

## Ocorrência de bactérias diazotróficas simbióticas e fungos micorrízicos arbusculares em guandu nos solos do Piauí <sup>(1)</sup>.

Franklin Eduardo Melo Santiago <sup>(2)</sup>; Flávia Louzeiro de Aguiar <sup>(2)</sup>; Maria Júlia de Araújo Feitosa <sup>(3)</sup>; Gustavo Cassiano da Silva <sup>(2)</sup>; Rafaela Simão Abrahão Nóbrega <sup>(4)</sup>; Júlio César Azevedo Nóbrega <sup>(4)</sup>.

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos do CNPq, MAPA e SDA.

<sup>(2)</sup> Acadêmico (s) de Engenharia Agrônômica; Universidade Federal do Piauí-CPCE; Bom Jesus, Piauí; franklin.santiago@hotmail.com.br; <sup>(3)</sup> Acadêmico de Zootecnia; Universidade Federal do Piauí; <sup>(4)</sup> Professor (a); Universidade Federal do Piauí-CPCE; juliocnobrega@gmail.com; rafaela.nobrega@gmail.com.

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi avaliar a ocorrência de bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares em simbiose com *Cajanus cajan* quando cultivados em diferentes classes de solos e formas de adição de N. Os tratamentos foram três formas de adição de nitrogênio, (inoculação com a SEMIA 6157; N-mineral, 0,185g/uréia/kg e testemunha sem inoculação e sem N-mineral) e cinco classes de solos representativos da região Sudoeste piauiense. Avaliaram-se o número de nódulos, matéria seca da parte aérea, da raiz e total, área foliar, acúmulo de nitrogênio na parte aérea e colonização micorrízica. O Neossolo Flúvico com utilização de inoculação proporciona as maiores médias de número de nódulos e acúmulo de nitrogênio na parte aérea. Bactérias diazotróficas simbióticas que nodulam o guandu ocorrem no Neossolo Flúvico e Organossolo. No Organossolo, Neossolo Quartzarênico e Litólico houve maior ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares.

**Termos de indexação:** *Cajanus cajan*, inoculação, fixação biológica de nitrogênio.

### INTRODUÇÃO

Estudos que avaliem o comportamento e ocorrência de microrganismos em regiões como o ecótono Caatinga-Cerrado no Sudoeste piauiense, fazem-se importantes, pois nestas há grandes distinções quanto à biodiversidade vegetal e características edafoclimáticas que influenciam a diversidade e atividade microbiana.

Encontram-se na microbiota edáfica as bactérias diazotróficas, que desempenham um papel ecológico importante, atuando na conversão do nitrogênio atmosférico, não utilizável pelas plantas em amônia (NH<sub>3</sub>), forma utilizável pelas mesmas, muita das vezes substituindo totalmente a adubação nitrogenada, favorecendo a sustentabilidade agrícola.

Estão presentes também as micorrizas, que correspondem a simbiose entre fungos benéficos e específicos do solo e raízes de plantas,

favorecendo o crescimento vegetal pela maior absorção de água e nutrientes. Apesar de estas biotecnologias serem uma alternativa viável para sustentabilidade dos sistemas agropecuários, ainda são pouco utilizadas na produção de pastagens tropicais. O feijão guandu (*Cajanus cajan*) é uma leguminosa utilizada em diversas regiões brasileiras e de grande valor comercial, não só pela produção dos grãos e aptidão à adubação verde, mas por sua mais frequente utilização na alimentação animal.

Desta forma, o presente trabalho objetivou-se avaliar a ocorrência de bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares em simbiose com *Cajanus cajan* quando cultivado em diferentes classes de solos e formas de adição de N.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no viveiro de produção de mudas da Universidade Federal do Piauí, campus Prof.<sup>a</sup> Cinobelina Elvas, em Bom Jesus, PI.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado e os tratamentos em esquema fatorial 3x5, com 10 repetições, sendo três formas de adição de nitrogênio (inoculação com a SEMIA 6157; N-mineral, 0,185g/uréia/kg e testemunha sem inoculação e sem N-mineral) e cinco classes de solos representativos da região sudoeste do Piauí (Neossolo Litólico, Neossolo Quartzarênico, Neossolo Flúvico, Organossolo e Latossolo Amarelo).

