

**CLEIZI GISELI KARVAT**

**FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO CRESCIMENTO DE MUDAS  
DE BRACATINGA (*Mimosa scabrella* Benth.)**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo, do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Orientador: Dr. Julio Cesar Pires Santos  
Co-orientador: Dr. Silmar Primieri

**LAGES  
2018**

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com  
auxílio do programa de geração automática da  
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC

Karvat, Cleizi Giseli

Fungos micorrízicos arbusculares no crescimento  
de mudas de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth) /  
Cleizi Giseli Karvat. - Lages, 2018.  
74 p.

Orientador: Júlio Cesar Pires Santos  
Co-orientador: Silmar Primieri  
Dissertação (Mestrado) - Universidade do  
Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação --  
Selecione --, Lages, 2018.

1. Bracatinga. 2. Micorrizas arbusculares. 3.  
pH do solo. 4. *Rhizophagus clarus*. 5. *Acaulospora*  
*colombiana*. I. Santos, Júlio Cesar Pires. II.  
Primieri, Silmar. , .III. Universidade do Estado  
de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação --  
Selecione --. IV. Título.

**CLEIZI GISELI KARVAT**

**FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO CRESCIMENTO DE MUDAS  
DE BRACATINGA (*Mimosa scabrella* Benth.)**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo, do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

**Banca examinadora:**

Orientador:

---

(Prof. Dr. Julio Cesar Pires Santos)  
UDESC

Membro:

---

(Prof. Dr. Dennis Goss de Souza)  
UDESC

Membro:

---

(Dr. Murilo Dalla Costa)  
EPAGRI

Lages, 25 junho de 2018



## **AGRADECIMENTOS**

Ao Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) – UDESC pela oportunidade da realização do mestrado.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor orientador Júlio Cesar Pires Santos, pela oportunidade do mestrado, ensinamentos, orientação, amizade e incentivo.

À EPAGRI – Lages e seus colaboradores pela estrutura e apoio para a realização deste estudo, em especial ao pesquisador Murilo Dalla Costa.

Ao IFSC – Lages, pela disposição de equipamentos para as análises deste estudo, e aos bolsistas Gustavo e Mércia pelo apoio na execução das atividades e em especial ao professor Silmar Primieri pela oportunidade dada para a execução desta pesquisa e pelos ensinamentos transmitidos.

As técnicas e amigas do laboratório de biotecnologia, Aparecida, Franciane e Suélem pelo auxílio nas atividades durante a condução dos experimentos e pelo incentivo nos momentos de dificuldade.

Aos meus amigos e colegas, Gean, Juliana, Daniela e Walquíria pela amizade e apoio durante o processo do mestrado.

Aos demais colegas do laboratório de biologia do solo, Priscila, Júlia, Giovana, Pâmela e Elston.

E ao meu marido Jaime pelo incentivo, apoio e paciência durante todo o mestrado. E em especial a minha filha Bianca, ainda pequenina, mas tão compreensiva.

Obrigada a todos!



“Se a ciência é necessária para o aprendizado de  
caminhos na Terra, é preciso não esquecer que o amor  
traça os caminhos do céu”  
Humberto de Campos



## **RESUMO**

*Mimosa scabrella* Benth., popularmente conhecida como bracatinga, é uma arbórea leguminosa nativa, característica das regiões mais frias do Sul do Brasil. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de dois isolados de FMAs (*Acaulospora colombiana* e *Rhizophagus clarus*) no crescimento e desenvolvimento de mudas de bracatinga em solo não estéril, bem como a interação de BFN e FMAs em diferentes pH, em solo estéril. O primeiro trabalho avaliou o crescimento e desenvolvimento das mudas de bracatinga e colonização micorrízica em casa de vegetação. Plantas inoculadas com *Rhizophagus clarus* apresentaram resultados de crescimento e desenvolvimento maiores que o controle e o tratamento com *Acaulospora colombiana*. Dessa forma, concluímos que a inoculação do FMA *Rhizophagus clarus* pode ser uma alternativa no desenvolvimento e produção de mudas de bracatinga. O segundo trabalho avaliou o efeito da inoculação de dois isolados de FMAs (*Acaulospora colombiana* – SCT115A e *Rhizophagus clarus* – SCT720A), no crescimento e nodulação de mudas de bracatinga, em diferentes pH. Os resultados demonstraram que plantas não micorrizadas não nodularam. Em pH 5,1 não houve diferença do tratamento inoculado com *Rhizophagus clarus* e o tratamento controle. Além disso, a colonização micorríza foi menor em raízes de plantas cultivadas em pH 5,1. Entretanto, as plantas inoculadas com FMA e cultivadas nos pH 5,4; 5,7 e 6,0 ocorreu maior crescimento refletindo em dez, oito e nove vezes maior massa seca da parte aérea, massa seca de raiz e massa seca total, respectivamente, em relação ao controle. Esses resultados demonstram que a existência de interação entre FMAs e bactérias fixadoras de nitrogênio, são influenciados pelos diferentes pH, em relação ao crescimento das plantas de bracatinga.

**Palavras-chave:** Acidez do solo. Micorrizas arbusculares. Rizóbios.



## ABSTRACT

*Mimosa scabrella* Benth., popularly known as bracatinga, is a native leguminous tree, characteristic of the colder regions of the South of Brazil. The objective of this work was to evaluate the effect of the inoculation of two isolates of AMFs (*Acaulospora colombiana* e *Rhizophagus clarus*) on the growth and development of bracatinga seedlings on non-sterile soil, as well as the interaction of NFB and AMFs at different pH, in soil sterile. The first work evaluated the growth and development of bracatinga seedlings and mycorrhizal colonization in the greenhouse. Plants inoculated with *Rhizophagus clarus* showed higher growth and development results than control and treatment with *Acaulospora colombiana*. Thus, it was concluded that the inoculation of the FMA *Rhizophagus clarus*, may be an alternative in the development and production of bracatinga seedlings. The second work evaluated the effect of inoculation of two isolates of FMAs (*Acaulospora colombiana* - SCT115A and *Rhizophagus clarus* - SCT720A) on growth and nodulation of bracatinga seedlings, at different pH. The results showed that non-mycorrhizal plants did not nodulate. In pH 5.1 there was no difference in treatment with *Rhizophagus clarus* and control. In addition, mycorrhizal colonization was lower in plant roots grown at pH 5.1. However, in plants inoculated with FMA and cultured in pH 5.4; 5.7 and 6.0 higher growth occurred, reflecting in ten, eight and nine times greater shoot dry mass, root dry mass and total dry mass, respectively, in relation to the control. These results demonstrate that the existence of interaction between FMAs and nitrogen fixing bacteria are influenced by the different pH in relation to the growth of bracatinga plants.

**Keywords:** Soil acidity. Arbuscular mycorrhizae. *Rhizobium*.



## **LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

- Figura 1-Mudas de bracatinga crescidas sob inoculação dos FMAs *Acaulospora colombiana* (AC); *Rhizophagus clarus* (RC) e não inoculadas (controle) aos 37 dias em casa de vegetação em solo não estéril .....39
- Figura 2- Número de folhas da haste principal (NFHP) de mudas de bracatinga inoculadas com os FMAs *Acaulospora colombiana* (AC); *Rhizophagus clarus* (RC) e não inoculadas (controle) após 67 dias de cultivo em casa de vegetação em solo não estéril.....40
- Figura 3- Colonização micorrízica total em raízes de mudas de bracatinga inoculadas com os FMAs *Acaulospora colombiana*, *Rhizophagus clarus* e controle, após cultivo por 67 dias. ....42
- Figura 4-Massa da matéria seca de parte aérea (MSPA) de mudas de bracatinga inoculadas com os FMAs *Acaulospora colombiana* (AC) e *Rhizophagus clarus* (RC), cultivadas em diferentes pH após 57 dias de cultivo. Barras indicam erro padrão da média. ....53
- Figura 5-Massa da matéria seca de raiz (MSR) de mudas de bracatinga inoculadas com os FMAs *Acaulospora colombiana* (AC) e *Rhizophagus clarus* (RC), cultivadas em níveis de pH após 57 dias de cultivo. Barras indicam erro padrão da média....53
- Figura 6-Massa da matéria seca total (MST) de mudas de bracatinga inoculadas com os FMAs *Acaulospora colombiana* (AC) e *Rhizophagus clarus* (RC), cultivadas em níveis de pH após 57 dias de cultivo. Barras indicam erro padrão da média. ....54



