

EDUARDO FRANCIA CARNEIRO CAMPELLO

# Potencial de Utilização de Espécies Actinorrízicas em Solos Degradados

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau e título de Mestre em Ciências Florestais.

CURITIBA  
1990

MINISTERIO DA EDUCACAO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANA  
SETOR DE CIENCIAS AGRARIAS  
COORDENACAO DO CURSO DE POS-GRADUACAO EM ENGENHARIA FLORESTAL

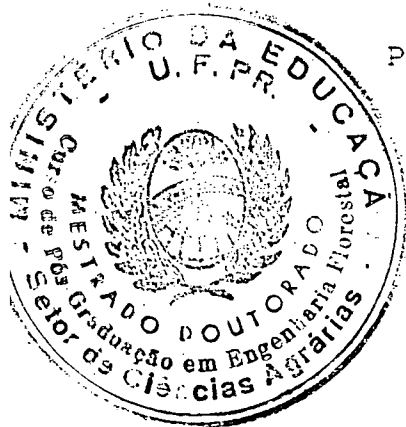
P A R E C E R

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado apresentada pelo candidato **EDUARDO FRANCIA CARNEIRO CAMPELLO**, sob o título "**POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE ESPECIES ACTINORRIZICAS EM SOLOS DEGRADADOS**" para obtenção do grau de Mestre em Ciências Florestais - Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná. Área de concentração em **SILVICULTURA**, após haver analisado o referido trabalho e arguido o candidato, são de parecer pela "**APROVAÇÃO**" da Dissertação completando assim os requisitos necessários para receber o grau e o Diploma de Mestre em Ciências Florestais.

Observação:

O critério de aprovação da Dissertação e Defesa da mesma a partir de novembro de 1980 é apenas, **APROVADA** ou **NÃO APROVADA**.

Curitiba, 13 de março de 1990



*Maria Elisa Cortezzi Graça*  
Prof.a.Ph.D. Maria Elisa Cortezzi Graça  
Primeira Examinadora

*Mario Takao Inoue*  
Prof.Dr. Mario Takao Inoue  
Segundo Examinador

*Antonio José de Araujo*  
Prof.Ph.D. Antonio José de Araujo  
Presidente da Banca

## BIOGRAFIA DO AUTOR

Eduardo Francia Carneiro Campello nasceu a 7 de março de 1956 na cidade do Rio de Janeiro, estado do Rio de Janeiro.

Formou-se em Engenharia Florestal, em 1980, pelo Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Trabalhou como Engenheiro Florestal, na Companhia Petroquímica do Nordeste (COPENE) e na COPENE Energética (COPENER), na Bahia, no período de 1980 a 1982.

Em meados de 1982 ingressou na Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO). Em agosto de 1983 transferiu-se para a Unidade de Pesquisa em Biologia do Solo da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), que é hoje o Centro Nacional de Pesquisa em Biologia do Solo (CNPBS). Na EMBRAPA/CNPBS tem trabalhado, desde 1983 até hoje, na área de pesquisa em árvores fixadoras de nitrogênio.

## AGRADECIMENTOS

Desejo expressar os meus agradecimentos:

ao Prof. Dr. Antonio José de Araujo pela orientação e apoio durante a realização desta dissertação;

à Dr<sup>ma</sup>. Maria Elisa Cortezzi Graça pela orientação e incentivo durante o desenvolvimento deste trabalho;

aos Professores, Dr. Christopher T. Wheeler e Dr. Mário Takao Inoue pelas sugestões oferecidas;

aos colegas do Laboratório de Solos do CNPF/EMBRAPA;

aos colegas do CNPBS/EMBRAPA que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho;

à EMBRAPA pela oportunidade de realizar o Curso de Pós-Graduação;

à todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a elaboração desta dissertação.

## S U M Á R I O

	LISTA DE LABELAS .....	vii
	LISTA DE FIGURAS .....	ix
	LISTA DE ABREVIATURAS .....	xi
	RESUMO .....	xii
1	INTRODUÇÃO .....	1
2	REVISÃO DA LITERATURA .....	7
2.1	PLANTAS ACTINORRÍZICAS .....	7
2.2	MICROSSIMBIONTES .....	19
2.2.1	<i>Frankia</i> .....	19
2.2.2	Endomicorrizas Vesículo-Arbuscular (MVA) ....	24
2.2.3	Raízes Proteóides .....	26
2.3	SOLOS DEGRADADOS .....	26
3	MATERIAIS E MÉTODOS .....	30
3.1	EXPERIMENTO I .....	30
3.1.1	Coleta e Análise dos Solos .....	30
3.1.2	Sementes .....	32
3.1.3	Semeadura e Plantio Definitivo .....	32
3.1.4	Avaliações do Desenvolvimento Vegetativo ....	33
3.1.5	Infeccção por MVA .....	33
3.1.6	Análise Química dos Tecidos Vegetais .....	33
3.1.7	Fixação de N <sub>2</sub> .....	34
3.1.8	Delineamento Experimental .....	34
3.2	EXPERIMENTO II .....	34
3.2.1	Substratos .....	35
3.2.2	Espécies e Semeadura .....	35

3.2.3	Avaliações do Desenvolvimento Vegetativo .....	35
3.2.4	Delineamento Experimental .....	36
3.3	LEVANTAMENTO DA OCORRÊNCIA DE PLANTAS NODULADAS DE <i>Casuarina</i> NO PARANÁ, SANTA CATARINA E RIO DE JANEIRO .....	36
3.3.1	Localidades Visitadas .....	36
3.3.2	Avaliação da Nodulação .....	37
4	<u>RESULTADOS</u> .....	38
4.1	EXPERIMENTO I .....	38
4.1.1	Análises dos Solos .....	38
4.1.2	Avaliações do Desenvolvimento Vegetativo .....	38
4.1.3	Infeccção por MVA .....	44
4.1.4	Análise Química dos Tecidos Vegetais .....	48
4.1.5	Estimativa do Nitrogênio Fixado por mg de Nódulo .....	49
4.2	EXPERIMENTO II .....	57
4.3	LEVANTAMENTO .....	60
5	<u>DISCUSSÃO</u> .....	61
6	<u>CONCLUSÕES</u> .....	67
	<u>SUMMARY</u> .....	69
	<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u> .....	70

## L I S T A D E T A B E L A S

1	PLANTAS ACTINORRÍZICAS E SUAS DISTRIBUIÇÕES GEOGRÁFICAS .	9
2	PLANTAS ACTINORRÍZICAS E RESPECTIVOS SÍTIOS ECOLÓGICOS ..	11
3	APARELHO REPRODUTOR FLORAL EM PLANTAS ACTINORRÍZICAS ....	12
4	FIXAÇÃO DE N <sub>2</sub> POR PLANTAS ACTINORRÍZICAS .....	14
5	SISTEMAS SILVICULTURAIS UTILIZANDO PLANTAS ACTINORRÍZICAS	14
6	PROJEÇÃO DE ÁREAS FLORESTAIS: 1978-2000 .....	29
7	ANÁLISE DE SOLO NATURAL E SOLO ALTERADO PELA EXPLORAÇÃO DE XISTO .....	29
8	ANÁLISE QUÍMICA DOS SOLOS .....	39
9	ANÁLISE GRANULOMÉTRICA E TEXTURA DOS SOLOS .....	39
10	NODULAÇÃO E ATIVIDADE DA NITROGENASE EM <i>Alnus glutinosa</i> E <i>Casuarina equisetifolia</i> EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS .....	46
11	CONCENTRAÇÃO DE N(%) NA PARTE AÉREA DE <i>Alnus glutinosa</i> E <i>Casuarina equisetifolia</i> , EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS EM DIFE- RENTES ÉPOCAS DO ANO .....	51
12	CONCENTRAÇÃO DE P(%) NA PARTE AÉREA DE <i>Alnus glutinosa</i> E <i>Casuarina equisetifolia</i> , EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS EM DIFE- RENTES ÉPOCAS DO ANO .....	51
13	CONCENTRAÇÃO DE K(%) NA PARTE AÉREA DE <i>Alnus glutinosa</i> E <i>Casuarina equisetifolia</i> , EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS EM DIFE- RENTES ÉPOCAS DO ANO .....	52
14	CONCENTRAÇÃO DE Ca(%) NA PARTE AÉREA DE <i>Alnus glutinosa</i> E <i>Casuarina equisetifolia</i> , EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS EM DIFE- RENTES ÉPOCAS DO ANO .....	52

15	CONCENTRAÇÃO DE Mg(%) NA PARTE AÉREA DE <i>Alnus glutinosa</i> E <i>Casuarina equisetifolia</i> , EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO .....	53
16	CONCENTRAÇÃO DE Fe(ppm) NA PARTE AÉREA DE <i>Alnus glutinosa</i> E <i>Casuarina equisetifolia</i> , EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO .....	53
17	CONCENTRAÇÃO DE Mn(ppm) NA PARTE AÉREA DE <i>Alnus glutinosa</i> E <i>Casuarina equisetifolia</i> , EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO .....	54
18	CONCENTRAÇÃO DE Zn(ppm) NA PARTE AÉREA DE <i>Alnus glutinosa</i> E <i>Casuarina equisetifolia</i> , EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO .....	54
19	CONCENTRAÇÃO DE N(%) NAS RAÍZES DE <i>Alnus glutinosa</i> EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS, AOS 60, 120, 180 E 240 DIAS .....	55
20	PESO SECO DA PARTE AÉREA (g) DE <i>Alnus glutinosa</i> CRESCENDO EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS, AOS 60, 120, 180 E 240 DIAS ...	55
21	PESO SECO DAS RAÍZES (g) DE <i>Alnus glutinosa</i> CRESCENDO EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS, AOS 60, 120, 180 E 240 DIAS .....	56
22	PESO SECO DE NÓDULOS (g) DE <i>Alnus glutinosa</i> CRESCENDO EM DOIS SOLOS DEGRADADOS, AOS 60, 120, 180 E 240 DIAS .....	56
23	LEVANTAMENTO DA NODULAÇÃO DE PLANTAS DE <i>Casuarina</i> ssp EM DIFERENTES REGIÕES .....	60



## L I S T A D E F I G U R A S

1	DEMANDA, PRODUÇÃO E DÉFICIT DE MADEIRA EM 1988 EM MILHÕES DE M <sup>3</sup> .....	4
2	SEMENTES DE <i>Alnus glutinosa</i> .....	16
3	PLÂNTULAS DE <i>Alnus glutinosa</i> .....	16
4	A: FRUTO SAMARÍDEO, B: SEMENTE DE <i>Casuarina equisetifolia</i>	18
5	PLÂNTULAS DE <i>Casuarina equisetifolia</i> .....	18
6	NÓDULO TIPO <i>Alnus</i> .....	22
7	RAIZ PROTEÓIDE DE <i>Casuarina</i> .....	27
8	MAPA DO ESTADO DO PARANÁ COM OS LOCAIS DE COLETA DE SOLO	31
9	DINÂMICA DO CRESCIMENTO EM ALTURA (CM) DE <i>Alnus glutinosa</i> EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS DURANTE 240 DIAS .....	40
10	DINÂMICA DO CRESCIMENTO EM ALTURA (CM) DE <i>Casuarina equisetifolia</i> EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS DURANTE 240 DIAS .	41
11	DINÂMICA DO CRESCIMENTO EM DIÂMETRO (CM) À ALTURA DO COLO DE <i>Alnus glutinosa</i> EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS DURANTE 240 DIAS .....	42
12	DINÂMICA DO CRESCIMENTO EM DIÂMETRO (CM) À ALTURA DO COLO DE <i>Casuarina equisetifolia</i> EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS DURANTE 240 DIAS .....	43
13	DINÂMICA DA INFECÇÃO POR <i>Frankia - Alnus glutinosa</i> .....	45
14	DINÂMICA DA INFECÇÃO POR MVA EM <i>Alnus glutinosa</i> .....	47
15	DINÂMICA DA INFECÇÃO POR MVA EM <i>Casuarina equisetifolia</i> .	47

16	ALTURA (CM) DE ALNUS, BRACATINGA, CASUARINA E EUCALIPTO CRESCENDO EM DOIS SOLOS DEGRADADOS AOS 240 DIAS .....	58
17	ALTURA (CM) DE ALNUS, BRACATINGA, CASUARINA E EUCALIPTO EM GPH AOS 240 DIAS .....	58
18	DIÂMETRO (CM) À ALTURA DO COLO DE ALNUS, BRACATINGA, CA- SUARINA E EUCALIPTO CRESCENDO EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS AOS 240 DIAS .....	59

## LISTA DE ABREVIATURAS

AQ	- AREIA QUARTZOSA
CNPBS	- CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE BIOLOGIA DO SOLO
CNPF	- CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE FLORESTAS
DAC	- DIÂMETRO À ALTURA DO COLO
DMS	- DIFERENÇA MÍNIMA SIGNIFICATIVA
FBN	- FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO
GPH	- GLEY POUCO HÚMICO
MVA	- MICORRIZAS VESÍCULO-ARBUSCULAR
N <sub>2</sub> ASE	- NITROGENASE
PA	- PLANTAS ACTINORRÍZICAS
PO <sub>2</sub>	- PRESSÃO DE OXIGÊNIO
SAX	- SOLO ALTERADO PELA EXPLORAÇÃO DE XISTO

## RESUMO

A atividade de reflorestamento no Brasil não tem conseguido acompanhar a velocidade de desmatamento, com isso o aparecimento de solos degradados é inevitável. A utilização de árvores pioneiras fixadoras de  $N_2$  atmosférico é uma alternativa para recuperação destes solos e produção de madeira. As plantas actinorrízicas são aquelas que se associam ao actinomiceto *Frankia*, e estão incluídas neste grupo de árvores pioneiras que fixam nitrogênio. Este trabalho objetivou verificar a ocorrência de *Frankia* em solos degradados; avaliar o comportamento silvicultural inicial das espécies actinorrízicas *Alnus glutinosa* e *Casuarina equisetifolia* em areia quartzosa submetida ao processo de erosão, solo alterado pela exploração do xisto e solo hidromórfico gley pouco húmico; e estudar as associações simbióticas entre essas plantas e os microrganismos presentes nos três solos. O trabalho foi realizado em casa de vegetação no CNPF/EMBRAPA, Colombo, PR e viveiro no CNPDS/EMBRAPA, Itaguaí, RJ e através de viagens de estudo pelos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio de Janeiro. As análises químicas dos solos permitem verificar que o solo alterado de xisto possui elevado teor de Al e a areia quartzosa o mais baixo nível de fertilidade. Os resultados demonstraram a presença de *Frankia* em areia quartzosa da Formação Caiuá e no solo gley pouco húmico. As estirpes de *Frankia* que infectaram *Alnus glutinosa*, mostraram-se efetivas em termos de fixação biológica de  $N_2$ , mas não nodularam as plantas de *Casuarina equisetifolia*. Os dados de crescimento vegetativo mostraram melhor desenvolvimento das espécies em solos hidromórficos, sendo que *Casuarina equisetifolia* apresentou bons índices de desenvolvimento em areia quartzosa. A atividade de exploração do xisto além de alterar as propriedades químicas e físicas do solo, produz um solo alterado com baixos níveis de MVA e ausência de *Frankia*. A inoculação com MVA trará benefícios para plantios de *Alnus glutinosa* em solo gley pouco húmico e solo alterado pela exploração de xisto, e para *Casuarina equisetifolia* em areia quartzosa e solo alterado. As plantas actinorrízicas não apresentaram sintomas de deficiência de macronutrientes nos tecidos vegetais. Mudanças de *Casuarina equisetifolia* possuem índices de crescimento superior ou igual a *Mimosa scabrella* e *Eucalyptus dunnii*. A espécie *Alnus glutinosa* apresenta elevado potencial para utilização em solo hidromórfico e *Casuarina equisetifolia* em solo arenoso.

## 1 INTRODUÇÃO

O intenso e indiscriminado desmatamento a que as regiões tropicais vem sendo submetidas, a busca de recursos minerais no sub-solo e a ocorrência de áreas da natureza problemática são causas para a existência de sítios de baixa fertilidade, solo erodidos, expostos e/ou alterados (BREWBAKER *et alii*<sup>29</sup>, FOX<sup>35</sup>, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES<sup>31</sup>). Essas áreas são caracterizadas como solo degradados. A reocupação destas com suas respectivas vegetações naturais nem sempre é possível de ser obtida e quando atingida em parte, é de forma bastante dispendiosa (CARPENTER & HENSLEY<sup>32</sup>).

Fatores como a queda da atividade biológica, condições inadequadas de drenagem, a perda da fertilidade natural e o efeito tóxico de alguns elementos tornam-se empecilho tanto para a reconstituição da vegetação nativa, como para o plantio de determinadas essências florestais de bom rendimento agrossilvicultural (BARROWS<sup>34</sup>, FOX<sup>35</sup>, POGGIANI *et alii*<sup>36</sup>).

Solos degradados no estado do Paraná ocupam uma área de mais de 1 milhão de ha. Estes solos quer por suas características naturais ou devido às alterações provocadas pelo homem, apresentam dificuldade no processo de recuperação vegetal (EMBRAPA<sup>30</sup>).

A utilização de árvores fixadoras de nitrogênio atmosférico é uma alternativa para essas áreas, além da associação com bactérias do solo, que propiciam a fixação biológica de nitrogênio (FBN), um grande número destas árvores são de rápido crescimento, pioneiras na cronossequência da sucessão vegetal, de uso múltiplo, de fácil multiplicação por sementes e tolerantes a condições ambientais adversas (BECKING<sup>14</sup>, CHATARPAUL & CARSLILE<sup>24</sup>, GAUTHIER *et alii*<sup>27</sup>, TORREY<sup>129</sup>). Elas se dividem em leguminosas e não leguminosas. Dentro deste segundo grupo encontram-se aquelas que associam-se ao actinomiceto do gênero *Frankia* e são classificadas como espécies actinorrízicas (BOND<sup>24</sup>, BOND *et alii*<sup>25</sup>).

Os problemas ambientais provocados pela extinção de nossas florestas acarretam em circunstâncias extremamente difíceis de serem resolvidas pela silvicultura nacional. O modelo de desenvolvimento em vigor no país gera números tais como a remoção anual de 6 milhões de hectares de florestas nativas, resultando em problemas como a extinção de espécies da flora e fauna, ocupação desordenada do solo, erosão e degradação dos solos, enchentes, assoreamento de reservatórios de água entre outros problemas graves causados ao meio ambiente (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION<sup>24</sup>, SOCIEDADE BRASILEIRA DE SILVICULTURA<sup>121</sup>). Entre as causas principais que acionam este contínuo desmatamento, estão a expansão das fronteiras agrícolas, a incapacidade das autoridades competentes em fazer cumprir as leis e ainda um déficit na oferta de madeira em torno de 230 milhões de m<sup>3</sup>, que é suprido pela retirada das matas

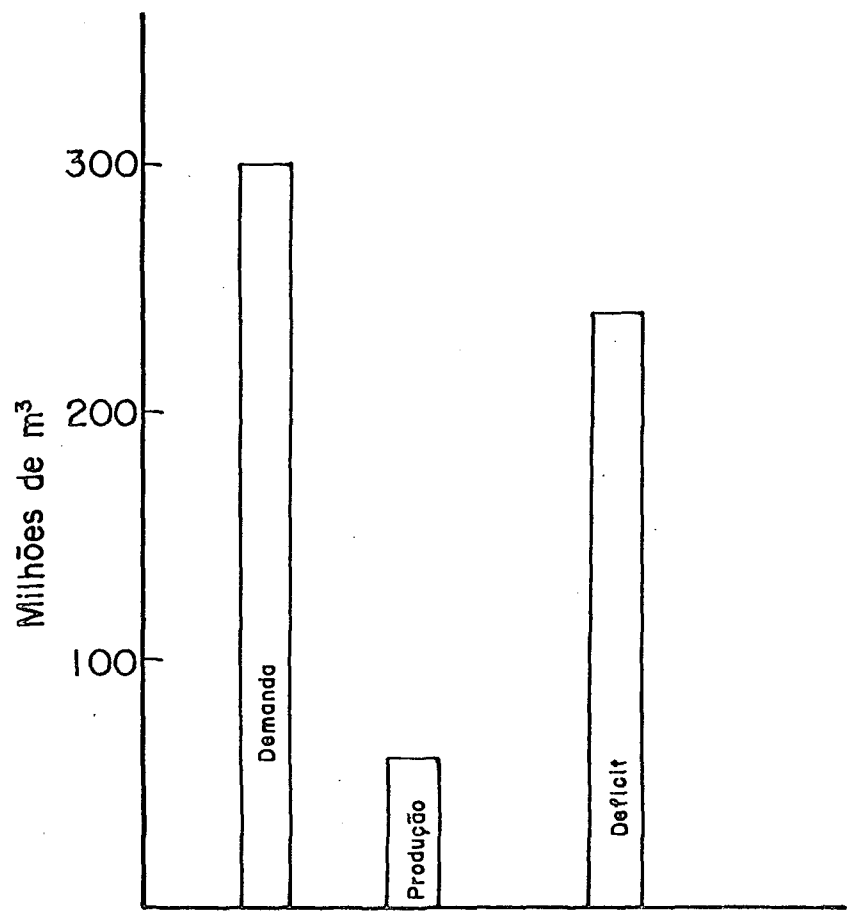
nativas (Figura 1). Em contrapartida a atividade formal de reflorestamento não ultrapassa os 500.000 ha.ano<sup>-1</sup>, sendo 78% deste total realizados com as monoculturas dos gêneros *Pinus* e *Eucalyptus* e o restante distribuídos entre culturas como acácia negra, algaroba, pinheiro do paraná, bambú, caj , castanha do pará, c co, dendê e erva mate (Departamento de Reflorestamento/IBAMA).

