007) através de microscopia óptica e eletrônica de varredura, demonstram a capacidade de *S. maltophilia* em colonizar tanto o interior quanto a superfície das raízes do mamoeiro das cultivares UENF Caliman 01 e Golden.

As associações entre bactérias diazotróficas e raízes de fruteiras, têm sido apontadas como uma alternativa sustentável e economicamente viável para a substituição parcial das adubações nitrogenadas, que, além de promover a eficiência no crescimento e acúmulo de matéria vegetal, podem aumentar a taxa de sobrevivência das mudas, reduzir o período de aclimatação (Weber et al., 2000; Weber et al., 2003), incrementar a produção de frutos (Weber et al., 2004a) e reduzir a incidência de doenças (Weber e Freitas, 2003). Entretanto, existem

relatos escassos sobre a contribuição de bactérias diazotróficas relacionadas à cultura do mamoeiro.

No presente trabalho as bactérias diazotróficas testadas não foram eficientes em promover o crescimento e acúmulo de nutrientes nas mudas de mamoeiro. Dessa forma, é necessário enfatizar a necessidade de novos estudos que envolvam a fixação biológica de nitrogênio à cultura do mamoeiro, buscando a descoberta de espécies promissoras quanto à nutrição e promoção de crescimento vegetal, de acordo com os genótipos avaliados.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

Foi conduzido um experimento em casa de vegetação com o objetivo de avaliar a interação dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e das bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN), na ausência e na presença de fósforo, em mudas de mamoeiro da cultivar Golden. O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados, em arranjo fatorial 4 x 3 x 2, sendo três tratamentos com fungos micorrízicos arbusculares: *Glomus clarum*, *Gigaspora margarita*, inóculo misto (*Glomus clarum* + *Gigaspora margarita*) e o controle sem FMAs; dois tratamentos com bactérias diazotróficas: *Stenotrophomonas maltophilia* e *Azospirillum* sp. TS 15 e o controle sem bactérias diazotróficas; e duas doses de fósforo, 0 e 25 mg dm⁻³. Os tratamentos foram dispostos em blocos casualizados, com quatro repetições e a unidade experimental foi composta por um vaso plástico de 4 dm³ com duas plantas, cultivadas em uma mistura de solo e areia, na proporção de 1:2 (v/v) esterilizada em autoclave 121°C. Aos 105 dias após a semeadura as plantas foram coletadas e avaliadas quanto à altura, área foliar total, ao diâmetro do caule, massas frescas da parte aérea e raiz, massas secas da parte aérea, raiz e total, conteúdo de N, P, K, Ca e Mg da parte área, porcentagem de colonização micorrízica e contagem do número de bactérias diazotróficas em amostras de raízes.

Diante dos resultados obtidos conclui-se que:

- Independente da presença da bactéria e do P no substrato, a inoculação com todos FMAs proporcionaram aumentos significativos no crescimento e nos conteúdos de N, P, K, Ca e Mg da parte aérea das mudas de mamoeiro.
- Na ausência de P no solo, os inóculos misto e *G. margarita* se destacaram como os mais promissores para o crescimento das mudas de mamoeiro.
- Não houve efeito estimulatório ou supressivo no crescimento das mudas com a inoculação de bactérias diazotróficas na ausência ou na presença de FMAs.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akiyama, H. Matsuzaki, K., Hayashi, H. (2005) Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, v. 435, p. 824-827.
- AMF-Taxonomy e Phylogeny. Glomeromycota phylogeny; Glomeromycota taxonomy. Disponível em: [http:// www.AMF-phylogeny.com](http://www.AMF-phylogeny.com). Acesso em: 08 de dezembro de 2009.
- Anjos, E.C.T. dos, Cavalcante, U.M.T., Santos, V.F., Maia, L.C. (2005) Produção de mudas de maracujazeiro doce micorrizadas em solo desinfestado e adubado com fósforo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 40:345-351.
- Artursson, V.; Finlay, R. D.; Jansson, J. K. (2006) Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental Microbiology*, v.8, p.1-10.
- Bacon, C.W.; White, J.F. (2000) *Microbial Endophytes*. CRC Press, 2000, ISBN 0824788311, p. 487.
- Badillo, V. M. (2000) *Carica L. vs. Vasconcella St. Hil. (Caricaceae): con la rehabilitación de este último*. *Ernstia*, 10:74-79.