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1-Massa da matéria seca de folhas (MSF), do caule (MSC), da raiz (MSR) e total (MST) de mudas de bracatinga após 67 dias de micorrização e cultivo em casa de vegetação.....	38
Tabela 2-Altura e volume de folha e caule de mudas de bracatinga inoculadas com os FMAs <i>Acaulospora colombiana</i> (AC); <i>Rhizophagus clarus</i> (RC) e não inoculadas (controle), após 67 dias de cultivo em casa de vegetação em solo não estéril ...	39
Tabela 3-Variáveis de arquitetura radicular: comprimento, área de projeção, área superficial, diâmetro, relação volume/comprimento, volume de raiz, extremidade radicular e número de bifurcações de mudas de bracatinga inoculadas com os FMAs <i>Acaulospora colombiana</i> (AC); <i>Rhizophagus clarus</i> (RC) e não inoculadas (controle), após 67 dias em casa de vegetação em solo.....	41
Tabela 4- Percentual de hifas em raízes de bracatinga inoculadas com os FMAs <i>Acaulospora colombiana</i> (AC) e <i>Rhizophagus clarus</i> (RC) e o tratamento controle, aos 57 dias após a emergência .....	55
Tabela 5-Percentual de vesículas e arbúsculos em mudas de bracatinga inoculadas com os FMAs <i>Acaulospora colombiana</i> (AC) e <i>Rhizophagus clarus</i> (RC) e o tratamento controle, aos 57 dias após a emergência em solo estéril em casa de vegetação.....	55
Tabela 6-Taxas de colonização micorrízica em raízes de mudas de bracatinga inoculadas com os FMAs <i>Acaulospora colombiana</i> (AC) e <i>Rhizophagus clarus</i> (RC) e o tratamento controle, aos 57 dias após a emergência .....	56
Tabela 7-Número de nódulos radiculares, em g (planta <sup>-1</sup> ), obtidos em mudas de bracatinga em resposta aos diferentes pH e aos FMAs <i>Acaulospora colombiana</i> (AC) e <i>Rhizophagus clarus</i> (RC) e o tratamento controle aos 57 dias após a emergência.....	57
Tabela 8-Massa seca de nódulos radiculares, em g (planta <sup>-1</sup> ), obtidos em mudas de bracatinga em resposta aos diferentes pH e aos FMAs <i>Acaulospora colombiana</i> (AC) e <i>Rhizophagus clarus</i> (RC) e o tratamento controle aos 57 dias após a emergência.....	57



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	<i>Acaulospora colombiana</i>
ANCOVA	Análise de covariância
ANOVA	Análise de cariância
BNF	Bactérias Fixadoras de Nitrogênio
CICG	Cultura de Glomeromycota
CTC	Capacidade de Troca de Cátions
CV	Coeficiente de variação
DAP	Diâmetro Altura do Peito
EPAGRI	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
FBN	Fixação Biológica de Nitrogênio
FMA	Fungos Micorrízicos Arbusculares
FURB	Universidade Regional de Blumenau
MA	Micorriza arbuscular
MSC	Massa da Matéria Seca do Caule
MSF	Massa da Matéria Seca de Folhas
MO	Matéria orgânica
MSPA	Massa Seca da Parte Aérea
MSR	Massa Seca da Matéria da Raiz
MST	Massa Seca da Matéria Total
PVLG	Polivinil-Lacto-Glicerol
RC	<i>Rhizophagus clarus</i>
SFT	Sistema Florestal Tradicional



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>23</b>
2.1	BRACATINGA .....	23
2.2	FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (FMAs) .....	26
2.2.1	Simbiose entre FMAs e plantas .....	26
2.2.2	FMAs em espécies florestais.....	28
2.2.3	Interação entre FMAs e BFN em espécies leguminosas .....	30
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO 1. RESPOSTAS DE CRESCIMENTO DE BRACATINGA Á INOCULAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS EM SOLO NÃO ESTÉRIL.....</b>	<b>33</b>
3.1	RESUMO .....	33
3.2	ABSTRACT.....	33
3.3	INTRODUÇÃO .....	34
3.4	MATERIAL E MÉTODOS .....	35
3.4.1	Delineamento experimental e condições de crescimento .....	35
3.4.2	Colheita e variáveis analisadas .....	36
3.5	RESULTADOS.....	38
3.5.1	Crescimento e desenvolvimento das mudas .....	38
3.5.2	Arquitetura radicular .....	40
3.5.3	Colonização micorrízica .....	42
3.6	DISCUSSÃO .....	42
3.7	CONCLUSÃO .....	45
<b>4</b>	<b>CAPÍTULO 2. COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA EM NÍVEIS DE pH INTERFERE NO CRESCIMENTO DE BRACATINGA.....</b>	<b>47</b>
4.1	RESUMO .....	47
4.2	ABSTRACT.....	47
4.3	INTRODUÇÃO .....	48
4.4	MATERIAL E MÉTODOS .....	49
4.4.1	Delineamento experimental e condições de crescimento .....	49
4.4.2	Colheita e variáveis analisadas .....	51
4.5	RESULTADOS .....	52
4.5.1	Crescimento da planta.....	52
4.5.2	Colonização micorrízica .....	54
4.5.3	Nodulação por BFN .....	56
4.6	DISCUSSÃO .....	57
4.7	CONCLUSÃO .....	60
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>61</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>63</b>



## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil, tornou-se um modelo de sucesso mundial em plantios com espécies florestais de rápido crescimento; isso foi possível devido a investimentos em pesquisa florestal no setor da silvicultura (MAZUCHOWSKI et al., 2014). Apesar do *Pinus*, espécie exótica, ser bem sucedido e com grande interesse econômico na região do Planalto Serrano Catarinense, existem espécies nativas que possuem características silviculturais potenciais ao cultivo nessa região, que podem ser utilizadas como alternativas (MENEGATTI, 2015), por exemplo, a bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.), espécie nativa da Floresta Ombrófila Mista, caracterizada por ser pioneira na sucessão secundária dessa vegetação e por possuir crescimento rápido, com incremento médio anual em torno de 24 m<sup>3</sup>/ha/ano (SÁNCHEZ et al., 2010), o que possibilita seu uso em reflorestamentos.

A bracatinga é um recurso florestal muito manejado por agricultores familiares de Santa Catarina, principalmente na serra catarinense, com grande importância como fonte de renda para os agricultores (MÜLLER, 2011). Embora seja empregada basicamente para fins energéticos, a bracatinga é caracterizada por amplo espectro de produtos madeiráveis, como madeira para construção civil, varas para olericultura, madeira serrada, peças torneadas, aglomerados, compensados e celulose (URBANO et al., 2008). A espécie ainda permite o consórcio com outras plantas, manejo no sistema silvipastoril, como planta forrageira e a utilização como pasto apícola (MAZUCHOWSKI, 1989).

Esta espécie forma nas raízes associações mutualísticas com rizóbios e com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Segundo Nadeem et al. (2014), os FMAs quando associados às plantas hospedeiras aumentam a área da superfície da raiz e permitem maior capacidade de absorção de água e nutrientes do solo como o fósforo (P), nitrogênio (N), potássio (K) e outros micronutrientes. Andrade (2000) identificou pela primeira vez FMA em raízes de *Mimosa scabrella* Benth. Lammel et al. (2015) identificaram o FMA do gênero *Acaulospora* spp. como predominante nas raízes de *Mimosa scabrella* Benth.. Recentemente, alguns trabalhos também têm demonstrado o potencial do uso de bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) e FMAs em *Mimosa scabrella* Benth. (LAMMEL et al., 2015; PRIMIERI, 2016).

O uso de tecnologias microbianas para o fornecimento de nitrogênio as plantas já vem sendo utilizada com sucesso no Brasil, como na cultura da soja, na qual, conforme Hungria e Mendes (2015), bactérias do gênero *Bradyrhizobium* contribuem de forma suficiente para uma alta produção de soja, permitindo um manejo mais sustentável e com diminuição dos custos de produção com a adubação mineral. No que diz respeito à utilização de FMAs no Brasil, é

limitada pela inexistência de inoculante comercial. O uso de inoculantes microbianos como (BFN) e (FMA) em espécies florestais são alternativas sustentáveis para reduzir o custo e o impacto ambiental causado pela utilização de insumos químicos, embora ainda com uso muito restrito e circunstancial.

Nesta linha de raciocínio, a seleção de estirpes eficientes para a bracatinga pode ser favorável ao desenvolvimento e a nutrição de mudas, reduzindo, assim, o tempo de viveiro e aumentando o índice de pegamento e a sobrevivência das mudas na fase de transplantio.

Embora alguns trabalhos tenham demonstrado a importância de FMA no crescimento desta espécie, ainda não existem informações relativas ao desenvolvimento da bracatinga, sob inoculação de FMA, em condições de solo, como a escassez de estudos relacionados à aplicação de FMA em diferentes pH do solo.

Considerando os diversos usos potenciais da bracatinga e a falta de conhecimentos entre a interação com FMA indígenas e fatores edáficos do solo, como o pH, este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da inoculação de dois isolados de FMA (*Acaulospora colombiana* e *Rhizophagus clarus*) no crescimento e desenvolvimento de mudas de bracatinga em solo não estéril, bem como a interação de BFN e FMA em diferentes pH em solo estéril.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 BRACATINGA

A *Mimosa scabrella* Bentham, popularmente conhecida como bracatinga, é uma leguminosa florestal, da subfamília Mimosoideae, nativa e endêmica do Brasil (DUTRA et al., 2012). Espécie pioneira, encontrada na Floresta Ombrófila Mista (Floresta com Araucária) (KLEIN, 1960) e nas formações Montana e Alto Montana, sendo pouco abundante nessas formações não perturbadas e formando grupos puros em áreas antropizadas, conhecido como bracatingais (BARTOSZECK, 2000).