Dentro deste contexto é que as árvores fixadoras de nitrogênio pioneiras e capazes de adaptação a áreas de baixa fertilidade, representam uma alternativa real, visto que não é apenas necessária a recuperação da vegetação, mas também existe a preocupação com a produtividade (DOMMERGUES *et alii*<sup>46</sup>, JORGENSEN & WELLS<sup>47</sup>, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES<sup>48</sup>).

As diversas situações que podem provocar a degradação dos solos, exigem muitas vezes a inversão de grandes somas em dinheiro com o intuito de se reaproveitar estas áreas para o uso com fins urbanos residenciais, industriais, est ticos, recreativos, agrícolas, pecuários ou florestais (DAVEY & WOLLUM II<sup>42</sup>, FOX<sup>55</sup>, HEILMAN<sup>47</sup>).

Uma grande quantidade de técnicas tem sido desenvolvidas para o repovoamento vegetal principalmente em áreas consideradas alteradas por fatores integrantes do processo de exploração mineral, utilizando-se recursos silviculturais, agron micos e de manejo dos solos. Entre as técnicas silviculturais está o uso de espécies pioneiras capazes de fixar N<sub>2</sub> (BREWBAKER *et alii*<sup>20</sup>, CARPENTER & HENSLEY<sup>59</sup>).

FIGURA 1. DEMANDA, PRODUÇÃO E DÉFICIT DE MADEIRA EM 1988 EM MILHÕES DE M<sup>3</sup>



FONTE: DEPARTAMENTO DE REFLORESTAMENTO/IBAMA



O uso de simbioses fixadoras de  $N_2$  é particularmente relevante nestes tempos de conservação de energia e de escalada crescente na demanda por madeira. A fixação biológica de  $N_2$  é uma ferramenta que tanto serve para aumentar a produção de biomassa como para manter a fertilidade do solo (DAWSON<sup>43</sup>, HELGERSON *et alii*<sup>44</sup>).

As espécies actinorrízicas, principal interesse deste trabalho, são compostas por 8 famílias e 24 gêneros identificados como capazes de se associarem com o actinomiceto *Frankia*. Também se associam com ecto e endomicorrizas, fungos estes que podem em condições adversas ajudar e aumentar a absorção de fósforo, enxofre e microelementos com zinco, cobalto e cobre (BOND & HEWITT<sup>26</sup>, ROSE<sup>114</sup>, TORREY<sup>120</sup>). Por serem as plantas actinorrízicas de ampla distribuição geográfica, podem ser utilizadas nas mais diferentes condições ambientais. As formas mais empregadas para recuperação de sítios degradados tem sido a utilização de plantios puros ou plantios mistos (consorciados) com espécies mais exigentes em termos de fertilidade ou de maior valor econômico (COTÉ & CAMIRÉ<sup>20</sup>, GORDON & DAWSON<sup>41</sup>). Para as condições climáticas tropicais e subtropicais, as espécies pertencentes aos gêneros *Alnus*, *Nyrica*, *Discaria*, *Colletia*, *Casuarina*, *Allocauarina*, *Gymnostoma*, podem ser perfeitamente empregadas em projetos para recuperação de solos degradados (DREYFUS *et alii*<sup>40</sup>).

A recuperação é condicionada por aspectos físicos, químicos biológicos e climáticos. A forma correta de se iniciar

um processo de recuperação é fazendo-se um levantamento sequencial, indicando os fatores limitantes, os tratamentos apropriados e manejo adequado. Outro aspecto importante é que em determinadas situações pode-se recuperar esteticamente ou de forma econômica uma área, contudo é praticamente impossível a restauração da vegetação original (BECKING<sup>47</sup>, CARPENTER & HENSLEY<sup>48</sup>).

As espécies florestais que possuem boa sobrevivência no campo, bons índices de crescimento, efetiva atuação na estabilização do solo, capacidade de melhorar as condições químicas do solo e fácil propagação, são indicadas para áreas de recuperação. Os gêneros actinorrízicos *Alnus* e *Casuarina* são os que possuem o maior número de espécies que se enquadram nestes padrões (HEILMAN & EKUAN<sup>49</sup>, HENSLEY & CARPENTER<sup>49</sup>, PREGENT & CAMIRÉ<sup>101</sup>).

Os objetivos deste trabalho foram verificar a ocorrência de *Frankia* em solos degradados através das espécies *Alnus glutinosa* L. (Gaerth) e *Casuarina equisetifolia* Forst & Forst; estudar o potencial dessas espécies actinorrízicas para utilização em areia quartzosa da Formação Caiuá em processo de erosão, em solo hidromórfico e solo alterado pela exploração de xisto betuminoso; e estudar as associações entre as espécies escolhidas com *Frankia* e endomicorrízicas nos três diferentes solos; e verificar a ocorrência de plantas noduladas de *Casuarina* ssp em plantios nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio de Janeiro.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 PLANTAS ACTINORRÍZICAS

As primeiras investigações indicando a presença de plantas não leguminosas noduladas, datam do século XIX e mais especificamente de 1829 com a descrição dos nódulos de *Alnus*. Por volta de 1938, 60 espécies já haviam sido descritas incluindo gêneros como *Alnus*, *Hippophaë*, *Elaeagnus*, *Myrica*, *Ceanothus*, *Casuarina* e *Sherpherdia*, sendo a grande maioria de espécies lenhosas (VAN DERSAL<sup>130</sup>). Porém, os maiores progressos nos estudos destas plantas ocorreram a partir do final da década de 60 com o "International Biological Programme", onde recursos foram carreados para diversos pesquisadores espalhados em quase todos os continentes.

As 8 famílias, 24 gêneros e quase duas centenas de espécies já identificadas como actinorrízicas, são dicotiledôneas pertencentes a série Archichlamydeae. Contudo as famílias botânicas que se associam à *Frankia*, são bastante distintas entre si, sendo uma das poucas características comum o fato de serem espécies arbóreas ou arbustivas (BOND<sup>24</sup>, TORREY<sup>129</sup>). Através da tabela 1 é possível observar-se que a capacidade de associação de um gênero, se espalha por todas as

espécies e o que falta para que um maior número de plantas sejam caracterizadas como actinorrízicas é o desenvolvimento de pesquisas em determinadas regiões do globo terrestre; exceção à regra é o gênero *Rubus*, onde apenas 2 espécies foram classificadas dentro desta categoria, apesar de várias espécies já terem sido investigadas.

Uma outra característica ecológica importante das plantas actinorrízicas (PA) é sua ocorrência natural em sítios de baixa fertilidade, demonstrando uma grande capacidade de adaptação ambiental à situações extremamente adversas (KLEMMEDSON<sup>70</sup>). Elas podem ocorrer em áreas de grande altitude, regiões secas ou locais alagados, solos aluviais, dunas de areia, solos erodidos, áreas de empréstimo, litossolos e ainda como pioneiras em áreas acometidas de incêndios ou alagamentos (Tabela 2).

Com relação ao sistema reprodutivo das PA, não existe uma característica comum devido ao grande número de famílias envolvidas; contudo são espécies de fácil reprodução por sementes (Tabela 3). Também não é possível estabelecer-se uma relação entre a forma de reprodução das plantas com os dois tipos de nódulos existentes, ou o processo de infecção do endófito (BECKING<sup>17, 18</sup>).

O aspecto principal no estudo das PA está relacionado à quantidade de nitrogênio que estas plantas podem fixar em sistemas agroflorestais. A intensificação das práticas de manejo florestal tais como a preparação do sítio, controle de plantas invasoras, plantio, desbates e curtas rotações, aumentam a

TABELA 1. PLANTAS ACTINORRÍZICAS E SUAS DISTRIBUIÇÕES GEOGRÁFICAS (AKKERMANS & HOUWERS<sup>29</sup>, BOND<sup>24</sup>, HALOS<sup>29</sup>, REITZ *et al*<sup>1100,102</sup>, SILVESTER *et al*<sup>124</sup>, TORREY<sup>129</sup>)

GÊNERO	FAMÍLIA	Nº DE ESPÉCIES NO-DULADAS/TOTAL DE ESPÉCIE NO GÊNERO	DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA
<i>Alnus</i>	Betulaceae	33/35	Europa, América do Norte, Ásia e Andes
<i>Allocasuarina</i>	Casuarinaceae	12/37	Austrália
<i>Casuarina</i>	Casuarinaceae	6/11	Austrália, Ásia Tropical (Filipinas, Malásia, Polinésia...), Ilhas do Pacífico, Papua Nova Guiné, largamente introduzida em todo o mundo
<i>Gymnostoma</i>	Casuarinaceae	6/17	Austrália, Papua Nova Guiné
<i>Coriaria</i>	Coriaceaceae	14/15	Mediterrâneo, Japão, China, Nova Zelândia, Chile, México
<i>Datisca</i>	Datisceae	2/2	Mediterrâneo, Ásia Central e Sudeste dos E.U.A.
<i>Elaeagnus</i>	Elaeagnaceae	18/45	América do Norte, Europa e Ásia
<i>Hippophaë</i>	Elaeagnaceae	1/3	Ásia, Europa, Himalaia até o Círculo Ártico
<i>Shepherdia</i>	Elaeagnaceae	3/3	América do Norte
<i>Comptonia</i>	Myricaceae	1/1	América do Norte
<i>Myrica</i>	Myricaceae	26/35	Áreas tropicais, subtropicais e temperadas, estendendo-se até próximo do Círculo Ártico

TABELA 1. PLANTAS ACTINORRÍZICAS E SUAS DISTRIBUIÇÕES GEOGRÁFICAS (AKKERMANS & HOUWERS<sup>29</sup>, BOND<sup>24</sup>, HALOS<sup>42</sup>, REITZ *et alii*<sup>106,107</sup>, SILVESTER *et alii*<sup>124</sup>, TORREY<sup>125</sup>) (CONTINUAÇÃO)

GÊNERO	FAMÍLIA	Nº DE ESPÉCIES NO-DULADAS/TOTAL DE ESPÉCIE NO GÊNERO	DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA
<i>Ceanothus</i>	Rhamnaceae	31/55	América do Norte
<i>Colletia</i>	Rhamnaceae	3/17	Áreas temperadas e subtropicais da América do Sul
<i>Discaria</i>	Rhamnaceae	5/10	Andes, Brasil, Nova Zelândia, Austrália
<i>Kentrothamnus</i>	Rhamnaceae	1/2	Bolívia, Argentina
<i>Taiguenea</i>	Rhamnaceae	1/1	Chile
<i>Trevoa</i>	Rhamnaceae	2/6	Andes
<i>Retanilla</i>	Rhamnaceae	2/?	Chile
<i>Cercocarpus</i>	Rasaceae	4/20	Oeste dos E.U.A., México
<i>Chamaebatia</i>	Rosaceae	1/2	Califórnia
<i>Cowan ia</i>	Rosaceae	1/5	Sudoeste dos E.U.A., México
<i>Dryas</i>	Rosaceae	3/4	Alasca, Canadá, Círculo Ártico
<i>Fursh ia</i>	Rosaceae	2/2	Alasca, Canadá, Círculo Ártico
<i>Rubus</i>	Rosaceae	2/250	Indonésia, regiões de clima temperado

TABELA 2. PLANTAS ACTINORRÍZICAS E RESPECTIVOS SÍTIOS ECOLÓGICOS (ANDEKE-LENGUI & DOMMARGUES<sup>7</sup>, BECKING<sup>14</sup>, KOHNKE<sup>29</sup>, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES<sup>30</sup>, TORREY<sup>129</sup>)

ESPÉCIE	SÍTIOS ECOLÓGICOS
<i>Allocasuarina huegeliana</i>	Solos litólicos, solos com alta concentração de ferro
<i>Alnus glutinosa</i>	Áreas úmidas, tolerante a solos ácidos
<i>Alnus cordata</i>	Áreas secas
<i>Casuarina equisetifolia</i>	Áreas quartzosas, dunas, solos salinos
<i>Casuarina cunninghamiana</i>	Solos aluviais inundáveis, cascalho
<i>Ceanothus cuneatus</i>	Áreas desérticas
<i>Elaeagnus umbellata</i>	Solos pobres, dunas arenosas
<i>Myrica gale</i>	Solos com problema de drenagem, resíduos minerais
<i>Purshia tridentata</i>	Áreas desérticas
<i>Shepherdia canadensis</i>	Invasora em áreas queimadas

TABELA 3. APARELHO REPRODUTOR FLORAL EM PLANTAS ACTINORRÍZICAS  
(BECKING<sup>1,6,10</sup>, BOND<sup>2,4</sup>, JOHNSON<sup>7,5</sup>)

GÊNERO	APARELHO REPRODUTOR	IDADE MINIMA PARA INICIO DA FLORAÇÃO (ANOS)
<i>Ceanothus</i>	Hermafrodita	?
<i>Cercocarpus</i>	Hermafrodita	?
<i>Chamaebatia</i>	Hermafrodita	1
<i>Colletia</i>	Hermafrodita ou Dioico	?
<i>Coriaria*</i>	Hermafrodita	?
<i>Cowan ia</i>	Hermafrodita	1
<i>Dryas</i>	Hermafrodita	?
<i>Elaeagnus</i>	Hermafrodita	6
<i>Dryas</i>	Hermafrodita	5
<i>Purshia</i>	Hermafrodita	?
<i>Rubus</i>	Hermafrodita	?
<i>Allocasuarina</i>	Monoico	2
<i>Alnus</i>	Monoico	2-4
<i>Casuarina</i>	Monoico ou Dioico	3-5
<i>Myrica*</i>	Monoico ou Dioico	2
<i>Datisca</i>	Dioico	?
<i>Hippophae</i>	Dioico	?
<i>Shepherdia</i>	Dioico	4

\* ESTES GÊNEROS POSSUEM ESPÉCIES COM O APARELHO REPRODUTOR FLORAL VARIÁVEL.



mineralização da matéria orgânica, e as perdas de nitrogênio (JORGENSEN & WELLS<sup>74</sup>). A consorciação de *Alnus glutinosa* com o híbrido de *Populus betulifolia* X *trichocarpa* apresentou um crescimento em altura, após 3 anos, equivalente ao de um plantio comercial de *Populus* onde foram adicionados 200 Kg de nitrato de amônia ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>, o que correspondeu a uma fixação biológica de 65 Kg ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>. Os números encontrados para fixação biológica de N<sub>2</sub> em PA na literatura, possuem uma variação principalmente em função dos métodos utilizados, contudo demonstram que quantidades significativas são adicionadas aos sistemas cultivados (Tabela 4).

O emprego de PA na atividade florestal implica na necessidade de se estabelecer alguns novos sistemas silviculturais. Partindo da divisão das espécies em aquelas com valor comercial e sem valor comercial, determina-se uma série de variações para a utilização das PA (Tabela 5).

*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn faz parte do único gênero da família Betulaceae que se associa ao actinomiceto *Frankia*. Árvore de porte médio, tem sua área de ocorrência natural na Europa, oeste e norte da Ásia, e norte da África, em solos ácidos e de baixa fertilidade ou ainda em solos com problemas de drenagem. Conhecida vulgarmente como "black alder" ou amieiro negro, possui um crescimento rápido e boa capacidade de rebrota. No município de Colombo-PR apresentou desenvolvimento em altura de 3,5m, aos 3 anos de idade, em solo hidromórfico (EMBRAPA<sup>81</sup>). A sua madeira é comumente empregada para confecção de utensílios domésticos, tanoaria, carvão, corantes e tanino. Espécie decídua

TABELA 4. FIXAÇÃO DE N<sub>2</sub> POR PLANTAS ACTINORRÍZICAS

ESPÉCIE	Kg N.ha <sup>-1</sup> .ano <sup>-1</sup>	REFERÊNCIAS
<i>Allocasuarina littoralis</i>	200	SYLVESTER <sup>129</sup>
<i>Alnus glutinosa</i>	28-60	HANSEN & DAWSON <sup>45</sup>
<i>Alnus rubra</i>	130-300	BINKLEY <sup>22</sup> , TORREY <sup>129</sup>
<i>Casuarina equisetifolia</i>	26-58	GAUTHIER <i>et alii</i> <sup>59</sup> , TORREY <sup>130</sup>
<i>Myrica gale</i>	24-34	SCHWINTZER <sup>116, 117</sup>

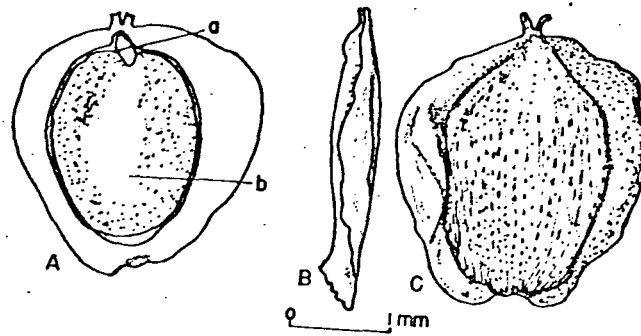
TABELA 5. SISTEMAS SILVICULTURAIS UTILIZANDO PLANTAS ACTINORRÍZICAS (DAVEY & WOLLUM II<sup>42</sup>, HANSEN & DANSON<sup>45</sup>, TARRANT<sup>125, 126</sup>, TEISSIER DU CROSS *et alii*<sup>127</sup>, WOLLUM II & YOUNGBERG<sup>144</sup>)

SISTEMA SILVICULTURAL	PLANTAS ACTINORRÍZICAS
I. Espécies de valor comercial	
A. Povoamentos Florestais	
1. Rotação longa 25-30 anos para produção de fibra ou utilização em serrarias	<i>Alnus glutinosa</i> , <i>Alnus rubra</i>
2. Rotação curta 5-15 anos para máxima produção de biomassa	<i>Allocasuarina</i> , <i>Casuarina</i> , <i>Gymnostoma</i>
B. Povoamentos alternados com diferentes espécies	<i>Alnus glutinosa</i> , <i>Casuarina equisetifolia</i>
C. Consorciação de espécies	<i>Alnus</i> , <i>Casuarina</i>
II. Espécies sem valor comercial	
A. Adubação verde com incorporação	<i>Myrica</i> , <i>Coriaria</i> , <i>Dryas</i>
B. Sub-bosque e cobertura do solo por parte ou toda a rotação	<i>Alnus</i> , <i>Allocasuarina</i> , <i>Cercocarpus</i> , <i>Cowanina</i> , <i>Comptonia</i> , <i>Purshia</i> , <i>Dryas</i> , <i>Shepherdia</i>
C. Recuperação de áreas degradadas	<i>Ceanothus</i> , <i>Purshia</i> , <i>Myrica</i> , <i>Shepherdia</i>

produz suas sementes em amentilhos monoícos de 10-15mm, em média existem cerca de 770.000 sementes.Kg<sup>-1</sup>. Suas sementes perdem a viabilidade rapidamente, ao não ser que sejam armazenadas em câmaras que mantenham baixas a umidade e temperatura, sendo que após armazenamento devem ser submetidas a um tratamento de estratificação por 90 dias à 5°C, para que ocorra boa germinação que é do tipo epígea (Figuras 2 a 3). A espécie também possui boa capacidade de propagação vegetativa por meio de estacas (BERRY & TORREY<sup>20</sup>, LITTLE<sup>64</sup>, U.S.D.A.<sup>127</sup>). O zoneamento ecológico para plantios florestais no Estado do Paraná (EMBRAPA<sup>51</sup>) recomenda a espécie para plantios de comprovação nas regiões bioclimáticas 1 e 2, situadas no Centro-Sul do estado.

