

SEEDLINGS OF CASHEW TREES OF THE BRAZILIAN CERRADO INOCULATED WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI AND PHOSPHATE-SOLUBILIZING MICROORGANISMS

PLÁNTULAS DE ANACARDO DEL CERRADO BRASILEÑO INOCULADAS CON HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES Y MICROORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATO

J. Silva Rodrigues-Cabral^{1*}, Kerley Cristina-de Assis², Fabiano Guimarães-Silva¹,
Edson Luiz-Souchie¹, M. Aurélio Carbone-Carneiro³

¹IF Goiano - Câmpus Rio Verde. Rod. Sul Goiana Km 01, Cx. Postal 66. 75.901-970. Rio Verde - Goiás, Brasil. (jsrcabral@gmail.com). ²Embrapa Clima Temperado Rodovia BR 392, Km 78, Cx. Postal 403. 96.010-971. Pelotas - Rio Grande do Sul, Brasil. ³Universidade Federal de Lavras, DCS / Laboratório de Microbiologia do Solo, 37200-000, Lavras - Minas Gerais, Brasil.

ABSTRACT

Soil microbiota carries out important functions in ecosystems, since it influences growth, mineral nutrition and plant health. Phosphorus (P) is the most limiting nutrient in tropical soils and P-solubilizing microorganisms (PSMs) and the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are the most important groups of the soil microbial community. The aim of this study was to evaluate the effect of inoculating PSMs and AMF on the development of cashew trees (*Anacardium othonianum* Rizzini) from the Brazilian Cerrado growing on different substrates. An experiment was carried out in a greenhouse and the experimental design was completely randomized with a factorial 4 × 2 arrangement of treatments: PSMs, AMF, PSMs + AMF and the control. In addition, two substrates were used: a pure one with a sandy loam texture and a mixture of clay loam and clayish textures. Twelve replicates were performed. Data were subjected to an analysis of variance, and means were compared with the Tukey test ($p \leq 0.05$). The co-inoculation with PSMs and AMF resulted in greater height and shoot dry matter of seedlings compared to isolated inoculations with these organisms. Seedlings increased height and shoot fresh and dry matter when grown in a mixture of substrates (soil with clay loam and clay textures). The use of a mixture of substrates also resulted in a greater symbiotic efficiency of *Glomus etunicatum*.

Keywords: *Anacardium othonianum*, promotion of plant growth, mycorrhiza.

* Author for correspondence ♦ Autor responsable.

Received: September, 2011. Approved: September, 2012.

Published as ARTICLE in *Agrociencia* 46: 809-821. 2012.

RESUMEN

La microbiota del suelo desarrolla importantes funciones en los ecosistemas, ya que influye en el crecimiento, la nutrición mineral y la salud de las plantas. El fósforo (P) es el nutriente más limitante en los suelos tropicales, y los microorganismos solubilizadores de P (MSP) y los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son los grupos más importantes de la comunidad microbiana del suelo. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la inoculación de MSP y HMA en el desarrollo de árboles de anacardo (*Anacardium othonianum* Rizzini) de el Cerrado Brasileño con distintos sustratos. Se realizó un experimento en invernadero y el diseño experimental fue completamente aleatorio con un arreglo factorial de 4 × 2 de los tratamientos: MSP, HMA, MSP+HMA y el control. Además, se usaron dos sustratos: uno puro, con textura franco arenoso, y una mezcla de texturas franco arcillosa y arcillosa. Se realizaron 12 réplicas. Los datos se procesaron con un análisis de varianza y las medias se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). La coinoculación con MSP y HMA resultó en mayor altura y materia seca del vástago de las plántulas comparado con las inoculaciones aisladas con estos organismos. Las plántulas aumentaron su altura y materia húmeda y seca del vástago al cultivarse en una mezcla de sustratos (suelo con texturas franco arcillosa y arcillosa). El uso de una mezcla de sustratos también resultó en una eficiencia simbiótica mayor con *Glomus etunicatum*.

Palabras clave: *Anacardium othonianum*, fomento de crecimiento vegetal, micorrizas.

INTRODUCTION

Inorganic P-solubilizing microorganisms (PSMs) play an important role in supplying phosphorus (P) to plants while the solubilizing action is mainly associated with the production of organic acids (Whitelaw, 1999). Inoculation with PSMs either in combination with other beneficial soil microorganisms or by itself may enhance plant development (Silva Filho and Vidor, 2001; Narloch *et al.*, 2002; Souchie *et al.*, 2006). In the soil, PSMs contribute to an increased P concentration in solution, which can be absorbed directly by roots or hyphae of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi (AMF; Moreira and Siqueira, 2006). Likewise, P-solubilizing bacteria may play an important role in interactions between roots and AMF acting as mycorrhiza helper bacteria (Fester *et al.*, 1999). Similarly, there are fungal species that can also enhance plant growth through phosphate solubilization (Soares *et al.*, 2010).

Arbuscular mycorrhizal fungi are recognized by the various positive effects on plant growth, namely, better uptake of nutrients, particularly P, increased volume of exploited soil and higher tolerance to biotic and abiotic factors (Locatelli and Lovato, 2002). The use of these microorganisms may benefit the seedling development of tree species in nurseries, maximizing their ability for establishment in the field (Souchie *et al.*, 2005).

The genus *Anacardium* is composed of 10 species of tropical trees and shrubs, in particular, *Anacardium othonianum* Rizzini, the cashew tree of the Cerrado, is distinguished from other species due to its tree scale and its economic importance, because of this is the principal cashew species of the Midwest region of Brazil (Vieira *et al.*, 2006). The trees of this species reach heights between 3 and 6 m, with boles measuring 1-2 m in height and 20-40 cm in diameter. The fruit is an achene that develops into a pseudofruit, which has several forms and colors, ranging from yellow to red. Therefore, this double fruit is a characteristic of this genus and consists of the combination of the fruit (nut) and the pseudofruit (Correa *et al.*, 2008). This species is found in Brazilian Campo Sujo and Cerradão, and it is a productive species whose seeds germinate easily. Flowering occurs between June and October, with a yield of 200-600 fruits per plant. Its development

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos solubilizadores de fósforo (MSP) tienen una función importante en el suministro de fósforo (P) para las plantas, mientras que la acción solubilizadora se asocia principalmente con la producción de ácidos orgánicos (Whitelaw, 1999). La inoculación con MSP, en combinación con otros microorganismos benéficos del suelo o por sí solos, puede mejorar el desarrollo vegetal (Silva Filho y Vidor, 2001; Narloch *et al.*, 2002; Souchie *et al.*, 2006). En el suelo, los MSP contribuyen a una mayor concentración de P en solución, el cual puede ser absorbido directamente por las raíces o las hifas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA; Moreira y Siqueira, 2006). Además, las bacterias solubilizadoras de P pueden tener una función importante en las interacciones entre las raíces y los HMA que actúan como bacterias que ayudan a las micorrizas (Fester *et al.*, 1999). Similarmente, hay especies de hongos que también pueden mejorar el crecimiento vegetal mediante la solubilización del fosfato (Soares *et al.*, 2010).

Los hongos micorrízicos arbusculares son reconocidos por los diversos efectos positivos en el crecimiento vegetal, específicamente una mejor absorción de nutrientes, particularmente P, mayor volumen de suelo utilizado y mayor tolerancia a los factores biótico y abióticos (Locatelli y Lovato, 2002). El uso de estos microorganismos puede beneficiar el desarrollo de almácigos de especies de árboles en viveros, maximizando su capacidad de establecerse en el campo (Souchie *et al.*, 2005).

El género *Anacardium* está compuesto de 10 especies de árboles y arbustos tropicales; en particular, *Anacardium othonianum* Rizzini, el árbol de anacardo del Cerrado, se distingue de otras especies por su escala de árbol y su importancia económica, porque es la especie principal de anacardo de la región medio occidental de Brasil (Vieira *et al.*, 2006). Los árboles de esta especie alcanzan una altura entre 3 y 6 m, con troncos de 1 a 2 m de altura y 20 a 40 cm de diámetro. El fruto es un aquenio que se desarrolla en un pseudofruto que tiene varias formas y colores de amarillo a rojo. Por tanto, este doble fruto es una característica de este género y consiste de la combinación del fruto (nuez) y el pseudofruto (Correa *et al.*, 2008). Esta especie se encuentra en Campo Sujo y Cerradão brasileño, y es una especie

under environments associated with concretionary soils with high slopes denotes its high potential for the exploration, preservation and management of large areas of the Cerrado (Vieira *et al.*, 2006).