Possui ampla distribuição geográfica, ocorrendo em todos os estados da região Sul e parte do Sudeste, nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo (DUTRA et al., 2012), nas altitudes de 350 a 2.000 m (CARVALHO, 2003), o qual, na região Sul, é encontrada em altitudes acima de 700 metros, temperaturas médias anuais de 13 a 18,5° C e sem déficit hídrico, entre as latitudes 23°50'S e 29°40'S e as longitudes 48°50'W até 53°50'W (ROTTA; OLIVEIRA, 1981).

A bracatinga é uma espécie da família Fabaceae (ex Mimosaceae), gênero *Mimosa* e espécie *M. scabrella*, identificada por Bentham. Tem como sinônima botânica o nome de *Mimosa bracaatinga* Hoehne (CARVALHO, 2003). Árvore perenifólia, associada com regiões de climas frios do Brasil, com 20 a 30 cm de diâmetro altura do peito (DAP) e 4 a 18 m de altura, podendo na idade adulta atingir até 50 cm de DAP e 29 m de altura (EMBRAPA, 1988). Quando ocorre em alta densidade desenvolve tronco alto e reto e quando cultivada isoladamente apresenta menor altura com tronco ramificado. Pode chegar a viver até 25 anos, ou seja, é uma espécie de baixa longevidade (CARVALHO, 1994).

A bracatinga pode ser considerada uma espécie de rápido crescimento quando comparada com outras espécies florestais nativas (LAURENT; MENDONÇA, 1989). Em estudo realizado por Carvalho (1983) foi verificado que o crescimento em altura da bracatinga aos oito meses após o plantio foi superior a espécies nativas como: *Luehea divaricata* (açoita-cavalo); *Gochnatia polymorpha* (cambará); *Ocotea puberula* (canela-guaicá); *Ilex paraguariensis* (erva-mate); *Ocotea porosa* (imbuia); *Tabebuia alba* (ipê-amarelo) e *Podocarpus lambertii* (pinheiro-bravo). Pouco exigente quanto às condições físicas e químicas do solo (REGENSBURGER; COMIN; AUMOND, 2008), ocorre em solos de textura franca ou argilosa e bem drenados, e em terrenos rasos com pH variando de 3,5 a 5,5 (CARPANEZZI, 2006).

A bracatinga vem sendo manejada tradicionalmente desde o início do século XX, na forma de densos povoamentos, conhecidos como bracatingais, cuja finalidade é predominantemente a produção de lenha (EMBRAPA FLORESTAS, 1988), mas apesar de possuir ocorrência natural em regiões de climas temperados (MARTINS, 2004) a espécie tem sido introduzida em regiões tropicais do Brasil e até mesmo em outros países da América Central e África, principalmente devido à sua alta taxa de crescimento (BAGGIO, 1994). Na América Central, foi introduzida em altitudes de até 2.500 m (STANDLEY; STEYERMARK, 1946).

Steenbock et al. (2011), destacam que a bracatinga possui grande importância socioeconômica, sobretudo para pequenos produtores rurais. Segundo Mazuchowski et al. (2014) é reconhecida pelo seu potencial energético e madeireiro. Outros trabalhos também relatam a importância da madeira como fonte de renda (SIMINSKI et al; STEENBOCK et al., 2011).

Em Santa Catarina, *M. scabrella* vem sendo uma alternativa de renda para pequenos produtores rurais, principalmente na agricultura familiar (STEEENBOCK et al., 2011), sendo a principal espécie madeireira utilizada como fonte energética para uso doméstico, principalmente na serra catarinense, com grande importância como fonte de renda para os agricultores (MÜLLER, 2011). Na região noroeste do planalto catarinense, o manejo de bracatingais é prática comum em assentamentos rurais e constitui na principal atividade econômica (STEEENBOCK, 2009). Historicamente o uso de madeira foi norteado pelo mercado de lenha para queima direta em residências, locomotivas de estrada de ferro e algumas indústrias regionais (cal, açúcar, olarias) (MAZUCHOWSKI; BECKER, 2006).

Embora seja empregada basicamente para fins energéticos, a bracatinga é caracterizada por amplo espectro de produtos madeiráveis, como madeira para construção civil, varas para olericultura, madeira serrada, peças torneadas, aglomerados, compensados e celulose (URBANO et al., 2008) e carvão vegetal em Biguaçu (FANTINI et al., 2010; ULLER-GÓMEZ et al., 2012).

A espécie também é utilizada em sistemas agroflorestais (CARVALHO, 2003), no qual, são implantados cultivos agrícolas (principalmente milho e feijão) no primeiro ano após a queimada, em linhas, o que exige a realização de capinas, reduzindo-se a elevada densidade da bracatinga na fase inicial do ciclo. No Sistema florestal tradicional (SFT) a bracatinga é implantada por semeadura em campo, ou por regeneração natural após queimada, favorecendo a regeneração da espécie a partir do grande banco de sementes (CARPANEZZI, 1997).

O bracatingal desempenha um papel importante na economia de muitas propriedades rurais, constituindo-se em uma das principais fontes de renda. Entretanto o seu manejo continua sendo de forma tradicional, que pode não ser a maneira mais adequada de condução (BARTOSZECK, 2000), sendo que a principal utilização da madeira de bracatinga, ainda continua sendo a lenha, por ser o objetivo fundamental do bracatingal nas propriedades rurais, com rotação bastante curta, entre seis e oito anos, além de não exigir muitos tratos silviculturais (CARPANEZZI et al., 2004). A madeira de bracatinga proporciona uma lenha muito boa e um carvão de excelente qualidade (SILVA; LEITÃO FILHO, 1982).

Bracatinga também se destaca por ser considerada uma importante espécie apícola (PEGORARO et al., 2011) e medicinal (REIS; SIMINSKI, 2011). A espécie ainda permite o consórcio com outras plantas; a instalação de pastagem no seu sub-bosque; como planta forrageira (MAZUCHOWSKI, 1989). Outro uso importante da espécie, é na recuperação de áreas degradadas (FERREIRA et al., 2013) já que após se estabelecer, ela se desenvolve rápido, ocupando e melhorando as condições físicas, químicas e biológicas do terreno, favorecendo o surgimento de outras espécies que vão substituindo-a ao longo do tempo (REGENSBURGER et al., 2008). Segundo (CARVALHO et al., 2003), a bracatinga tem a capacidade de depositar até 8 toneladas de material orgânico e 200 kg de nitrogênio por hectare, possibilitando o início do processo sucessional arbóreo no qual podem-se instalar cerca de outras 60 espécies vegetais.

Atualmente, o cultivo da bracatinga vem chamando a atenção tanto de órgãos ambientais como de empresas do setor madeireiro, pois a espécie une duas características com funções opostas, a recuperação de áreas degradadas e a possibilidade de lucros financeiros, através de seu potencial para produção de móveis (ROEDER, 2009). Segundo Mazuchowski (2012), a implantação e manejo de bracatingais com o objetivo de produzir madeira para serraria ainda não é uma prática adotada em escala comercial na região de ocorrência natural da espécie, apesar de pesquisas indicarem grande potencial para madeira com fins mais nobres ou maior valor agregado. Entretanto possui potencialidades para usos futuros (CORADIN et al., 2011; ULLER-GÓMEZ et al., 2012).

## 2.2 FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (FMA<sub>s</sub>)

### 2.2.1 Simbiose entre FMA<sub>s</sub> e plantas

Simbiose é definida como a associação entre organismos dissimilares através do contato físico, troca de metabólitos e de nutrientes, integração morfológica e fisiológica e regulação funcional entre os parceiros (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Micorriza (do grego: Mykes – fungos, rhiza – raiz) é a denominação dada para associação simbiótica entre determinados fungos de solo e as raízes de plantas (SANTOS, 2014). Conforme Scott (2008), as associações micorrízicas são classificadas em sete tipos: micorriza arbuscular, micorriza arbutoide, micorriza ericoide, micorriza orquidoide, micorriza monotropoide, ectomicorriza e ectendomicorriza; as endomicorrizas são comumente denominadas de FMA<sub>s</sub>, o qual, possuem três estruturas típicas: hifas, arbúsculos e vesículas.

Os FMA<sub>s</sub> pertencentes ao filo Glomeromycota e a classe Glomeromycetes (SOUZA et al., 2010), surgiram há cerca de 400 milhões de anos, e teriam sido peça chave para que as espécies vegetais conseguissem se adaptar ao ambiente terrestre (Taylor et al., 1995). São simbiontíficos obrigatórios, ou seja, não são capazes de completar seu ciclo de vida, sem estarem associados com um hospedeiro metabolicamente ativo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; PARNISKE, 2008; STÜRMER; SIQUEIRA, 2013), por terem perdido sua capacidade saprofítica durante sua evolução (PARNISKE, 2008).

Os FMA<sub>s</sub> estabelecem uma relação simbiótica mutualista com raízes de angiospermas, gimnospermas, além de alguns representantes das briófitas e pteridófitas, ou seja, uma relação que traz benefícios para ambos os parceiros (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Essa simbiose tem sido considerada a mais importante de todas as que envolvem plantas e microrganismos (BERBARA et al., 2006) e o tipo mais comum, pois associam-se com cerca de 80% das plantas terrestres, devido seu importante papel na nutrição vegetal, sua influência no ecossistema e por despertar grande interesse na sua utilização na agricultura (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; PARNISKE, 2008).