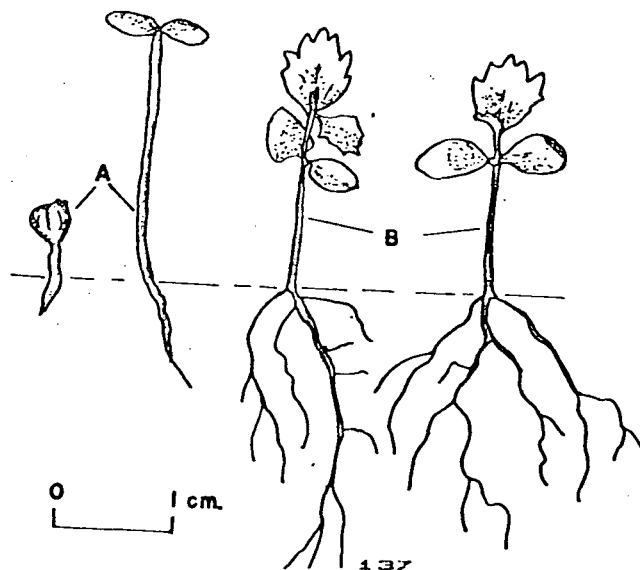
*Casuarina equisetifolia* Forst & Forst var. *equisetifolia* pertence a família Casuarinaceae que por sua vez é constituída por cerca de 70 espécies de árvores e arbustos. Até 1980 a família era reconhecidamente constituída por um único gênero - *Casuarina*. Após esta data um novo trabalho proposto por JOHNSON<sup>74</sup>, passou a dividi-la em 2 gêneros, e em 1982 a divisão passou para 4 gêneros, que estão em vigor na atualidade, sendo os gêneros propostos, os seguintes: *Allocasuarina*, *Casuarina*, *Gymnostoma* e *Centhostoma* (BOLAND *et alii*<sup>29</sup>, JOHNSON<sup>75</sup>, DORAN & HALL<sup>47</sup>). Com o nome vulgar de casuarina, é uma árvore de porte elevado e de rápido crescimento, podendo atingir 3m de altura depois de 8 meses de plantio no campo. No município de Paranaguá as plantas após 2 anos apresentaram 4m de altura; em Quedas do

FIGURA 2. SEMENTES DE *Alnus glutinosa*. A, SEÇÃO LONGITUDINAL: a, RADÍCULA; b, COTILEDONES. B E C, VISTA EXTERNA EM DOIS PLANOS



137  
FONTE: U.S.D.A.

FIGURA 3. PLÂNTULAS DE *Alnus glutinosa*: A, COM 1 DIA E 7 DIAS; B, COM 15 E 20 DIAS E INICIAÇÃO DAS FOLHAS DEFINITIVAS



137  
FONTE: U.S.D.A.

Iguaçu após 1 ano, as plantas estavam com 2m de altura, superando espécies como *Pinus elliotii* e *Grevillea robusta*. Existem também registros no Paraná de plantio com rendimento em torno de  $30m^3 \cdot ha^{-1} \cdot ano^{-1}$  ou dados em áreas tropicais de produção de  $40t \cdot ha^{-1} \cdot ano^{-1}$  de biomassa, superando espécies como *Eucalyptus robusta* e *Leucaena leucocephala* (CARVALHO *et alii*<sup>99</sup>, CARVALHO comunicação pessoal\*, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES<sup>99</sup>, SILVA *et alii*<sup>110</sup>, WANG<sup>111</sup>). As suas áreas de ocorrência natural são: litoral nordeste e norte da Austrália, Malásia, Micronésia, Filipinas, Polinésia, Bangladesh, Sri Lanka e Índia; contudo é uma espécie amplamente disseminada em todo mundo. Nestes locais de uma maneira geral, os solos são arenosos e areias quartzosas marinhas, não tolerando solos muito pesados com elevado teor de argila, porém tolera solos salinos e calcários. A madeira possui elevado poder calorífico apesar das informações que a situam em uma faixa bem ampla indo de 4950-7100 Kcal/Kg, sendo utilizada para produção de carvão vegetal, lenha, tanino (6-18% na casca), e também utilizada para quebra-ventos, controle de erosão e contensão de dunas. Planta dioica possui folhagem muito semelhante as coníferas, a diferença entre as acículas e os seus cladódios (ramo modificado em folha) é que o segundo é formado por pequenos segmentos (Figura 5). Produz fruto samarideo onde as sementes são separadas por duas bracteolas que se abrem quando está maduro (Figura 4). Frutificando de uma maneira geral

\* CARVALHO, P.E.R. Centro Nacional de Pesquisa em Florestas, EMBRAPA, Colombo, Pr.

FIGURA 4. A: FRUTO SAMARÍDEO.

B: SEMENTE DE *Casuarina equisetifolia*



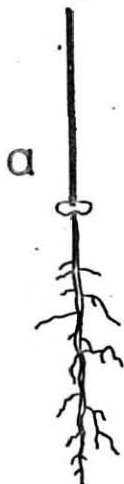
2 X<sub>A</sub>



8 X<sub>B</sub>

95  
FONTE: OLSON & PETTEYS

FIGURA 5. PLÂNTULA DE *Casuarina equisetifolia* (x 1)



de setembro a dezembro, em média produz cerca de 820.000 sementes.Kg<sup>-1</sup>, que podem ser armazenadas em temperatura ambiente sem perder a viabilidade por 2-3 anos. A capacidade de adaptação ambiental da espécie é grande, preferindo contudo regimes hídricos de 700-2000mm anuais com estação seca bem pronunciada, embora existam plantios bem sucedidos em regiões de 200-300mm ou com mais de 5000mm, podendo ser plantada desde o nível do mar até altitudes de 1500m. Para plantios definitivos as mudas apresentam-se suscetíveis a ataques de formigas e grilos, necessitando também de tratamentos culturais durante o 1º ano, visto que a espécie não compete nesta fase com plantas invasoras. Com relação à capacidade de rebrota, a espécie não possui bom potencial, pois apenas plantas cortadas até 4 anos apresentam esta característica, sendo de forma bastante heterogênea (BARLOW<sup>12</sup>, DORAN & HALL<sup>17</sup>, HALOS<sup>44</sup>, JOHNSON<sup>25</sup>, LITTLE<sup>64</sup>, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES<sup>92</sup>, OLSON & PETTEYS<sup>95</sup>, TURNBULL<sup>134</sup>, TURNBULL & MARTENSZ<sup>135</sup>).

## 2.2 MICROSSIMBIOTES

### 2.2.1 *Frankia*

Os actinomicetos são microorganismos filamentosos e pleomórficos, pertencentes a divisão Bactéria, sendo os gêneros *Frankia* e *Mycobacterium* os únicos fixadores de N<sub>2</sub> atmosférico (AKKERMANS & HOUWERS<sup>4</sup>, BECKING<sup>17</sup>).

O gênero *Frankia* se caracteriza por microrganismos de lento crescimento, levando 2 dias para multiplicação celular e que podem crescer fixando biologicamente  $N_2$  em simbiose com um grande número de plantas não leguminosas em nódulos radiculares (actinorrizas). A primeira estirpe foi isolada de *Comptonia* sp por CALLAHAM *et alii*<sup>21</sup> em 1978 e após esta data houve um grande impulso nos estudos sobre morfologia, ecologia, fisiologia e genética deste actinomiceto (BOND & WHEELER<sup>22</sup>, LECHEVALIER *et alii*<sup>23</sup>).

O endófito penetra nas raízes através dos pelos radiculares, ou intercelularmente e se multiplica entre as células do cortex. Nos gêneros *Alnus* e *Myrica* o processo de infecção se dá através dos pêlos radiculares, para plantas do gênero *Elaeagnus* a infecção ocorre via intercelular com a ruptura da epiderme pelas hifas. Algumas espécies do gênero *Casuarina* parecem ter este segundo processo, contudo o assunto ainda é controvertido (CALLAHAM *et alii*<sup>22</sup>, RACCETE & TORREY<sup>192</sup>, TORREY & RACCETTE<sup>192</sup>, TORREY<sup>192</sup>).

Na maioria das PA as hifas apresentam vesículas esféricas ou claviformes de 3 a 5 $\mu$ m de diâmetro, que são os sítios da fixação, contendo a nitrogenase no seu interior. *In vitro* as estirpes de *Frankia* são capazes de fixar N em condições normais de  $pO_2$ . As hifas que de uma maneira geral possuem menos de 1 $\mu$ m formam grandes esporângios de largura irregular que contem esporos de 0,3 a 2,5 $\mu$ m de diâmetro e que funcionam como estrutura reprodutiva. Ainda não está elucidado se as características morfológicas das estirpes são determinadas



apenas por herança genética ou sofrem influência do hospedeiro (STEELE *et al* (1922)).

A alta capacidade de infectividade que algumas estirpes apresentam está relacionada com a presença de esporos viáveis que se disseminam facilmente. Estas estirpes são simbolizadas por Sp(+) e aquelas isoladas de nódulos com poucos ou nenhum esporo viável são representadas por Sp(-) (WEBER (1922)). Os nódulos são estruturas perenes e sob o ponto de vista anatômico podem ser descritos como raízes adventícias laterais induzidas por estirpes de *Frankia*. Existem duas formas de nódulos, o tipo *Alnus* encontrado na maioria das plantas, onde o meristema apical possui um crescimento restrito, porém com ramificações dicotômicas tomando um aspecto coralóide (Figura 6). O tipo *Myrica/Casuarina* como o próprio nome diz, ocorre neste dois gêneros, incluindo-se os demais gêneros da família Casuarinaceae. Estes nódulos possuem pequenas radículas nas suas extremidades que apresentam crescimento geotrópico negativo, cuja função é de aeração (ANGULO *et al* (1960), HOUWERS & AKKERMANS (1961), COYNE (1960), TORREY (1921)).

Outro aspecto importante é a inoculação, que pode ser feita com nódulos macerados ou com cultura pura. A inoculação com nódulos macerados apresenta uma grande variabilidade nos resultados pois podem ocorrer mais de uma estirpe em cada nódulo. (REDDELL & BOWEN (1964)). Mudas de *Alnus rubra* inoculadas com uma estirpe Sp(-) cultivada *in vitro* alcançaram um peso seco 4 vezes maior do que aquelas inoculadas com uma solução de

FIGURA 3. NÓDULO TIPO *Alnus*



FONTE: DESENHO A PARTIR DE FOTOGRAFIA DE E.F.C.CAMPELLO

nódulos macerados oriundos do mesmo hospedeiro (WHEELER *et alii*<sup>144</sup>). A inoculação em PA resulta em uma maior taxa de sobrevivência no campo; uma maior capacidade de competir com plantas invasoras, pequena ou nenhuma dependência de fertilizantes nitrogenados e uma maior produção de biomassa.ha<sup>-1</sup> em curtas rotações. Mudas de *Alnus glutinosa* inoculadas apresentam até 8 vezes mais biomassa do que as não inoculadas. Com cerca de 4 anos, árvores de *Casuarina cunninghamiana* inoculadas no plantio produziram um volume duas vezes maior do que as não inoculadas (HOUWERS & AKKERMANS<sup>141</sup>, REDDELL *et alii*<sup>147</sup>).

As especificidade entre o hospedeiro e o endófito é outro tema que tem merecido especial atenção dos pesquisadores, inicialmente pensava-se que existia uma grande especificidade com cada planta se associando a uma única espécie do endófito (BECKING<sup>15, 16</sup>). Contudo as inoculações com nódulos macerados, começaram a indicar que ocorria inoculação cruzada entre gêneros de diferentes famílias (RODRIGUES-BARRUECO<sup>110</sup>, RODRIGUES-BARRUECO *et alii*<sup>112</sup>). Após isolamento *in vitro* de estirpes de *Frankia*, verificou-se que existiam grupos, sendo uns mais promíscuos do que os outros. Esses grupos foram estabelecidos em testes de laboratório e foram divididos da seguinte forma:

- a) estirpes que nodulam *Alnus* e *Myrica*;
- b) estirpes que nodulam Casuarinaceae e *Myrica*;
- c) estirpes que nodulam Casuarinaceae, Elaeagnaceae e *Myrica*;
- d) estirpes que nodulam apenas Elaeagnaceae.

Com base nesta divisão se estabeleceu uma correlação com o processo de infecção do actinomiceto, sendo as estirpes do grupo a e b aquelas que penetram no hospedeiro através dos pêlos radiculares. As estirpes do grupo d penetram via intercelular e as do grupo c possuem capacidade de infecção pelos dois processos. Ainda com base nesses dados, ficou caracterizado que os gêneros *Myrica* e *Gymnostoma* são os de maior promiscuidade, entretanto não se conseguiu correlacionar nenhum desses resultados com aspectos de sistemática vegetal (BAKER<sup>11</sup>, BURGGRAAF *et alii*<sup>12</sup>, FLEMING *et alii*<sup>13</sup>, HUSS-DANNEL & FREJ<sup>14</sup>, TORREY & RACETTE<sup>15</sup>).

#### 2.2.2 Endomicorrizas Vesículo-Arbuscular (MVA)

São fungos simbióticos que vivem e se alimentam em simbiose, que não são cultivados e não esporulam na ausência da planta hospedeira. As MVA só podem ser observadas através de microscopia em lâmina com segmentos de raízes, porque não causam alterações visíveis mesmo em raízes com elevada taxa de colonização. As MVA são bem mais abundantes que as ectomicorrizas e ocorrem na maioria das espécies vegetais, entretanto existe uma grande dificuldade para a multiplicação de propágulos de MVA em larga escala e até hoje não se obteve o cultivo axênico (LOPES & FERNANDES<sup>16</sup>, SIQUEIRA & FRANCO<sup>17</sup>).

As hifas que colonizam inteiramente as raízes, também aumentam a superfície radicular através do crescimento externo. As vesículas não possuem uma função plenamente esclarecida, pois

tanto servem como estruturas de reserva como também é possível a propagação por seu intermédio. Por fim os esporos são reconhecidamente as estruturas responsáveis pela sobrevivência e multiplicação das MVA (LYNCH<sup>84</sup>).

A atuação das MVA também resulta de um intercâmbio onde o hospedeiro fornece fotossintatos para o fungo e este por sua vez, melhora o status nutricional do hospedeiro. Não só o aspecto nutricional do hospedeiro é beneficiado, como também proporciona uma maior sobrevivência em mudas transplantadas, maior tolerância ao stress hídrico e a patógenos de raízes (ALDON<sup>85</sup>). O aumento das taxas de FBN em plantas micorrizadas, através de relações sinérgicas com os sistemas fixadores em P.A., é de grande importância ainda mais em solos degradados, pois aumentam a possibilidade de recuperação e reocupação vegetal via uma maior capacidade de adaptação das plantas a estes sítios de baixa fertilidade e com condições adversas (ALLEN & ALLEN<sup>6</sup>, GARNER *et alii*<sup>54</sup>, GAUTHIER *et alii*<sup>58</sup>, PAULA & SIQUEIRA<sup>96</sup>, PONDER Jr<sup>100</sup>). Tanto *Alnus glutinosa* como *Casuarina equisetifolia* se associam as MVA (BEDDIAR<sup>19</sup>, REDDELL *et alii*<sup>104</sup>).

A inoculação de plantas com MVA depende da abundância natural de endomicorrizas nativas, baixos índices de ocorrência sugerem a necessidade desta prática, e depende também da efetividade das espécies nativas em relação aos possíveis inóculos (ABBOTT & ROBSON<sup>1,2</sup>).

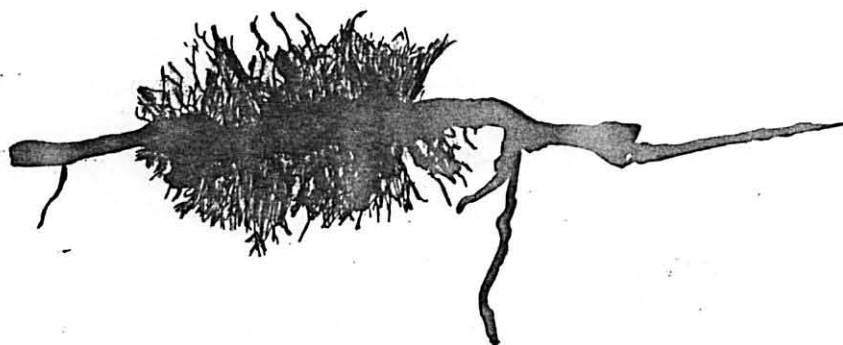
### 2.2.3 Raízes Proteóides

São raízes com um maior número de raízes laterais, bastante ramificadas, com um aspecto peludo (Figura 7). Ocorrem nos horizontes superficiais do solo, organicamente mais ricos. Originada a partir de microorganismos não identificados, associados à matéria orgânica, ocorrem em plantas das famílias Casuarinaceae e Proteaceae, sendo o nome baseado na maior ocorrência na segunda família. São capazes de aumentar o desenvolvimento das plantas, pois além da ampliação da superfície radicular, também possuem uma maior velocidade de absorção. Em termos de peso, não existe praticamente diferença entre essas e as raízes normais, até porque o microorganismo da rizosfera que induz esse crescimento diferenciado não infecta o interior das raízes (LAMONT & McCOMB<sup>66</sup>, MALAJCZUK & BOWEN<sup>67</sup>, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES<sup>68</sup>, TORREY<sup>1941</sup>).

### 2.3 SOLOS DEGRADADOS

A devastação das florestais tropicais além de provocar a perda do germoplasma, determina também condições de degradação dos solos que suportam estas biocenoses. Uma estimativa do ritmo de destruição das matas tropicais em comparação com as florestas temperadas é apresentada na tabela 6. O estado do Paraná é um exemplo claro deste processo de desmatamento descontrolado, estando sua cobertura florestal reduzida à menos de 7% da sua superfície territorial.

FIGURA 7. RAÍZ PROTEÓIDE DE *Casuarina*



93  
FONTE: NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES

A região noroeste do Paraná, que compreende o Terceiro Planalto e mais especificamente a Formação Caiuá, encontra-se em situação de alto risco com cerca de 1 milhão de ha em processo de pré-desertificação (BIGARELLA<sup>21</sup>, CUQUI<sup>41</sup>). A formação Caiuá é caracterizada como um arenito constituído em um processo de sedimentação eólica que depositou-se sobre derrames basálticos, sendo ainda recoberta por sedimentos recentes como aluviões (EMBRAPA<sup>50</sup>). A alteração destes solos por processos de erosão tem gerado a perda da fertilidade a níveis críticos, sendo as regiões de areias quartzosas as mais problemáticas.