- Baldani, V. L. D., Reis, V. M.; Baldani, J. I.; Kimura, O.; Döbereiner, J. (1997). Bactérias fitopatogênicas fixadoras de N₂ em associação com plantas, p. 25. Embrapa-CNPAB, Seropédica, p. 25.
- Balota, E.L.; Lopes, E.S.; Hungria, M.; Döbereiner, J. (1997) Inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares na cultura da mandioca. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 32, p. 627-639.
- Balota, E.L.; Lopes, E.S.; Hungria, M.; Döbereiner, J. (1999), Ocorrência de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares na cultura da mandioca. Pesquisa Agropecuária Brasileira. v. 34, n. 7, p. 1265-1276.
- Bandara, W.M.M.S.; Seneviratne, G.; Kulasoorya, S.A. (2006) Interactions among endophytic bacteria and fungi: effects and potentials. Journal of Biosciences, v. 31, p.645-650.
- Barea, J.M.; Pozo, M.J.; Azcón, R.; Azcón-Aguilar, C. (2005) Microbial cooperation in the rhizosphere. Journal of Experimental Botany, v.56, p.1761-1778.
- Becker, W. N. and Hall, I. R. (1976) *Gigaspora margarita*, a new species in the Endogonaceae. Mycotaxon 4:155-160.
- Bhowmik, S. N.; Singh, C. S. (2004) Mass multiplication of AM inoculum; effect of plant growth-promoting rhizobacteria and yeast in rapid culturing of *Glomus mosseae*. Current Science, v.86, p.705-709
- Bianciotto, V., Genre, A., Jargeat, P., Lumini, E., Becard, G. and Bonfante, P. (2004) Vertical transmission of endobacteria in the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* through generation of vegetative spores. Environmental Microbiology, v. 70, p. 3600-3608.
- Boddey, L.H.; Barreto, L.K.; Andrade, V.S.; Gomes, R.A.; Olivares, F.L. (2007) Avaliação da colonização de bactérias diazotróficas e seus efeitos na

promoção de crescimento na cultura do mamoeiro (*Carica papaya* L.). Boletim Técnico da II Reunião de Pesquisa do Frutimamão. Campos dos Goytacazes, RJ, p. 50-52.

Bonfante P., Anca, I. A. (2009) Plants, Mycorrhizal Fungi, and Bacteria: A Network of Interactions. Annual Reviews of Microbiol. 2009. v. 63, p.363-383.

Bonfantes-Fasolo, P., Perotto, (1991) S. Strategies of micorrhizal fungi when infecting host plants. New Phytologist, New York, 119:115-120.

Bonfantes-Fasolo, P., Perotto (1992) S., Plant and endomycorrhizal fungi: the cellular and molecular basis of their interaction. In: Verma, D.P.S.(Ed) Molecular signals in plant-microbe communication. Boca Raton,FL: CRC Press, chap, 14:445-470.

Borges, A. L. (2003) Cultivo Orgânico de fruteiras tropicais- manejo do solo e da cultura. Embrapa circular técnica. p.12.

Burleigh S. H., Cavagnaro T. R., Jakobsen I. (2002) Functional diversity of arbuscular mycorrhizas extends to the expression of plant genes involved in P nutrition. Journal Experimental Botany, v. 53, p. 1-9.

Canuto, E.L. Seleção de bactérias diazotróficas endofíticas para uso com insumo biológico em plantas de cana-de-açúcar oriundas de sementes. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, p.72.

Carneiro, R. F. V., Martins, M.M., Freitas, M. S. M., Detmann, E., Vazquez, H.M. (2007) Inoculação micorrízica arbuscular e doses de fósforo na produção do capim-andropogon, em substrato não estéril. Revista Brasileira de Ciências Agrárias. v.2, n.3, p.212-218.

Cavalcante, U.M.T., Maia, L.C., Costa, C.M.C., Santos, V.F. (2001) Mycorrhizal - dependency of passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). Fruit, 56:317-324.

- Cavalcante, U.M.T., Maia, L.C., Costa, C.M.C., Cavalcante, A.T., Santos, V.F. (2002) Efeito de fungos micorrízicos arbusculares, da adubação fosfatada e da esterilização do solo no crescimento de mudas de maracujazeiro amarelo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 26:1099-1106.
- Chaves, J.C.M.; Cavalcanti Junior, A.T.; Correia, D.; Souza, F.X. de; Araújo, C.A.T. (2000) Normas de produção de mudas. Documentos Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, n. 41, p. 37.
- Chu, E.Y.; Möller, M.R.F.; Carvalho, J.G. (2001) Efeitos da inoculação micorrízica em mudas de gravioleira em solo fumigado e não fumigado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.36, n.4, p.671- 680.
- Collozi Filho, A.; Carvalho, S.L.C. Efeito de micorrizas arbusculares na produção do maracujazeiro a campo. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 24., 1993, Goiânia. Resumos. Goiânia: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1993. p. 287-288.
- Conceição, P. M.da; Vieira,H. D; Canellas, L.P.; Olivares, F. L; Conceição, P. S. da (2009) *Ciência Rural*, v.39, n.6., p.1880-1883.
- Coelho, E. F.; Oliveira, A. M. de. (2003) Fertirrigação do mamoeiro. In: Martins, D. dos S.; (ed.) *Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno*. Vitória: Incaper, p.237-250.
- Coelho, E. F.; Silva, J. G. F. da.; Souza, L. F. de. (2000) Irrigação e fertirrigação. In: Trindade, A.V. (Org.). *Mamão. produção aspectos técnicos*. Frutas do Brasil, v.3, Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, p.37-42.
- Costa, A. N; Costa, A. F. S.; (2003a) Nutrição e adubação. In: Martins, D. dos S.; Costa, A. de F.S.da. (eds.). *A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção*.Vitória: Incaper, p.201-227.