Among the factors that influence the production of seedlings of some species, the type of substrate is important because it directly reflects the quality of the final product. An ideal growth substrate should present homogeneity, low density, good porosity, suitable field capacity and cation exchange as well as be free of pests, pathogens and weeds. In a nursery, substrates must exhibit resistance to the development of pests and diseases, be operational at any time, be abundant and affordable and present good adhesion among particles or adherence to roots. A single material that meets all of these requirements is difficult to find. Therefore, a mixture of two or more materials is preferred to obtain a suitable substrate of good quality (Santos *et al.*, 2000; Cunha *et al.*, 2005; Lacerda *et al.*, 2006).

Selection of materials to produce a substrate should take into consideration the species to be grown, the production conditions (irrigation system, type of fertilization and container size), the availability and price of the material as well as technical issues related to their use. Substrates influence on the architecture of root systems, nutritional status of plants and translocation of water in the soil-plant-atmosphere system (Santos *et al.*, 2000). The most important physical aspect of a substrate is a porous structure for storing and supplying water to plant roots and, at the same time, providing adequate aeration. In addition, the most important chemical characteristics are pH and total concentration of soluble salts because they influence the supply of fertilizers (Santos *et al.*, 2000; Lacerda *et al.*, 2006; Pacheco *et al.*, 2006).

The objective of this study was to evaluate the effect of inoculation of cashew trees of the Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) with PSMs and AMF grown on two different substrates.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was carried out in greenhouse, at the Instituto Federal Goiano (IF Goiano-Câmpus Rio Verde) using plastic pots with a capacity of 300 cm³. Seeds of cashew trees of the Cerrado were obtained from ripe fruits collected at the Gameleira Farm in the municipality of Montes Claros de Goiás, Goiás, Brazil.

productiva cuyas semillas germinan fácilmente. La floración ocurre entre junio y octubre, con un rendimiento de 200 a 600 frutos por planta. Se desarrolla bajo ambientes asociados con suelos con concreciones, con pendientes altas, que denotan su alto potencial para la exploración, preservación y manejo de áreas grandes del Cerrado (Vieira *et al.*, 2006).

Entre los factores que influyen la producción de almácigos de algunas especies, el tipo de sustrato es importante porque refleja directamente la calidad del producto final. Un sustrato ideal para crecimiento debe presentar homogeneidad, densidad baja, porosidad buena, capacidad de campo adecuada e intercambio de cationes, y estar libre de plagas, patógenos y arvences. En un vivero, los sustratos deben exhibir resistencia al desarrollo de plagas y enfermedades, ser operativos en cualquier momento, ser abundantes y asequibles, y presentar una adhesión buena entre partículas o adherencias a raíces. Es difícil encontrar un material que cumpla todos estos requerimientos. Por tanto, se prefiere una mezcla de dos o más materiales, para obtener un sustrato de buena calidad (Santos *et al.*, 2000; Cunha *et al.*, 2005; Lacerda *et al.*, 2006).

La selección de materiales para producir un sustrato debe considerar las especies a cultivar, las condiciones de producción (sistema de irrigación, el tipo de fertilización y el tamaño del contenedor), la disponibilidad y el precio del material, y los problemas técnicos relacionados de su uso. Los sustratos influyen en la arquitectura de los sistemas de raíces, el estado nutricional de las plantas y la traslocación de agua en el sistema suelo-planta-atmósfera (Santos *et al.*, 2000). El aspecto físico más importante del sustrato es una estructura porosa para almacenar y proveer agua a las raíces de las plantas y, al mismo tiempo, proporcionar una aeración adecuada. Además, las características químicas más importantes son pH y concentración total de sales solubles, porque afectan el suministro de los fertilizadores (Santos *et al.*, 2000; Lacerda *et al.*, 2006; Pacheco *et al.*, 2006).

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la inoculación de árboles de anacardo del Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) con MSP y HMA, cultivados en dos sustratos distintos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en invernadero en el Instituto Federal Goiano (IF Goiano-Câmpus Rio Verde), usando macetas

Two types of non-sterile substrates were used; a pure substrate with sandy loam texture (Quartz-Sand Neosol) collected between 10 and 40 cm of depth at the Gameleira Farm; and a mixture 1:1 (v:v) of a red Argisol (clay loam texture), collected at the Rio Preto Farm, and a dystrophic red Latosol (clay texture), collected at the same depth in an area of the IF Goiano-Câmpus Rio Verde. Substrates were not fertilized, and no lime was applied.

Analyses of chemical and physical characteristics of the soils were performed at the Laboratory of Soil Analyses at the Universidade Federal de Lavras according to the Embrapa methodology (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1997; Tables 1 and 2).

Five isolates of PSMs were utilized: three of them were P-solubilizing bacteria (PSB) and two were P-solubilizing fungi (PSF) obtained from the rhizosphere of wheat, sunflower, murici (*Byrsonima verbascifolia*), rice (*Oryza sativa*) and guapeva (*Pouteria gardineriana*). Wheat, rice and sunflower were cultivated for 20 d in a distroferic Red Latosol of medium texture, collected at a depth of 10 to 40 cm in a region of the IF Goiano-Câmpus Rio Verde. To isolate PSMs from tree species (murici and guapeva), three samples were collected from the rhizosphere soil of each tree in areas of the Cerrado preserved in Montes Claros de Goiás.

To obtain PFMs, 10 g sample of rhizosphere soil were mixed with 90 mL of a saline solution (0.85 %), followed by successive dilutions until obtaining a 10⁻⁵ final dilution. Aliquots (200 mL) from each dilution were transferred to sterilized petri dishes, followed by the addition of GL medium (2 g yeast extract, 10 g glucose and 15 g agar) at 45 °C containing CaHPO₄ (10 %), formed by the addition of CaCl₂ (10 %) and K₂HPO₄ (10 %) according to the method of Sylvester-Bradley *et al.* (1982). The appearance of a transparent halo in contrast to opaque medium around a colony of PSB or PSF isolates was indicative of phosphate solubilization. To confirm the P-solubilizing capacity, a sample of fungal and bacterial colonies that showed a clear halo

plásticas con una capacidad de 300 cm³. Las semillas de árboles de anacardo del Cerrado se obtuvieron de frutos maduros recolectados en la Granja Gameleira en el municipio de Montes Claros de Goiás, Brasil.

Se usaron dos tipos de sustratos no estériles; uno puro con textura franco arenosa (Quartz Sad Neosol) recolectado entre 10 y 40 cm de profundidad en la Granja Gameleira; y una mezcla 1:1 (v:v) de un Argisol rojo (textura franca arcillosa), recolectado en la Granja Rio Preto, y un Latosol rojo distrófico (textura de arcilla), recolectado a la misma profundidad en un área del IF Goiano-Câmpus Rio Verde. Los sustratos no se fertilizaron y no se aplicó cal.

Los análisis químicos y las características físicas de los suelos se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Universidade Federal de Lavras, con base en la metodología de Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1997; Cuadros 1 y 2).

Se usaron cinco aislados de MSP: tres de ellos fueron bacterias solubilizadoras de P (BSP) y dos fueron hongos solubilizadores de P (HSP) obtenidos de la rizósfera de trigo, girasol, 'murici' (*Byrsonima verbascifolia*), arroz (*Oryza sativa*) y 'guapeva' (*Pouteria gardineriana*). Se cultivó trigo, arroz y girasol por 20 d en un Latosol rojo distroférico de textura media, recolectado a una profundidad de 10 a 40 cm, en una región del IF Goiano - Câmpus Rio Verde. Para aislar MSP de especies de árboles ('murici' y 'guapeva'), se recolectaron tres muestras del suelo de la rizósfera de cada árbol en áreas del Cerrado conservados en Montes Claros de Goiás.