Uma outra classe de solo que apresenta problemas são os solos hidromórficos Gleyzados que ocupam mais de 150 mil ha espalhados por todas as regiões do Estado, caracterizando-se principalmente como solos mal drenados, sendo que nas regiões tropicais é de maior ocorrência o tipo Gley Pouco Húmido (EMBRAPA<sup>50</sup>, VIEIRA<sup>140</sup>).

O terceiro solo é oriundo da ação do homem na exploração de recursos minerais no sub-solo. O Brasil é o segundo país do mundo em reservas de xisto betuminoso. No Paraná a jazida de São Mateus do Sul ocupa uma área de 65 Km<sup>2</sup>, a exploração por parte da Petrobrás provoca a retirada do solo e sub-solo e posterior devolução para o recobrimento dos resíduos do processo de extração do óleo de xisto (NEIVA<sup>94</sup>). Em consequência desse processo ocorrem alterações como a modificação do pH atingindo níveis de acidez alevada (Tabela 7), excessiva compactação devida ao intenso movimento de máquinas pesadas no transporte do solo, perda da fertilidade com retirada dos horizontes A e B e



consequente redução da atividade biológica (CHIARANDA *et alii*<sup>27</sup>, FOX<sup>28</sup>, SIMÕES *et alii*<sup>119</sup>).

TABELA 6. PROJEÇÃO DE ÁREAS FLORESTAIS: 1978-2000 (BREWBAKER *et alii*<sup>29</sup>)

ANO	TRÓPICOS	ZONA TEMPERADA
	-----milhões/ha-----	
1978	1.270	1.620
2000	760	1.610

TABELA 7. ANÁLISE DE SOLO NATURAL E SOLO ALTERADO PELA EXPLORAÇÃO DE XISTO

	(me/100g de terra)							
	pH	C	P	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Al <sup>++</sup>	H <sup>+</sup>
Solo natural	4,7	2,9	0,02	0,13	1,84	0,68	0,77	12,0
Solo alterado	3,8	1,2	0,02	0,15	0,39	0,41	4,72	15,2

Fonte: PETROBRÁS-SIX

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

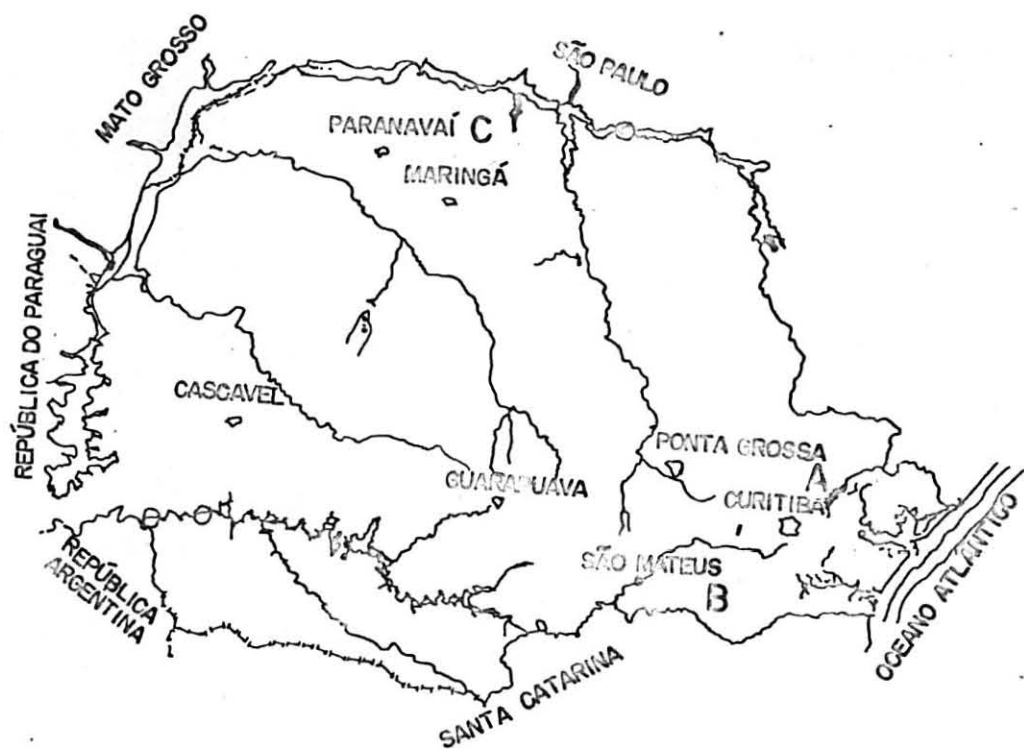
3.1 EXPERIMENTO I - Local: Casa de Vegetação do CNPF/EMBRAPA, localizada em Colombo, Pr, latitude 25°20' sul e 49°14' longitude oeste, com altitude de 920 metros, sendo clima do tipo Cfb segundo Koeppen. A casa de vegetação possuía uma luminosidade equivalente a 75% da luz solar e a temperatura média foi de 21,3°C durante o experimento.

#### 3.1.1 Coleta e Análise dos Solos

Foram coletados 500 Kg de cada um dos solos degradados escolhidos, em diferentes regiões do Paraná (Figura 8), em amostra composta de 20 sub-amostras simples (RAIJ<sup>199</sup>). As regiões e solos foram:

- a) Paranavaí, Arenito Caiuá, areia quartzosa (AQ) cuja vegetação natural foi retirada, ficando exposta aos processos de erosão e lixiviação;
- b) São Mateus do Sul, área de exploração de xisto latossolo vermelho-escuro alterado (mistura de solo + sub-solo + resíduos) denominado solo alterado de xisto (SAX). As amostras foram coletadas após a devolução ao local de exploração;

FIGURA 8. MAPA DO ESTADO DO PARANÁ COM OS LOCAIS DE COLETA DE SOLO



- A - COLOMBO
- B - SÃO MATEUS DO SUL
- C - PARANAVAÍ

c) Colombo, solo hidromórfico, gley pouco húmico(GPH).

As análises química e granulométrica dos solos constam das tabelas 8 e 9.

### 3.1.2 Sementes

As sementes de *Casuarina equisetifolia* (casuarina) e *Alnus glutinosa* (alnus) utilizadas tinham como procedência Colombo-Pr/Br e Forst von Schwertzell - Alemanha Ocidental, respectivamente. As sementes de casuarina possuíam um poder germinativo de 40% e as de alnus de 30%. As sementes de alnus foram estratificadas durante 90 dias a 5°C. Para se verificar a ocorrência dos endossimbiontes nos solos, as sementes tiveram que ser esterilizadas, as de alnus foram colocadas em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por 20 minutos e depois enxaguadas em água destilada esterilizada por 5 minutos, e as de casuarina em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado por 2 minutos e lavadas em água destilada esterilizada (DIEM *et alii*<sup>45</sup>, GAUTHIER *et alii*<sup>57</sup>, VERENAUD *et alii*<sup>199</sup>).

### 3.1.3 Semeadura e Plantio Definitivo

As espécies foram semeadas em 30 de setembro de 1987, (500 sementes) em caixas plásticas (30 x 50 x 12 cm), tendo como substrato areia lavada autoclavada. Enquanto permaneceram nas caixas foram irrigadas com água deionizada e fertilizadas com 160ml.caixa<sup>-1</sup> de solução Hoagland 25%. As caixas permaneceram no interior da casa de vegetação até as plantas serem repicadas 30

dias após a sementeira, para sacos plásticos de 10 x 23 cm com os três tipos de solo, onde permaneceram por 240 dias. Os sacos foram colocados no interior da casa de vegetação no dia da repicagem e ficaram sobre mesas para evitar contaminação.

#### 3.1.4 Avaliações de Desenvolvimento Vegetativo

As plantas foram mensuradas a cada 30 dias após a repicagem até o oitavo mês. Foram medidas à altura da parte aérea e o diâmetro à altura do colo. Nestas ocasiões também eram coletadas plantas para avaliação da presença de endossimbiontes.

#### 3.1.5 Infecção por MVA

Amostras, das raízes das plantas coletadas foram clarificadas e coloridas com azul de tripano (PHILLIPS & HAYMAN<sup>27</sup>) e a taxa de colonização foi estimada através do método da placa quadriculada (GIOVANETTI & MOSSE<sup>40</sup>).

#### 3.1.6 Análise Química dos Tecidos Vegetais

A parte aérea de plantas coletadas em 4 ocasiões (60, 120, 180 e 240 dias) foi seca em estufa com circulação de ar forçada a 60°C e depois moída em moinho tipo Willey. O N foi determinado pelo método Kjeldahl inclusive em raízes e nódulos. Os elementos P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, e Zn foram determinados através de digestão úmida e as concentrações para Ca, Mg, Mn,

Fe, Zn mensuradas em espectrofotômetro de absorção atômica. Para P utilizou-se colorímetro a 680nm e para K fotometro de chama (SARRUGE & HAAG<sup>115</sup>).

### 3.1.7 Fixação de N<sub>2</sub>

Através do método de redução do acetileno se determinou a atividade da nitrogenase nos nódulos encontrados. Para avaliar atividade da N<sub>2</sub> ase, utilizou-se o sistema radicular de plantas decaptadas, colocados em frascos de 1000ml com tampa de rosca em uma atmosfera de 10% (V/V) de acetileno. O período de incubação foi de 1 hora e em seguida foram coletadas amostras de 1 ml, para injeção em cromatógrafo de gás Perkin Elmer F11, equipado com ionizador de chama e coluna de Poropak R (80-100 mesh) (GRACA<sup>42</sup>, TRIPP *et al*<sup>122</sup>, TURNER & GIBSON<sup>124</sup>).

### 3.1.8 Delineamento Experimental

O delineamento utilizado foi de blocos ao acaso em fatorial 3x2 com 5 repetições e 12 plantas por parcela. Foi feita a análise variância dos resultados e aplicado o teste de Tukey à nível de 5% de probabilidade.

3.2 EXPERIMENTO II - Local: Viveiro do CNPBS/EMBRAPA, Itaguaí, RJ, latitude 22°46' sul e 43°41' de longitude oeste com altitude de 33 metros. A temperatura média é de 23,5°C e clima AW segundo Koeppen.

### 3.2.1 Substratos

Foram utilizados os mesmos três tipos de solos do experimento anterior em sacos plásticos de 15x30 cm.

### 3.2.2 Espécies e Semeadura

Além de alnus e casuarina foram testadas mais duas espécies não actinorrízicas de rápido crescimento para comparação do desenvolvimento vegetativo: a) *Mimosa scabrella* (bracatinga) e b) *Eucalyptus dunnii* (eucalipto).

As espécies foram semeadas diretamente nos recipientes em 10 de outubro de 1988 e permaneceram no viveiro com 50% de sombreamento por 120 dias. As sementes de alnus foram inoculadas com uma suspensão de nódulos macerados (WHEELER *et al.* (145)). Esta suspensão foi aplicada no dia da semeadura na dosagem de 5 ml por recipiente. As sementes de bracatinga foram escarificadas em imersão por 2 minutos em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado e inoculadas com estirpes de *Rhizobium* Br 3454/CNPBS/EMBRAPA. Após 120 dias as plantas foram expostas a pleno sol.

### 3.2.3 Avaliações de Desenvolvimento Vegetativo

As plantas foram mensuradas aos 240 dias, sendo medidas a altura da parte aérea e o diâmetro à altura do colo. Nesta ocasião também foi feita a avaliação da presença de

endossibiontes, através da verificação da presença de nódulos nas raízes das plantas.

#### 3.2.4 Delineamento Experimental

O delineamento utilizado foi de blocos ao acaso em fatorial 4x3 com 5 repetições e 5 plantas por parcela. Foi feita análise variância dos resultados e aplicado o teste de Tukey ao nível de 5%.

### 3.3 LEVANTAMENTO DA OCORRÊNCIA DE PLANTAS NODULADAS DE *Casuarina* NO PARANÁ, SANTA CATARINA E RIO DE JANEIRO

Existe um grande número de plantios de *Casuarina* spp no Brasil, sendo utilizados principalmente para estabilização de dunas, quebra-ventos e sombreamento em áreas residenciais. Contudo não existem relatos sobre a presença de *Frankia* nos diversos povoamentos. Este levantamento procura dar uma visão inicial da dispersão deste endossimbionte em alguns plantios dos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio de Janeiro.

#### 3.3.1 Localidades Visitadas

As seguintes localidades foram visitadas:

- a) Paraná: Londrina, Paranaguá, Paranavaí, Colombo, Curitiba e Foz do Iguaçu;
- b) Santa Catarina: Araranguá, Florianópolis;



c) Rio de Janeiro: Itaguaí, Rio de Janeiro, Vassouras.

### 3.3.2 Avaliação da Nodulação

A nodulação foi investigada através da escavação do sistema radicular de árvores adultas e mudas, até 30 cm de profundidade, porção que contém a maioria das raízes finas onde são encontrados os nódulos (LAWRIE<sup>01,02</sup>). Na maioria das localidades onde foi possível foram escavadas entre 5 a 10 plantas.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 EXPERIMENTO I

#### 4.1.1 Análises dos solos

As análises de solo (Tabelas 8 e 9) indicam existir diferenças de fertilidade e textura entre os três solos. O solo alterado pela exploração do xisto (SAX) foi o mais degradado, quanto às suas propriedades químicas, apresentando-se com pH ácido de 4,9. O nível de alumínio de 2,2 me% também foi alto e os teores de N e P ficaram abaixo dos demais solos. O solo Gley Pouco Húmico (GPH) foi o que apresentou melhores índices de fertilidade, os teores de P e K se situaram na faixa média, e o teor N superou em torno de 4 vezes os outros dois solos. A areia quartzosa (AQ) apresentou o menor teor de matéria orgânica no solo e baixos teores de Ca + Mg e K, indicando que os processos de erosão e lixiviação tem sido bastante atuantes sobre a textura arenosa deste solo.

#### 4.1.2 Avaliações de Desenvolvimento Vegetativo

As figuras 9, 10, 11 e 12 mostram a dinâmica do crescimento em altura (cm) e diâmetro à altura do colo (cm) para

TABELA 8. ANÁLISE QUÍMICA DOS SOLOS

	pH(H <sub>2</sub> O)	N%	Al (me%)	Ca+Mg (me%)	P (ppm)	K (ppm)	C%
AQ	5,2	0,07	0	1,0	2	24	0,76
SAX	4,9	0,06	2,2	1,7	1,25	53	1,43
GPH	5,3	0,28	0,7	2,5	6,00	78	2,24

TABELA 9. ANÁLISE GRANULOMÉTRICA E TEXTURA DOS SOLOS

	AREIA	SILTE	ARGILA	TEXTURA
AQ	92,4	4,2	3,4	arenosa
SAX	11,2	36,8	52,0	argilosa
GPH	2,7	25,8	71,5	muito argilosa

FIGURA 9. DINÂMICA DO CRESCIMENTO EM ALTURA (CM) DE *Alnus glutinosa* EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS DURANTE 240 DIAS (MÉDIA DE 5 REPETIÇÕES)

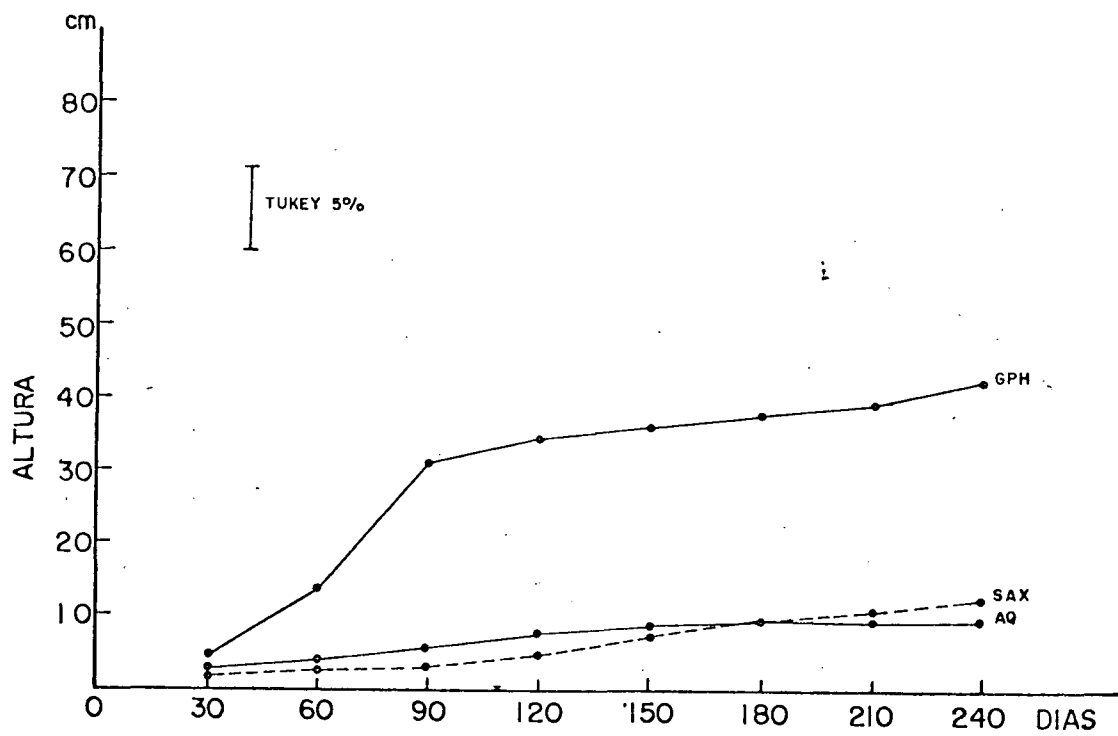


FIGURA 10. DINÂMICA DO CRESCIMENTO EM ALTURA (CM) DE *Casuarina equisetifolia* EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS DURANTE 240 DIAS (MÉDIA DE 5 REPETIÇÕES)

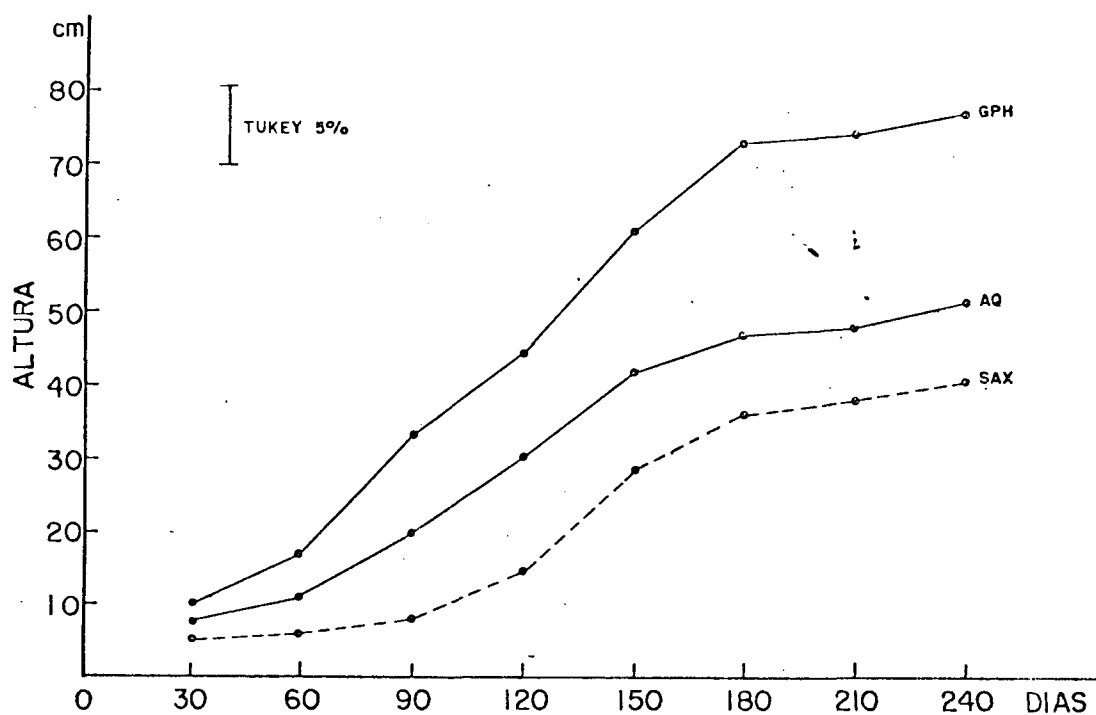


FIGURA 11. DINÂMICA DO CRESCIMENTO EM DIÂMETRO & ALTURA DO COLO DE *Alnus glutinosa* EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS DURANTE 240 DIAS (MÉDIA DE 5 REPETIÇÕES)