- Costa, A. F. S.; Costa, A. N.; Santos, F. A. M.; Barreto, F. C.; Zuffo, V. J. (2003b) Plantio, formação e manejo da cultura. In: Martins, D. S.; Costa, A. F. S. (Ed.). A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção. Vitória: Incaper, p. 127-159.
- Costa, A. N.; Costa, A. F. S.; (2007) Diagnóstico e recomendação em adubação para o mamoeiro. Papaya Brasil: manejo, qualidade e mercado mundial, Incaper. Vitória, ES, p. 15-26.
- Costa, C.M.C., Maia, L.C., Cavalcante, U.M.T. (2001) Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de dois genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). Pesquisa agropecuária brasileira, 36:893-901.
- Cruz, J.L.; Coelho, E.F.C.; Pelacani, C.R.; Filho, M.A.C.F. (2004). Crescimento e partição de massa seca e de carbono no mamoeiro em resposta à nutrição nitrogenada.
- Cruz, J. L.; Pelacani, C. R.; Carvalho, J. E. B.; Filho, L. F. S. S.; Queiroz, D. C.; Dias, A. T.; Santos, M. T. (2007) Níveis de nitrogênio e a taxa fotossintética do mamoeiro "golden". Ciência Rural, Santa Maria, v.37, n.1, p. 64-71.
- Dantas, J.L.L.; Castro Neto, M.T. (2000) Aspectos botânicos e fisiológicos. In: Trindade, A.V. Mamão. Produção: aspectos técnicos. Frutas do Brasil 3, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Mandioca e Fruticultura cap. 3. p.11-14.
- Dantas, J.L.L.; Junghans, D.T.; Lima, J.F.; (2003) Mamão: O produtor pergunta, a Embrapa responde. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília, DF, p.151.
- Dantas, J.L.L. (2000) Cultivares. In: Trindade, A.V. Mamão Produção: aspectos técnicos. Frutas do Brasil 3, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Mandioca e Fruticultura cap. 3. p.15.

- Döbereiner, J.; Baldani, V. L. D.; Baldani, J. I. (1995) Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas. Embrapa Agrobiologia. Seropédica, p. 66.
- Fageria, V.D. (2001) Nutrient interactions in crop plants. *Journal of Plant Nutrition*, New York, v.24, n.8, p.1269-1290.
- FAO. Papaya production and harvested area. Disponível em: <http://faostat.fao.org/>. Acesso em: 24 de janeiro de 2009.
- Fernandes, M.S. (2006) *Nutrição Mineral de Plantas*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Viçosa, MG. 432p.
- Fernandes, D. M.; Corrêa, L. de; S.; Fernandes, F. M. (1990) Efeito da adubação nitrogenada e fosfatada em mamoeiro (*Carica papaya* L.) "Solo" cultivado com irrigação. *Científica*, v.18, n.1, p.1-8.
- Finlay, R. D. (2008) Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of Experimental Botany*, v. 59, n. 5, p. 1115-1126.
- Frey-Klett, P.; Garbaye, J.; Tarkka M. (2007). The mycorrhiza helper bactéria revisited. *New Phytologist*, v. 176, p. 22-36.
- Garrido Javot, H., Pumplin, N., Harrison, M.J. (2007) Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: transport properties and regulatory roles. *Plant Cell Environ.* v. 30, p. 310-22.
- Genre, A.; Bonfante, P. (2002) Epidermal cells of a symbiosis defective mutant of *Lotus japonicus* show altered cytoskeleton organization in the presence of a mycorrhizal fungus. *Protoplasma*, v. 219, p. 43-50.

- George E, Marschner H, Jakobsen I (1995) Role of arbuscular mycorrhizal fungi in uptake of phosphorus and nitrogen from soil. *Crit Rev Biotechnol* 15, p. 257-270.
- Giovannetti, M; Mosse, B (1980) An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, v.84, p.489-500.
- Gomes, M.A.F.; Souza, D, M.; Boeira, R.C.; Toledo, L.G. de. (2000) Nutrientes vegetais no meio ambiente: ciclos bioquímicos, fertilizantes e corretivos. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, Documentos 18, p.50.
- Govindarajulu, M; Pfeffer, P.E.; Jin, H.; Abubaker, J.; Douds, D.D; Allen, J.W.; Bücking, H.; Lammers, P.J.; Shachar-Hill, Y. (2005) Nitrogen Transfer in the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *Nature Magazine*. 435. p. 819-823.
- Graça, J.; Machado, J.O.; Ruggiero, C.; ANDRIOLI, J.L. (1991) Eficiência de fungos endomicorrízicos e da bactéria *Azospirillum brasilense* sobre o desenvolvimento de mudas do maracujá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.13, p.125-130.
- Grace, C; Stribley, DP (1991) A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Res.*, 95:1160-1162.
- Grant, C. A.; Flaten, D. N.; Tomasiewicz, Sheppard, S. C. (2001) A importância do fósforo no desenvolvimento inicial da planta. *Informações Agronômicas*. Nº 95, 16p.
- Gupta, M.L., Prasad A., Ram, M., Kumar, S. (2002) Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Bioresource Technology*, v.81, p. 77-79.