Para obtener MSP, se mezclaron 10 g de muestra de suelo de rizósfera con 90 mL con una solución salina (0.85%), seguido de diluciones sucesivas hasta obtener una dilución final de 10⁻⁵. Se transfirieron alícuotas de 200 mL de cada dilución a cajas petri esterilizadas, y se añadió medio GL (2 g extracto de levadura, 10 g de glucosa y 15 g de agar) a 45 °C con CaHPO₄ (10 %), formado por la adición de CaCl₂ (10%) y K₂HPO₄ (10 %) según

Table 1. Chemical characteristics of soils collected at the Gameleira Farm (pure substrate) and of the substrate mixture (IF Goiano-Câmpus Rio Verde and Rio Preto Farm) before the start of the experiment in Rio Verde, Goiás.

Cuadro 1. Características químicas de los suelos recolectados en la Granja Gameleira (sustrato puro) y la mezcla de sustratos (IF Goiano-Câmpus Rio Verde y Granja Rio Preto) antes de iniciar el experimento en Rio Verde, Goiás.

Substrate type	pH in water	P	K	Zn	Fe	Mn	Cu	B	S	Ca	Mg	Al	CTC (pH 7.0)			
													V	P-rem	O.M.	O.M.
													mg dm ⁻³	%	mg L ⁻¹	dag kg ⁻¹
Pure	5.3	2.8	44	2.8	476	19.8	3.8	0.2	5.8	2.1	1.3	0.4	8.0	43.8	25.7	1.8
Mixture	5.5	0.4	27	0.5	32	4.5	2.0	0.2	19.5	0.6	0.2	0.1	4.1	21.4	5.8	1.8

O.M. = organic matter ♦ O.M. = materia orgánica.

Table 2. Physical characteristics of soils collected at the Gameleira Farm (pure substrate) and of the substrate mixture (IF Goiano-Câmpus Rio Verde and Rio Preto Farm) before the start of the experiment in Rio Verde, Goiás.

Cuadro 2. Características físicas de los suelos recolectados en la Granja Gameleira (sustrato puro) y la mezcla de sustratos (IF Goiano-Câmpus Rio Verde y Granja Rio Preto) antes iniciar el experimento en Rio Verde, Goiás.

Substrate type	Physical characteristics		
	Sand	Silt dag kg ⁻¹	Clay
Pure	70.0	13.0	17.0
Mixed	41.0	23.0	36.0

around their colonies was removed using a platinum loop to replicate it in another petri dish containing solid GL medium. Colonies were considered to be positive when, after purification, they were able to solubilize CaHPO₄ present in the medium (Barroso and Oliveira, 2001). To standardize the five isolates of PSMs, each was grown in a separate 125 mL Erlenmeyer flask containing liquid GL medium and incubated at 28 °C for 72 h. For direct counting of colony forming units (CFU), successive dilutions were performed until reaching a final dilution of 10⁻⁵. Then, three replicates of dilutions 10⁻⁴ and 10⁻⁵ were plated and incubated at 28 °C for 72 h. The inoculum was standardized to 10⁸ CFU mL⁻¹ and mixed (1:1; v:v) at the time of seed inoculation.

The mycorrhizal inoculum was formed with *Glomus etunicatum* acquired from the Laboratório de Solos-UFG/Câmpus Jataí. At sowing time the tubes that received AMF were inoculated in the planting orifice with 3.3 g of AMF inoculum (10 spores mL⁻¹ of soil). For the inoculation with PSMs, seedlings were inoculated with 1 mL of liquid inoculant mixture (10⁸ CFU mL⁻¹) at the base of each seedling 62 d after emergence (DAE). During the experiment, seedlings were watered twice a day.

The seedlings were harvested at 120 DAE, and the stem diameter, shoot height, fresh and dry matter of shoots and roots, root volume, percentage of colonization by AMF, P available in the substrate and shoot N, P, K, Ca, Mg, S, Na, Cu, Fe, Mn, Z, Co, Mo and B were evaluated.

For the determination of root colonization, fractions of approximately 1 g of roots were separated and preserved in a 50 % ethanol alcohol solution. Afterwards, to evaluate the colonization by AMF, the roots were cleared and stained according to the method of Phillips and Hayman (1970), and the percentage of root colonization was measured with an optical microscope at a 200 × magnification (McGonigle *et al.*, 1990).

el método de Syvester-Bradley *et al.* (1982). La aparición de un halo transparente en contraste con el medio opaco alrededor de una colonia de cepas de BSP o HSP indicaba la solubilización del fosfato. Para confirmar la capacidad solubilizadora de P, se removió una muestra de colonias de hongos y bacterias que mostraron un halo claro alrededor de sus colonias, usando un bucle de platino para replicarlas en otra caja petri con sólo medio GL. Las colonias se consideraron positivas cuando después de la purificación podían solubilizar el CaHPO₄ presente en el medio (Barroso y Oliveira, 2001). Para estandarizar las cinco cepas de MSP, cada una se cultivó por separado en un matraz Erlenmeyer de 125 mL con medio GL líquido, y se incubó 72 h a 28 °C. Para un conteo directo de unidades formadoras de colonias (UFC), se realizaron diluciones sucesivas hasta llegar a la dilución final de 10⁻⁵. Después, se colocaron en cajas petri tres réplicas de diluciones 10⁻⁴ y 10⁻⁵, y se incubaron 72 h a 28 °C. El inóculo se estandarizó a 10⁸ UFC mL⁻¹ y se mezcló (1:1); (v) al momento de la inoculación de las semillas.

El inóculo micorrízico se formó con *Glomus etunicatum* adquirido del Laboratório de Solos-UFG/Câmpus Jataí. Al momento de plantar, los tubos que recibieron HMA se inocularon en el orificio de plantar con 3.3 g de inóculo HMA (10 esporas mL⁻¹ suelo). Para inocular con MSP, las plántulas se inocularon con 1 mL de líquido de mezcla de inoculador (10⁸ UFC mL⁻¹) en la base de cada plántula 62 d después de la emergencia (DDE). Durante el experimento, se regaron las plántulas dos veces al día.

Las plántulas se cosecharon a los 120 DDE y se evaluó diámetro del tallo, altura del brote, materia fresca y seca de brotes y raíces, volumen de raíces, porcentaje de colonización por HMA, P disponible en el sustrato, N, P, K, Ca, Mg, S, Na, Cu, Fe, Mn, Z, Co, Mo y B en brotes.

Para determinar la colonización de raíces, se separaron fracciones de aproximadamente 1 g de raíces y se preservaron en una solución 50% de alcohol de etanol. Después, para evaluar la colonización por HMA, las raíces se limpiaron y se tiñeron de según el método de Phillips y Hayman (1970), y el porcentaje de colonización de raíces se midió con un microscopio óptico de 200 × magnificación (McGonigle *et al.*, 1990).

El diseño experimental fue completamente al azar con un arreglo factorial 4 × 2 de los tratamientos: 1) inoculación (MSP; HSP; MSP + HMA; testigo (sin inoculación); 2) sustratos (sustrato puro; una mezcla de sustrato). Hubo 12 réplicas por tratamiento en 96. Los datos se sometieron a un análisis de varianza y las medias se compararon con la prueba de Tukey (p ≤ 0.05) usando SISVAR (Ferreira, 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La altura y la materia fresca y seca de los brotes fueron mayores en la mezcla de sustrato, comparadas

The experimental design was completely randomized with a 4×2 factorial arrangement of treatments: 1) inoculation (PSMs; AMF; PSMs + AMF; control no inoculation); 2) substrates (pure substrate; a substrate mixture). There were 12 replicates per treatments. Data were subjected to an analysis of variance, and means were compared with the Tukey test ($p \leq 0.05$) using SISVAR (Ferreira, 2008).

RESULTS AND DISCUSSION

Height and shoot fresh and dry matter in the substrate mixture were higher compared with the pure substrate (Table 3). Co-inoculation with PSMs and AMF resulted in greater increases in those variables compared with the control only in the mixed substrates group.