Os solos foram coletados em áreas com distintas coberturas vegetais, a uma profundidade de 0 a 0,20 m, cujas caracterizações químicas encontram-se na **tabela 1**. As amostras foram passadas em malha de 4 mm, seca ao ar e distribuídas em sacos plásticos de 1 dm<sup>-3</sup>.

As sementes do guandu foram desinfestadas superficialmente utilizando álcool 70% por três minutos, hipoclorito de sódio 1% por três minutos e lavagens sucessivas em água corrente (Andrade & Hamakawa, 1994). O inoculante utilizado foi SEMIA 6157 em veículo turfoso e concentração mínima de

rizóbio  $10^9$  células  $g^{-1}$  de inoculante. A inoculação foi feita utilizando-se uma solução açucarada a 10%, aplicado na dose de 500 g de inoculante para 50 kg de sementes.

Aos 75 dias após a emergência, foram avaliados o número de nódulos (NN), a matéria seca da parte aérea (MSPA), a matéria seca da raiz (MSR), a matéria seca total (MST), área foliar (AF), acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) e colonização micorrízica.

Após a separação das raízes do solo, foram coletadas amostras de raízes finas para a avaliação da percentagem de colonização. As raízes foram submetidas à clarificação e coloração com azul de tripan conforme Phillips & Hayman (1970). Quantificou-se a colonização micorrízica, pelo método de Giovannetti & Mosse (1980), sendo os resultados expressos em percentagem de segmentos colonizados.

A matéria seca das plantas foi obtida após secagem da parte aérea e raízes em estufa, com circulação de ar forçado a  $60^{\circ}C$ , até atingir peso constante. Depois da pesagem, a parte aérea foi moída para as determinações dos teores de N, pelo método semimicro Kjeldahl (Liao, 1981).

Os dados do ensaio foram submetidos à análise de variância empregando o sistema de análise estatística SISVAR, versão 4.2 (Ferreira, 2006). Os efeitos da interação dos tratamentos foram comparados pelo teste Scott-Knot a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação significativa ( $p < 0,05$ ) entre os solos e as fontes de nitrogênio para todas as variáveis analisadas, NN, MSPA, MSR, MST, AF e ANPA, exceto para percentagem de colonização micorrízica.

Houve resposta para inoculação no Neossolo Quartzarênico, Neossolo Flúvico e Organossolo, apresentando o Neossolo Flúvico maior número de nódulos (**Tabela 2**). No Neossolo Flúvico e Organossolo houve nódulos na no sem N-mineral e sem inoculação, que indica a ocorrência das bactérias diazotróficas simbióticas nativas. No entanto, as médias obtidas para esta variável estão abaixo das encontradas em outras espécies de leguminosas forrageiras (Scheffer-Basso et al., 2001).

A faixa de pH encontrada no Neossolo Flúvico (**Tabela 1**) favoreceu a ocorrência da simbiose entre bactérias nodulíferas e o guandu, pois em geral, as bactérias diazotróficas crescem melhor em faixa de pH entre 6,0 e 7,0 (Ali et al., 2009). No entanto, essa característica irá depender do

crescimento das bactérias. As estirpes de crescimento rápido, normalmente, serão mais tolerantes á acidez do que as de crescimento lento. Desse modo, o processo de fixação biológica de nitrogênio é influenciado não só pela leguminosa e estirpe, mais também pela interação dos microrganismos simbiotes e o ambiente.

