



## Micorrização e nodulação natural em Angico Preto sob influência da calagem, adubação fosfatada e isoflavonóide<sup>(1)</sup>.

Rafaela Simão Abrahão Nóbrega<sup>(2)</sup>; Andréa Cristiane Baptistel<sup>(3)</sup>; Júlio César Azevedo Nóbrega<sup>(2)</sup>; Lara Rodrigues<sup>(3)</sup>; Fatima Maria de Souza Moreira<sup>(4)</sup>.

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos do CNPq.

<sup>(2)</sup> Professor do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA; rafaela.nobrega@ufrb.edu.br; jcanobrega@ufrb.edu.br; <sup>(3)</sup> Mestranda em Fitotecnia; Departamento de Engenharias, Campus Professora Cinobelina Elvas da Universidade Federal do Piauí (CPCE/UFPI), Bom Jesus, PI; andrea.baptistel@hotmail.com; <sup>(4)</sup> Professora do Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG; fmoreira@dcs.edu.br

**RESUMO:** O desmatamento de áreas nativas desequilibra os ecossistemas expondo na maioria das vezes os solos pouco férteis aos agentes erosivos. Com isso estudos para verificar o comportamento de espécies arbóreas em diferentes composições de substratos de cultivo são necessários para a produção de mudas de melhor qualidade e com menor dependência de insumos externos. Objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da calagem, adubação fosfatada e do isoflavonóide formononetina na micorrização e na nodulação natural em mudas de *Anadenanthera macrocarpa*. As mudas foram cultivadas em Latossolo Amarelo distrófico, coletado a uma profundidade de 90 a 180 cm e submetido aos tratamentos realizados com duas doses de calcário dolomítico PRNT 91% (0 e 1,61g Kg<sup>-1</sup>), cinco doses de adubo fosfatado misto da marca Heringer® 0, 200, 400, 600 e 800 mg dm<sup>-3</sup> e duas doses de isoflavonóide formononetina (0 e 1,0 g). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial foi 2x5x2, totalizando 20 tratamentos e 10 repetições. Também foram adicionados 100 g de solo coletado na camada de 0 a 5 cm em área de mata nativa para servir como inóculo de esporos e bactérias nativas. A aplicação de isoflavonóide formononetina em solo sem correção da acidez contribui significativamente para o aumento da porcentagem da colonização micorrízica, nodulação espontânea das mudas.

**Termos de indexação:** *Anadenanthera macrocarpa*, simbiose, colonização micorrízica.

### INTRODUÇÃO

O aumento do desmatamento tem ocasionado mudanças no sistema biológico edáfico que podem comprometer as simbioses naturais entre plantas, fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e bactérias fixadoras de nitrogênio. Sabe-se da importância das relações simbióticas, pois, as mesmas favorecem na aquisição de água e

nutrientes que influenciam o desenvolvimento, crescimento das mudas (Moreira, Carvalho & Siqueira, 2010) e adaptação das mesmas após plantio definitivo no campo, principalmente das espécies da família Fabaceae.

Dentre as espécies que a compõe, encontra-se a *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan (Angico Preto) é utilizada pelas comunidades rurais da Chapada das Mangabeiras, localizada no sul do Piauí como medicinal e madeireira. Também tem sido usada na recuperação de áreas degradadas e em reflorestamento por ser uma espécie com crescimento rápido e resistente ao estresse hídrico (Lorenzi, 2008).

Outra característica dessa espécie é a capacidade de manter associação tripartite, ou seja, possui o potencial de estabelecer relação simbiótica com os FMAs e bactérias fixadoras de nitrogênio ao mesmo tempo (Pereira et al., 1996). As simbioses estabelecidas com esses microrganismos também podem favorecer na redução do uso e dos custos da adubação nitrogenada e fosfatada na produção de mudas.