O estabelecimento das micorrizas arbusculares resulta de uma sequência de eventos coordenados pelo fungo e pela planta e suas interações, culminando com uma relação simbiótica caracterizada pela perfeita integração morfológica, bioquímica e funcional da associação (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Nesse tipo de simbiose mutualística, as raízes das plantas sob condições de estresse nutricional, liberam sinais bioquímicos, denominados "fatores de micorrização". Essas

moléculas sinalizadoras são percebidas pelos FMAs como sinal para a colonização radicular (LAMBAIS; RAMOS, 2010) e por meio da germinação de seus esporos e ramificação das suas hifas (KIRIACHEK et al., 2009), aderem à superfície radicular (epiderme ou pêlos radiculares) e formam um apressório, através do qual penetram nas células da epiderme na zona de diferenciação e alongamento, formando a “unidade de infecção”. A partir deste ponto, as hifas se espalham pelo córtex intercelularmente, através da lamela média tornando-se, posteriormente, intracelulares, quando formam as hifas enoveladas nas camadas mais externas do córtex, diferenciando-se em arbúsculos nas camadas mais internas e, finalmente, em vesículas e esporos (SOUZA et al., 2006).

As hifas dos FMAs facilitam a exploração de nutrientes obtidos do solo, conectando raízes de diferentes indivíduos de uma mesma espécie de planta e também de espécies distintas, transportando até o interior das raízes. Os nutrientes são transferidos à planta micorrizada através de estruturas especializadas, denominadas “arbúsculos”, que são formadas pela invaginação e por modificações fisiológicas e estruturais nas hifas estando localizadas dentro de células corticais das raízes (SOUZA et al., 2017).

Os FMAs associados às plantas hospedeiras aumentam a área da superfície da raiz e permitem maior capacidade de absorção de água e nutrientes do solo (NADEEM et al., 2014), como o fósforo (P), nitrogênio (N), potássio (K) e outros micronutrientes (SMITH; READ, 2008; STÜRMER et al., 2009). Durante a interação micorrízica, as plantas utilizam nutrientes absorvidos pelos FMAs e esses por sua vez, utilizam produtos oriundos da fotossíntese realizada pelas plantas (WALDER et al., 2012). Nessa associação, os fungos transferem às raízes das plantas, pelas hifas, a água e os nutrientes minerais do solo, principalmente P, e recebem da planta os compostos de C necessários para completarem seu ciclo de vida (SMITH; READ, 2008).

A contribuição dos FMAs para as espécies vegetais vai muito além do seu papel na associação mutualística nutricional, em que o fungo se beneficia do fornecimento de carbono, via produtos fotossintéticos e provê a planta com nutrientes e água (VALADARES et al., 2016), atuam também na agregação do solo, promovida pela atividade mecânica das hifas e da liberação de seus exsudatos (DAYNES et al., 2013), propiciam melhor resistência ao estresse hídrico, temperaturas elevadas, acidez provocada por Al, condições de toxidez do solo e patógenos (SMITH; READ, 2008). Sendo assim, os FMAs promovem o crescimento das plantas por absorver nutrientes e água do solo, aumentando a resistência nos períodos de seca e na ocasião do transplante (VALADARES et al., 2016).

Segundo Mello et al.(2012) o desenvolvimento da colonização micorrízica e da esporulação na rizosfera das plantas está relacionado a condições ambientais, como fertilidade, textura, e pH do solo; como existem também diferenças na capacidade de colonização entre as espécies de FMAs com uma determinada planta hospedeira (MACHINESKI et al.,2009), devido à compatibilidade diferenciada com as espécies de fungos micorrízicos do solo e à variação nas características genéticas das plantas, que podem determinar sua dependência pelas micorrizas e contribuir para sua adaptação ao local (BALOTA et al., 2011; FARIA et al., 2013).

A eficiência dos FMAs e a dependência micorrízica de plantas variam de acordo com o fungo, planta hospedeira e condições edáficas (PLENCHETTE et al., 1983).A resposta está diretamente relacionada à taxa de crescimento do hospedeiro e à demanda interna de P (KOIDE, 1991) enquanto a dependência micorrízica está mais relacionada à capacidade de absorção de nutrientes de uma planta não colonizada do que à sua necessidade nutricional. A independência de plantas de micorrizas ocorre quando nutrientes minerais a um dado nível de oferta é suficiente (JANOS, 1996).

## **2.2.2 FMAs em espécies florestais**

Segundo Carneiro et.al (2011), nas últimas décadas o reconhecimento da importância funcional e ecológica da simbiose dos FMAs com as plantas tornou-se mais evidente. Estudos no Brasil têm enfatizado os efeitos da associação micorrízica arbuscular no desenvolvimento de espécies arbóreas (BRAGHIROLI, 2012).Um dos efeitos mais pronunciados das micorrizas é o aumento na absorção de nutrientes e água pelas hifas do fungo, que são disponibilizados ao hospedeiro vegetal em troca de fotossintatos (SMITH; READ, 2008), aumentando o nível de tolerância a situações de estresse abiótico (BAREA et al., 2013) proporcionando maior taxa de crescimento e sobrevivência (NADEEM et al., 2014).

Os FMAs tem importância como componente da fertilidade e qualidade dos solos tropicais, reduzindo a necessidade de adubação e o tempo de permanência no viveiro, resultando em maior sobrevivência e produção das plantas (CARDOSO et al., 2010).

Estudos tem relatado o benefício dos FMAs em condições de baixa disponibilidade de nutrientes no solo, principalmente o fósforo (SMITH; READ, 2008; BALOTA et al., 2011), sendo que a colonização micorrízica é reduzida em ambientes com alta fertilidade (PARNISKE, 2008).

Leifheit et al. (2014), descreve que FMAs podem potencializar o desenvolvimento das mudas, pois desempenham funções importantes relacionadas à recuperação da estrutura do solo, aumento de produtividade e conservação dos ecossistemas naturais.

Segundo Braghirolli (2012), o país acumula conhecimento considerável dos efeitos da inoculação micorrízica no aumento de biomassa aérea e radicular, bem como na nutrição mineral de espécies arbóreas nativas. Trabalhos demonstraram que as espécies arbóreas nativas em estádio inicial de crescimento, quando micorrizadas apresentaram maior absorção de P (SCHIAVO et al., 2009; LACERDA et al., 2011). Schiavo et al. (2009) observaram que mudas de espécies florestais produzidas em casa de vegetação e inoculadas com os FMAs apresentaram maior crescimento e qualidade. Segundo Angelini et al. (2013) promovem também o estabelecimento e maior sobrevivência das mudas no campo.

Nas últimas duas décadas, segundo Braghirolli (2012), muitos estudos no Brasil avaliaram a relação dos FMAs na produção de biomassa vegetal e absorção de nutrientes em várias espécies arbóreas tropicais pertencentes a diferentes estádios sucessionais. Carneiro et al. (1996); Siqueira et al. (1998); Zangaro et al. (2000); Pasqualini et al. (2007) demonstram claramente o efeito que os FMAs possuem no acúmulo de biomassa aérea para diferentes espécies arbóreas.

Andrade et al. (2000) avaliaram 29 espécies nativas na floresta de araucária e na mata atlântica do estado de Santa Catarina, quanto ao status micorrízico destas espécies, verificando a presença de estruturas reprodutivas de FMAs em todas as espécies estudadas e a primeira vez na *M. scabrella*. Zangaro (2002), descreve que em solo com baixa disponibilidade de nutrientes, a presença de micorriza arbuscular (MA) em 16 espécies arbóreas pioneiras, a exemplo da *M. scabrella* é de grande importância para o desenvolvimento das suas raízes e para o aumento da fixação do C pela parte aérea, como na contribuição das MA em auxiliar as espécies pioneiras e secundárias iniciais na absorção dos nutrientes minerais em solos pobres.

Estudo realizado por Pouyú-Rojas et al. (2006), utilizando 16 espécies arbóreas tropicais, entre elas a espécie *Mimosa caesalpiniaeefolia* (sabiá) foram inoculados com os isolados fúngicos de *Rhizophagus clarus* (=*Glomus clarum*), *Acaulospora colombiana* (=*Entrophosphora colombiana*), *Scutellospora pellucida* e *Claroideoglomus etunicatum* (=*Glomus etunicatum*), os resultados indicaram como as espécies de FMAs mais promissoras para estudos, visando à aplicação dos FMAs no reflorestamento com espécies nativas.

Mais recentemente, Primieri (2016), utilizando o FMA *Glomus intraradices*, verificou aumento significativo na massa seca da parte aérea, massa de nódulos e número de nódulos na *Mimosa scabrella*.

### 2.2.3 Interação entre FMAs e BFN em espécies leguminosas

A família Leguminosae também conhecida como Fabaceae, é a terceira em número de espécies (cerca de 19.325), após Compositae e Orquidiaceae, e a segunda família economicamente mais importante (JUDD et al., 2009), devido à alta produção de sementes, legumes, folhas, raízes e flores. Suas espécies ainda podem apresentar uso madeireiro para construção de casas, produção de utensílios tecnológicos e combustível, medicinal, ornamental, sombra, entre outros usos (FERNANDES et al., 2014).