- Harrison, M. J. (2005) Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual Review of Microbiology*, v. 59, p. 9-42.
- Hilderbrandt, Hildebrandt U., Janetta K., Bothe H. (2002) Towards growth of arbuscular mycorrhizal fungi independent of a plant host. *Appl Environ Microbiol* v. 68, p. 1919-1924.
- Hildebrandt, U., Ouziad, F., Marner, F.J., Bothe, H., (2006) The bacterium *Paenibacillus validus* stimulates growth of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* up to the formation of fertile spores. *FEMS Microbiology Letters*, v. 254, p. 258–267.
- IBGE. Produção agrícola municipal: quantidade e valor da produção, área plantada e colhida. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 14 de dezembro de 2007.
- IBRAF (Instituto Brasileiro de Frutas). Disponível em: <http://www.ibraf.com.br>. Acesso em: 09 de junho de 2008.
- INVAM (International Culture Collection of Vesicular and Arbuscular Mycorrhizal Fungi). Species Description. Morgantown, West Virginia Agriculture and Forestry Experimental Station. Disponível em: <http://invam.caf.wvu.edu>. Acesso em: 27 de fevereiro de 2009.
- Jackson, M.L. (1965) *Soil chemical analysis*. New Jersey: Prentice Hall. 489p.
- Jacomino, A. P.; Bron, L. U.; Kluge, R. A. (2003) Avanços em tecnologia pós-colheita de mamão. In: Martins, D. S. *Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno*. Vitória, ES: INCAPER. p. 283-293.
- Javot, H., Pumplin, N., Harrison, M. J. (2007) Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: transport properties and regulatory roles. *Plant, Cell and Environment* v. 30, p. 310–322

- Kahneh, E., RamezanPour, H., RamezanPour, M.R. Haghparast, M. R.; Shirinfekr, A. (2006) Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Phosphorus Supplement on Leaf P, Zn, Cu and Fe Concentrations of Tea Seedlings. *Caspian J. Env. Sci.*, v.4, n.1, 53-58.
- Kiriachek, S. G. ; Azevedo, L. C. B. de ; Peres, L. E. P. ; Lambais, M. R. (2009) Regulação do desenvolvimento de micorrizas arbusculares. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 33, p. 1-16.
- Kirkby, E. A., Römheld, V. (2007) Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade. Versão em português do boletim *Micronutrients in plant physiology: functions, uptake and mability*. Trad. Ferreira, S. O., The International Fertiliser Society, P. O. Box 4, York, YO32 5 YS, Reino Unido.
- Khachatourians, G.G.; Arora, D.K.; (2002) *Applied Mycology and Biotechnology*, volume 2. Agriculture and Food Production. Elsevier Science B.V. p. 341.
- Khade, S. W.; Bernard Rodrigues, F. B. F. (2009) Studies on Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Mineral Nutrition of *Carica papaya* *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, v. 37, p. 183-186.
- Kumaran, S.; Azizah, H. C. (1995) Influence of biological soil conditioner on mycorrhizal versus non – mycorrhizal guava seedlings. *Tropical Agriculture*, St Augustine, v.72, n. 1, p. 39-43.
- Larsen, J.; Cornejo, P.; Barea, M. J. (2009) Interactions between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and the plant growth promoting rhizobacteria *Paenibacillus polymyxa* and *P. macerans* in the mycorrhizosphere of *Cucumis sativus*. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 41, p. 286-292.

- Leal, P.L.; Martins, M.A.; Rodrigues, L. A.; Schiavo, J. A. (2005) Crescimento de mudas micropropagadas de bananeira micorrizadas em diferentes recipientes. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 27:84-87.
- Levy, A.; Mayo, M.J.; Chang, B. J.; Abbott, L. K.; Inglis, T. J. J. (2009) Association between *Burkholderia* species and arbuscular mycorrhizal fungus spores in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 41, n. 8, p. 1757-1759.
- Li, C.Y.; Strzelczyk, E. (2000) Belowground microbial process underpin forest productivity. *Phyton*, v.40, p.129-134.
- Lima, J. F. Peixoto. C. P.; Ledo, C. A da S. (2007) Índices fisiológicos e crescimento inicial de mamoeiro (*Carica papaya* L.) em casa de vegetação. *Ciência e agrotecnologia*. Lavras, v. 31, n. 5, p. 1358- 1363.
- Lima, I. M.; Martins, D. S., Fontes, J. R. M.; Ferregueti, G. A. (2005) Produtividade e classificação de frutos do mamão cv. Golden plantado no período de inverno na região noroeste do Estado do Espírito Santo. *Papaya Brasil*, p. 322-326.
- Lins, G.M. de L., Trindade, A.V., Rocha, H.S. (2003) Utilização de *Gigaspora margarita* em plantas micropropagadas de bananeira em diferentes estádios de enraizamento. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 25 (1)
- Long, L.; Zhu, H.; Yao, Q.; Ai, Y. (2008) Analysis of bacterial communities associated with spores of *Gigaspora margarita* and *Gigaspora rosea*. *Plant Soil*, v. 310, p. 1-9.
- Malavolta, E.; Vitti, G.C.; Oliveira, S.A. (1989) Avaliação do estado nutricional das plantas. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, Piracicaba, 201p.
- Malavolta, E.; Vitti, G. C.; Oliveira, S. A. (1997) Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: Potafos. p. 309.