Neste sentido, o objetivo desse trabalho foi verificar influência da calagem, adubação fosfatada e do isoflavonóide formononetina na micorrização e na nodulação natural em mudas de *Anadenanthera macrocarpa*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado em viveiro com sombrite preto a 50% pertencente a Universidade Federal do Piauí - Campus Professora Cinobelina Elvas (CPCE/UFPI) no município de Bom Jesus/PI, com coordenadas geográficas: latitude 14°41'25" sul, longitude 9°20'55" oeste e altitude de 275 m, precipitação pluviométricas anuais em média de 900 mm e temperatura entre 18°C a 40°C (Aguiar & Gomes, 2004). As sementes foram adquiridas de árvores matrizes de ocorrência espontânea encontradas na região e submetidas a teste de germinação conforme sugerido por Tucci et al. (2007). Amostra de subsolo de Latossolo Amarelo

foi coletada a uma profundidade entre 90 a 180 cm de uma área não cultivada e tamisada com peneira de 4 mm. O delineamento utilizado foi o delineamento inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 2x5x2 totalizando 20 tratamentos sendo: duas doses de calcário dolomítico PRNT 91% (0,0 g e 3,22 g), cinco doses do adubo fosfatado misto Heringer® (0,0 g, 1,54 g, 3,08 g, 4,62 g e 6,16 g) e duas doses de isoflavonóide formononetina (0,0 g e 1,0 g) com 10 repetições. Na ocasião acrescentou-se em cada recipiente 100 g de solo inoculo resultante da homogeneização de cinco coletas em locais distintos, de superfície de 0 a 5 cm contendo alta densidade de esporos de fungos nativos.

Para avaliar a presença de micorrizas foi amostrado 15 segmentos de raízes com comprimento de 1 cm cada, escolhido ao acaso por planta (Brundrett et al., 1996). O procedimento utilizado para a coloração das raízes foi o de Philips & Hayman (1970) modificado por Koske & Gemma (1989).

Para a leitura da porcentagem de colonização micorrizica, utilizou-se a metodologia segundo Brundrett et al. (1996) com auxílio de microscópio e o cálculo pela fórmula, em que: colonização de micorrização (CM) é igual, número total de raízes colonizadas (NTRC) dividido pelo número total de raiz (NTR). Na quantificação de esporos dos FMAs foram utilizados os métodos de decantação e peneiramento úmido conforme Gerdemann & Nicholson (1963); centrifugação e flutuação em sacarose segundo Jenkins (1964), contado em placa de petri com o auxílio de lupa eletrônica.

Os nódulos presentes foram contados e pesados para se obter a massa fresca. Posteriormente estes foram colocados em estufa com circulação forçada de ar a 60°C por 96 horas até atingirem peso constante, e pesados em balança analítica. Os dados do ensaio foram submetidos à análise de variância empregando o sistema de análise estatística SISVAR, versão 4.0 (FERREIRA, 2008). Os efeitos dos tratamentos foram comparados pelo teste de Tukey, a 1 e 5% de probabilidade e quando significativa para os tratamentos com doses fósforo, foi realizado regressão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A porcentagem da colonização foi influenciada pela aplicação de  $P_2O_5$  em solo sem calcário, cujo resultado mais efetivo foi com aplicação de isoflavonóide formononetina, neste caso, apresentando mais de 80% de colonização nas raízes quando submetida à dose de 127 mg  $dm^{-3}$  de  $P_2O_5$  (Figura 1). O resultado obtido no presente trabalho foi mais elevado que o encontrado por Sugai; Collier & Saggin-Junior (2011), os quais observaram 60% de colonização nas raízes da *A. macrocarpa* com 150 dias. A porcentagem de colonização (Flores-Aylas et al., 2013) é beneficiada pela baixa disponibilidade de fósforo no solo, contudo, quando as plantas são submetidas a altas

doses do nutriente, há relatos de redução do micélio externo ativo (Nogueira & Cardoso, 2000). Nesse caso, os FMAs por serem simbiotróficos obrigatórios passam, provavelmente a ser um gasto a mais de energia para planta por terem suas funções limitadas (Moreira & Siqueira, 2006).