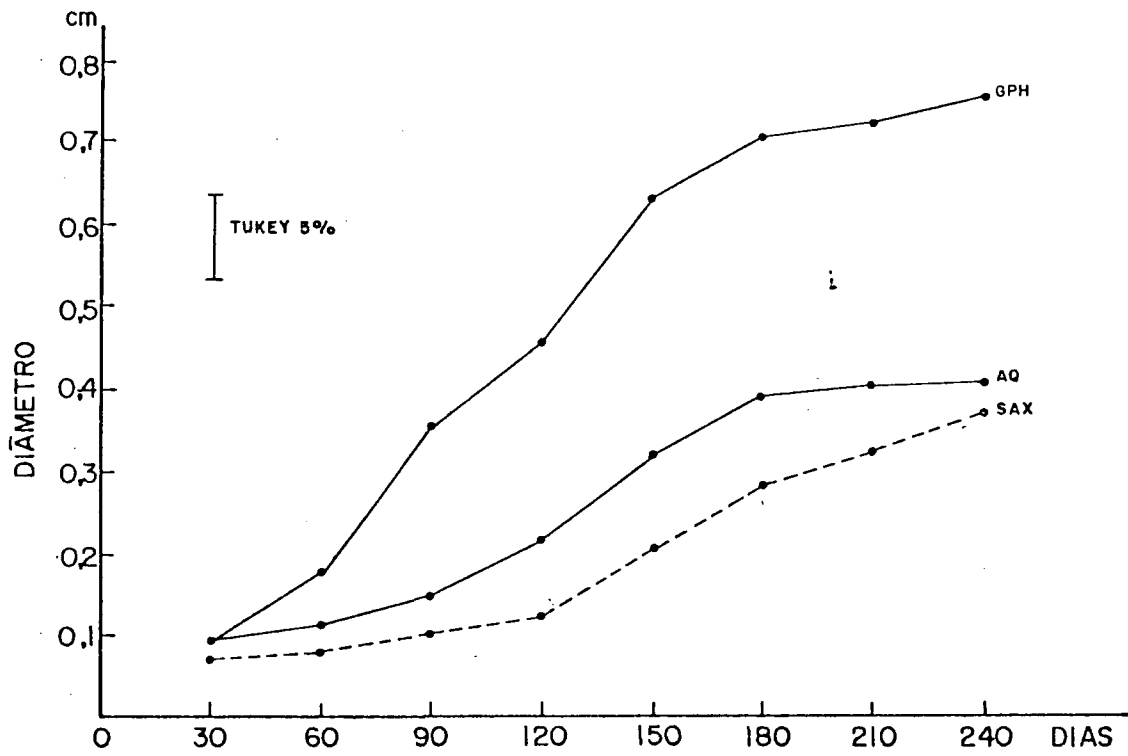
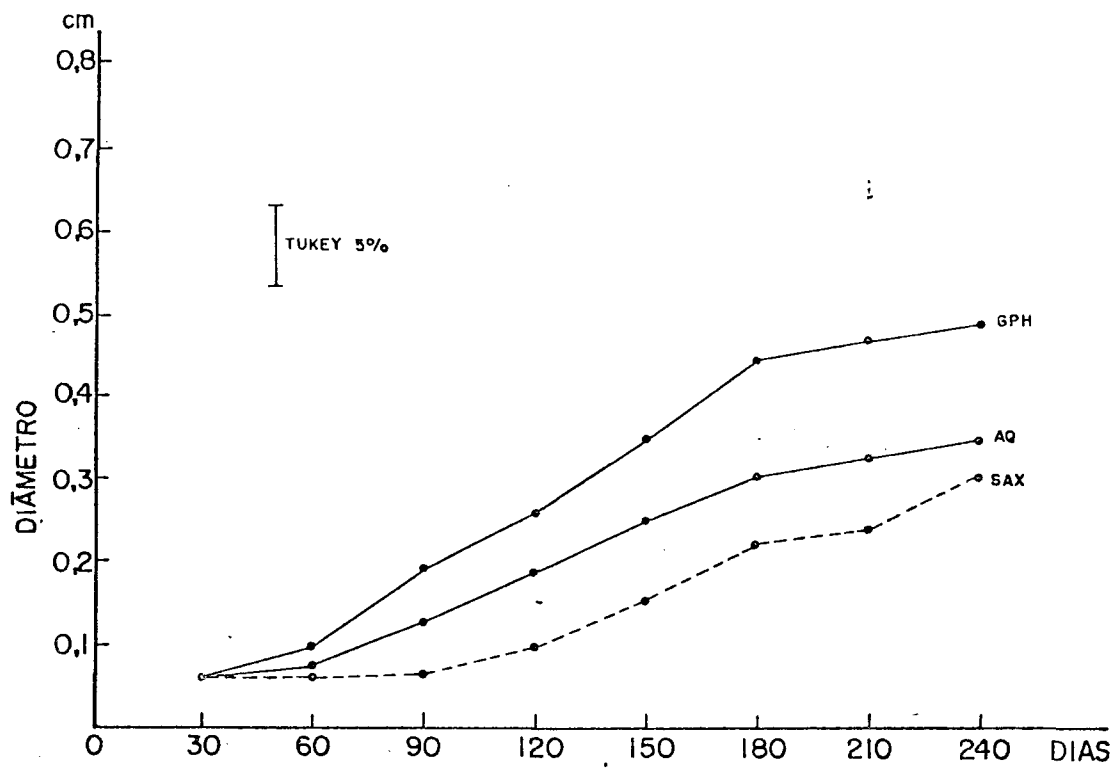


FIGURA 12. DINÂMICA DO CRESCIMENTO EM DIÂMETRO À ALTURA DO COLO (CM) DE *Casuarina equisetifolia* EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS DURANTE 240 DIAS (MÉDIA DE 5 REPETIÇÕES)



*Alnus glutinosa* e *Casuarina equisetifolia*. A casuarina superou o alnus em altura. Com relação ao diâmetro alnus apresentou os melhores resultados em GPH, para o SAX e AQ não houve diferença estatística.

A figura 13 mostra a dinâmica da nodulação das plantas de alnus em GPH e AQ, a exceção do SAX, no qual não ocorreu plantas noduladas. A nodulação não ocorreu em casuarina em nenhum dos solos. Os nódulos encontrados mostraram-se ativos através do teste da redução de acetileno (Tabela 10).

#### 4.1.3 Infecção por MVA

Com relação a presença de MVA também foram traçadas as curvas da dinâmica de infecção para os três solos (Figuras 14 e 15). Para alnus as maiores taxas de colonização de raízes foram encontradas em AQ (53,6%). Para os solos GPH e SAX as taxas de raízes colonizadas ficaram muito próximas: 21,6 e 21% respectivamente. Para casuarina a maior taxa foi no solo GPH (36,2%) seguida por AQ (15,7%) e o SAX (12,4%). Para ambas as espécies os menores índices de infectividade foram no SAX. A casuarina apresentou uma maior especificidade em relação às MVA nativas dos solos estudados.



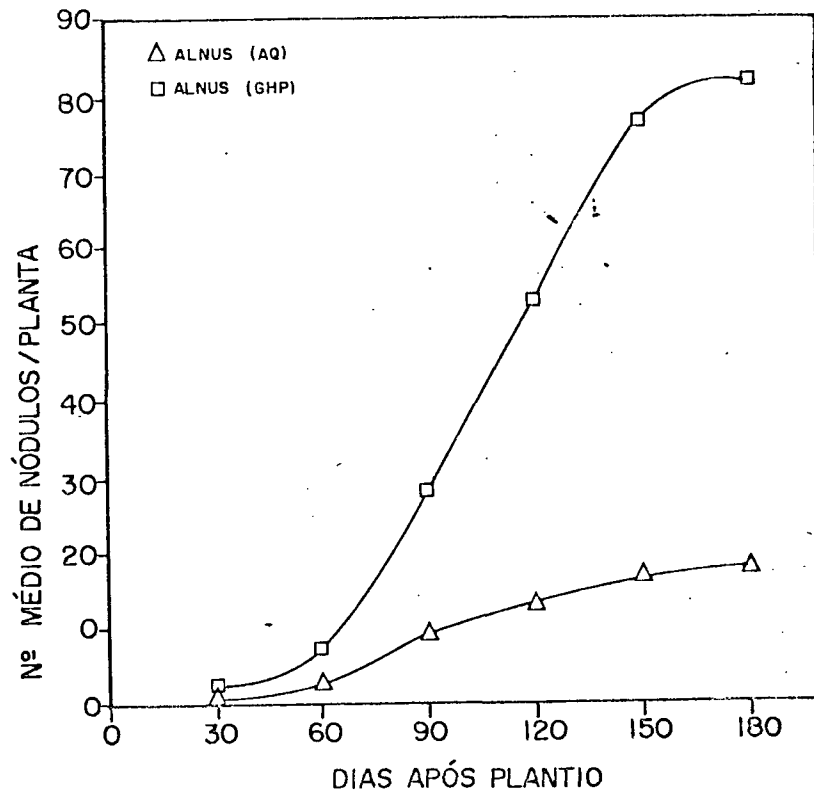
FIGURA 13. DINÂMICA DA INFECÇÃO POR *Frankia* - *Alnus glutinosa*

TABELA 10. NODULAÇÃO E ATIVIDADE DA NITROGENASE EM *Alnus glutinosa* E *Casuarina equisetifolia* EM 3 SOLOS DEGRADADOS (MÉDIA DE 5 REPETIÇÕES)

TRATAMENTOS	NODULAÇÃO	ATIVIDADE DA Nase
Alnus (AQ)	+	++
Casuarina (AQ)	-	-
Alnus (SAX)	-	-
Casuarina (SAX)	-	-
Alnus (GPH)	+	++
Casuarina (GPH)	-	-

+ PRESENÇA DE NÓDULOS

- AUSÊNCIA DE NÓDULOS

++ ATIVIDADE DA NITROGENASE (Nase)

FIGURA 14. DINÂMICA DA INFECÇÃO POR MVA EM *Alnus glutinosa*

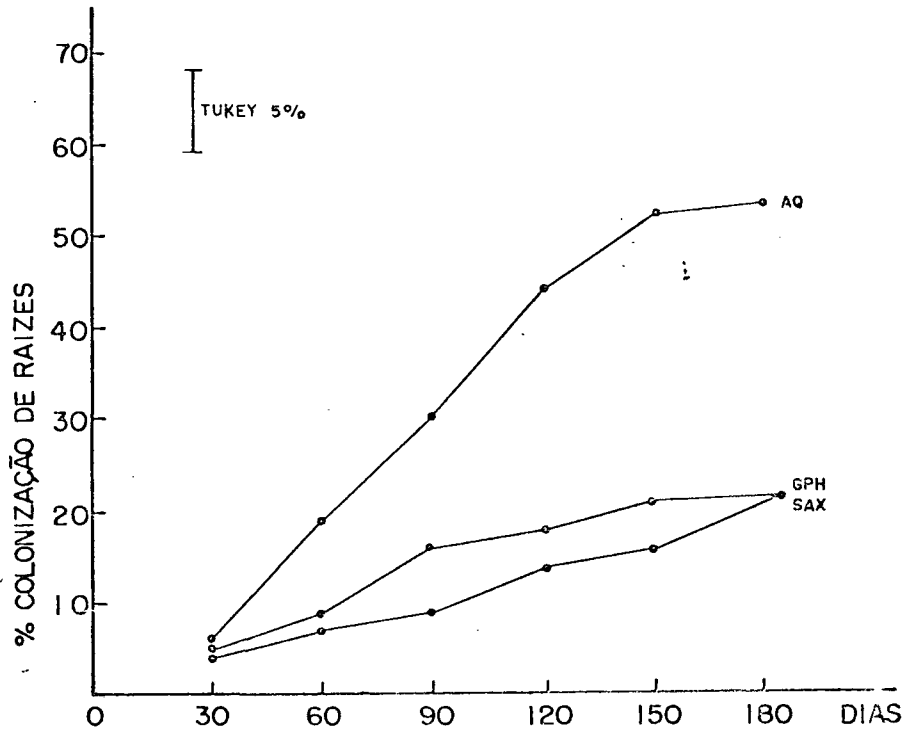
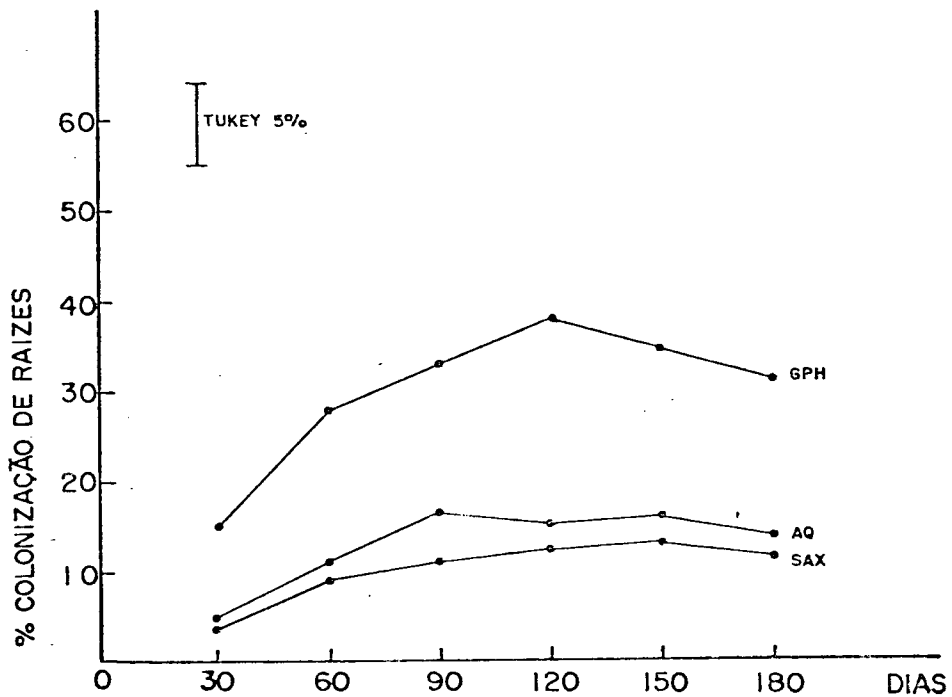


FIGURA 15. DINÂMICA DA INFECÇÃO POR MVA EM *Casuarina equisetifolia*



#### 4.1.4 Análise Química dos Tecidos Vegetais

As tabelas 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, e 18 mostram as concentrações de N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn e Zn na parte aérea das plantas em 4 ocasiões durante o experimento: aos 60 dias (primavera), 120 dias (verão), 180 dias (outono) e 240 dias (inverno).

No caso do nitrogênio (Tabela 11) as maiores concentrações foram em alnus em A0 e alnus em GPH em todas as estações. Estes resultados coincidem com a ocorrência de *Frankia* nos solos. Através de cálculos dos teores de N em toda a planta, foi possível deduzir que essa diferença deve-se a FBN.

Os teores de fósforo diminuíram no decurso do experimento, sendo que alnus em GPH apresentou as maiores concentrações. Os resultados de potássio mostraram que as plantas de casuarina absorvem mais este elemento.

Os níveis de cálcio apresentaram um decréscimo em função do tempo, e entre os tratamentos as diferenças deveram-se as variações deste elemento nos solos. O magnésio manteve-se estável na maioria dos tratamentos, ocorrendo acúmulo nos tecidos ao longo das avaliações.

As variações estacionais encontradas nos teores de Fe, apresentaram maiores níveis nos tecidos das mudas de alnus. O manganês concentrou-se em maior teor na parte aérea de alnus em SAX. Os resultados do zinco mostraram claramente, as diferenças

entre as exigências nutricionais das espécies, sendo os níveis em alnus 4 a 5 vezes maior.

Considerando-se a relação entre peso seco de parte aérea e o peso seco de raízes (Tabelas 20 e 21) das plantas de alnus nos 3 solos, verifica-se que as raízes no SAX cresceram em menor proporção, fato este que pode ser explicado pelo elevado teor de alumínio no solo. As raízes de casuarina também apresentaram-se afetadas pelo teor de alumínio no SAX.

#### 4.1.5 Estimativa do Nitrogênio Fixado por mg de Nódulo

As plantas cultivadas em AQ nodularam e apresentaram maiores teores de nitrogênio nos tecidos da parte aérea e raízes (Tabela 11 e 19) do que as plantas que cresceram em SAX. Os níveis de N nestes solos foram bastante semelhantes e apesar da comparação entre solos diferentes poder apresentar outros fatores além da FBN influenciando no fato das plantas em AQ possuírem maiores níveis de N nos tecidos, mesmo sendo AQ o solo com menores níveis de matéria orgânica; foi feito um exercício de cálculo assumindo que os nódulos foram a fonte adicional de nitrogênio. Partindo-se desta premissa, no período até 120 dias, que corresponde aos meses onde as curvas de crescimento das espécies apresentaram maiores inflexões, foi calculada a diferença de N nas plantas entre aquelas que cresceram em AQ e aquelas em SAX. Nestes cálculos foram utilizados os valores de peso seco de parte aérea, raízes e nódulos (Tabela 20, 21 e 22).