The fact that seedlings showed better development in the mixture of substrates (loamy clay texture with clay texture) might be explained by its lower natural fertility (Table 1) compared to the pure substrate. Because this tree species generally adapts to low soil fertility (Cardoso Filho *et al.*, 2008) the increased presence of nutrients might not stimulate plant growth, similar to a plant species subjected to a genetic improvement process. The mixture of substrates presented greater clay content (Table 2) that enhanced the retention of water available to plants, which might have reduced the effect of water stress.

The co-inoculation of PSMs and AMF resulted in an increased growth possibly due to synergism between these microbial groups. In this sense, PSMs possibly solubilize P adsorbed to clay colloids, while AMF increase the absorption and translocation to the seedlings. Tarafdar and Marschner (1995); and Niranjana *et al.*, (2007) show an increased benefit of combined inoculation with these organisms compared to a single inoculation.

Caldeira *et al.* (2003) evaluated *Glomus clarum* and *G. macrocarpum* separately inoculated in leguminous trees and report an increase in the dry weight of shoots and roots. Likewise, the inoculation with *Gigaspora margarita* and *G. clarum* subject to low P levels (50 and 100 mg kg⁻¹) resulted in an increased plant height, stem diameter and number of leaves of *Jaracatia spinosa* seedlings (Silva *et al.*, 2009). According to Santos *et al.* (2008), red mimosa seedlings inoculated with *Glomus etunicatum* and rhizobia showed higher height and dry shoot matter

con el sustrato puro (Cuadro 3). Sólo en los grupos de sustrato mixto, la coinoculación con MSP y HMA causó mayores aumentos de esas variables, comparado con el testigo.

El hecho de que las plántulas mostraran mejor desarrollo en la mezcla de sustratos (textura franco arcillosa con textura arcillosa) puede explicarse por su menor fertilidad natural (Cuadro 1), comparada con el sustrato puro. Dado que esta especie arbórea generalmente se adapta a poco fértil suelo (Cardoso Filho *et al.*, 2008), la mayor presencia de nutrientes puede no estimular el crecimiento vegetal similar a especies vegetales sujetas a un proceso de mejoramiento genético. La mezcla de sustratos presentó mayor contenido de arcilla (Cuadro 2), aumentando la retención de agua disponible para las plantas, lo cual puede reducir el efecto del estrés hídrico.

La coinoculación con MSP y HMA resultó en un mayor crecimiento, posiblemente gracias a la sinergia entre estos grupos de microbios. En este sentido, los MSP posiblemente solubilizan el P adsorbido a los coloides de la arcilla, mientras que los HMA aumentan la absorción y traslocación hacia las plántulas. Tarafdar y Marschner (1995) y Niranjana *et al.*, (2007) muestran un mayor beneficio de una inoculación combinada con estos organismos comparado con una inoculación única.

Caldeira *et al.* (2003) evaluaron a *Glomus clarum* y *G. macrocarpum* inoculados por separado en árboles de leguminosas y reportaron un aumento en la materia seca de brotes y raíces. Asimismo, la inoculación con *Gigaspora margarita* y *G. clarum* sujetos a bajos niveles de P (50 y 100 mg kg⁻¹) aumentó la altura de la planta, diámetro del tallo y número de hojas en plántulas de *Jaracatia spinosa* (Silva *et al.*, 2009). De acuerdo con Santos *et al.* (2008), plántulas de mimosa roja inoculados con *Glomus etunicatum* y *Rhizobium* mostraron mayor altura y materia seca de brotes, comparadas con las inoculadas (*Anacardium othonianum* Rizzini) con *G. etunicatum*. De manera similar, la coinoculación con una mezcla de HMA (*G. margarita*, *G. etunicatum* y *Scutellospora nigra*) y *Rhizobium* contribuyó directamente a la fijación biológica del N y la nodulación de las plántulas de *Leucaena*, maximizando la formación de las plántulas (Araújo *et al.*, 2001). Además, la coinoculación con HMA indígenas (*Glomus macrocarpum*, *G. etunicatum* y *Entrophospora colombiana*) y *Rhizobium* en *Aca-cia mangium* Willd resultó en mayor producción de

Table 3. Height, fresh and dry matter of shoots of cashew trees of the Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini), cultivated in two substrates[†] and inoculated with P-solubilizing microorganisms (PSMs) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), in Rio Verde, Goiás.

Cuadro 3. Altura, materia fresca y seca de brotes de árboles de anacardo del Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini), cultivados en dos sustratos[†] e inoculados con microorganismos solubilizadores de P (MSP) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en Rio Verde, Goiás.

Treatments	Shoots height (mm plant ⁻¹)	
	Pure substrate	Mixture of substrates
PSMs	97.45 Ab	158.63 ABa
AMF	111.93 Ab	144.75 Ba
PSMs + AMF	101.88 Ab	181.07 Aa
Control	106.22 Ab	146.13 Ba
CV(%) = 22.60		
Shoot fresh matter (g plant ⁻¹)		
PSMs	4.18 Ab	7.58 ABa
AMF	4.99 Ab	7.07 ABa
PSMs + AMF	4.41 Ab	8.88 Aa
Control	4.87 Ab	6.64 Ba
CV(%) = 28.27		
Shoots dry matter (g plant ⁻¹)		
PSMs	1.56 Ab	2.75 ABa
AMF	1.84 Ab	2.61 ABa
PSMs + AMF	1.60 Ab	3.27 Aa
Control	1.79 Ab	2.54 Ba
CV(%) = 29.17		

Means with a different letters (capital letter in columns; small letter in rows), are statistically different ($p \leq 0.05$) ♦ Medias con letras diferentes (mayúsculas en columnas; minúsculas en hileras, son diferentes ($p \leq 0.05$).

[†]Pure substrate: sandy loam texture (Quartz-Sand Neosol) collected between 10 and 40 cm of depth; Mixture of substrates: a mixture 1:1 (v:v) of a Red Argisol (clay loam texture) and a dystrophic Red Latosol (clay texture), collected at the same depth ♦ Substrato puro: textura franco arenoso (arena cuarzosa suelo nuevo) recolectado entre 10 y 40 cm de profundidad; mezcla de sustratos; una mezcla 1:1 (v:v) de Argisol rojo (textura franco arcillosa) y un Latosol rojo distrofico (textura arenosa) recolectada en la misma profundidad.

content, compared with seedlings inoculated only with *G. etunicatum*. Similarly, co-inoculation with a mixture of AMF (*G. margarita*, *G. etunicatum* and *Scutellospora nigra*) and *Rhizobium* directly contributed to the biological fixation of N and

materia seca y contenido de N en los brotes (Schiavo y Martins, 2003). Según Tristão *et al.* (2006), el desarrollo de plántulas de café en sustrato convencional (suelo+estiércol) inoculado con *G. margarita* causó mayor crecimiento y producción de biomasa.

La mezcla de sustrato también aumentó la materia fresca de raíces y el volumen de raíces (Figuras 1A y 2). No se detectaron diferencias entre los sustratos al comparar la materia seca de las raíces (Figura 1B). En contraste, las plántulas presentaron mayor diámetro con el sustrato puro (Figura 3).

El método utilizado para evaluar la colonización de raíces por HMA mostró fragmentos de raíces con buen color y claridad de plántulas de árboles de anacardo del Cerrado cultivados en sustrato puro. Sin embargo, no hubo coloración similar con fragmentos de plántulas crecidos en la mezcla porque eran más pigmentados y leñosos. La producción de compuestos fenólicos los cuales aumentan de la pigmentación de raíces, es una respuesta común de plantas del Cerrado durante el crecimiento y el desarrollo. Estos compuestos resisten el proceso de clarificación con KOH (Detmann *et al.*, 2008), requiriendo métodos adicionales para aclarar las raíces de los ensayos con colonización micorrízica.

En el sustrato puro, los tratamientos con MSP + HMA y el testigo produjeron porcentajes mayores de colonización micorrízica (16.61 y 20.71 %), mientras que el tratamiento con MSP tuvo el valor menor, 5.17 % (Cuadro 4). El tratamiento testigo no difirió significativamente de los tratamientos con HMA y MSP + HMA. Este resultado indica que no hubo respuesta de las plántulas la inoculación con *G. etunicatum* y que la colonización detectada en el testigo se debió a la presencia de propágulos de HMA en el sustrato porque éste no estaba esterilizado. A pesar de que no se han identificado las especies indígenas silvestres de HMA en el sustrato utilizado para el tratamiento testigo, algunas especies de HMA estaban presentes y fueron responsables de este resultado de micorrización de la planta.