- Mano, H.; H. Morisaki. (2008) Endophytic bacteria in the rice plant. *Microbes Environ.* v. 23, p.109-117.
- Mano, H.; Tanaka, F.; Nakamura, C.; Kaga, H.; Morisaki, H. (2007) Culturable endophytic bacterial flora of the maturing leaves and roots of rice plants (*Oryza sativa*) cultivated in a paddy field. *Microbes Environ.* v. 22, p.175-185.
- Marin, S. L. D.; Gomes, J. A.; Salgado, J. S.; Martins, D. S.; Fullin, E. A (1995) Recomendações para a cultura do mamoeiro dos grupos Solo e Formosa no Estado do Espírito Santo. 4 ed., Vitória: EMBRAPA Circular técnica, 57.
- Marinho, C. S.; Oliveira, M. A. B. de; Monnerat, P. H.; Vianni, R.; Maldonado, J. F. (2001) Fontes e doses de nitrogênio e a qualidade dos frutos do mamoeiro. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, v.58, n.2, p. 345-348.
- Marschner, H.; Dell, B. (1994) Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 159, n. 1, p. 89-102.
- Martins, M. A.; Gonçalves, G. F.; Soares, A. C. F. (2000) Efeito de fungos micorrízicos arbusculares associados a compostos fenólicos, no crescimento de mudas de mamoeiro. *Pesquisa agropecuária brasileira*. v. 35, n. 7, p. 1465-1471.
- Martinez, L.; Mellado, C.; Orozco, J.; Romero, E. M. (2003) Diazotrophic bacteria associated with banana (*Musa spp.*). *Plant and Soil*, v. 257, p. 35-47.
- Mazzola, M.; Stahlman, P.W.; Leach, J.E. (1995). Application method affects the distribution and efficacy of rhizobacteria suppressive of Downy Brome (*Bromus tectorum*). *Soil Biology & Biochemistry*, v.27, p. 1271-1278.
- Medeiros, E. V.; Carvalho Neto, R. A.; Mendonça, V.; Jesus, D. D.; Melo, J. K. H.; Araújo, F. A. R. de (2009) Superfosfato triplo e substrato alternativo na

produção de mudas de mamoeiro. Bioscience Journal, Uberlândia, v. 25, n. 2, p. 55-62.

- Melo, A. S. de; Costa, Camila X.; Brito, M. E. B.; Viégas, P. R. A.; Silva, J. C. D. (2007) Produção de mudas de mamoeiro em diferentes substratos e doses de fósforo. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v. 2, n. 4, p.257-261.
- Mendonça, V.; Araújo Neto, S. E. de; Ramos, J. D.; Pio, R.; Gontijo, T. C. A. (2003) Diferentes substratos e recipientes na formação de mudas de mamoeiro 'Sunrise Solo'. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal-SP, v.25, n.1, p.127-130.
- Mendonça, V.; Abreu, N. A. A. de; Gurgel, R. L. da S.; Ferreira, E. A.; Orbes, M. Y.; Tosta, M. da S. (2006) Doses de nitrogênio e superfosfato simples no crescimento de mudas de mamoeiro 'Formosa'. Revista Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 30, n.6, p. 1065-1070.
- Mendonça, V.; Ramos, J. D.; Abreu, N. A. A. de; Teixeira, G. A.; Souza, H. A. de; Gurgel, R. L. da S.; Orbes, M. Y. (2009) Adubação nitrogenada em cobertura e substratos na produção de mudas de mamoeiro 'Formosa'. Revista Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 33, n. 3, p. 668-675.
- Michereff, S.J.; Barros, R. (2001) Proteção de plantas na agricultura sustentável. Recife: Imprensa Universitária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, p. 368.
- Minhoni, M. T. A.; Auler, P. A. M. (2003) Efeito do fósforo, fumigação do substrato e fungo micorrízico arbuscular sobre o crescimento de plantas de mamoeiro. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, v.27, n.5, p. 841-847.
- Miyauchi, M.Y.H.; Lima, D.S.; Nogueira, M.A.; Lovato, G.M.; Murate, L.S.; Cruz, M.F.; Ferreira, J.M.; Zangaro, W.; Andrade, G. (2008) Interactions between diazotrophic bacteria and mycorrhizal fungus in maize genotypes. Scientia

Agricola. (Piracicaba, Brasil), v. 65, n. 5, p. 525-531.