Cálculo do N fixado: N total nas plantas aos 60 e 120 dias respectivamente:

60 d. AQ: 3,7 mg de N parte aérea + 1,5 mg de N raízes = 5,2

SAX: 0,6 mg de N parte aérea + 0,2 mg de N raízes = 0,8

120 d. AQ: 30,6 mg de N parte aérea + 12,1 mg de N raízes = 42,7

SAX: 11,5 mg de N parte aérea + 4,0 mg de N raízes = 15,5

A seguir utilizou-se o peso seco dos nódulos e calculou-se a diferença no período de 60 e 120 dias:

$AQ_{120-60} = 37,5 \text{ mg.planta}^{-1}$

$SAX_{120-60} = 14,7 \text{ mg.planta}^{-1}$

Logo, a diferença foi de 22,8 mg. A diferença de peso nos nódulos neste período foi de 17 mg, portanto o nitrogênio fixado por 17 mg de nódulos foi igual a:

$$22,8 : 17 = 1,3 \text{ mg de N.mg}^{-1} \text{ de nódulo.60 dias}^{-1}.$$

TABELA 11. CONCENTRAÇÃO DE N (%) NA PARTE AÉREA DE *Alnus glutinosa* E *Casuarina equisetifolia*, EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO (MÉDIA DE 5 REPETIÇÕES)

TRATAMENTOS	N (%)			
	PRIMAVERA	VERÃO	OUTONO	INVERNO
<i>Alnus</i> (AQ)	2,44 b	2,23 b	1,84 a	1,66 ab
<i>Alnus</i> (GPH)	3,83 a	2,60 a	2,10 a	1,75 a
<i>Alnus</i> (SAX)	1,41 c	1,47 c	1,10 b	1,32 b
<i>Casuarina</i> (AQ)	2,07 b	1,89 b	0,83 b	1,01 c
<i>Casuarina</i> (GPH)	2,28 b	2,67 a	1,06 b	1,12 c
<i>Casuarina</i> (SAX)	1,09 c	1,59 c	1,02 b	1,27 b

Na mesma coluna, valores com letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 12. CONCENTRAÇÃO DE P (%) NA PARTE AÉREA DE *Alnus glutinosa* E *Casuarina equisetifolia*, EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO (MÉDIA DE 5 REPETIÇÕES)

TRATAMENTOS	P (%)			
	PRIMAVERA	VERÃO	OUTONO	INVERNO
<i>Alnus</i> (AQ)	0,16 bc	0,13 b	0,09 bc	0,07 b
<i>Alnus</i> (GPH)	0,33 a	0,21 a	0,21 a	0,20 a
<i>Alnus</i> (SAX)	0,20 b	0,11 b	0,07 c	0,06 b
<i>Casuarina</i> (AQ)	0,12 c	0,09 b	0,06 c	0,05 b
<i>Casuarina</i> (GPH)	0,16 bc	0,14 b	0,13 b	0,09 b
<i>Casuarina</i> (SAX)	0,11 c	0,12 b	0,07 c	0,06 b

Na mesma coluna, valores com letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 13. CONCENTRAÇÃO DE K (%) NA PARTE AÉREA DE *Alnus glutinosa* E *Casuarina equisetifolia*, EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO (MÉDIA DE 5 REPETIÇÕES)

TRATAMENTOS	K (%)			
	PRIMAVERA	VERÃO	OUTONO	INVERNO
<i>Alnus</i> (AQ)	0,43 b	0,35 b	0,43 b	0,39 b
<i>Alnus</i> (GPH)	0,54 b	0,37 b	0,48 b	0,49 b
<i>Alnus</i> (SAX)	0,75 a	0,60 a	0,57 b	0,49 b
<i>Casuarina</i> (AQ)	0,70 a	0,75 a	0,70 a	0,72 a
<i>Casuarina</i> (GPH)	0,87 a	0,78 a	0,75 a	0,78 a
<i>Casuarina</i> (SAX)	0,87 a	0,85 a	0,97 a	0,75 a

Na mesma coluna, valores com letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 14. CONCENTRAÇÃO DE Ca (%) NA PARTE AÉREA DE *Alnus glutinosa* E *Casuarina equisetifolia*, EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO (MÉDIA DE 5 REPETIÇÕES)

TRATAMENTOS	Ca (%)			
	PRIMAVERA	VERÃO	OUTONO	INVERNO
<i>Alnus</i> (AQ)	1,10 a	1,04 a	0,58 a	0,55 a
<i>Alnus</i> (GPH)	1,01 a	0,87 a	0,51 a	0,51 a
<i>Alnus</i> (SAX)	0,56 c	0,49 c	0,44 a	0,44 a
<i>Casuarina</i> (AQ)	0,85 b	0,81 b	0,55 a	0,46 a
<i>Casuarina</i> (GPH)	1,00 a	0,87 a	0,54 a	0,54 a
<i>Casuarina</i> (SAX)	0,55 b	0,60 bc	0,51 a	0,45 a

Na mesma coluna, valores com letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



TABELA 15. CONCENTRAÇÃO DE Mg (%) NA PARTE AÉREA DE *Alnus glutinosa* E *Casuarina equisetifolia*, EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO (MÉDIA DE 5 REPETIÇÕES)

TRATAMENTOS	Mg (%)			
	PRIMAVERA	VERÃO	OUTONO	INVERNO
<i>Alnus</i> (AQ)	0,26 b	0,21 a	0,23 a	0,20 b
<i>Alnus</i> (GPH)	0,35 a	0,22 a	0,24 a	0,25 a
<i>Alnus</i> (SAX)	0,31 a	0,24 a	0,25 a	0,26 a
<i>Casuarina</i> (AQ)	0,12 c	0,12 b	0,16 b	0,17 c
<i>Casuarina</i> (GPH)	0,21 b	0,19 a	0,23 a	0,25 a
<i>Casuarina</i> (SAX)	0,15 c	0,13 b	0,19 b	0,21 b

Na mesma coluna, valores com letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 16. CONCENTRAÇÃO DE Fe (PPM) NA PARTE AÉREA DE *Alnus glutinosa* E *Casuarina equisetifolia*, EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO (MÉDIA DE 5 REPETIÇÕES)

TRATAMENTOS	Fe (ppm)			
	PRIMAVERA	VERÃO	OUTONO	INVERNO
<i>Alnus</i> (AQ)	554 a	504,2 b	529 b	1658 ab
<i>Alnus</i> (GPH)	428 a	530 ab	1263 a	1429 b
<i>Alnus</i> (SAX)	659 a	645 a	1671 a	1920 a
<i>Casuarina</i> (AQ)	255 b	291 c	674 b	924 c
<i>Casuarina</i> (GPH)	201 b	134 d	518 b	696 c
<i>Casuarina</i> (SAX)	254 b	235 cd	417 b	1463 b

Na mesma coluna, valores com letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 17. CONCENTRAÇÃO DE Mn (PPM) NA PARTE AÉREA DE *Alnus glutinosa* E *Casuarina equisetifolia*, EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO (MÉDIA DE 5 REPETIÇÕES)

TRATAMENTOS	Mn (ppm)							
	PRIMAVERA		VERÃO		OUTONO		INVERNO	
<i>Alnus</i> (AQ)	680	bc	694	bc	453	bc	456	b
<i>Alnus</i> (GPH)	903	b	966	b	353	c	290	b
<i>Alnus</i> (SAX)	1509	a	1588	a	1299	a	1323	a
<i>Casuarina</i> (AQ)	338	c	350	c	825	b	292	b
<i>Casuarina</i> (GPH)	590	bc	494	bc	259	c	346	b
<i>Casuarina</i> (SAX)	876	b	794	bc	648	bc	626	b

Na mesma coluna, valores com letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 18. CONCENTRAÇÃO DE Zn (PPM) NA PARTE AÉREA DE *Alnus glutinosa* E *Casuarina equisetifolia*, EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO (MÉDIA DE 5 REPETIÇÕES)

TRATAMENTOS	Zn (ppm)							
	PRIMAVERA		VERÃO		OUTONO		INVERNO	
<i>Alnus</i> (AQ)	107	b	103	b	83	b	78	bc
<i>Alnus</i> (GPH)	207	a	196	a	133	ab	125	ab
<i>Alnus</i> (SAX)	279	a	228	a	150	a	153	a
<i>Casuarina</i> (AQ)	41	c	40	c	27	c	19	c
<i>Casuarina</i> (GPH)	62	c	51	c	40	c	25	c
<i>Casuarina</i> (SAX)	73	bc	69	bc	43	bc	18	c

Na mesma coluna, valores com letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 19. CONCENTRAÇÃO DE N (%) NAS RAIZES DE *Alnus glutinosa* EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS, AOS 60, 120, 180 E 240 DIAS (MÉDIA DE 5 REPETIÇÕES)

TRATAMENTO	N(%)			
	DIAS			
	60	120	180	240
<i>Alnus</i> (AQ)	1,25	1,32	1,20	0,84
<i>Alnus</i> (GPH)	2,30	1,33	1,30	1,10
<i>Alnus</i> (SAX)	1,10	1,17	0,90	0,93

TABELA 20. PESO SECO DA PARTE AÉREA (g) DE *Alnus glutinosa* CRESCENDO EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS AO 60, 120, 180 E 240 DIAS (MÉDIA DE 5 REPETIÇÕES)

TRATAMENTO	PESO SECO DA PARTE AÉREA (g)			
	DIAS			
	60	120	180	240
<i>Alnus</i> (AQ)	0,05	0,57	1,79	1,71
<i>Alnus</i> (GPH)	0,10	2,50	6,92	6,27
<i>Alnus</i> (SAX)	0,03	0,16	1,32	1,40

TABELA 21. PESO SECO DAS RAÍZES (G) DE *Alnus glutinosa* CRESCENDO EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS AO 60, 120, 180 E 240 DIAS (MÉDIA DE 5 REPETIÇÕES)

TRATAMENTO	PESO SECO DE RAÍZ (g)			
	DIAS			
	60	120	180	240
<i>Alnus</i> (AQ)	0,12	0,92	1,11	1,47
<i>Alnus</i> (GPH)	0,40	4,03	5,12	5,23
<i>Alnus</i> (SAX)	0,02	0,34	0,64	0,67

TABELA 22. PESO SECO DE NÓDULOS (g) DE *Alnus glutinosa* CRESCENDO EM 2 SOLOS DEGRADADOS AOS 60, 120, 180 E 240 DIAS (MÉDIA DE 5 REPETIÇÕES)

TRATAMENTO	PESO SECO DE NÓDULOS (g)			
	DIAS			
	60	120	180	240
<i>Alnus</i> (AQ)	0,001	0,018	0,083	0,089
<i>Alnus</i> (GPH)	0,004	0,080	0,280	0,300

#### 4.2 EXPERIMENTO II

As avaliações de altura e diâmetro à altura do colo (dac) para alnus, bracatinga, eucalipto e casuarina estão nas Figuras 16, 17 e 18. Com relação à altura nos três solos estudados, casuarina foi a espécie que cresceu mais durante os 240 dias, e o alnus foi a menor em todos os substratos. Em AQ apenas alnus diferiu estatisticamente em altura. Em SAX, casuarina e bracatinga apresentaram os melhores resultados, 61,3 e 60,8 cm respectivamente. Em solo GPH, casuarina e bracatinga também foram as melhores plantas, com 81,2 e 87,3 cm de altura respectivamente.

Com relação ao dac, alnus foi a planta que apresentou os melhores resultados. Em AQ e no SAX não houve diferença significativa entre os tratamentos; em GPH, alnus foi o melhor tratamento seguido das demais espécies.

A presença de nódulos de *Frankia* foi detectada nas plantas de alnus e de nódulos de *Rhizobium* em bracatinga nos três solos.

FIGURA 16. ALTURA (CM) DE ALNUS, BRACATINGA, CASUARINA E EUCALIPTO CRESCENDO EM 2 SOLOS DEGRADADOS AOS 240 DIAS

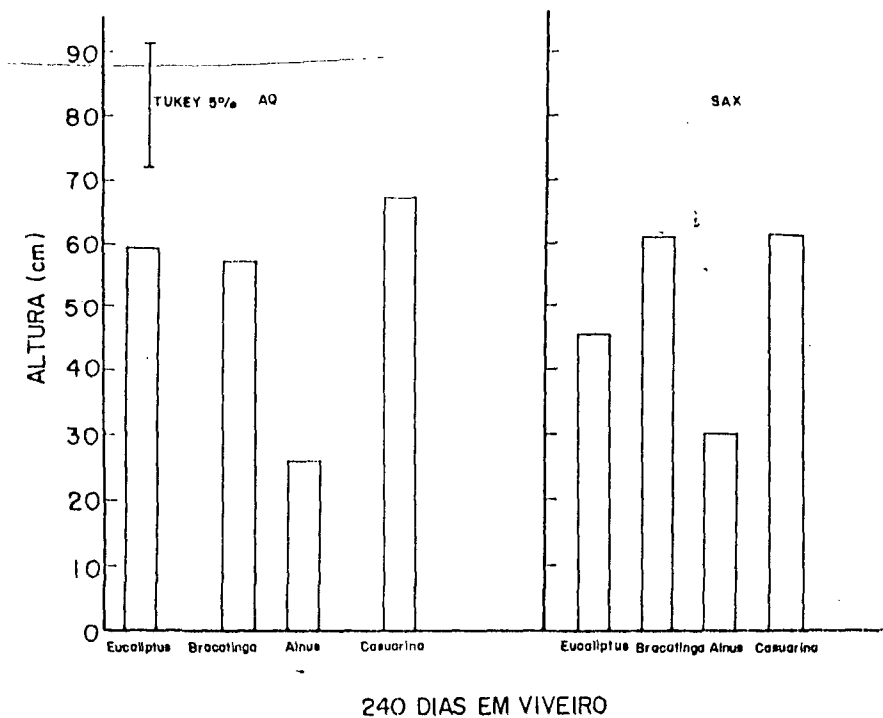


FIGURA 17. ALTURA (CM) DE ALNUS, BRACATINGA, CASUARINA E EUCALIPTO EM GPH AOS 240 DIAS

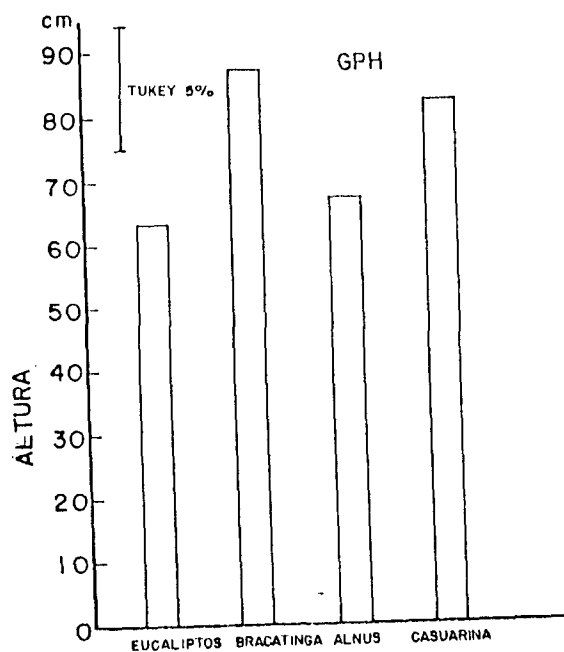
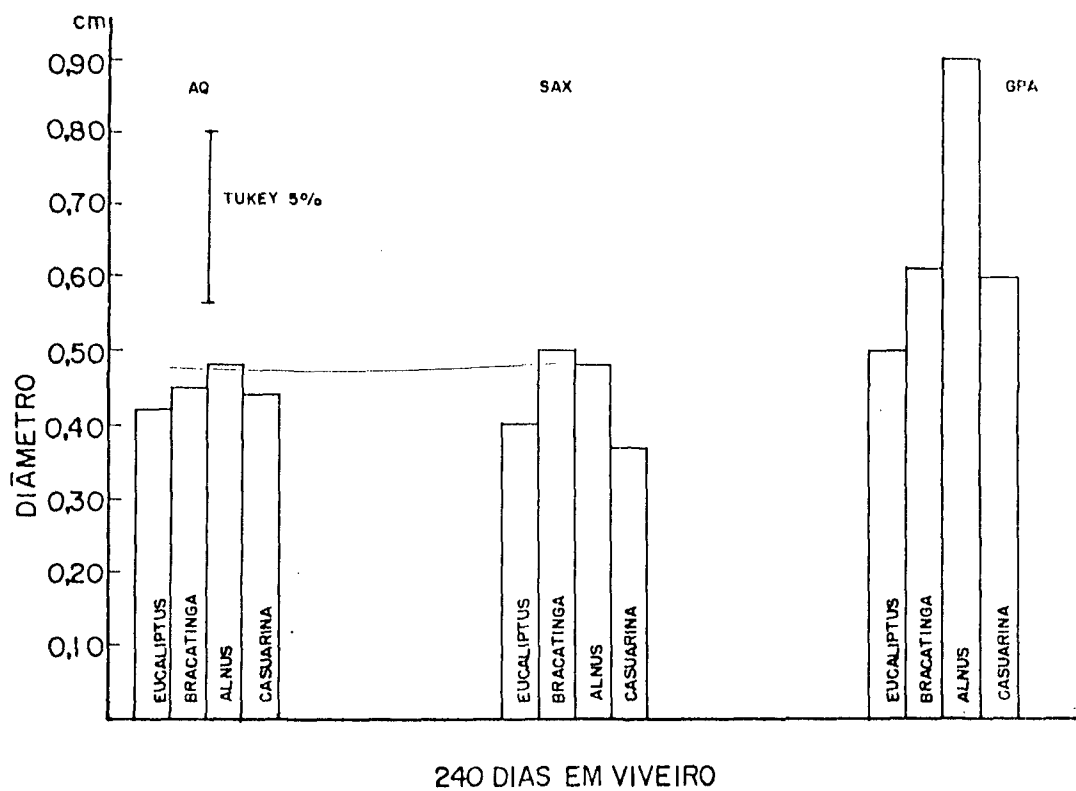


FIGURA 18. DIÂMETRO À ALTURA DO COLO (CM) DE ALNUS, BRACATINGA, CASUARINA E EUCALIPTO CRESCENDO EM TRÊS SOLOS DEGRADADOS AOS 240 DIAS



## 4.3 LEVANTAMENTO

Os resultados do levantamento da nodulação de plantas de *Casuarina* spp em diferentes regiões constam da tabela abaixo:

TABELA 23 - Levantamento da nodulação de plantas de *Casuarina* spp em diferentes regiões.

MUNICIPIOS	TIPO PLANTA	SITIO	PRESENÇA NODULO
Araranguá	árvores 2-3 anos	areia quartzosa	-
Colombo	árvores adultas	solo hidromórfico	-
Curitiba	mudas	substrato c/ elevado teor mat.org.	-
Florianópolis	árvores 3-4 anos	areia quartzosa	-
Foz do Iguaçu	árvores adultas	solo argiloso	-
Itaguaí	árvores 2-5 anos	solo hidromórfico arenoso	+
Londrina	árvores adultas	solo argiloso	-
Paranaguá	árvores 2-4 anos	solo argiloso	-
Paranavaí	árvores 5-6 anos	solo arenoso	-
Rio de Janeiro	mudas	areia quartzosa	+
Vassouras	árvores 4-5 anos	solo arenoso	+

+ Plantas noduladas

- Plantas não noduladas



## 5 DISCUSSÃO

As análises de solo indicaram ser o SAX o solo que apresentou maior grau de dificuldade, em termos de fertilidade, para a implantação de plantios florestais. A análise química de SAX apresentou resultados semelhantes aos encontrados por CHIARANDA et alii<sup>27</sup>. A presença de endossimbiontes no SAX também foi inferior aos demais solos estudados. A queda da atividade biológica em áreas de mineração já foi constatada em diversos trabalhos, principalmente nos primeiros anos após a atividade de mineração (FOX<sup>28</sup>, MILLER et alii<sup>29</sup>, ROSE<sup>114</sup>).

A dinâmica de infecção por *Frankia*, apresentou nos primeiros 30 dias uma fase logarítmica de crescimento que em AQ durou até os 90 dias e depois entrou numa fase de estabilização. Em GPH a fase se prolongou até 120 dias para depois se iniciar a estabilização. A dinâmica de infecção por *Frankia* mostrou um comportamento normalmente encontrado em plantas de alnus (BEDDIAR<sup>19</sup>). Apesar do menor número de nódulos encontrados em alnus em AQ o peso seco dos nódulos foi maior do que os encontrados em GPH.

Com relação a especificidade das estirpes encontradas, que infectaram, apenas alnus pode-se dizer que obedece os conceitos atuais, colocando alnus e casuarina em grupos

diferentes onde não ocorre inoculação cruzada (JIABIN et alii<sup>79</sup>).

A dinâmica de colonização de raízes por MVA mostrou que a casuarina foi mais seletiva e teve suas raízes menos colonizadas do que as de alnus. As taxas de colonização natural só foram satisfatórias em termos de infectibilidade em alnus crescendo em AÔ e casuarina em GPH, significando que a produção de mudas inoculadas com MVA é uma medida recomendável para o plantio das espécies nos demais solos (FAQUIN<sup>52</sup>, LOPES & FERNANDES<sup>65</sup>). Comparando-se a dinâmica de infecção entre as espécies, verifica-se que em alnus esta obedece um ciclo mais lento do que em casuarina. Nos três solos estudados a casuarina levou no máximo 100 dias para ter suas raízes colonizadas enquanto para alnus este processo durou 150 dias.

Pela primeira vez no Brasil foram acompanhados os processos de infecção por *Frankia* e MVA em solos degradados para *Alnus glutinosa* e *Casuarina equisetifolia*. Estas associações simbióticas são amplamente descritas na literatura internacional (GARNER et alii<sup>56</sup>, GAUTHIER et alii<sup>58</sup>, TORREY<sup>121</sup>), e se acreditava que ocorriam no país, porém nunca haviam sido descritas de forma científica.