Houve estímulo a esporulação no tratamento com presença de calcário e isoflavonóide formononetina, na dose 0 mg  $dm^{-3}$  de P com média estimada de 36 esporos planta<sup>-1</sup> (Figura 2). Ao corrigir a acidez do solo e elevar a disponibilidade de nutrientes, a calagem favoreceu a densidade de esporos em conjunto com o uso do isoflavonóide. Conforme preconizaram Novaes e Siqueira (2009) embora o efeito do isoflavonóide sobre os FMAs não seja generalizado, esse produto tem potencial para promover aumento da produção de esporos, o que se observou no presente experimento. Ainda segundo os autores, como a densidade de esporos é geralmente baixa em solos cultivados, a aplicação de produtos à base de formononetina pode contribuir para aumentar os benefícios dos FMAs para a produção vegetal.

Para o número (Figura 3 A) e massa seca de nódulos (Figura 3 B), as maiores médias ocorreram no tratamento com a combinação sem calcário e aplicação de isoflavonóide formononetina, com máximo de 52 nódulos planta<sup>-1</sup> na dose de 500 mg  $dm^{-3}$  de  $P_2O_5$ ; e de 0,10 g planta<sup>-1</sup> para a massa seca dos nódulos na dose de 437 mg  $dm^{-3}$  de  $P_2O_5$ . As médias para número e massa seca de nódulos foram maiores do que os obtidos por Dias et al. (2012) em estudo realizado com a mesma espécie utilizando estaquia, que segundo os autores, variaram entre 29 a 46,99 para o número de nódulos planta<sup>-1</sup> e 0,04 a 0,08 g planta<sup>-1</sup> para massa seca dos nódulos.

Os resultados obtidos demonstram também que *A. macrocarpa* apresentou nodulação espontânea com bactérias autóctones. Essa simbiose foi influenciada pelas doses de  $P_2O_5$  e do isoflavonóide formononetina. Segundo Siqueira, Lambais & Stürmer (2002), os FMAs conseguem absorver o fósforo do solo que vai ser translocado pela planta e fornecido aos nódulos em grandes quantidades para auxiliar na fixação biológica do  $N_2$ . Deve-se considerar também que o efeito positivo da adubação fosfatada sobre a nodulação e crescimento de leguminosas florestais (Moreira et al., 2010). Através dos resultados observados para colonização e nodulação presentes nas raízes, também foi constatado que a *A. macrocarpa* possui capacidade de manter, simultaneamente, associação com as bactérias fixadoras de  $N_2$  e FMAs. Segundo Dias et al. (2012) este fato favorece o desenvolvimento e adaptação das mudas da espécie em áreas de reflorestamento e degradadas, assim como contribui para a diminuição do uso de fertilizantes.

## CONCLUSÕES

A aplicação de isoflavonóide formononetina em solo sem correção da acidez contribui

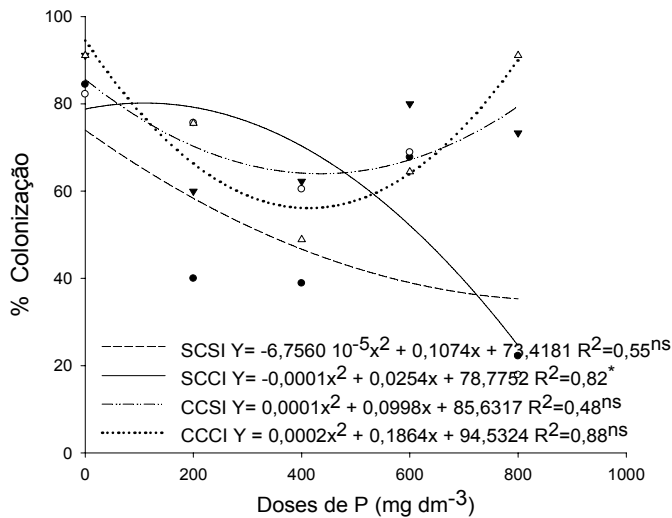
significativamente para o aumento da porcentagem da colonização micorrízica, nodulação espontânea das mudas