- Moreira, F.M.S.; Siqueira, J.O.; Brussaard, L. (2008) Biodiversidade do Solo em Ecossistemas Brasileiros . Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. p. 768.
- Morton J. B.; Benny G. L. (1990) Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. Mycotaxon New York. v. 37, p. 471-491.
- Negreiros, J. R. da S.; Braga, L. R.; Álvares, V. de S.; Bruckner, C. H. (2005) Diferentes substratos na formação de mudas de mamoeiro do grupo solo. Nota técnica: Revista Brasileira de Agrociência, v.11, n. 1, p. 101-103.
- Nicolson, T. H.; N. C. Schenck. (1979). Endogonaceous mycorrhizal endophytes in Florida. Mycologia 71: 178-198.
- Oliveira, A. M. G. (2002) Fertirrigação em fruteiras tropicais, Cruz das Almas-BA, Embrapa Mandioca e Fruticultura, p.114-121.
- Oliveira, A.L.M.; Urquiaga, S.; Döbereiner, J.; Baldani, J.I. (2002) The effect of inoculating endophytic N₂-fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. Plant and Soil, v.242, p.205-215.
- Oliveira, A.M.G.; Oliveira, J.R.P.; Coelho, E.F.; Dantas, J.L.L. (2000) Problemas de causa abiótica. Mamão. Fitossanidade.. Frutas do Brasil 3, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Mandioca e Fruticultura, v. 3, p. 60-64.
- Oliveira, A. M. G.; Souza, L. F. S. S.; Raij, B. V.; Magalhães, A. F. J.; Bernardi, A.C.C. (2004) Nutrição, calagem e adubação do mamoeiro irrigado. Embrapa Circular Técnica, v. 69, p.1-5.

- Park, M., Kima, C., Yanga, J., Lee, H., Shina, W., Kimb, S., Saa, T. (2005) Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. v. 160, p. 127-133.
- Paula, M. A.; Reis, V. M.; Döbereiner, J. (1991) Interactions of *Glomus clarum* with *A. diazotrophicus* in infection of sweet potato, sugar cane, sweet sorghum. *Biology and Fertility of Soils*, v.11, p. 111-115.
- Paula, M. A.; Urquaia, S.; Siqueiras, J. O., Döbereiner, J. (1992) Synergistic effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and diazotrophic bacterias on nutrition and grown of sweet potato. *Biology and fertility of soils*, v.14, p. 61-66.
- Raimam, M. P.; Albino, U.; Cruz, M. F.; Lovato, G. M.; Spago, F.; Ferracin, T. P.; Lima D. S.; Goulart, T.; Bernardi, C. M.; Miyauchi, M.; Nogueira, M. A.; Andrade, G. (2007) Interaction among free-living N-fixing bacteria isolated from *Drosera villosa* var. *villosa* and AM fungi (*Glomus clarum*) in rice (*Oryza sativa*). *Applied Soil Ecology*, v. 35, p. 25-34.
- Rao N. S. S, Tilak K. V. B. R, Singh C.S. (1985). Effect of combined inoculation of *Azospirillum brasilense* and vesicular-arbuscular mycorrhiza on pearl millet (*Pennisetum americanum*). *Plant and Soil*, v. 84, p. 283–286.
- Reinhardt, D. (2007) Programming good relations-development of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Biology*, v. 10, p. 98-105.
- Reis V. M, De Paula M. A., Döbereiner J. (1999) Ocorrência de micorrizas arbusculares e da bactéria diazotrófica *Acetobacter diazotrophicus* em cana de açúcar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília. v. 34, n. 10, p. 1933-1941.
- Repinaldo Filho, F. P. M. R.; Silva, Mariela M. da; Silva, D. M. (2008) Crescimento inicial e produção de biomassa do mamoeiro em casa de vegetação sob

diferentes concentrações de N, P, K e Ca. Anais do XX Congresso Brasileiro de Fruticultura 54th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture. Vitória/ES.

Richardson, A.E.; Barea, J.-M.; Mcneill, A.M.; Prigent-Combaret, C. (2009) Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil*, v.321, p.305-339.

Ritzinger, C. H. S. P; Souza, J. S. (2000) Mamão: Fitossanidade. Cruz das Almas: Embrapa, p. 91.

Rosenblueth, M.; Romero, E. M. (2006) Review: Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Molecular Plant–Microbe Interaction*, v. 19, n. 8, p. 827-837.

Sala, V. M. R.; Freitas, S. S.; Silveira, A. P. D. (2007) Interação de fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas em trigo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.42, p. 1593-1600.

Samarão, S.S. (1998) Influência de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de bananeira (*Musa spp.*) e goiabeira (*Psidium guajava L.*). Dissertação de mestrado. Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, p. 61.

Schiavo, J.A.; Martins, M.:A. Produção de mudas de goiabeira (*Psidium guajava L.*), inoculadas com o fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum*, em substrato agroindustrial. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 24, p. 519-523, 2002.

Schubler, A.; Schwarzott, D.; Walker, L. A. (2001) A New Fungal Phylum, the Glomeromycota: Phylogeny and Evolution. *Mycological Research*, n. 105 v. 12, p.1413-1421.