Já as menores médias para a variável número de nódulos foram observadas no Neossolo Litólico e Latossolo Amarelo. Este fato pode estar ligado à baixa fertilidade encontrada nestes solos (**Tabela 1**). Segundo Moreira & Siqueira (2006), a infecção das raízes está relacionada diretamente a fatores abióticos, como disponibilidade de nutrientes, faixa de pH e presença de elementos tóxicos, como é o caso do  $Al^{+3}$ . Também pôde-se verificar nestes solos o efeito inibitório do N-mineral sob a nodulação. Resultados semelhantes foram encontrados por Martins et al. (2013), em experimento de campo com o feijão caupi.

apara a massa seca da parte aérea, de raiz e total foram obtidas as maiores médias no Organossolo. Este resultado pode está ligado à fertilidade favorável deste solo e maior colonização micorrízica que favoreceu o desenvolvimento vegetativo do guandu. O tratamento sem N-mineral e sem inoculação produziu biomassa total similar ao tratamento que recebeu a estirpe comercial SEMIA 6157. Com relação à biomassa da parte aérea obtida no tratamento inoculado foram encontradas em outros ensaios realizados com guandu, médias superiores quando inoculado com a SEMIA 6157 (Freitas et al., 2011).

Para área foliar, a maior média foi encontrada no guandu quando cultivado no Organossolo, no qual o sem N-mineral e sem inoculação apresentou média similar ao que recebeu adubação com N-mineral. Como neste solo foi observada menor número de nódulos, atribui-se o fato a boa fertilidade deste solo e a ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares, o que pode ter proporcionado um incremento nestas variáveis, uma vez que estes favorecem o crescimento vegetal a partir da maximização da absorção de água e nutrientes (Smith & Read, 1997).

Para o acúmulo de nitrogênio na parte aérea, as maiores médias foram obtidas no Neossolo Flúvico e no Organossolo. No primeiro solo o tratamento inoculado com a SEMIA 6157, demonstrou-se superior às demais fonte de nitrogênio, sendo eficiente em incrementar nitrogênio nas plantas de guandu. No segundo, o tratamento que recebeu a dose de N-mineral foi superior às demais, provavelmente pelo fato desta fonte se encontrar prontamente disponível para a absorção pelo guandu.



A percentagem de colonização micorrízica foi influenciada apenas entre os diferentes tipos de solo ( $p < 0,05$ ), tendo maior ocorrência no Organossolo, Neossolo Quartzarênico e Neossolo Litólico (**Figura 1**). Possivelmente a fertilidade destes solos propiciou esses resultados. De acordo com Moreira & Siqueira (2006), solos com baixos teores de P, promovem acentuadas percentagens de colonização. Já no Neossolo Flúvico que apresentou alto teor de fósforo, a colonização ficou abaixo de 65%, demonstrando o efeito inibitório deste nutriente sob a micorrização nas raízes do guandu. Cordeiro et al. (2005) encontraram resultados semelhantes analisando a colonização micorrízica em uma área sob soja com alto teor de fósforo.

### CONCLUSÕES

O Neossolo Flúvico com utilização de inoculação proporciona as maiores médias de número de nódulo e acúmulo de nitrogênio na parte aérea.

Bactérias diazotróficas simbióticas com o guandu ocorrem no Neossolo Flúvico e Organossolo.

O Organossolo, Neossolo Quartzarênico e Neossolo Litólico houve maior ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares, proporcionando médias superiores na colonização micorrízica.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq/MAPA/SDA pelo auxílio financeiro ao projeto.