Uma característica marcante da família é que determinados gêneros de bactérias diazotróficas, denominadas genericamente de rizóbios, podem viver em simbiose com as raízes de leguminosas (Fabaceae) em estruturas chamadas de nódulos (MAZUCHO WSKI, 2014), ou seja, são plantas de grande interesse agronômico e ecológico (AZCÓN; BAREA, 2010).

A bracatinga é uma leguminosa arbórea que apresenta capacidade de estabelecer simbiose mutualística com microrganismos do solo (EHRHARDT-BROCARDO et al., 2015). Trabalhos tem relatado a associação simbiótica com rizóbios (DE FARIA et al., 1984; GRIMALDI et al., 2012; PRIMIERI et al., 2013; EHRHARDT-BROCARDO et al., 2015; PRIMIERI, 2016).

O nitrogênio é o nutriente de maior demanda pelas plantas e o mais importante nos sistemas de produção agrícola e florestal. O principal meio pelo qual as plantas podem assimilar o nitrogênio é por meio da fixação biológica (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A fixação simbiótica de N<sub>2</sub> em leguminosas é responsável por grandes contribuições da fixação de N em sistemas de cultivo (LOPES; MORAES; LANG, 2016).

A FBN contribui significativamente com o fornecimento total do nitrogênio necessário para as plantas (MOREIRA et al., 2008), sendo elemento fundamental no metabolismo das plantas, uma vez que é utilizado na síntese de proteínas, vitaminas, pigmentos, entre outros compostos orgânicos (HUNGRIA et al., 2001).

O processo de FBN é restrito a alguns grupos filogenéticos de procariotos, altamente diversos, que possuem a enzima nitrogenase, capaz de reduzir N<sub>2</sub> a NH<sub>3</sub>. Esses microrganismos podem ser bactérias de vida livre ou em simbiose com plantas e são conhecidos como diazotróficos (MOREIRA et al., 2008). Trabalho realizado por Primieri (2016), identificou que a espécie mais relacionada com BFN na bracatinga foi a *Burkholderia nodosa*. Outros trabalhos realizados por Chen et al. (2007) descreveram a espécie *Burkholderia nodosa* como BFN; esse

gênero também foi encontrado em nódulos de bracatinga no trabalho de Lammel et al. (2013); Ehrhardt-Brocardo et al. (2015).

Entretanto, além da simbiose mutualista com as BFN na bracatinga, segundo Andrade et al. (2000), FMAs também foram identificados vivendo em simbiose com o sistema radicular de *M. scabrella*. Outros trabalhos também descrevem a ocorrência de micorriza arbúscular (ZANGARO et al., 2002; ZANGARO et al., 2003; LAMMEL et al., 2007). Lammel et al. (2015) destacaram o FMA do gênero *Acaulospora spp.* como predominante nas raízes de *M. scabrella*.

Franco et al. (1995) descreveram que inúmeras espécies de leguminosas florestais possuem a capacidade de formar associações simbióticas com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico e ao mesmo tempo com FMAs.

Segundo Mazuckovski (2014) a eficiência da FBN pode ter relação direta com a presença de micorrizas. Artursson et al. (2006), descreve que os benefícios da interação entre FMAs e as bactérias diazotróficas podem ocorrer em razão do incremento na absorção de P pelas plantas micorrizadas, o que propicia melhores condições para o estabelecimento da associação com diazotróficos. De maneira geral, as espécies de leguminosas arbóreas noduladas apresentam alta demanda de P, oferecendo oportunidade para a contribuição dos FMAs em sinergismo com rizóbio (SOUZA; SILVA, 1996).

A grande maioria das espécies florestais, possui uma maior demanda de fósforo na fase de muda (NOVAIS et al., 1990), segundo Barea et al. (1992), o principal papel do fungo é o fornecimento de P para a planta hospedeira e o suprimento da alta demanda desse nutriente para os nódulos. O processo de FBN é altamente exigente em energia na forma de ATP, de modo que o adequado suprimento de P proporcionado pelos FMAs, beneficia o processo. A maior absorção de P, além de interferir diretamente no processo de fixação do N, aumenta a produção de raízes e a fotossíntese, o que aumenta a nodulação das plantas micorrizadas.

Primieri (2013), relata que além da massa seca, a inoculação conjunta com FMA e BFN influenciou positivamente a nodulação, o acúmulo de nitrogênio e as variáveis radiculares; esses resultados demonstraram a dependência de inoculação de FMA e BFN no desenvolvimento de mudas de *Mimosa scabrella* sob condições limitantes de fósforo. Garg; Manchanda (2008), também verificaram que a dupla inoculação das plantas com FMAs e BFN foram mais eficientes na produção de nódulos radiculares e acúmulo de nitrogênio.

Pontes et al. (2012), estudando a dupla inoculação de *Burkholderia sabiae* e *G. etunicatum* em *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. (sabiá), visando a recuperação em áreas degradadas, verificou maior nodulação e eficiência simbiótica em relação ao tratamento de

inoculação apenas com rizóbio. Em outro trabalho utilizando a mesma espécie arbórea, com inoculação conjunta de *Glomus clarum* e *Gigaspora margarita* e rizóbio, foi observado maior crescimento em altura das plantas até os nove meses de cultivo (MENDES et al. 2013).

Também tem sido demonstrado que algumas espécies arbóreas só respondem a N-mineral quando são micorrizadas (PEREIRA et al., 1996). Mas recentemente, Tavares et al. (2016), utilizando *Bradyrhizobium*, fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e níveis de P em mudas de *Acacia mangium* Willd, verificou que os tratamentos microbiológicos utilizando rizóbio isolado ou em inoculação conjunta com os fungos micorrízicos, foram superiores na grande maioria dos parâmetros estudados em relação aos tratamentos testemunha e micorriza isolada. Oliveira et al. (2011) observaram os efeitos da inoculação de fungos micorrízicos e rizóbio no crescimento inicial de *Acacia mangium* em diversas variáveis. Esses autores verificaram que a dupla inoculação (rizóbio e FMA) mostrou-se mais eficiente na produção de matéria seca radicular.

Outros trabalhos têm demonstrado, que a co-inoculação de leguminosas com rizóbio e fungos micorrízicos aumentam a nodulação, fixação de nitrogênio e crescimento das leguminosas em solos de baixa fertilidade (COSTA et al., 1990). Sendo assim, os FMAs são de grande interesse para as regiões tropicais, especialmente para o Brasil, devido às condições ambientais e à baixa fertilidade de muitos solos (SIQUEIRA et al., 1998).

### **3 CAPÍTULO 1. RESPOSTAS DE CRESCIMENTO DE BRACATINGA Á INOCULAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS EM SOLO NÃO ESTÉRIL**

#### **3.1 RESUMO**

Bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.) é uma espécie leguminosa arbórea nativa de rápido crescimento. Essa espécie forma nas raízes associações mutualísticas com rizóbios e com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de dois isolados de FMAs (*Acaulospora colombiana* – CT115A e *Rhizophagus clarus* – SCT720A) no crescimento e desenvolvimento de mudas de bracatinga em solo nativo não esterilizado. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, no período de outubro a dezembro de 2016. Plântulas de bracatinga foram cultivadas em vasos com 1,7 kg de solo não esterilizado, e inoculadas ou não (controle) com os isolados de FMAs. O delineamento experimental utilizado foi o de bloco ao acaso, com 20 repetições para cada tratamento. Plantas inoculadas com *Rhizophagus clarus* apresentaram resultados maiores que o controle e o tratamento com *Acaulospora colombiana*, em relação à emissão do número de folhas da haste principal, massa seca da parte aérea e de raízes, bem como para a arquitetura radicular. Na colonização micorrízica, plantas controle tiveram taxas de 36,1% e 11,8% maiores que *Rhizophagus clarus* e *Acaulospora colombiana*, respectivamente. Este resultado indica que maior taxa de colonização micorrízica não necessariamente se reflete em maiores respostas de crescimento da planta hospedeira. Dessa forma, concluimos que a inoculação do FMA *Rhizophagus clarus* pode ser uma alternativa no desenvolvimento de mudas de bracatinga.

**Palavras-chave:** *Rhizophagus clarus*. *Acaulospora colombiana*. *Mimosa scabrella*. Micorrizas arbusculares.

#### **3.2 ABSTRACT**

Bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.) is a fast growing native tree legume species. This species forms in its roots mutualistic associations with rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi (AMFs). The objective of this work was to evaluate the effect of inoculation of two isolates of AMFs (*Acaulospora colombiana* e *Rhizophagus clarus*) on the growth and development of bracatinga seedlings in the soil native not sterilized. The experiment was carried out under greenhouse conditions from october to december 2016. Bracatinga seedlings were grown in pots with 1.7 kg of unsterilized soil and inoculated or not (control) with AMFs isolates. The experimental design was randomized blocks with 20 replicates for each treatment. Plants inoculated with *Rhizophagus clarus* showed higher results than the control and treatment with *Acaulospora colombiana*, regarding the emission of the number of leaves of the main stem, dry matter of the aerial part and of roots, as well as to the root architecture. In mycorrhizal colonization, control plants had rates of 36.1% and 11.8% more than *Rhizophagus clarus* and *Acaulospora colombiana*, respectively. This result indicates that higher rate of mycorrhizal colonization does not necessarily reflect higher growth responses of the host plant. Thus, we conclude that the inoculation of the FMA *Rhizophagus clarus* may be an alternative in the development of bracatinga seedlings.