- Silva, M. A. da, Cavalcante, U.W.T., Silva, F.S.B. da, Soares, A.A.G., Maia, F.S.B. (2004) Crescimento de mudas de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis) associadas a fungos micorrízicos arbusculares (Glomeromycota). *Acta Bot. Bras.* v.18, n.4, p. 981-985.
- Silva, D.K.A.; Silva, F.S.B.; Yano-Melo, A.M.; Maia, L.C. (2008) Uso de vermicomposto favorece o crescimento de mudas de gravioleira (*Annona muricata* L. 'Morada') associadas a fungos micorrízicos arbusculares. *Acta Acta Botanica Brasília*, v. 22, n. 3, p. 863-869.
- Silveira, A. P. D. Micorrizas In: Cardoso, E. J. P. N.; Neves. M. C. P. (1992) (Ed). *Microbiologia de solo*. Campinas-SP; Sociedade Brasileira de ciência do solo, cap. 19. p. 257-282.
- Silveira, A. P. D.; Silva, L. R. S, Azevedo, I. C., Oliveira, E. O., Meletti, L. M. M. (2003) Desempenho de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo, em diferentes substratos. *Bragantia*. 2003, v. 62, n. 1, p. 89-99.
- Simão, S. (1998) *Tratado de fruticultura*. Fealq, Piracicaba, SP, p. 541-543.
- Siqueira J.O.; Franco, A.A (1988) *Biotecnologia do Solo: Fundamentos e perspectivas*. Brasília: MEC/ABEAS/Lavras: ESAL/FAEPE, 236p.
- Smith, G. S., Gianinazzi-Pearson, (1988) Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Stanford, 32(1):393-409.
- Smith, S. E.; Smith, F. A.; Jakobsen, I. (2004) Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. *New Phytologist* , v. 162, p. 511-524.

- Smith, S. E., Read, D. J (1997) Mycorrhizal symbiosis. 2. ed. San Diego, Academic Press, p. 605.
- Smith, S.E.; Read, D. (2008) Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, 3ª Edição, p. 80.
- Smith, A. F., Grace, E. J., Smith, E. S. (2009) More than a carbon economy: nutrient trade and ecological sustainability in facultative arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*, v.182, p. 347-358.
- Soares, S. A. G.; Mariano, R. L. R.; Cavalcante, U. M. T.; Maia, L. C. (2009) Efeito de bactérias na germinação de fungos micorrízicos arbusculares e co-inoculação em mudas de abacaxizeiro. *Revista Caatinga*, Mossoró, v.22, n.2, p.31-38.
- Soares, N. B. (2000) Mamão Carica papaya L. In: FAHL, J. I.; Camargo, M. B. P.; Plizzinatto, M. A.; Betti, J. A.; Melo, A. M. T. de; Maria, I. C. de; Furlani, A. M. C. (Eds.). *Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas*. Campinas: IAC, 1998. p. 137-138. (Boletim).
- Solaiman MD, Saito M (1997) Use of sugars by intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by radiorespirometry. *New Phytol* 136, p. 533-538.
- Souza Filho, L. F.da S. S.; Cruz, J. L.; Souza, F. da S.; Caldas, R. C.; Magalhães, A.F. de Jesus; Concição, H.; Souza, J.S. (2006). Eficiência de um flogopitito como fonte de potássio para o desenvolvimento inicial do mamoeiro. *Espaço & Geografia*, v. 9, n. 2 p. 215-229.
- Souza, L. F. S.; Trindade, A. V.; Oliveira, A. M. G. (2000) Calagem, exigências nutricionais e adubação. In: Trindade, A.V. Mamão. Produção: Aspectos técnicos. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, p. 26-34.

- Sylvia, D.M. (1999) Fundamentals and applications of arbuscular mycorrhizae: A 'biofertilizer' perspective. In Soil Fertility, Biology, and Plant Nutrition Interrelationships. J.O. Siqueira et al. (eds.). Viçosa: SBCS, Lavras: UFLA/DCS. p. 705-723.
- Takahashi, D. (2005) Análise de sequências expressas em raízes de cana-de-açúcar colonizadas por *Glomus clarum*. Tese de Doutorado, Piracicaba – SP, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, p.117.
- Tellechea, F. R. F. (2007) Fungos micorrízicos, bactérias diazotróficas endofíticas e fósforo no crescimento e acúmulo de nutrientes em mudas de cana-de-açúcar. Tese (Mestrado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, p. 53.
- Toljander J. F.; Artursson V.; Paul L. R.; Jansson J. K.; Finlay R. D. (2006) Attachment of different soil bacteria to arbuscular mycorrhizal fungi is determined by hyphal vitality and fungal species. *FEMS Microbiology Letters*, v. 254, p. 34-40.
- Trappe, J.M. (1987) *Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants. Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint* - Florida: CRC Press.
- Treseder, K.K.; Allen, M.F. (2000) Mycorrhizal fungi have a potencial role in soil carbon storage under elevated CO and nitrogen deposition. *New Phytology* 147, 189-200.
- Trindade, A. V.; Faria, N. G.; Almeida, F. P. (2000) Uso de esterco no desenvolvimento de mudas de mamoeiro colonizados com fungos micorrízicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.35, n.7, p.1389-1394.