En cuanto a la eficiencia simbiótica (es decir, la diferencia en el porcentaje de producción de materia seca de brotes entre plantas micorrízicas y no micorrízicas), los valores más altos se observaron en tratamientos con HMA, mientras que la inoculación tuvo un efecto negativo en tratamientos con MSP y MSP + HMA en el sustrato puro. Para la mezcla de sustratos, el resultado más alto se obtuvo con MSP + HMA (Cuadro 5).

nodulation of *Leucaena* seedlings, maximizing seedling formation (Araújo *et al.*, 2001). In addition, co-inoculation of indigenous AMF (*Glomus macrocarpum*, *G. etunicatum* and *Entrophospora colombiana*) and *Rhizobium* in *Acacia mangium* Willd resulted in greater dry matter production and N content in shoots (Schiavo and Martins, 2003). According to Tristão *et al.* (2006), the development of coffee seedlings in conventional substrate (soil + manure) inoculated with *G. margarita* caused greater growth and biomass production.

The soil mixture also increased root fresh matter and root volume (Figures 1A and 2). No differences were detected between substrates when comparing root dry matter (Figure 1B). In contrast, seedlings presented a greater stem diameter with the pure substrate (Figure 3).

The method used for assessing root colonization by AMF showed root fragments with good color and clarity from seedlings of cashew trees of the

La coinoculación con MSP + HMA resultó en una proporción mayor de raíz fresca y materia de retoño en el sustrato puro, mientras que los valores mayores corresponden a los tratamientos con HMA solamente y el testigo. En la mezcla, la proporción más alta se obtuvo con el tratamiento de HMA y la más baja con MSP y MSP + HMA (Cuadro 6).

Los valores mayores de materia fresca de raíz y materia seca de raíz correspondieron a los tratamientos con MSP y MSP + HMA en el sustrato puro. Similarmente, con la mezcla de sustratos, el tratamiento de HMA mostró el valor mayor.

Al final del estudio la mezcla de sustratos mostró mayor contenido disponible de P (3.4 mg dm^{-3}), en comparación con el sustrato puro (0.5 mg dm^{-3}). Este resultado se puede explicar por el mayor contenido de Ca y Fe en el sustrato puro (Cuadro 1). Esta característica favoreció la formación de complejos de fosfato en reacciones y resultó en una menor disponibilidad de P en la solución del suelo.

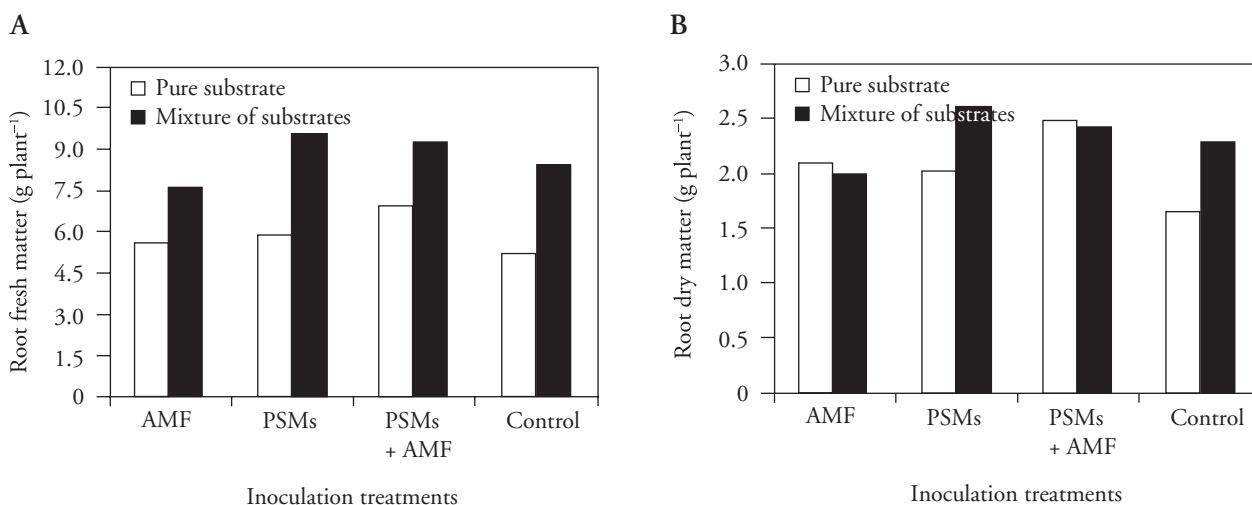


Figure 1. Fresh (A) and dry (B) matter of roots from seedlings of cashew trees of the Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) cultivated in two substrates[†] and inoculated with P-solubilizing microorganisms (PSMs) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), in Rio Verde, Goiás.

Means followed by a different letter (capital letter among inoculation treatments and small letter between substrates) are statistically significantly different ($p \leq 0.05$). CV (%) = 31.32 (A) and CV (%) = 39.77 (B).

[†]Pure substrate: sandy loam texture (Quartz-Sand Neosol) collected between 10 and 40 cm of depth; Mixture of substrates: a mixture 1:1 (v:v) of a Red Argisol (clay loam texture) and a dystrophic Red Latosol (clay texture), collected at the same depth.

Figura 1. Materia fresca (A) y seca (B) de raíces de plántulas de árboles de anacardo del Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) cultivados en dos sustratos[†] e inoculados con microorganismos solubilizadores de P (MSP) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en Rio Verde, Goiás.

Medias con letras diferentes (mayúsculas entre tratamientos de inoculación y minúsculas entre sustratos) son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$). CV (%) = 31.32 (A) and CV (%) = 39.77 (B).

[†]Sustrato puro: textura franco arenoso (arena cuarzosa suelo nuevo) recolectado entre 10 y 40 cm de profundidad; mezcla de sustratos; una mezcla 1:1 (v:v) de Argisol rojo (textura franco arcillosa) y un Latosol rojo distrofico (textura arenosa) recolectada en la misma profundidad.

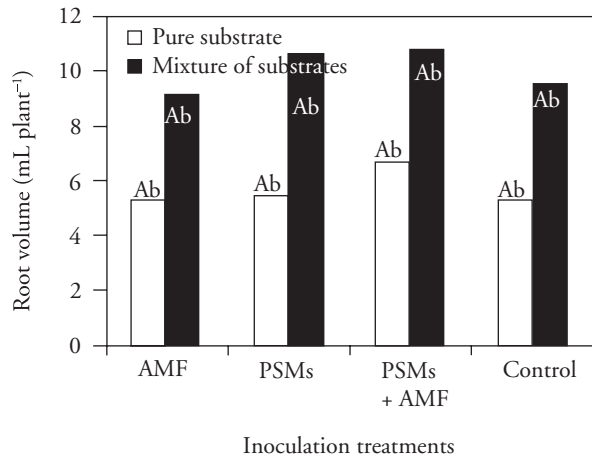


Figure 2. Root volume of seedlings of cashew trees of the Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) cultivated in two substrates[†] and inoculated with P-solubilizing microorganisms (PSMs) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), in Rio Verde, Goiás.

Means followed by a different letter (capital letter among inoculation treatments and small letter between substrates), are statistically different ($p \leq 0.05$). CV (%) = 32.34.

[†]Pure substrate: sandy loam texture (Quartz-Sand Neosol) collected between 10 and 40 cm of depth; Mixture of substrates: a mixture 1:1 (v:v) of a Red Argisol (clay loam texture) and a dystrophic Red Latosol (clay texture), collected at the same depth.

Figura 2. Volumen de raíces de plántulas de árboles de anacardo del Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) cultivados en dos sustratos[†] e inoculados con microorganismos solubilizadores de P (MSP) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en Rio Verde, Goiás.