### REFERÊNCIAS

- ALI, S.F.; RAWAT, L.S.; MEGHVANSI, M.K.; et al. Selection of stress-tolerant rhizobial isolates of wild legumes growing in dry regions of Rajasthan, India. **Journal of Agricultural and Biological Science**, v.4, p.13-18, 2009.
- ANDRADE, D.S.; HAMAKAWA, P.J. **Estimativa do número de células de rizóbio no Solo e inoculantes por Infecção em Planta**. In: HUNGRIA, M. e ARAÚJO, R. S. ed. Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Brasília: Empresa de Pesquisa Agropecuária Brasileira, p.63-94; 1994.
- CORDEIRO, M.A.S; CARNEIRO M.A.C; PAULINO, H.B; et al. Colonização e densidade de esporos de fungos micorrízicos em dois solos do cerrado sob diferentes sistemas de manejo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.35, n. 3, p.147-153, 2005.
- FERREIRA, D.F. **Sisvar**: sistema de análise de variância. Lavras: UFLA, 2006.
- FREITAS, A.D.S.; SILVA, T.O.; MENEZES, R.S.C.; SAMPAIO, E.V.S.B.; ARAÚJO, E.R.; FRAGA, V.S. Nodulação e fixação de nitrogênio por forrageiras da caatinga cultivadas em solos do semiárido paraibano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.1856-1861, 2011.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular infection in roots. **The New Phytologist**, v.84, n.4,p.489-500, Apr. 1980.
- LIAO, C.F.H. Devarda's allow methods for total nitrogen determination. Soil Science. **Society of America Journal**, v. 45, p. 852-855, 1981.
- MARTINS, R.N.;NÓBREGA, R.S.A.; SILVA, A.F.T. et al. Nitrogênio e micronutrientes na produção de grãos de feijão caupi inoculado. **Semina: Ciências Agrárias** (no prelo), 2013.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª. ed. 729 p, 2006.
- PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesiculararbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, v.55, p.158-161, 1970.
- SCHEFFER-BASSO, S.M.; VOSS, M.; JACQUES, A.V.A. Nodulação e Fixação Biológica de Nitrogênio de *Adesmia latifolia* e *Lotus corniculatus* em Vasos de Leonard. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 30, p.687-693, 2001.
- SMITH, S.E.; READ, D.J. **The symbiontes forming VA mycorrhizas**. In: Mycorrhizal Symbiosis. SMITH, S.E.; READ, D.J., eds. Academic Press, San Diego. p. 33-80, 1997.

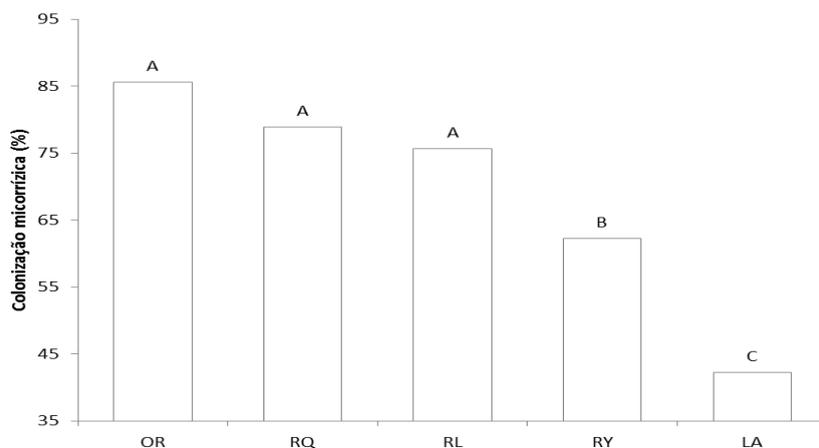
**Tabela 1** - Caracterização química dos solos utilizados como substratos de cultivo. pH em água, teores de fósforo (P), potássio (K<sup>+</sup>), cálcio (Ca<sup>2+</sup>), magnésio (Mg<sup>2+</sup>), alumínio (Al<sup>3+</sup>), hidrogênio + alumínio (H + Al), soma de bases (SB), CTC efetiva (t) e potencial (T), saturação por bases (V), saturação por alumínio (m) e teores de matéria orgânica (MO). (Dados compilados de Jesus, 2012)