**Keywords:** *Rhizophagus clarus*. *Acaulospora colombiana*. *Mimosa scabrella*. Arbuscular mycorrhizae.

### 3.3 INTRODUÇÃO

Em Santa Catarina, *M. scabrella* vem sendo uma alternativa de renda para pequenos produtores rurais, principalmente na agricultura familiar (STEENBOCK et al., 2011; SIMINSKI et al., 2011), sendo a principal espécie madeireira utilizada como fonte energética para uso doméstico, principalmente na serra catarinense (MÜLLER, 2011). Na região noroeste do planalto catarinense, o manejo de bracatingais é prática comum em assentamentos rurais e constitui na principal atividade econômica (STEENBOCK, 2009). Embora seja empregada basicamente como biomassa energética, a espécie pode ser utilizada para outros fins: pasto apícola, produção de celulose, madeira, palanques e escoras e manejo de áreas degradadas (MAZUCHOWSKI et al., 2014). Além disso, vem sendo utilizada em sistemas silvipastoris de produção agropecuária, como componente arbóreo.

A bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.) possui a característica ecológica de se associar simbioticamente a bactérias fixadoras de Nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares. Segundo Braghierioli (2012), estudos no Brasil têm enfatizado os efeitos da associação micorrízica arbuscular no desenvolvimento de espécies arbóreas. Trabalhos tem demonstrado que as espécies arbóreas nativas em estádio inicial de crescimento, quando micorrizadas apresentaram maior absorção de P (LACERDA et al., 2011), maior crescimento e qualidade das mudas (SCHIAVO et al., 2009) promovendo maior sobrevivência das plantas no campo (ANGELINI et al., 2013) e acúmulo de biomassa aérea (SCHIAVO et al.; 2009; CARNEIRO et al.; 1996; SIQUEIRA et al.; 1998; ZANGARO et al.; 2000; PASQUALINI et al.; 2007). Zangaro (2002), descreve que em solo com baixa disponibilidade de nutrientes, a presença de micorriza arbuscular (MA) em *M. scabrella* é de grande importância para o desenvolvimento das suas raízes.

Estudo realizado por Pouyú-Rojas et al. (2006), utilizando 16 espécies arbóreas tropicais, entre elas a espécie *Mimosa caesalpiniaefolia* (sabiá), verificaram que as espécies de FMAs *Rhizophagus clarus* e *Acaulospora colombiana* foram as mais promissoras. De acordo com Lima et al. (2015), a maioria das espécies arbóreas tropicais associadas a FMAs desenvolve-se mais rapidamente, ficando menos tempo no viveiro. Dessa forma, a seleção de FMAs para mudas de bracatinga pode auxiliar no entendimento dos benefícios dessa associação simbiótica a espécie e estimular o uso de inoculantes na produção de mudas.

Embora alguns trabalhos tenham demonstrado a importância de FMAs no crescimento da bracatinga, ainda não existe informações relativas ao desenvolvimento em solo não estéril e também a campo. Trindade et al. (2000) aborda que para que os FMAs sejam utilizados em programas de inoculação, é necessário que sejam capazes de apresentar eficiência simbiótica em solo que contenham populações nativas de FMA. A presença da microbiota nativa, incluindo os fungos micorrízicos, pode também influenciar na eficiência da inoculação de espécies de FMAs selecionadas (CHU et al., 2004).

Devido os diversos usos potenciais da bracatinga somado a escassez de estudos relacionados à aplicação de FMAs no campo ou mesmo em viveiro com solo não esterilizado e considerando a hipótese que a inoculação dos FMAs promovem o crescimento de mudas de bracatinga em solo não estéril, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação de dois isolados de FMAs (*Acaulospora colombiana* – SCT115A e *Rhizophagus clarus* – SCT720A) em solo nativo não esterilizado, em casa de vegetação.

### 3.4 MATERIAL E MÉTODOS

#### **3.4.1 Delineamento experimental e condições de crescimento**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), Estação Experimental de Lages (SC), no período de outubro a dezembro de 2016, utilizando delineamento em blocos ao acaso, com inoculação de duas espécies de FMAs, um tratamento controle, sem inoculação, com 20 repetições por tratamento. Os isolados foram provenientes da Coleção Internacional de Cultura de Glomeromycota da Universidade Regional de Blumenau (FURB). Sementes foram coletadas de uma única planta, localizada no município de Irineópolis (SC), no ano de 2015, sob as coordenadas geográficas 26°16'03,80" S e 50°45'41,73" O.

O solo utilizado foi um Cambissolo, coletado no município de Painel (SC), em área com cobertura de mata nativa, sob as coordenadas geográficas 27°52'9,04" S e 50°11'53,22" O. Após a coleta, o solo foi peneirado em malha de 5,0 mm e armazenado até o momento da instalação do experimento. Uma sub amostra foi utilizada para composição química, realizada no laboratório de rotina de análise de solo da Universidade do Estado de Santa Catarina, apresentando as seguintes características: pH (H<sub>2</sub>O) = 4,7; P = 6,1 mg/dm<sup>3</sup>; K = 32,0 mg/dm<sup>3</sup>; MO = 2,5%; Al = 1,4 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; Ca = 2,6 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; Mg = 0,7 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; CTC (pH=7) = 17,08 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>. Para corrigir as necessidades de K a bracatinga, (Teor baixo (limite de muito

baixo <30 mg/dm<sup>3</sup>) o solo recebeu aplicação antes da semeadura de 105,4 mg/ KCL/vaso (65 kg K<sub>2</sub>O/ha) conforme as recomendações para espécie (CQFS-RS/SC, 2016).

As sementes foram desinfestadas superficialmente com etanol 80% por um minuto, hipoclorito de sódio 3% por cinco minutos e lavadas por cinco vezes em água destilada esterilizada. Para quebra da dormência, as sementes foram imersas em água quente (80°C) durante cinco minutos e deixadas imersas em água à temperatura ambiente por 18 horas. A semeadura foi efetuada utilizando-se 2 sementes de bracatinga por vaso.

Imediatamente antes da semeadura foi realizada a inoculação com os isolados *Acaulospora colombiana* - SCT115A e *Rhizophagus clarus* -SCT720A em vasos contendo 1,7 Kg de solo. Cada vaso recebeu 15 g de substrato inóculo (mistura de areia, argila expandida, raízes colonizadas, esporos e hifas de FMAs), colocado a 1 cm abaixo da superfície do solo. Para recompor a microbiota não-micorrízica, no tratamento controle foram adicionados 15 g inóculo misto (*Rhizophagus clarus* + *Acaulospora colombiana*) esterilizado e 5 mL de uma suspensão obtida pela filtragem em papel de filtro da mistura de solo-inóculo.

Duas semanas após a semeadura, quando as mudas apresentavam o primeiro par de folhas definitivas, foi feito o desbaste, deixando-se a planta mais vigorosa. A umidade do solo foi mantida próxima à capacidade de campo, durante o período de condução experimental.

### **3.4.2 Colheita e variáveis analisadas**

Foram avaliadas semanalmente o número de folhas emitidas ou acumuladas na haste principal através da contagem visual, utilizando uma escala de notas de acordo com adaptações de Moreau et al. (2006). O início da contagem foi a partir do surgimento da primeira folha verdadeira, finalizando-se após 67 dias de crescimento das mudas. A altura de planta, determinada a partir do colo da planta até a gema apical, foi avaliada somente no final do experimento, com auxílio de régua milimétrica

Nessa ocasião, das 60 plantas cultivadas em 4 blocos contendo 5 repetições dos tratamentos em cada bloco, foram retiradas duas plantas de cada tratamento em cada um dos 4 blocos (6 plantas/bloco) totalizando 24 plantas; para posterior determinação das análises de volume de caule e folha; massa de matéria seca de folhas, caule, raiz e total; arquitetura radicular e colonização micorrízica total. As outras 36 plantas foram transplantadas á campo, para futuras avaliações de crescimento e desenvolvimento da espécie em condições não controladas.

As plantas que não foram transplantadas á campo, foi removido o solo do sistema radicular e a parte aérea e raízes foram separadas a partir do colo da planta. As folhas foram separadas do caule de cada planta, quando foram obtidos os volumes (mL) de folha e caule, por meio da medição do deslocamento da coluna de água em proveta graduada, segundo metodologia descrita por Basso (1999).