Medias con letras diferentes (mayúsculas entre tratamientos de inoculación y minúsculas entre sustratos) son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$). CV (%) = 32.34.

[†]Substrato puro: textura franco arenoso (arena cuarzosa suelo nuevo) recolectado entre 10 y 40 cm de profundidad; mezcla de sustratos; una mezcla 1:1 (v:v) de Argisol rojo (textura franco arcillosa) y un Latosol rojo distrofico (textura arenosa) recolectada en la misma profundidad.

Cerrado grown in the pure substrate. However, similar coloration did not occur with root fragments of seedlings grown in the mixture because these were more pigmented and ligneous. The production of phenolic compounds, which increase the pigmentation of roots, is a common response of Cerrado plants during growth and development. These compounds resist the process of clarification with KOH (Detmann *et al.*, 2008), requiring additional methods to clarify the roots for the assessment of mycorrhizal colonization.

In the pure substrate, treatments with PSMs + AMF and the control produced higher percentages of mycorrhizal colonization, (16.61 and 20.71 %),

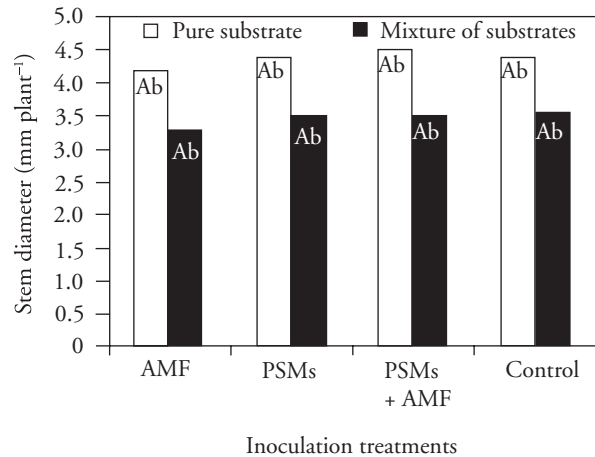


Figure 3. Stem diameter of seedlings of cashew trees of the Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) cultivated in two substrates[†] and inoculated with P-solubilizing microorganisms (PSMs) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), in Rio Verde, Goiás.

Means followed by a different letter (capital letter among inoculation treatments and small letter between substrates) are statistically different ($p \leq 0.05$). CV (%) = 16.42.

[†]Pure substrate: sandy loam texture (Quartz-Sand Neosol) collected between 10 and 40 cm of depth; Mixture of substrates: a mixture 1:1 (v:v) of a Red Argisol (clay loam texture) and a dystrophic Red Latosol (clay texture), collected at the same depth.

Figura 3. Diámetro de tallos de plántulas de árboles de anacardo del Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) cultivados en dos sustratos[†] e inoculados con microorganismos solubilizadores de P (MSP) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en Rio Verde, Goiás.

Medias con letras diferentes (mayúsculas entre tratamientos de inoculación y minúsculas entre sustratos) son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$). CV (%) = 16.42.

[†]Substrato puro: textura franco arenoso (arena cuarzosa suelo nuevo) recolectado entre 10 y 40 cm de profundidad; mezcla de sustratos; una mezcla 1:1 (v:v) de Argisol rojo (textura franco arcillosa) y un Latosol rojo distrofico (textura arenosa) recolectada en la misma profundidad.

No se observaron efectos en el contenido de N con los tratamientos de inoculación en los brotes cultivados en sustrato puro (Cuadro 7). Sin embargo, para la mezcla de sustratos, se observó un mayor contenido de N en brotes inoculados con HMA comparados con el testigo. Chu *et al.* (2001) y Weber *et al.* (2004) también reportan contenidos mayores de N en brotes tempranos de anacardo enano y guanábana (*Annona muricata* L.) cuando se inoculó con HMA. No se observó diferencia entre los tratamientos de inoculación y el control en los niveles de P, K, Ca, Mg, S, Na, Cu, Fe, Mn, Zn, Co, Mo y B en brotes de plántulas cultivadas en la mezcla de sustratos (Cuadro 7). De manera similar, en el sustrato puro

while the treatment with PSMs had the lowest value, 5.17 % (Table 4). The control treatment did not significantly differ from the treatments with AMF and PSMs + AMF. This result indicates that there was no response from seedlings to the inoculation with *G. etunicatum* and that the colonization detected in the control was due to the presence of AMF propagules in the substrate because it was not sterilized. Despite indigenous AMF species have not been identified in the substrate used for the control treatment, some AMF species were present and responsible for this plant mycorrhization result.

Regarding symbiotic efficiency (*i.e.* the difference in percentage of shoot dry matter production between mycorrhizal and non-mycorrhizal plants), the highest values were observed in treatments with AMF, while the inoculation had a negative effect on treatments with PSMs and PSMs + AMF in the pure substrate. For the mixture of substrates, the greatest result was obtained with the PSMs + AMF (Table 5).

The co-inoculation with PSMs + AMF resulted in a higher fresh root and shoot matter ratio in the pure substrate, while the highest values corresponded to the treatments only with AMF and the control. In the mixture, the highest ratio was obtained with the AMF treatment and the lowest with PSMs and PSMs + AMF (Table 6).

The highest values of fresh root matter and dry shoot matter corresponded to treatments with PSMs and PSMs + AMF in the pure substrate. Similarly, with substrates mixture, the AMF treatment showed the highest value.

At the end of the study, the substrates mixture showed higher content of available P (3.4 mg dm^{-3}) compared with the pure substrate (0.5 mg dm^{-3}). This outcome might be explained by the higher content of Ca and Fe in the pure substrate (Table 1). This characteristic favored the phosphate complexation reactions and resulted in lower availability of P in the soil solution.

No effects of the inoculation treatments were observed in the N content in the shoots grown in pure substrate (Table 7). However, for the mixture of substrates, a higher N content was observed in shoots inoculated with AMF compared with the control. Chu *et al.* (2001) and Weber *et al.* (2004) also report higher N contents in shoots of early dwarf cashew and soursop (*Annona muricata* L.) when inoculated with AMF. No difference was observed between the

Table 4. Percentage of root colonization in seedlings of cashew trees of the Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) cultivated in pure substrate and inoculated with P-solubilizing microorganisms (PSMs) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), in Rio Verde, Goiás.

Cuadro 4. Porcentaje de colonización de la raíz en almácigos de árboles de anacardo del Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) cultivados en sustrato puro e inoculados con microorganismos solubilizadores de P (MSP) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en Rio Verde, Goiás.

Treatments	Percentage of mycorrhizal colonization (%)
PSMs	5.17 b
AMF	12.79 ab
PSMs + AMF	16.61 a
Control	20.71 a
CV (%) = 36.23	

Means followed by a different letter are statistically different ($p \leq 0.05$) ♦ Medias con letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).

no se encontró diferencia entre los tratamientos de inoculación respecto a los niveles de la mayoría de los nutrientes en brotes. Los árboles de anacardo del Cerrado, hasta el momento, no han pasado por ningún tipo de mejoramiento genético; por tanto, fue más difícil detectar el efecto de los tratamientos de inoculación con microbios. Silva *et al.* (2003) señalan los beneficios de la inoculación con HMA en la nutrición y el crecimiento de *Eucalyptus*, una de las especies arbóreas genéticamente mejoradas.

CONCLUSIONES

La coinoculación con MSP + HMA resultó en mayor altura y contenido de materia seca del vástago de plántulas de árboles de anacardo del Cerrado, en comparación con el control. Los plántulas de árboles de anacardo del Cerrado tuvieron un mejor rendimiento al cultivarse en una mezcla de sustratos (suelo con textura franco arcillosa y de arcilla). Sin embargo, no hubo preferencia al inocular con *Glomus etunicatum* las plántulas crecidas en sustrato puro. Parece ser que la mezcla de sustratos de suelo produjo una mayor eficiencia simbiótica de *Glomus etunicatum*.

—Fin de la versión en español—

-----*-----

Table 5. Symbiotic efficiency of *Glomus etunicatum* in seedlings of cashew trees of the Cerrado cultivated in two substrates, and inoculated with P-solubilizing microorganisms (PSMs) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), in Rio Verde, Goiás.