## AGRADECIMENTOS

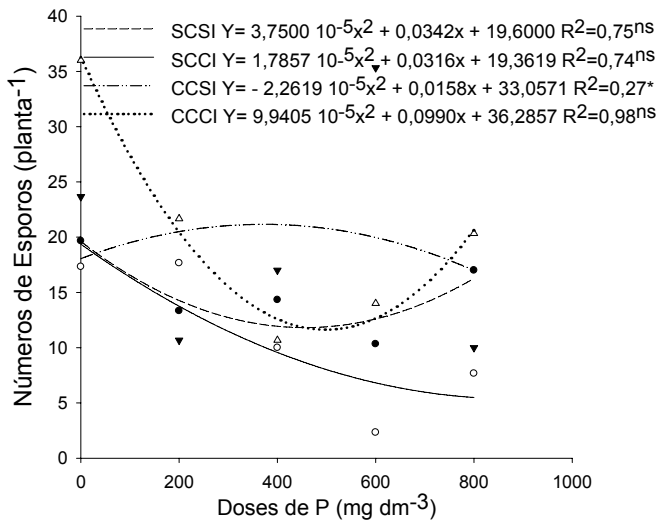
Ao CNPq por financiar o projeto "Biofertilizante formononetina (isoflavonóide) como estimulante de micorrização em soja e milho para aumento de produtividade associada ao uso de fertilizantes minerais" (Edital 69/2009) e a CAPES pela bolsa de estudo. Ao projeto PROCAD, financiado pela CAPES, oportunizando a missão de estudos realizada na Universidade Federal de Lavras (UFLA) em Lavras/MG.