Solos	pH H <sub>2</sub> O	----- mg dm <sup>-3</sup> -----			----- cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----				---%---			MO mg dm <sup>-3</sup>	
		P	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	H + Al	SB	t	T	V		m
Neossolo Litólico	5,2	2,0	22,0	0,1	0,1	0,4	2,3	0,3	2,6	0,7	9,9	61,0	1,2
Neossolo Quartzarênico	4,9	1,7	27,0	1,0	0,1	0,7	3,2	1,2	4,4	1,9	26,5	37,5	1,4
Organossolo	5,4	8,3	42,0	5,3	1,9	0,3	11,0	7,3	18,3	7,6	39,9	3,9	10,9
Neossolo Flúvico	6,4	85,7	147,0	11,8	2,9	0,1	1,5	15,1	16,6	15,2	91,0	0,7	1,8
Latossolo Amarelo	4,9	1,4	19,0	0,1	0,1	1,4	8,8	0,2	9,0	1,6	2,7	85,0	3,3

**Tabela 2** – Número de nódulos (NN), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), massa seca total (MST), área foliar (AF) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) de *Cajanus cajan* cultivado em diferentes classes de solos e fontes de N.

Solos	Cobertura Vegetal	Fontes de N	NN	MSPA	MSR	MST	ANPA	AF
Neossolo Litólico	Caatinga	CI	0,00aC	0,22aC	0,18bC	0,41aC	0,24aC	25,27aD
		CN	0,00aB	0,14aC	0,10bD	0,24aC	0,24aB	12,64aC
		SI/SN	0,70aB	0,25aC	0,31aC	0,56aC	0,14aB	25,45aC
Média			0,23C	0,20D	0,20C	0,40D	0,24C	21,12D
Latossolo Amarelo	Cerrado	CI	0,00aC	0,18aC	0,16aC	0,35aC	0,16aB	24,57aD
		CN	0,00aB	0,24aC	0,12aD	0,36aC	0,31aB	19,10aC
		SI/SN	1,30aB	0,29aC	0,22aC	0,52aC	0,21aB	37,07aC
Média			0,43C	0,24D	0,17C	0,41D	0,23C	26,91D
Neossolo Quartzarênico	Transição Cerrado-Caatinga	CI	6,50aB	0,72aB	0,57aB	1,29aB	0,36aB	91,50aC
		CN	0,00bB	0,68aB	0,58aB	1,27aB	0,48aB	79,24aB
		SI/SN	0,00bB	0,49aB	0,48aB	0,97aB	0,31aB	56,34bB
Média			2,16B	0,63C	0,54B	1,18C	0,38B	75,69C
Neossolo Flúvico	Mata Ciliar	CI	9,40aA	1,70aA	0,89aA	2,59aA	1,55aA	222,80aA
		CN	6,10bA	0,94bB	0,34bC	1,29bB	0,75bA	94,47bB
		SI/SN	4,20bA	0,77bB	0,33bC	1,11bB	0,52bA	70,61bB
Média			6,56A	1,13B	0,52B	1,66B	0,94A	129,29B
Organossolo	Buritizal	CI	5,40aB	1,41bA	1,07bA	2,48aA	0,55bB	140,35bB
		CN	0,60bB	2,39aA	1,74aA	4,13aA	1,23aA	223,80aA
		SI/SN	2,50bA	1,77bA	1,27bA	3,08bA	0,61bA	183,77aA
Média			2,83B	1,85A	1,36A	3,23A	0,80 A	182,64A
CV (%)			48,23	21,89	19,28	34,05	20,20	22,15

Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e dentro de cada tipo de solo, e maiúsculas nas colunas entre os solos, não diferem entre si de acordo com o teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.



**Figura 1** - Colonização micorrízica em *Cajanus cajan* cultivado em diferentes classes de solos. OR- Organossolo; RQ – Neossolo Quartzarênico; RL – Neossolo Litólico; RY – Neossolo Flúvico; LA- Latossolo Amarelo. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.