Cuadro 5. Eficiencia simbiótica de *Glomus etunicatum* en almácigos de árboles de anacardo del Cerrado cultivados en dos sustratos, e inoculados con microorganismos solubilizadores de P (MSP) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en Rio Verde, Goiás.

Treatments	Symbiotic efficiency (%) [†]	
	Pure substrate [‡]	Mixture of substrates
PSMs	87.15	108.27
AMF	102.79	102.75
PSMs + AMF	89.38	128.74

[†]Symbiotic efficiency = (dry matter of shoots of mycorrhizal plants/dry matter of shoot of control) × 100 ♦ Eficiencia simbiótica = (materia de brotes de plantas micorrízicas/materia seca de brotes del testigo) × 100.

[‡]Pure substrate: sandy loam texture (Quartz-Sand Neosol) collected between 10 and 40 cm of depth; Mixture of substrates: a mixture 1:1 (v:v) of a Red Argisol (clay loam texture) and a dystrophic Red Latosol (clay texture), collected at the same depth ♦ Substrato puro: textura franco arenoso (arena cuarzosa suelo nuevo) recolectado entre 10 y 40 cm de profundidad; mezcla de sustratos; una mezcla 1:1 (v:v) de Argisol rojo (textura franco arcillosa) y un Latosol rojo distrofico (textura arenosa) recolectada en la misma profundidad.

inoculation treatments and control in the levels of P, K, Ca, Mg, S, Na, Cu, Fe, Mn, Zn, Co, Mo and B in shoots of seedlings grown in the mixture of substrates (Table 7). Similarly, in the pure substrate there was no difference between the inoculation treatments regarding the levels of most of the nutrients in shoots. Cashew trees of the Cerrado, until the present, have not undergone any type of genetic improvement; therefore, it was more difficult to detect the effect of microbial inoculation treatments. Silva *et al.*, (2003) point out the benefits of inoculation with AMF on the nutrition and growth of *Eucalyptus*, one of the few genetically improved tree species.

CONCLUSIONS

The co-inoculation with PSMs + AMF resulted in an increased height and shoot dry matter content of seedlings of cashew trees of the Cerrado compared to

Table 6. Relationship between fresh root matter/fresh shoot matter in seedlings of cashew trees of the Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini), grown in two substrates[†] and inoculated with P-solubilizing microorganisms (PSMs) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), in Rio Verde, Goiás.

Cuadro 6. Relación entre materia fresca de raíz/materia fresca de brote en almácigos de árboles de anacardo del Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) cultivados en dos sustratos e inoculados con microorganismos solubilizadores de P (MSP) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en Rio Verde, Goiás.

Treatments	Pure substrate	Mixture of substrates
PSMs	1.39 ABa	1.01 Bb
AMF	1.17 Bb	1.53 Aa
PSMs + AMF	1.57 Aa	1.04 Bb
Control	1.08 Ba	1.30 ABa
CV (%) = 29.00		

Means followed by a different letter (capital letter in columns and small letter in rows), are statistically different ($p \leq 0.05$) ♦ Medias con letras diferentes (mayúsculas en columnas y minúsculas en hileras) son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).

[†]Pure substrate: sandy loam texture (Quartz-Sand Neosol) collected between 10 and 40 cm of depth. Mixture of substrates: Red Argisol (clay loam texture) and a dystrophic Red Latosol (clay texture) 1:1 (v:v), collected at the same depth ♦ Substrato puro: textura franco arenoso (arena cuarzosa suelo nuevo) recolectado entre 10 y 40 cm de profundidad; mezcla de sustratos; una mezcla 1:1 (v:v) de Argisol rojo (textura franco arcillosa) y un Latosol rojo distrofico (textura arenosa) recolectada en la misma profundidad.

the control. Seedlings of cashew trees of the Cerrado demonstrated better performance if grown in a mixture of substrates (soil with loamy clay texture and clay). However, there was no preference when inoculating with *Glomus etunicatum* in seedlings grown in pure substrate. It seems that the mixture of soil substrates resulted in a greater symbiotic efficiency of *Glomus etunicatum*.

LITERATURE CITED

- Araújo, A. S. F., H. A. Burity, and M. do C. C. P. Lyra. 2001. Influência de diferentes níveis de nitrogênio e fósforo em *Leucena* inoculada com *Rhizobium* e fungo micorrízico arbuscular. *Ecossistema* 26: 35-38.
- Barroso, C. B., and L. A. Oliveira. 2001. Ocorrências de bactérias solubilizadoras de fosfato de cálcio nas raízes de plantas na Amazônia Brasileira. *Rev. Bras. Ciênc. Solo* 25: 575-581.
- Caldeira, M. V. W., E. M. R. da Silva, A. A. Franco, and L. F. Watzlawick. 2003. Influência de fungos micorrízicos

Table 7. Concentration of nutrients in shoot dry matter of seedlings of cashew trees of the Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) cultivated in two substrates† and inoculated with P-solubilizing microorganisms (PSMs) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), in Rio Verde Goiás.

Cuadro 7. Concentración de nutrientes en materia seca de brotes de árboles de anacardo del Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) cultivados en dos sustratos† e inoculados con microorganismos solubilizadores de P (MSP) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en Rio Verde, Goiás.

Nutrients	Pure substrate				Mixture of substrates			
	PSMs	AMF	PSMs + AMF	Control	PSMs	AMF + AMF	PSMs	Control
	Concentration (mg g ⁻¹)							
Nitrogen	13.62 Aa	13.00 Aa	13.75 Aa	13.12 Aa	11.82 ABb	13.12 Aa	10.45 Bb	10.90 Bb
Phosphorus	1.12 Aa	1.20 Aa	1.20 Aa	1.15 Aa	0.97 Aa	1.05 Aa	0.97 Ab	1.02 Aa
Potassium	5.55 Aa	5.80 Aa	6.35 Aa	5.90 Aa	3.80 Ab	4.35 Ab	4.47 Ab	4.50 Ab
Calcium	6.80 Aa	6.27 Aa	7.37 Aa	6.12 Aa	5.47 Bb	6.82 ABa	7.20 Aa	7.02 ABa
Magnesium	3.62 Aa	3.17 Aa	3.75 Aa	3.65 Aa	2.82 Bb	3.52 ABa	3.30 ABa	3.62 Aa
Sulfur	1.25 Aa	1.07 Aa	1.15 Aa	1.32 Aa	1.15 Aa	1.20 Aa	1.25 Aa	1.10 Ab
Sodium	100.50 Aa	105.00 Aa	100.00 Aa	100.00 Aa	108.00 Aa	99.50 Aa	103.00 Aa	100.75 Aa
Copper	7.25 Aa	6.75 Aa	8.00 Aa	7.75 Aa	6.00 Aa	6.25 Aa	6.75 Ab	6.25 Ab
Iron	197.75 Aa	193.75 Aa	235.00 Aa	201.00 Aa	231.75 Aa	228.50 Aa	210.50 Aa	191.25 Aa
Manganese	83.00 Aa	64.50 Aa	79.75 Aa	83.25 Aa	65.75 Aa	85.00 Aa	65.75 Aa	85.00 Aa
Zinc	13.25 Aa	14.75 Aa	16.00 Aa	13.25 Aa	10.25 Ab	13.00 Aa	12.50 Ab	13.50 Aa
Cobalt	0.10 Aa	0.11 Aa	0.13 Aa	0.13 Aa	0.13 Aa	0.12 Aa	0.16 Ab	0.14 Aa
Molybdenum	0.57 Aa	0.66 Aa	0.59 Aa	0.65 Aa	0.59 Aa	0.65 Aa	0.65 Aa	0.59 Aa
Boron	34.75 Ba	40.50 Ba	66.50 Aa	75.50 Aa	39.50 Aa	34.75 Aa	28.50 Ab	43.25 Ab

Means followed by a different letter (upper case among inoculation treatments in each substrate and lower case between substrates, in each inoculation treatment are statistically different ($p \leq 0.05$) ♦ Medias con letras diferentes (mayúsculas entre tratamientos de inoculación en cada sustrato y minúsculas entre sustratos en cada tratamiento de inoculación) son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$). †Pure substrate: sandy loam texture (Quartz-Sand Neosol) collected between 10 and 40 cm of depth; Mixture of substrates: a mixture 1:1 (v:v) of a Red Argisol (clay loam texture) and a dystrophic Red Latosol (clay texture), collected at the same depth ♦ Substrato puro: textura franco arenoso (arena cuarzosa suelo nuevo) recolectado entre 10 y 40 cm de profundidad; mezcla de sustratos; una mezcla 1:1 (v:v) de Argisol rojo (textura franco arcillosa) y un Latosol rojo distrofico (textura arenosa) recolectada en la misma profundidad.