As curvas de altura e diâmetro para as espécies no experimento I mostram a superioridade nítida da casuarina sobre alnus em relação a altura e o oposto em relação ao diâmetro. Segundo HOBBS<sup>70</sup> e BARNETT<sup>12</sup>, o diâmetro à altura do colo também pode ser um excelente fator para seleção de mudas junto com a altura. O crescimento mais rápido em altura da casuarina deve-se

ao fato de ser uma espécie perenifólia, de clima tropical e subtropical, com índices de crescimento nesta fase maiores do que os de alnus. Contudo o que ficou claro foi que o solo GPH foi o melhor para o desenvolvimento das plantas. Na verdade este solo foi considerado degradado pelo mau uso agrícola ao longo dos anos, mas o seu principal problema estava relacionado à drenagem. Com o experimento instalado em casa de vegetação, esta dificuldade foi atenuada.

As mudas de casuarina em SAX apresentaram crescimento final aos 240 dias de 40,6 cm, resultado este semelhante aos encontrados por MENDES FILHO et alii<sup>98</sup> e POGGIANI et alii<sup>99</sup> com outras espécies de rápido crescimento no mesmo solo.

As avaliações de macro e micro elementos, serviram para corroborar a efetividade dos nódulos encontrados com relação a fixação biológica de nitrogênio. A queda das concentrações de nitrogênio nas plantas aconteceu também em função da diminuição deste elemento no solo, o que coincide com os resultados encontrados por KHANNA & ULRICH<sup>77</sup>. Para alnus a redução foi de 25% e para casuarina de 27%, apesar das plantas de Alnus estarem noduladas em AQ e em GPH. Esta espécie por ser decídua, transloca parte do nitrogênio para outros tecidos. Segundo COTE & CAMIRE<sup>97</sup> e DAWSON & FUNK<sup>44</sup>, alnus é uma das espécies que é mais favorável para plantios em solos degradados pois o "litter" é rico em nutrientes em relação a outras espécies decíduas. A queda dos níveis dos nutrientes após o período de crescimento vegetativo é segundo DRIESSCHE<sup>49</sup>, fato que acontece em diversas espécies arbóreas.

Em alnus os níveis nos tecidos de N, P, K e Mg ocorreram e se comportaram da mesma forma aos encontrados por RODRIGUEZ-BARRUECO *et alii*<sup>141</sup>, com um declínio a medida que se encerra o período de crescimento vegetativo, e não ocorreram níveis limitantes para esses elementos. Com relação aos níveis de Ca em SAX, estes ficaram abaixo dos encontrados nos outros solos. As análises do teor de Fe indicaram um acréscimo muito grande durante as estações, o que sugere que pode ter havido alguma contaminação com solo nas amostras, pois este é o microelemento com maior teor nos solos brasileiros. Os níveis de Mn e Zn não indicam nenhum problema de toxidez. Há escassez de dados sobre os níveis dos nutrientes nos tecidos de casuarina, contudo YADAV<sup>142</sup> trabalhando com solos de baixa fertilidade encontrou níveis de N, P, e K para *Casuarina equisetifolia* com 1 ano de idade semelhantes aos desse trabalho.

Comparando-se os níveis de N no solo AQ e em SAX, se verificou que estão bem próximos, porém os tecidos vegetais apresentam maiores teores para plantas crescendo em AQ. Os nódulos encontrados neste segundo solo mostraram-se ativos na avaliação da atividade da nitrogenase por cromatografia gasosa, e esta atividade é corroborada pelos cálculos da diferença de N na planta, entre as mudas que crescem em AQ e SAX. Esses cálculos mostraram uma fixação de 1,3 mg de N.mg<sup>-1</sup> de nódulo num período de 2 meses, o que pode ser considerado baixo comparando-se com valores encontrados por PIZELLE<sup>143</sup>, CARPENTER *et alii*<sup>144</sup>, MIAN & BOND<sup>145</sup> e, WHEELER<sup>146</sup>. Nas condições do solo AQ

esta fixação não foi suficiente para melhorar os resultados em crescimento que as mudas de alnus apresentaram.

No segundo experimento os melhores resultados em crescimento que as mudas de alnus apresentaram em relação ao primeiro indica que a inoculação com nódulos macerados, oriundos de plantas de viveiro do CNPF/EMBRAPA foi benéfica. Estas novas estirpes nodularam as plantas que cresceram em SAX.

Os índices de crescimento das plantas actinorrízicas mostraram que principalmente *Casuarina equisetifolia* tem elevado potencial para ser utilizada em solos degradados, competindo com espécies como bracatinga e eucalipto. A inoculação destas espécies com estirpes selecionadas deve ser um próximo passo para recuperação de áreas degradadas, pois a inoculação com estirpes eficientes em termos de fixação biológica de  $N_2$  pode trazer resultados até três vezes superiores em crescimento (REDDELL & BOWEN<sup>105</sup>, ROSBROOK et alii<sup>119</sup> e TORREY<sup>179</sup>).

No levantamento realizado em plantas de *Casuarina* spp, os nódulos encontrados são iguais aos descritos por ATHAR & MAHMOOD<sup>9,10</sup> não ocorreram plantas noduladas nos estados do Paraná e Santa Catarina, os nódulos foram encontrados apenas em plantas no Rio de Janeiro. Segundo WHEELER (comunicação pessoal\*), estes resultados indicam que a introdução de casuarina no estado do Rio de Janeiro, foi feita com sementes que vieram com solo da Austrália, pois por ocasião da introdução

\* WHEELER, C.T. Department of Botany, University of Glasgow, Glasgow, G128QQ, U.K.

desta espécie em todo o mundo esta foi uma prática muito utilizada. Já a presença de plantas de alnus noduladas nos estados do Sul, pode ser explicada pela ocorrência de espécies de alnus nativas na América do Sul, como o *Alnus jorullensis* no Chile, facilitando a dispersão do endossimbionte.

## 6 CONCLUSÕES

6.1 Ocorre o actinomiceto *Frankia* em areia quartzosa da Formação Caiuá e em solo gley pouco húmico.

6.2 As estirpes de *Frankia* que nodularam *Alnus glutinosa* não foram infectantes em *Casuarina equisetifolia*.

6.3 Os nódulos encontrados em *Alnus glutinosa* foram efetivos, fixando  $N_2$  atmosférico.

6.4 A atividade de exploração do xisto além de alterar as propriedades químicas e físicas do solo, produz um solo alterado com baixos níveis de MVA e ausência de *Frankia*.

6.5 A inoculação com MVA é eficiente para *Alnus glutinosa* em solo gley pouco húmico e solo alterado pela exploração do xisto, e para *Casuarina equisetifolia* em areia quartzosa e solo alterado.

6.6 As plantas actinorrízicas não apresentaram sintomas de deficiências nutricionais.

6.7 Mudas de *Casuarina equisetifolia* apresentaram índices de crescimento em altura superior ou igual a *Mimosa scabrella* e *Eucalyptus dunnii*.

6.8 A espécie actinorrízica *Alnus glutinosa* apresenta elevado potencial para utilização em solo hidromórfico e *Casuarina equisetifolia* em areia quartzosa.



## SUMMARY

The activity of reforestation in Brazil has not been able to follow the speed of deforestation, resulting in the appearance of distressed soils. The utilization of pioneer nitrogen fixing trees is an alternative for recuperation of these soils and for wood production. The actinorhizal plants are those in association with the actinomycete *Frankia*, which is able to fix atmospheric  $N_2$ . The objective of this work was to determine the occurrence of *Frankia* in distressed soils; to evaluate the initial development of the actinorhizal species *Alnus glutinosa* and *Casuarina equisetifolia* growing on eroded quartzose sand, hidromorphic soil and disturbed soil by mine exploration; and study the presence of symbiotic associations between these plants and microorganisms present in the three different soils. The work was developed in a greenhouse at CNPF/EMBRAPA, Colombo, PR, nursery at CNPDS/EMBRAPA, Itaguaí, RJ and study tours were made through out state of Paraná, Santa Catarina and Rio de Janeiro. The quimical analysis of the soils permitted to verify that disturbed by shale exploration has a high level of aluminium and quartzose sand the lowest level of fertility. The results showed the presence of *Frankia* in quartzose sand and hidromorphic soil. The strains of *Frankia* that infected *Alnus glutinosa*, showed to be effective in terms of biological nitrogen fixation and did not nodulate *Casuarina equisetifolia*. The results of vegetative growing showed a better development of the species in hidromorphic soil, and *Casuarina equisetifolia* showed satisfactory growing rates in quartzose sand. The activity of shale exploration besides affecting the quimical properties of the soil, also showed a disturbed soil with low levels of MVA and absence of *Frankia*. Inoculation with MVA is a necessary measure for *Alnus glutinosa* in hidromorphic soil and disturbed soil from shale exploration, and for *Casuarina equisetifolia* in quartzose sand and disturbed soil. The actinorhizal plants did not show critical levels of macronutrients in their tissues. *Casuarina equisetifolia* seedlings showed growth rates superior or equal to *Mimosa scabrella* and *Eucalyptus dunnii*. The actinorhizal specie *Alnus glutinosa* demonstrated high potential for use in hidromorphic soil and *Casuarina equisetifolia* in quartzose sand.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABBOTT, L.K. & ROBSON, A.D. Infectivity of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils. Aust. J. Agric. Res. 33:1049-59, 1982.
2. ABBOTT, L.K. & ROBSON, A.D. The effect of soil pH on the formation of VA mycorrhizas by two species of *Glomus*. Aust. J. Soil Res. 23:253-61, 1985.
3. AKKERMANS, A.D.L. & HOUWERS, R. Symbiotic nitrogen fixers available for use in temperate forestry. In: GORDON, J.C.; WHEELER, C.T. & PERRY, D.A. eds. Symbiotic nitrogen fixation in the management of temperate forests. Corvallis, Oregon State University, 1979. p.23-25.
4. AKKERMANS, A.D.L. & HOUWERS, R. Morphology of nitrogen fixers in forest ecosystems. In: GORDON, J.C. & WHEELER, C.T., eds. Biological nitrogen fixation in forest ecosystems: foundations and applications. The Hague, Martinus Nijhoff, 1983. p.7-53.
5. ALDON, E.F. Endomycorrhizae enhance shrub growth and survival on mine spoils. In: WRIGHT, R.A. eds. The reclamation of disturbed acid lands. Univ. N. Mex. Press, Albuquerque, 1978. p.174-178.
6. ALLEN, E.B. & ALLEN, M.F. Natural re-establishment of vesicular-arbuscular mycorrhizae following stripmine reclamations in Wyoming. J. of Applied Ecology, 17:139-47, 1980.
7. ANDEKE-LENGUI, M.A. & DOMMERGUES, Y. Coastal sand dune stabilization in Senegal. In: MIDDLEY, S.J.; TURNBULL, J.W. & JOHNSTON, R.D. eds. Casuarina Ecology, Management and Utilization. CSIRO, Melbourne, 1983. p.158-166.
8. ANGULO, A.F.; DJIK, C. van & QUISPÉL, A. Symbiotic interactions in non-leguminous root nodules. In: NUTMAN (IBP7), ed. Symbiotic nitrogen fixation in plants. Cambridge University Press, 1976. p.475-483.
9. ATHAR, M. & MAHMOOD, A. Nodules on roots of *Casuarina equisetifolia* Linn. Pakistan Journal of Botany, 15 (2): 109-112. 1983.

10. ATHAR, M.; MAHMOOD, A. Morphological studies on the nodules of *Casuarina equisetifolia*. Pakistan Journal of Agricultural Research, 4(4):304-306. 1985.
11. BAKER, D.D. Relationship among pure cultured strains of *Frankia* based on host specificity. Physiologia Plantarum, 20, :245-248. 1987.
12. BARLOW, B.A. The casuarina - a taxonomic and biogeographic review. In: MIDGLEY, S.J.; TURNBULL, J.W. & JOHNSTON, R.D. eds. Casuarina Ecology, Management and Utilization. CSIRO, Melbourne, 1983. p.10-18.
13. BARNETT, J.P. Relating seedling physiology to survival and growth in container-grown southern pines. In: DURYEA, M.L. & BROWN, G.N. eds. Seedling physiology and reforestation success. Martinus Nijhoff, Oregon. 1983. p.157-178.
14. BARROWS, H. L. Reclamation of surfaced-mined areas in the United States. In: LUCHOK, T.; CAWTHON, S. D. & BRESLIN, M.J. eds. Hill lands - Proceedings of a International Symposium. West Virginia, University Books, 1976. p. 445-456.
15. BECKING, J.H. Frankiaceae fam. nov. (actinomycetales) with one new combination and six new species of the genus *Frankia brunchorst*, 1986, 174. INT. J. of Systematic Bacteriology, 20(2):201-202. 1970.
16. BECKING J.H. Dinitrogen-fixing associations in higher plants other than legumes. In: HARDY R.F. & SILVER, W.S. eds. A treatise on dinitrogen fixation. New York, Wiley, 1977. p. 185-275.
17. BECKING, J.H. N<sub>2</sub> fixing tropical non-legumes. In: DOMMARGUES, Y.R. & DIEM, H.G. eds. Microbiology of tropical soils and plant productivity. Netherlands, Martinus Nijhoff, w. Junk, 1982. p. 109-146.
18. BEKING, J.H. Identification of the endophyte of *Dryas* and *Rubus* (Rosaceae). Plant and Soil, 28(1-2):105-128. 1984.
19. BEDDIAR, A. Les possibilités d'associations symbiotiques de Aulne glutineux (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn) dans divers soils de L'est de la France. D.E.A. de Biologie et Physiologie Vegetales. Universite de Nancy I, 1984.

20. BERRY, A.M. & TORREY, J.G. Seed germination, seedling inoculation and establishment of *Alnus* spp. in containers in greenhouse trails. Plant and Soil, BZ(1): 161-174. 1985.
21. BIGARELLA, J.J. Erosão continua ameaçando o Paraná. Diário do Paraná, Curitiba, 4. set. 1980. 2 cad. p.1.
22. BINKLEY, D. Nodule biomass and acetylene reduction rates of red alder and Sitka alder on Vancouver Island, B.C.. Can. J. Res., 11:281-286. 1981.
23. BOLAND, D.J.; BROOKER, M.I.H.; CHIPPENDALE, G.M.; HALL, N.; HYLAND, B.P.N.; JOHNSTON, R.D.; KLEINIG, D.A. & TURNER, J.D. Eorest trees of Australia, Melbourne, Nelson, 1984. 687 p.
24. BOND, G. Taxonomy and distribution of non-legume nitrogen fixing systems. In: GORDON, J.S. & WHEELER, C.T. eds. Biological nitrogen fixation and applications. The Hague, Martinus Nijhoff, p.55-87. 1983.
25. BOND, G.; FLETCHER, W.W. & FERGUSON, T.F. The development and root nodules of *Alnus*, *Myrica* and *Hippophae* Plant and Soil, V(4):311-23. 1954.
26. BOND, G. & HEWITT, E.J. The significance of copper for nitrogen fixation in nodulated *Alnus* and *Casuarina* plants. Plant and Soil, XXVII(3): 447-449. 1967.
27. BOND, G. & WHEELER, C.T. Non-legume nodule systems. In: BERGERSEN, F.J. ed. Methods for evaluating biological nitrogen fixation. New York, Wiley, p.185-211. 1980.
28. BREWBAKER, J.L.; BELT, R.van den & MacDICKEN, K. Nitrogen-fixing tree resources: potentialities and limitations. In: GRAHAM, P.H. & MARRIS, S.C. eds. BNE Technology for tropical agriculture. Cali, Colombia, CIAT, 1982. p.413-25.
29. BREWBAKER, J.L.; BELT, R.van den & MacDICKEN, K. Fuelwood uses and properties of nitrogen fixing trees. Pesq. Agropec. Bras. 12: 193-204. 1984.

30. BURGGRAAF, A.J.P. ; LINDEN, J.van den & TAK, T. Studies on the localization of infectible cells on *Alnus glutinosa* roots. Plant and Soil, 24(2): 175-188, 1983.
31. CALLAHAM, D.; TREDICI, P.del & TORREY, J.G. Isolation and cultivation *in vitro* of the actinomycete causing root nodulation in *Comptonia*. Science, 192: 899-902, 1978.
32. CALLAHAM D.; NEWCOMB, W.; TORREY, J.G. & PETERSON, R.L. Root hair infection in actinomycete-induced root nodule initiation in *Casuarina*, *Ayrica* and *Comptonia*. Bot. Gaz., 140(suppl):1-9, 1979.
33. CARPENTER, P.L. & HENSLEY, D.L. Utilizing  $N_2$  fixing woody plant species for distressed soils and the effect of lime on survival. Bot. Gaz., 140 (supl): 576-581, 1979.
34. CARPENTER, C.V.; ROBERTSON, L.R.; GORDON, J.C. & PERRY, D.A. The effect of four new *Frankia* isolates on growth and nitrogenase activity in clones of *Alnus rubra* and *Alnus sinuata*. Can. Jour. of Forest Reseach, 14(5): 701-706, 1984.
35. CARVALHO, P.E.R.; VIANA NETO, J.A.A. & DALMAS, I. Comparação entre essências florestais nativas e exóticas em Quedas do Iguaçu, Pr. - Resultados Preliminares, EMBRAPA/CNPF, Circular técnico, 15, 9p., 1987.
36. CHATARPAUL, L. & CARLISLE, A. Nitrogen fixation: a biotechnological opportunity for Canadian forestry. For. Chron., oct.: 249-259, 1983.
37. CHIARANDA, R.; POGGIANI, F. & SIMÕES, J.W. Crescimento das árvores de deposição de folheda em talhões florestais plantados em solos alterados pela mineração do xisto. IPEE, (25), 25-28, 1983.
38. CÔTÉ, B. & CAMIRE, C. Growth, nitrogen accumulation, and symbiotic dinitrogen fixation in pure and mixed plantings of hybrid poplar and black alder. Plant and Soil, 28(1-2): 209-202, 1984.
39. CÔTÉ, B. & CAMIRÉ, C. Nitrogen cycling in dense plantings by hybrid poplar and black alder. Plant and Soil, 82(1): 195-208, 1985.

40. COYNE, P.D. Specificity between *Casuarina* species and root nodule organisms. In: MIDDLEY, S.J.; TURNBULL, J.W. & JOHNSTON, R.D. eds. Casuarina Ecology, Management and Utilization. CSIRO, Melbourne, 1983. p.205-210.
41. CUQUI, A. População preocupada com os efeitos das agressões à natureza. Jornal SEAGRI, jul., p.5. 1981.
42. DAVEY, C.B. & WOLLUM II, A.G. Nitrogen fixation systems in forest plantations. In: BOWEN, G.D. & NAMBIAR, E.K.S. eds. Nutrition of Plantation Forests. Academic Press, London, 1984. p.361-412.
43. DAWSON, J.O. Dinitrogen fixation in forest ecosystems. Can. J. Microbiol., 22: 979-992, 1983.
44. DAWSON, J.O. & FUNK, D.T. Seasonal change in foliar nitrogen concentration of *Alnus glutinosa*. Eorest Sci., 22(2): 239-243, 1981.
45. DIEM, H.G.; GAUTHIER, D. & DOMMERGUES, Y.R. Extranodular growth of *Frankia* on *Casuarina equisetifolia*. EEMS Microbiology Letters, 15: 181-184, 1982.
46. DOMMERGUES, Y.R.; DIEM, H.G.; GAUTHIER, D.L.; DREYFUS, B.L. & CORNET, F. Nitrogen-fixing trees in the tropics: potentialities and limitations. In: VEEGER, C. & NEWTON, N.E. eds. Advances in Nitrogen Fixation Research. The Hague, Martinus Nijhoff, 1984. p.7-13.
47. DORAN, J. & HALL, N. Notes on fifteen Australian casuarina species. In: MIDDLEY, S.J.; TURNBULL, J.W. & JOHNSTON, R.D. eds. Casuarina Ecology, Management and Utilization. CSIRO, Melbourne, 1983. p. 19-52.
48. DREYFUS, B.L.; DIEM, H.G. & DOMMERGUES, Y.R. Future directions for biological nitrogen fixation reseach. Plant and Soil, 108: 191-199, 1988.
49. DRIESSCHE, R.van den Nutrient storage, retranslocation and relationship of stress to nutrition. In: BOWEN, G.D. & NAMBIAR, E.K.S. eds. Nutrition of Plantation Forests. Academic Press, London, 1984. p.181-210.
50. EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. Levantamento de reconhecimento dos solos do estado do Paraná. Curitiba, EMBRAPA-SNLCS/ SUDESUL/ IAPAR, 2v. (Boletim Técnico, 27), 1984.

51. EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa Florestal. Zoneamento ecológico para plantios florestais no estado do Paraná. Série Documentos, 12, 1986.
52. FAQUIN, V. Cinética da absorção de fosfato, nutrição mineral, crescimento e produção da soja, sob influência de micorriza vesículo-arbuscular (MVA). Piracicaba, ESALQ, 1988. Tese Mestrado.
53. FLEMING, A.I.; WILLIAMS, E.R. & TURNBULL, J.W. Growth and nodulation of provenances of *Casuarina cunninghamiana* inoculated with a range of *Frankia* sources. Aust. J. Bot., 36: 171-181, 1988.
54. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, Forest resources 1980. FAO, Forest Resources Division, Rome. 1980.
55. FOX, J.E.D. Rehabilitation of mined lands. Ecorestry Abstracts, 45(9): 565-600, 1985.
56. GARNER, I.C.; CLELLAND, D.N. & SCOTT, A. Mycorrhizal improvement in non-leguminous nitrogen fixing associations with particular reference to *Hippophaë rhamnoides* L.. Plant and Soil, 8(1-2): 189-200, 1984 .
57. GAUTHIER, D.; DIEM, H.G. & DOMMERGUES, Y. Infectivité et effectivité de souches de *Frankia* isolées de nodules de *Casuarina equisetifolia* et *Hippophaë rhamnoides*. C. R. Acad. Sci. Paris , 293: 489-491, 1981.
58. GAUTHIER, D.; DIEM, H.G. & DOMMERGUES, Y. Preliminary results of research on *Frankia* and endomycorrhizae associated with *Casuarina equisetifolia*. In: MIDDLEY, S.J.; TURNBULL, J.W. & JONSTON, R.D. eds. Casuarina Ecology Management and Utilization. CSIRO, Melbourne, 1983. p. 211-217.
59. GAUTHIER, D.L.; DIEM, H.G. & DOMMERGUES, Y.R. Tropical and subtropical actinorrhizal plant. Pesq. Agropec. Bras., 19: 119-136, 1984.
60. GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist, 84: 489-500, 1980.
61. GORDON, J.C. & DAWSON, J.O. Potential uses of nitrogen-fixing trees and shrubs in commercial forestry. Bot. Gaz., 140(suppl.): 588-590, 1979.

62. GRACA, M.E.C. Influence of light intensity on growth, nodulation and nitrogen fixation of selected woody actinorhizal species. West Lafayette, Indiana. Purdue University, 1983. 109 p. Tese de Doutorado.
63. HALOS, C. Casuarinas in Philippine forest development. In: MIDGLEY, S.J.; TURNBULL, J.W. & JOHNSTON, R.D. eds. Casuarina Ecology, Management and Utilization. CSIRO, Melbourne, 1983. p. 89-98.
64. HALOS, S.C. Production practices for *Casuarina equisetifolia*. In: MIDGLEY, S.J.; TURNBULL, J.W. & JOHNSTON, R.D., eds. Casuarina Ecology, Management and Utilization. CSIRO, Melbourne, 1983. p. 133-134.
65. HANSEN, E.A. & DAWSON, J.O. Effect of *Alnus glutinosa* on hybrid populus height growth in a short-rotation intensity cultured plantation. Eorest Sci., 28(1): 49-59, 1982.
66. HELGERSON, O.T.; GORDON, J.C. & PERRY, D.A. N<sub>2</sub> fixation by red alder (*Alnus rubra*) and scotch broom (*Cytisus scoparius*) planted under precommercially thinned Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*). Plant and Soil, 78(1): 221-234, 1984.
67. HEILMAN, P. Nitrogen and organic-matter accumulation in coal mine spoils supporting red alder stands. Can. J. For. Res., 12: 809-813, 1982.
68. HEILMAN, P. & EKUAN, G. Nodulation and nitrogen fixation by red alder and Sitka alder on coal mine spoils. Can. J. For. Res., 12: 992-997, 1982.
69. HENSLEY, D.L. & CARPENTER P.L. Effect of lime additions to acid strip-mine spoil on survival, growth and nitrogen fixation (acetylene reduction) of several woody legume and actinomycete-nodulated species. Plant and Soil, 72: 353-367, 1984.
70. HOBBS, S.D. The influence of species and stocktype selection on stand establishment. In: DURYAE, M.L. & BROWN, G.N. eds. Seedling physiology and reforestation success. Martinus Nijhoff, Oregon, 1983. p. 179-224.
71. HOUWERS, A. & AKKERMANS, A.D.L. Influence of inoculation on yield of *Alnus glutinosa* in the Netherlands. Plant and Soil, 61: 189-202, 1981.



72. HUSS-DANELL, K. & FREJ, A.K. Distribution of *Frankia* in soils from forest and afforestation sites in north Sweden. Plant and Soil, 20: 407-418, 1986.
73. JAIBIN, H.; ZHEYING, Z.; GUANXIONG, C. & HUICHANG, L. Host range of *Frankia* endophytes. Plant and Soil, BZ(1): 61-66, 1985.
74. JOHNSON, L.A.S. Notes on Casuarinaceae. Laloea, 2(1): 83-84, 1980.
75. JOHNSON, L.A.S. Notes on Casuarinaceae II. J. Adelaide Bot. Gard., 6(1) 73-87, 1982.
76. JORGENSEN, J.R. & WELLS, A.G. Tree nutrition and fast-growing plantations in developing countries. The International Tree Crops Journal, 2: 225-244, 1986.
77. KHANNA, P.H. & ULRICH, B. Soil characteristics influence nutrient supply in forest soils. In: BOWEN, G.D. & NAMBIAR, E.K.S. eds. Nutrition of Plantation Forests. Academic Press, London, 1984. p. 79-119.
78. KLEMMEDSON, J.O. Ecological importance of actinomycete-nodulated plants in the western United States. Bot. Gaz., 130(suppl.): 591-596, 1979.
79. KOHNKE, H. Black alder as a pioneer tree on sand dunes and eroded soils. J. Forest., 32: 333-334, 1941.
80. LAMONT, B.B. & McCOMB, A.J. Soil microorganisms and the formation of proteoid roots. Aust. J. Bot., 22: 681-688, 1974.
81. LAWRIE, A.C. Field nodulation in nine species of *Casuarina* in Victoria. Aust. J. Bot., 30(4): 447-460, 1982.
82. LAWRIE, A.C. Field nodulation of some Victorian *Casuarina* species. In: MIDGLEY, S.J.; TURNBULL, J.W. & JOHNSTON, R.D. eds. Casuarina Ecology Management and Utilization. CSIRO, Melbourne, 1983. p. 118-219.
83. LECHEVALIER, M.P.; HORRIERE, F. & LECHEVALIER, H. The biology of *Frankia* and related organisms. Developments in Industrial Microbiology, 22:51-59, 1982.
84. LITTLE JR., E.L. Common fuelwood crops: a handbook for their identification. Morgantown, West Virginia, 1984. 354p.

85. LOPES, E.S. & FERNANDES, F.A. Endomicorrizas produção de inóculo e inoculação. In: Anais I Reunião Brasileira Sobre Micorrizas. Lavras, 1986. 215 p.
86. LYNCH, J.M. Soil biotechnology. Blackwell Scientific Pub., 1985. 209 p.
87. MALAJCZUK, N. & BOWEN, G.D. Proteoid roots are microbially induced. Nature, 251:316-317, 1974.
88. MENDES FILHO, J.M. de A.; POGGIANI, F. & LAPA, R.P. Comportamento de três espécies florestais em solo alterado pela exploração do xisto na Região de São Mateus do Sul - Pr. EMBRAPA/URPFCS. Série Documentos, 5, 1981. p.149-160.
89. MIAN, S. & BOND, G. The onset of nitrogen fixation in young alder plants and its relation to differentiation in the nodular endophyte. New. Phytol., 80: 187-192, 1978.
90. MILLER, R.V.; STAFFELDT, E.E. & WILLIAMS, B.C. Microbial populations in undisturbed soils and coal mine spoils in semi-arid conditions. U. S. Forest Serv. Research. Note, RM-322, 4p. 1979.
91. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Firewood crops: shrub and tree species for energy production. Washington, 1980. 236p.
92. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Firewood crops: shrub and tree species for energy production. Washington, v.2; 1983. 92p.
93. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Casuarinas: nitrogen fixing trees for adverse sites. Washington, 1984. 118p.
94. NEIVA, J. Conheça o petróleo. Rio de Janeiro, Livro Técnico, 1983. 327p.
95. OLSON, D.F. & PETTEYS, E.Q.P. Casuarina L. In: Seeds of woody plants in the United States. Forest Service, USDA. Agricultural Handbook n450, Washington, D.C., 1974. 211-278p.
96. PAULA, M.A. & SIQUEIRA, J.O. Efeitos da umidade do solo sobre a simbiose endomicorrízica em soja:II. Crescimento, nutrição e relação água-planta. R. Bras. Ci. Solo, 11(3): 289-294, 1987.

97. PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 55(1): 158-161, 1970.
98. PIZELLE, G. Seasonal variations of the sexual reproductive growth and nitrogenase activity ( $C_2N_2$ ) in nature *Alnus glutinosa*. *Plant and Soil*, 20(1-2): 181-188, 1984.
99. POGGIANI, F.; SIMÕES, J.W.; MENDES FILHO, J.M. de A. & MORAIS, A.L. Utilização de espécies florestais de rápido crescimento na recuperação de áreas degradadas. *Série Técnica. IPEE*, 2(4): 1-25, 1981.
100. PONDER JR, F. Presence of endomycorrhizal fungi in recently graded coal mine spoils. *Journal of Soil and Water Conservation*, 34(4): 186-187, 1979.
101. PRÉSENT, G. & CAMIRÉ, C. Biomass production by alders on four abandoned agricultural soils in Québec. *Plant and Soil*, 82(1): 185-194, 1985.
102. RACETTE, S. & TORREY, J.G. The isolation, culture and infectivity of a *Frankia* strain from *Gymnostoma papuanum* (Casuarinaceae). *Plant and Soil*, 118: 165-170, 1989.
103. RAIJ, B. van *Avaliação da fertilidade do solo*. Piracicaba, Instituto Internacional de Potassa, 142p. 1981.
104. REDDELL, P. & BOWEN, G.D. Do single nodules of Casuarinaceae contain more than one *Frankia* strain? *Plant and Soil*, 88: 275-279, 1985.
105. REDDELL, P. & BOWEN, G.D. *Frankia* source affects growth, nodulation and nitrogen fixation in *Casuarina* species. *New Phytol.*, 100: 115-122, 1985.
106. REDDELL, P.; BOWEN, G.D. & ROBSON, A.D. Nodulation of Casuarinaceae in relation to host species and soil properties. *Aust. J. Bot.*, 34: 435-444, 1986.
107. REDDELL, P.; ROSBROOK, P.A.; BOWEN, G.D. & GWAZE, D. Growth responses in *Casuarina cunninghamiana* plantings to inoculation with *Frankia*. *Plant and Soil*, 108(1): 79-86, 1988.
108. REITZ, R.; KLEIN, R.M. & REIS, A. *Projeto madeira de Santa Catarina*. Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues, 1978. 320 p.

109. REITZ, R.; KLEIN, R.M. & REIS, A. Projeto madeira do Rio Grande do Sul, Itajaí, Herbario Barbosa Rodrigues, (Sellowia 34/35). 1983. 525 p.
110. RODRIGUEZ-BARRUECO, C. The occurrence of the root nodule endophyte of *Alnus glutinosa* and *Myrica gale* in soils. J. Gen. Microbiol., 52: 189-194, 1968.
111. RODRIGUEZ-BARRUECO, C.; MIGUEL, C. & SUBRAMANIAM, P. Seasonal fluctuations of the mineral concentration of alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) from the field. Plant and Soil, 28(1-2): 201-208, 1984.
112. RODRIGUEZ-BARRUECO, C.; SEVILLANO, F. & NEBREDA, T.M. Effective nodulation of *Coriaria myrtifolia* L. induced by *Frankia* strains from *Alnus glutinosa* L. (Gaertn.). Plant and Soil, 110(2): 167-176, 1988.
113. ROSBROOK, P.A. & BOWEN, G.D. The ability of tree *Frankia* isolates to nodulate and fix nitrogen with four species of *Casuarina*. Physiologia Plantarum, 20: 373-377, 1987.
114. ROSE, S.L. Mycorrhizal associations of some actinomycete nodulated nitrogen fixing plants. Can. J. Bot., 58: 1449-1454, 1980.
115. SARRUGE, J.R. & HAAG, H.P. Análises químicas em plantas. ESALQ/USP, Piracicaba, edição, 1974. 56 p.
116. SCHWINTZER, C.R. Nitrogen fixation by *Myrica gale* root nodules Massachusetts Wetland. Oecologia (Berl.), 43: 283-294, 1979.
117. SCHWINTZER, C.R. Production, decomposition and nitrogen dynamics of *Myrica gale* litter. Plant and Soil, 28(1-2): 245-258, 1984.
118. SILVA, L.B. X.da; REICHMANN NETO, F. & TOMASELLI, I. Estudo comparativo da produção de biomassa para energia entre 23 espécies florestais. Silvicultura, 28: 872-878, 1983.
119. SIMÕES, J.W.; POGGIANI, F.; BALLONI, E.A., RORIZ, M.deS.; LEITE, J.C.C. & VIDIGAL, R.M. Adaptabilidade de espécies florestais de rápido crescimento em solo alterado pela exploração do xisto. IPEE, 14:1-12, 1978.
120. SIQUEIRA, J.O. & FRANCO, A.A. Biotecnologia do solo - Fundamentos e Perspectivas. MEC-ESAL-FAEPE-ABEAS, Brasília, 1988.

121. SOCIEDADE BRASILEIRA DE SILVICULTURA. A conservação da natureza e o patrimônio florestal brasileiro. SBS, São Paulo, 1987. 14 p.
122. STEELE, D.B.; RAMIREZ, K. & STWERS, M.D. Host plant growth response to inoculation with *Frankia*. Plant and Soil, 118: 139-143, 1989.
123. SYLVESTER, W.B. Dinitrogen fixation by plants association excluding legumes. In: HARDY, R.W.F. & GIBSON, A.H. eds. A treatise on dinitrogen fixation. New York, WILEY, 1977. p. 141-190.
124. SYLVESTER, W.B.; BALBOA, O. & MARTINEZ, J.A. Nodulation and nitrogen fixation in members of the Rhamnaceae (*Colletia*, *Retania*, *Talguea* and *Trevoa*) growing in the chilean matorral. Symbiosis, 1: 29-38, 1985.
125. TARRANT, R.F. Stand development and soil fertility in a Douglas-Fir-Red Alder plantation. Eorest Science, Z(3): 238-246, 1961.
126. TARRANT, R.F. Nitrogen fixation in North American forestry: reseach and aplication. In: GORDON, J.C. & WHEELER, C.T. eds. Biological nitrogen fixation in forest ecosystems: foundation and application. The Hague, Martins Nijhoff, 1983. p. 261-278.
127. TEISSIER du CROSS, E.; JUNG, G. & BARITEAU, M. Alder - *Frankia* interaction and alder - poplar association for biomass production. Plant and Soil, Z8(1-2): 235-244, 1984.
128. TORREY, J.G. Initiation and development of root nodules of *Casuarina* (Casuarinaceae). Amer. J. Bot., 63(3): 335-344, 1976.
129. TORREY, J.G. Nitrogen fixation by actinomycete - nodulate angiosperms. Biol. Science, 28(9): 586-592, 1978.
130. TORREY, J.G. Casuarina: actinorhizal dinitrogen - fixing tree of the tropics. In: MIDGLEY, S.J.; TURNBULL, J.W. & JOHNSTON, R.D. eds. Casuarina Ecology Management and Utilization. CSIRO, Melbourne, 1983. p. 193-204.
131. TORREY, J.G. Root development and root nodulation in *Casuarina*. In: MIDGLEY, S.J.; TURNBULL, J.W. & JOHNSTON, R.D. eds. Casuarina Ecology Management and Utilization. CSIRO, Melbourne, 1983. p. 180-192.

132. TORREY, J.G. & RACETTE, S. Specificity among the Casuarinaceae in root nodulation by *Frankia*. Plant and Soil, 118: 157-164, 1989.
133. TRIPP, L.N.; BEZDICEK, D.F. & HEILMAN, P.E. Seasonal and diurnal patterns and rates of nitrogen fixation by young red alder. Forest Sci., 25(2): 371-380, 1979.
134. TURNBULL, J.W. The use of *Casuarina equisetifolia* for protection forests in China. In: MIDDLEY, S.J.; TURNBULL, J.W. & JOHNSTON, R.D. eds. Casuarina Ecology Management and Utilization. CSIRO, Melbourne, 1983. p. 55-57.
135. TURNBULL, J.W. & MARTENSZ, P.N. Seed production, collection and germination in Casuarinaceae. In: MIDDLEY, S.J.; TURNBULL, J.W. & JOHNSTON, R.D. eds. Casuarina Ecology Management and Utilization. CSIRO, Melbourne, 1983. p. 126-132.
136. TURNER, G.L. & GIBSON, A.H. Measurement of nitrogen fixation by indirect means. In: BERGERSEN, F.J. ed. Methods for evaluating biological nitrogen fixation. New York, Wiley, 1980. p. 111-138.
137. U.S.D.A. United States Department of Agriculture. Woody - plant seed manual. Miscellaneous Publication n 654, 1948. 74-77.
138. VAN DERSAL, W.R. Native woody plants of the United States. U.S. Government Printing Office, Washington, 1938.
139. VERENAUD, L.; CHABOUD, A.; PRIN, Y. & ROUGIER, M. Preinfection events in the establishment of *Alnus* - *Frankia* symbiosis: Development of a spot inoculation technique. Plant and Soil, 82(1): 67-78, 1985.
140. VIEIRA, L.S. Manual de ciência do solo. São Paulo, Ceres, 1975. 464p.
141. WANG, D. Nutrient-use efficiency in five tropical trees. Iri News, fall: 2-3, 1986.

142. WEBER, A. Distribution of spore - positive and spore - negative nodules in stands of *Alnus glutinosa* and *Alnus incana* in Finland. Plant and Soil, 24: 205-213, 1986.
143. WHEELER, C.T. The diurnal fluctuation in nitrogen fixation in the nodules of *Alnus glutinosa* and *Myrica gale*. New Phytol., 68: 675-682, 1969.
144. WHEELER, C.T.; HOOKER, J.E.; CROWE, A. & BERRIER, A.M.M. The improvement and utilization in forestry of nitrogen fixation by actinorhizal plants with special reference to *Alnus* in Scotland. Plant and Soil, 20:393-406, 1986.
145. WHEELER, C.T.; McLAUGHLIN, M.E. & STEELE, P. A comparison of symbiotic nitrogen fixation in Scotland in *Alnus glutinosa* and *Alnus rubra*. Plant and Soil, 61(2): 169-188.
146. WOLLUM II, A.G. & YOUNGBERG, C.T. The influence of nitrogen fixation by non leguminous woody plants on the growth of Pine seedlings. J. Forestry, may: 316-321, 1964.
147. YADAV, J.S.P. Soil limitations for successful establishment and growth of Casuarina plantation. In: MIDDLEY, S.J.; TURNBUL, J.W. & JOHNSTON, R.D. eds. Casuarina Ecology Management and Utilization. CSIRO, Melbourne, 1983. p. 138-157.