## REFERÊNCIAS

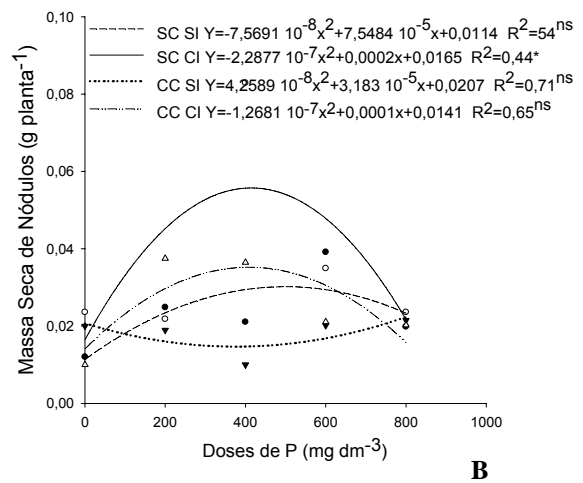
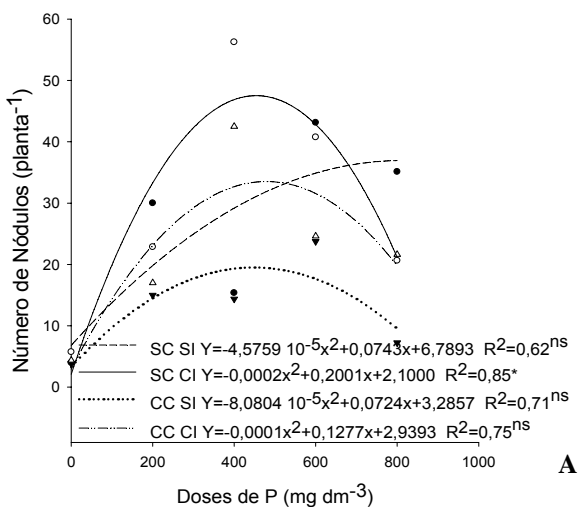
- AGUIAR, R. B. & GOMES, J. R. C. Projeto cadastro de fontes de abastecimento de água subterrânea, Estado do Piauí: diagnóstico do município de Bom Jesus/PI, Serviço Geológico do Brasil, 2004.
- BRUNDRETT, M.; BOUGHER, N.; DELL, B.; GROVE, T. & MALAJCZUK, N. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. ACIAR Monograph 32. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra. 1996.
- DIAS, P. C.; PEREIRA, M. S. F.; KASUYA, M. C. M.; PAIVA H. N.; OLIVEIRA, L. S. & XAVIER, A. Micorrizas arbusculares e rizóbios no enraizamento e nutrição de mudas de Angico-Vermelho. R. *Árvore*, 36(6):1027-1037, 2012.
- FLORES-AYLAS, W. W.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J.; SIQUEIRA, J. O. & DAVIDE, A. C. Efeito de *Glomusetunicatum* fósforo no crescimento inicial de espécies arbóreas em sementeira direta. *Pesq. Agropec. Bras.*, 38(2):257-266, 2003.
- FERREIRA, D. F. SISVAR - Sistema de análise de variância. Versão 5.3. Lavras-MG: UFLA, 2010.
- GERDEMANN, J. W. & NICHOLSON T. H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *British Mycological Society Transactions*, 446:235-344, 1963.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-foliation technique for separating nematodes from soil. *Plant Dis. Rep.*, 48: 692, 1963.
- KOSKE, R. E. & GEMMA, J. N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research*, 92(4):486-488, 1989.
- LORENZI, H. Árvores Brasileiras: Manual de identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil, 5ª edição, v.1, p. 194, Instituto Plantarium Ltda, Nova Odessa/SP, 2008.
- MOREIRA, F. M. S. & SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e bioquímica do solo, UFLA, p. 729, Lavras/MG, 2006.
- MOREIRA, F. M. S.; CARVALHO, T.; & SIQUEIRA, J. O. Effect of fertilizers, lime, and inoculation with rhizobia and mycorrhizal fungi on the growth of four leguminous tree species in a low-fertility soil *Biol Fertil Soils*, 46:771-779, 2010.
- PEREIRA, E. G.; SIQUEIRA, J.O.; CURTI, N.; MOREIRA, F.M.S. & PURCINO, A.A.C. Efeitos da micorrizas e do suprimento de fósforo na atividade enzimática e na resposta de espécies arbóreas ao nitrogênio. *R. Bras. de Fisiolog. Vegetal*, 8(1):59-65, 1996.
- NOGUEIRA, M. A. & CARDOSO, E. J. B. N. Produção de micélio externo por fungos micorrízicos arbusculares e crescimento da soja em função de doses de fósforo. *R. Bras. Ci. Solo*, 24:329-338, 2000.
- NOVAES, C. B. & SIQUEIRA, J. O. Aplicação de formononetina na colonização e esporulação de fungos micorrízicos em braquiária. *Pesq. Agropec. Bras.*, 44(5):496-502, 2009.
- PHILLIPS, I.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, v.55, 158-161, 1970.
- SILVA, P. L.; GONÇALVES, O. P. I.; LOPES, L. P. & SIQUEIRA, J. O. Efeito da formononetina na esporulação de fungos micorrízicos arbusculares em solo contaminado com arsênio. *Cadernos de Agroecologia*, 6(2), 2011.
- SIQUEIRA, J. O.; LAMBAIS, M. R. & STÜRMER, S. L. Fungos micorrízicos arbusculares: caracterização, associação simbiótica e aplicação na agricultura. *R. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, n. 25, 2002.
- SUGAI, M. A. A.; COLLIER, L. S. & SAGGIN-JÚNIOR, O. J. Inoculação micorrízica no crescimento de mudas de angico em solo de cerrado. *Bragantia*, 70( 2):416-423, 2011.
- TUCCI, C. A. F.; SILVA, A. R. M.; LIMA, H. N. & FIGUEIREDO, A. F. Doses crescentes de corretivo na formação de mudas de mogno (*Swietenia macrophylla* King). *R. Acta Amazônica*, 37:195-200, 2007.



**Figura 1** – Efeito da interação tripla (calagem + P + isoflavonóide formononetina, sobre a % da colonização. Resultado significativo a \*,\*\*5 e <sup>ns</sup> não significativo pelo teste de Tukey.



**Figura 2** – Efeito da interação tripla (calagem + P + isoflavonóide formononetina, sobre o número de esporos. Resultado significativo a \*, \*\*5 e <sup>ns</sup> não significativo pelo teste de Tukey.



**Figura 3** – Efeito da interação tripla (calagem + P + isoflavonóide formononetina, sobre (A) número, (B) massa seca de nódulos. Resultado significativo a \*, \*\*5 e <sup>ns</sup> não significativo pelo teste de Tukey.