- Trindade, A. V.; Oliveira, J. R. P. (2000) Propagação e Formação do Pomar. In: Mamão produção: aspectos técnicos. Frutas do Brasil. Brasília: Embrapa, v. 3, p. 77.
- Trindade, A. V.; Dantas, J. L. L.; Almeida, F.P.; Maia, I. C. S. (2001a) Estimativa do coeficiente de determinação genotípica em mamoeiros (*Carica papaya* L.) inoculados com fungo micorrízico arbuscular. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 23., n.3, p. 607-612.
- Trindade, A.V.; Lins, G.M.L.; Maia, I. C. S. (2003a) Substratos e fungo micorrízico arbuscular em mudas micropropagadas de bananeira na fase de aclimação. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal - SP, v. 25, n. 1, p. 137-142.
- Trindade, A.V; Salgueiro, J. L. L. ; Santos, T. M. C. dos. (2003b) Crescimento e produtividade do mamoeiro a partir de mudas micorrizadas, sob diferentes esquemas de adubação. *Papaya Brasil*. Vitória, Incaper, p. 454-457.
- Trindade, A. V. Siqueira, J. O.; Almeida, F. P. (2001b) Dependência micorrízica de variedades comerciais de mamoeiro. *Pesquisa agropecuária brasileira*, v. 36, n. 12, p. 1485-1494.
- Trindade, A. V.; Siqueira, J. O.; Almeida, F.P. (2000) Eficiência simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares em solo não fumigado, para mamoeiro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.24, p. 505-513.
- Vance, C. P., Stone, C.U., Allan, D.L. (2003) Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist* , v. 157, p. 423-447.
- Van Droogenbroeck, B.; Breyne, P.; Gotghebeur, P.; Romeijn-Peeters, E.; Kyndt, T.; Gheysen, G. A.F.L.P. (2002) Analysis of genetic relationships among papaya and its wild relatives (*Caricaceae*) from Ecuador. *Theoretical and Applied Genetics*, v.105, p.289-297.

- Van Droogenbroeck, B.; Kyndt, T.; Maertens, I.; Romeijn-Peeters, E.; ScheldemaN, X.; Romero-Motochi, J.; Van Damme, P.; Goetghebeur, P.; Gheysen, G. (2004) Phylogenetic analysis of the highland papayas (*Vasconcellea*) and allied genera (*Caricaceae*) using PCR-RFLP. *Theoretical and Applied Genetics*, v.108, p.1473-1486.
- Vazquez, M. M.; César, S.; Azcón R.; Barea, J. M. (2000) Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants. *Applied Soil Ecology*, v.15, p.261-272.
- Vichiato, M.; Vichiato, M. R. de M.; Castro, D. M. de; Júnior, W. M.; Lima, C. D. F.; Carvalho, J. G. de (2007) Silício e Fósforo no desenvolvimento e anatomia foliar de mudas do mamoeiro 'Improved Sunrise Solo 72/12'. *Papaya Brasil*, p. 397-400.
- Vichiato, M.; Carvalho, J. G. de; Vichiato, M. R. de M.; Silva, C. R. de R. (2009) Interações fósforo-magnésio em mudas de mamoeiros Tainung nº. 1 e Improved Sunrise Solo 72/12. *Revista Ciência e Agrotecnologia*, v.33, n.5, p. 1265-1271.
- Weber, O. B.; Baldani, J. I.; Döbereiner, J. (2000) Bactérias diazotróficas em mudas de bananeira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 35, n. 11, p. 2277-2285.
- Weber, O. B.; Correia, D.; Silveira, M. R. S. da; Crisóstomo, L. A.; Oliveira, E. M. de; Sá, E. G. (2003) Efeito de bactéria diazotrófica em mudas micropropagadas de abacaxizeiros Cayenne Champac em diferentes substratos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 38, n. 6, p. 689-696.

- Weber, O.B.; Freire, F. das C.O. (2003) Contribuição de bactérias diazotróficas na cultura da bananeira: perspectivas de utilização na produção integrada. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n. 16, 29p.
- Weber, O.B.; Terao, D.; Rocha, L.S.; Correia, D.; Santos, F.J.S. (2004a) Efeito de bactéria diazotróficas na produção de abacaxizeiro “Cayenne Champac”, sob irrigação, em dois níveis de adubação nitrogenada. Revista Brasileira de Fruticultura. Jaboticabal, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 249-253.
- Weber, O.B., Souza, C.C.M., Gondin, D.M.F., Oliveira, F.N.S., Crisóstomo, L.A., Capron, A.L., Saggin Júnior, O. (2004b) Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada em mudas de cajueiro-anão-precoce. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 39:477-483.
- Yamanishi, O. K.; Fagundes, G. R.; MACHADO Filho, J. A.; Valone, G. V. (2004) Efeito de diferentes substratos e duas formas de adubação na produção de mudas de mamoeiro. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 276-279.
- Xavier L. J. C., Germida J. J. 2003. Bacteria associated with *Glomus clarum* spores influence mycorrhizal activity. Soil Biology and Biochemistry, v. 35, p. 471-478.

APÉNDICE

Tabela 1A. Médias de teores de macronutrientes da parte aérea de mudas inoculadas com inóculo misto (*G.margarita* e *G. clarum*).

Teores (g kg ⁻¹)				
N	P	K	Ca	Mg
15,6	1,74	19,9	12, 5	5,58

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.