As raízes foram lavadas e armazenadas em etanol 50% para posterior determinação de colonização micorrízica e arquitetura radicular. Para a colonização micorrízica, fragmentos de 1 cm de raízes finas de uma sub amostra representativa de cada repetição foram colocadas em tubos de ensaio. As amostras foram clareadas com KOH 10% por 1 hora a 90°C, após lavadas em água corrente e em seguida acidificadas com ácido acético glacial a 5% por 35 minutos e então coradas com solução de tinta de caneta-tinteiro a 5% em ácido acético a 5% por 10 minutos a 90°C. Depois de lavadas em água corrente, foram colocadas em uma solução de ácido acético glacial (1 ml da solução de ácido acético glacial 5% em 1000 mL de água destilada) por 1 hora de acordo com a metodologia descrita por VIERHEILIG et al., (1998). As raízes foram armazenadas em água destilada, e os segmentos de raízes depositados, com o auxílio de uma pinça, sobre lâminas microscópicas, com gotas de Polivinil-Lacto-Glicerol (PVLG), sendo posteriormente cobertas por uma lamínula.

A determinação da colonização micorrízica foi realizada pelo método de intersecção radicular em lâminas, avaliando a presença de estruturas fúngicas (hifas intraradiculares, vesículas e arbúsculos) (GIOVANNETTI; MOSSE, 1980).

O sistema radicular das plantas foi escaneado com auxílio do software Winrhizo Pro (2009) na impressora Epson Expression 10000 XL. Para o escaneamento as raízes foram removidas do etanol 50% e imersas em água em uma bandeja transparente. Os dados foram coletados em cada repetição para as seguintes variáveis: comprimento total das raízes, área de projeção, área superficial, diâmetro médio das raízes, relação volume/comprimento, volume ocupado no solo e número de bifurcações. A parte aérea da planta e as raízes foram secas em estufa de circulação forçada à 65°C até obtenção da massa constante para determinação da massa seca total da planta.

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), análise de regressão linear e análise de covariância (ANCOVA) respeitando-se os pressupostos da análise. As médias quando significativas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Todos os procedimentos estatísticos foram realizados no software R.

### 3.5 RESULTADOS

#### 3.5.1 Crescimento e desenvolvimento das mudas

A massa da matéria seca da bracatinga foi significativamente afetada pela inoculação com *Rhizophagus clarus*, com incrementos 21,41%; 23,28%; 28,37% e 24,85% nas massas secas totais, de caule, de folha e raiz, respectivamente, em relação ao controle. No entanto, a inoculação com *Acaulospora colombiana* não apresentou diferença em relação ao controle (Tabela 1).

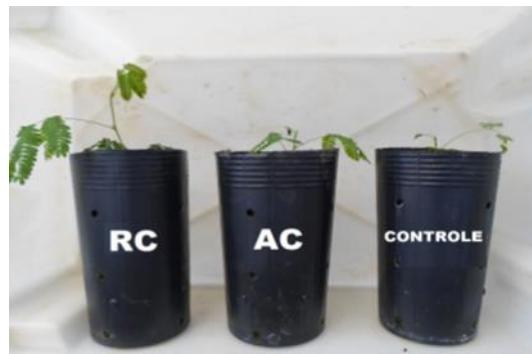
Tabela 1-Massa da matéria seca de folhas (MSF), do caule (MSC), da raiz (MSR) e total (MST) de mudas de bracatinga após 67 dias de micorrização e cultivo em casa de vegetação.

Tratamento	MSF	MSC	MSR	MST
	g (planta <sup>-1</sup> )			
<i>Rhizophagus clarus</i>	2,9158 a	1,1344 a	0,8900 a	4,9402 a
Controle	2,2914 b	0,8702 b	0,6375 b	3,7125 b
<i>Acaulospora columbiana</i>	2,1293 b	0,8386 b	0,5825 b	3,6370 b
CV (%)	13,1	14,9	21,1	12,0

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). CV: coeficiente de variação.  
Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

A altura de plantas, estimada apenas no final do experimento não teve diferença entre os tratamentos. No entanto, durante a condução do experimento foi possível observar o melhor desenvolvimento das plantas inoculadas com *Rhizophagus clarus*, como pode ser visualizado na figura 1. Da mesma forma, o volume de folhas e caule também não foram afetados pela inoculação dos FMAs na avaliação final do experimento, aos 67 dias de crescimento (Tabela 2).

Figura 1-Mudas de bracatinga crescidas sob inoculação dos FMAs *Acaulospora colombiana* (AC); *Rhizophagus clarus* (RC) e não inoculadas (controle) aos 37 dias em casa de vegetação em solo não estéril.



Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

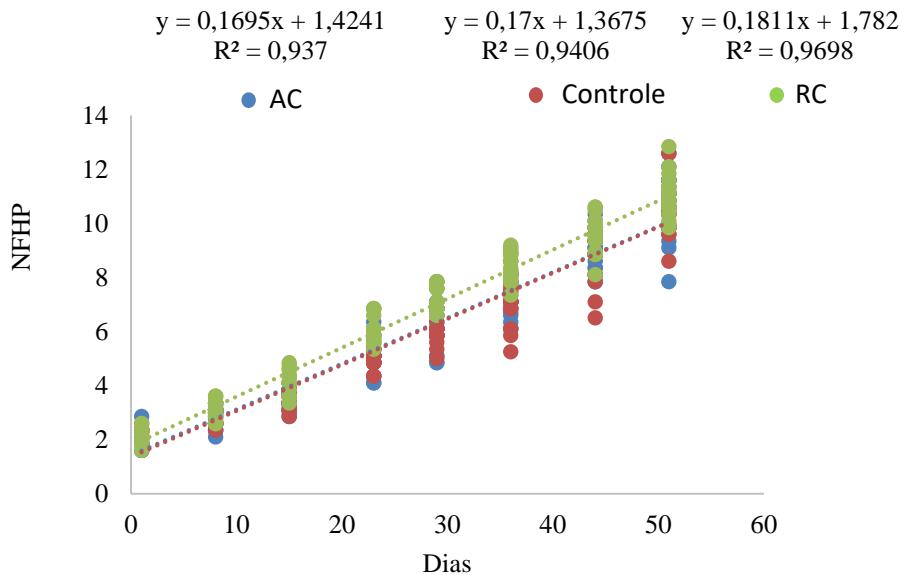
Tabela 2-Altura e volume de folha e caule de mudas de bracatinga inoculadas com os FMAs *Acaulospora colombiana* (AC); *Rhizophagus clarus* (RC) e não inoculadas (controle), após 67 dias de cultivo em casa de vegetação em solo não estéril.

<b>Tratamento</b>	<b>Altura</b>	<b>Volume de Folha</b>	<b>Volume de Caule</b>
	----- cm -----	--- mL ---	--- mL ---
<i>Acaulospora colombiana</i>	47,5 <sup>(ns)</sup>	19,0 <sup>(ns)</sup>	5,4 <sup>(ns)</sup>
<i>Rhizophagus clarus</i>	47,5	22,0	5,9
Controle	42,2	18,9	5,4
CV (%)	14,4	15,4	19,1

<sup>ns</sup> – não significativo pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro; CV (%): coeficiente de variação.  
Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

O número de folhas na haste principal foi superior para o FMA *Rhizophagus clarus* em comparação com *Acaulospora colombiana* e o tratamento controle, conforme figura 2.

Figura 2- Número de folhas da haste principal (NFHP) de mudas de bracatinga inoculadas com os FMAs *Acaulospora colombiana* (AC); *Rhizophagus clarus* (RC) e não inoculadas (controle) após 67 dias de cultivo em casa de vegetação em solo não estéril.



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

### 3.5.2 Arquitetura radicular

As plantas inoculadas com o tratamento *Rhizophagus clarus* apresentaram resultados significativamente maiores que os tratamentos controle e *Acaulospora colombiana* nas variáveis comprimento, área de projeção, área superficial, relação volume/comprimento, volume de raiz, extremidade radicular e número de bifurcações das raízes. No entanto, não houve diferença para a variável diâmetro médio das raízes (Tabela 3).

Tabela 3-Variáveis de arquitetura radicular: comprimento, área de projeção, área superficial, diâmetro, relação volume/comprimento, volume de raiz, extremidade radicular e número de bifurcações de mudas de bracatinga inoculadas com os FMAs *Acaulospora colombiana* (AC); *Rhizophagus clarus* (RC) e não inoculadas (controle), após 67 dias em casa de vegetação em solo.