- arbusculares sobre o crescimento de três leguminosas arbóreas. Rev. Acad. Ciênc. Agrar. Ambient. 1: 27-32.
- Cardoso Filho, J. A., E. E. P. de Lemos, T. M. C. dos Santos, L. C. Caetano, and M. A. Nogueira. 2008. Mycorrhizal dependency of mangaba tree under increasing phosphorus levels. Pes. Agrop. Bras. 43: 887-892.
- Chu, E. Y., M. de R. F. Moller, and J. G. de Carvalho. 2001. Efeitos da inoculação micorrízica em mudas de graviroleira em solo fumigado e não fumigado. Pes. Agrop. Bras. 36: 671-680.
- Correa, G. de C., R. V. Naves, M. R. da Rocha, L. J. Chaves, and J. D. Borges. 2008. Determinações físicas em frutos e sementes de Baru (*Dipteryx alata* Vog.), Cajuzinho (*Anacardium othonianum* Rizz.) e Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), visando melhoramento genético. Biosc. J. 24: 42-47.
- Cunha, A. O., L. A. de Andrade, R. de L. A. Bruno, J. A. L. da Silva, and V. C. de Souza. 2005. Efeito de sustratos e das dimensões dos recipientes na qualidade das mudas de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex D. C.) Standl. Rev. Árvore 29: 507-516.
- Detmann, K. da S. C., Delgado, V. P. A. Rebello, T. de S. Leite, A. A. Azevedo, M. C. M., Kasuya, and A. M. de Almeida. 2008. Comparação de métodos para a observação de fungos micorrízicos arbusculares e endofíticos do tipo *Dark septate* em espécies nativas do Cerrado. Rev. Bras. Ciênc. Solo 32: 1883-1890.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 1997. Manual de Métodos de Análises de Solo. Embrapa. Rio de Janeiro. 212 p.
- Ferreira, D. F. 2008. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. Rev. Symposium 6: 36-41.
- Fester, T., W. Maier, and D. Strack. 1999. Accumulation of secondary compounds in barley and wheat roots in response to inoculation with an arbuscular mycorrhizal fungus and co-inoculation with rhizosphere bacteria. Mycorrhiza 8: 241-246.
- Lacerda, M. R. B., M. A. A. Passos, J. J. V. Rodrigues, and L. P. Barreto. 2006. Características físicas e químicas de sustratos à base de pó de coco e resíduo de sisal para produção de mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth). Rev. Árvore 30: 163-170.

- Locatelli, L. M., and P. E. Lovato. 2002. Inoculação micorrízica e aclimatização de dois porta-enxertos de macieira micropropagados. *Pes. Agrop. Bras.* 37: 177-184.
- Mc Gonigle, T. P., M. H. Miller, D. G. Evans, G. L. Farchild, J. A. Swan. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115: 495-501.
- Moreira, F. M. S., and J. O. Siqueira. *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. UFLA. Lavras. 2006. 729 p.
- Narloch, C., V. L. de Oliveira, J. T. dos Anjos, and G. N. Silva Filho. 2002. Respostas da cultura do rabanete à inoculação de fungos solubilizadores de fosfatos. *Pes. Agrop. Bras.* 37: 841-845.
- Niranjan, R., V. Mohan, and V. M. Rao. 2007. Effect of indole acetic acid on the synergistic interactions of *Bradyrhizobium* and *Glomus fasciculatum* on growth, nodulation, and nitrogen fixation of *Dalbergia sissoo* Roxb. *Arid Land Res. Manag.* 21: 329-342.
- Pacheco, M. V., V. P. Matos, R. L. C. Ferreira, A. L. P. Feliciano, K. M. S. Pinto. 2006. Efeito de temperaturas e substratos na germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae). *Rev. Árvore* 30: 359-367.
- Phillips, J. M., and D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. British. Mycol. Soc.* 55: 158-161.
- Santos, C. B. dos., S. J. Longhi, J. M. Hoppe, and F. A. Moscovich. 2000. Efeito do volume de tubetes e tipos de substratos na qualidade de mudas de *Cryptomeria japonica* (L. F.) D. Don. *Ciência Forestal* 10: 1-15.
- Santos, D. R. dos., M da C. S. Costa, J. R. P. de Miranda, and R. V. dos. Santos. 2008. Micorriza e rizóbio no crescimento e nutrição em N e P de mudas de Angico-vermelho. *Rev. Caatinga* 21: 76-82.
- Schiavo, J. A., and M. A. Martins. 2003. Produção de mudas de acácia colonizadas com micorrizas e rizóbio em diferentes recipientes. *Pes. Agrop. Bras.* 38: 173-178.
- Silva, A. P. D., T. L. Garcia, O. Machineski, P. V. Truber, and E. L. Balota. 2009. Resposta do *Jaracatia spinosa* à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em diferentes níveis de fósforo. *Synergismus Scientifica* 4:1-3.
- Silva Filho, G. N., and C. Vidor. 2001. Atividade de microrganismos solubilizadores de fosfatos na presença de nitrogênio, ferro, cálcio e potássio. *Pes. Agrop. Bras.* 36: 1495-1508.
- Silva, R. F. da., Z. I. Antonioli, R. Andrezza, and S. J. Longhi. 2003. Fungos ectomicorrízicos na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. *Bios. J.* 19: 9-17.
- Soares, A. C. F., A. da S. Sousa, M. da S. Garrido, and F. S. Lima. 2010. Isolados de estreptomicetos no crescimento e nutrição de mudas de tomateiro. *Pes. Agrop. Trop.* 40: 447-453.
- Souchie, E. L., E. F. C. Campello, O. J. Saggin-Júnior, and E. M. R. da Silva. 2005. Mudas de espécies arbóreas inoculadas com bactérias solubilizadoras de fosfato e fungos micorrízicos arbusculares. *Floresta* 35: 329-334.
- Souchie, E. L., R. Azcón, J. M. Barea, O. J. Saggin-Júnior, and E. M. R. Silva. 2006. Phosphate solubilization and synergism between P-solubilizing and arbuscular mycorrhizal fungi. *Pes. Agrop. Bras.* 41: 1405-1411.
- Sylvester-Bradley, R., N. Asakawa, S. La Torraca, F. M. M. Magalhães, L. A. Oliveira, R. M. Pereira. 1982. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. *Acta Amaz.* 12: 15-22.
- Tarafdar, J. C., and H. Marschner. 1995. Dual inoculation with *Aspergillus fumigatus* and *Glomus mosseae* enhances biomass production and nutrient uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.) supplied with organic phosphorus as Naphytate. *Plant Soil* 73: 97-102.
- Tristão, F. S. M., S. A. L. de Andrade, and A. P. D. da Silveira. 2006. Fungos micorrízicos arbusculares na formação de mudas de cafeeiro, em substratos orgânicos comerciais. *Bragantia* 65: 649-658.
- Vieira, R. F., T. S. A. Costa, D. B. Silva, F. R. Ferreira, and S. M. Sano. 2006. Frutas nativas da região Centro-Oeste. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Brasília. 320 p.
- Weber, O. B., C. C. M. de Souza, D. M. F. Gondin, F. N. S. Oliveira, L. A. Crisóstomo, A. L. Caproni, and O. J. Saggin-Júnior. 2004. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada em mudas de cajueiro-anão-precoce. *Pes. Agrop. Bras.* 39: 477-483.
- Whitelaw, M. A. 1999. Growth promotion of plant inoculated with phosphate-solubilizing fungi. *Adv. Agron.* 69: 99-151.