<b>Tratamentos</b>	<b>Comprimento</b>	<b>Área de Projeção</b>	<b>Área Superficial</b>	<b>Diâmetro</b>	<b>Volume / Comprimento</b>	<b>Volume</b>	<b>Extremidade Radicular</b>	<b>Número Bifurcações</b>
	----- m -----	----- cm <sup>2</sup> -----	--- mm ---	----- cm/cm <sup>3</sup> -----	--- cm <sup>3</sup> ---	----- unidade -----		
RC	52,00 a	211,90 a	665,60 a	0,41 a	3,06 a	6789,60 a	7487,40 a	20374,10 a
AC	39,90 b	164,00 b	515,10 b	0,41 a	2,35 b	5300,60 b	5717,80 ab	15606,30 ab
Controle	35,60 b	144,90 b	455,10 b	0,41 a	2,09 b	4646,20 b	4809,40 b	12547,90 b
<b>CV (%)</b>	<b>18,90</b>	<b>17,99</b>	<b>17,99</b>	<b>6,26</b>	<b>18,90</b>	<b>19,00</b>	<b>29,30</b>	<b>29,10</b>

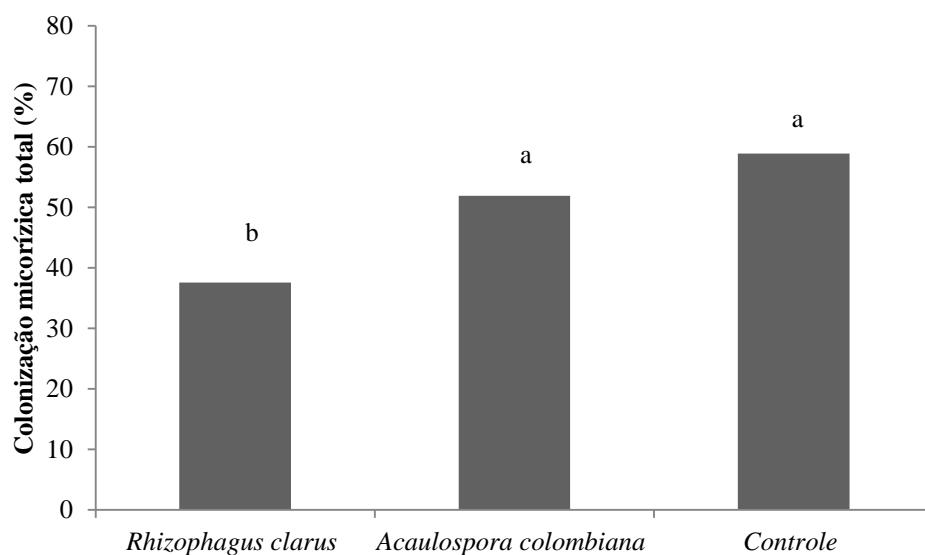
Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ); CV (%) – coeficiente de variação.

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

### 3.5.3 Colonização micorrízica

Para a colonização micorrízica, as plantas do tratamento controle tiveram médias maiores que os tratamentos *Rhizophagus clarus* e *Acaulospora colombiana*, sendo de 36,1% e 11,8% maiores, respectivamente (Figura 3). No entanto, não houve diferença entre o controle e o FMA *Acaulospora colombiana*.

Figura 3- Colonização micorrízica total em raízes de mudas de bracatinga inoculadas com os FMAs *Acaulospora colombiana*, *Rhizophagus clarus* e controle, após cultivo por 67 dias.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). CV:14,2 %  
Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

### 3.6 DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que a bracatinga apresentou maior crescimento quando inoculada com o FMA *Rhizophagus clarus*, sendo que o tratamento com inoculação de *Acaulospora colombiana* não diferiu do controle. No entanto, os dados de altura, volume de folha e caule não foram diferentes entre si. Comparando esses resultados com o trabalho de (DALLA COSTA., 2017), que cultivou a bracatinga com os mesmos fungos, em solo estéril, foi verificado que a formação de micorrizas promoveu acúmulo considerável em relação à massa seca da parte aérea e massa seca de raiz da bracatinga, nos tratamentos com inoculação dos FMAs *Rhizophagus clarus* e *Acaulospora colombiana*. Isso se refletiu na eficiência micorrízica, que foi máxima nos tratamentos sem reposição de P no solo.

Entretanto, o melhor comportamento evidenciado para *Acaulospora colombiana* em solo estéril (DALLA COSTA., 2017), em relação ao encontrado neste trabalho com solo nativo pode ser explicado devido a comunidade indígena ter competido por sítios de infecção com o FMA *Acaulospora colombiana*, assim inativando o efeito do inóculo.

Esses resultados demonstram que a eficiência simbiótica dos FMAs introduzidos no solo depende de vários fatores (SIQUEIRA; MOREIRA, 2001), como a competitividade com os FMAs já existentes no solo (SAMARÃO et al., 2011) que em determinadas condições de solo, consegue sobreviver, colonizando as raízes, estabelecendo uma relação mutualista eficiente com a planta (SIQUEIRA; MOREIRA, 2001), do mesmo modo que os resultados de inoculação de *Rhizophagus clarus*, estudos tem demonstrado que os fungos selecionados aumentam a produção de matéria seca da parte aérea das espécies em comparação com a população de fungos micorrízicos indígenas (CALDEIRA et al., 1999; SOARES et al., 2003).

Crescimento e desenvolvimento das plantas são processos independentes, que podem ocorrer simultaneamente ou não. Crescimento está relacionado com massa, área, altura, diâmetro e volume, ou seja, aumento irreversível de uma característica física, enquanto desenvolvimento está relacionado à diferenciação celular, iniciação e aparecimento de órgãos (WILHELM; MCMASTER, 1995). Em relação ao crescimento em altura das mudas, não teve diferença entre os tratamentos, após 67 dias. Trabalho realizado por Silva et al. (2017), com mudas de sabiá (*Mimosaceae salpiniaefolia* Benth.), inoculadas com FMAs indígenos, descreve que a altura das mudas não foi influenciada pelas condições de cultivo em solo e solo estéril.

Neste estudo a inoculação com o FMA *Rhizophagus clarus* também apresentou melhores resultados na emissão do número de folhas na haste principal, logo após a germinação, quando comparado com os tratamentos controle e *Acaulospora colombiana*. Segundo Xue et al. (2004) a velocidade de emissão de folhas, a qual ao ser integrada no tempo, dá o número de folhas acumuladas na haste principal, mostra-se como uma excelente medida de desenvolvimento vegetal. A análise de regressão linear demonstrou correlação entre o tempo de avaliação e o número de folhas da haste principal. Por meio da análise de covariância constatou-se diferença entre os tratamentos em número de folhas na haste principal, sendo que o tratamento com *Rhizophagus clarus* sempre manteve-se com um número maior de folhas e os tratamentos controle e *Acaulospora colombiana* não foram diferentes.

A arquitetura radicular foi influenciada positivamente pela inoculação de *Rhizophagus clarus*. No entanto, o tratamento *Acaulospora colombiana* não diferiu do controle, o que também foi verificado nas respostas de crescimento. Trabalho realizado por Primieri (2016), utilizando os mesmos FMAs em solo estéril, no qual foi avaliado o sistema radicular quanto ao

comprimento (cm), área projetada ( $\text{cm}^2$ ), diâmetro médio (mm) e volume radicular ( $\text{cm}^3$ ), constatou aumento das variáveis nos tratamentos inoculados com os FMAs em relação ao controle, demonstrando a dependência micorrízica da bracatinga na formação de raiz e, consequentemente, no desenvolvimento da planta. Por outro lado, neste trabalho somente *Rhizophagus clarus* apresentou melhores resultados na arquitetura radicular, o que pode ser explicado que a espécie de FMA utilizada pode ter respostas diferentes quando em interação com FMAs indígenas. A interação entre os FMAs introduzidos e indígenas pode variar de não-interação à interação distinta (HEPPER et al., 1988). Em estudo realizado por Sugai et al. (2011) avaliaram-se o crescimento de mudas de angico (*Anadenanthera macrocarpa* Benth.) sob o efeito da inoculação dos FMAs *Glomus etunicatum*, *Paraglomus brasiliandum* e *Gigaspora margarita* em solo natural e em solo estéril. A comunidade de FMAs indígenas do solo preservado natural promoveu maior crescimento do sistema radicular que os tratamentos inoculados, favorecendo o comprimento das raízes.

De acordo com Sugai et al. (2011), em mudas destinadas a reflorestamento em áreas de baixa fertilidade, o aumento do volume das raízes é fundamental para melhorar as condições de absorção de água e nutrientes e aumentar a sobrevivência no campo após o transplantio.

Em relação a colonização micorrízica, os resultados indicam que maior taxa de colonização micorrízica não necessariamente se reflete em maiores respostas de crescimento da planta hospedeira. Segundo Balota et al. (2011), a colonização radicular não expressa diretamente o benefício micorrízico à planta, porque não reflete a capacidade de produção de micélio extrarradicular. Em condição de solo estéril, os mesmos fungos (*Rhizophagus clarus* e *Acaulospora colombiana*), tiveram taxas de colonização micorrízica relativamente altas, sendo acima de 75% (DALLA COSTA et al., 2017). Esta resposta distinta para *Rhizophagus clarus* e *Acaulospora colombiana* pode ser explicado neste experimento, em função que os FMAs indígenas no controle, não competiram por sítios de colonização, podendo ser mais adaptados as condições edáficas do solo de sua origem, resultando em uma maior taxa de colonização no controle. Lacerda et al. (2011) verificaram que em solo não estéril, as espécies amendoim-de-macaco (*Sterculia striata*) e o ingá (*Inga laurina*), arbóreas nativas do Bioma de Cerrado, quando inoculadas com o FMA *Glomus clarum*, apresentaram colonização alta de FMAs indígenas no tratamento sem inoculação não diferindo da promovida pelo fungo inoculado. Entretanto, mesmo com uma menor taxa de colonização micorrízica no tratamento *Rhizophagus clarus*, esse FMA mostrou ser capaz de induzir aumento em parâmetros da arquitetura radicular quando comparado aos tratamentos controle e *Acaulospora colombiana*.

### 3.7 CONCLUSÃO

Mudas de bracatinga cultivadas em casa de vegetação com solo não-estéril, inoculadas com o isolado *Rhizophagus clarus* SCT720A, afetou positivamente o desenvolvimento de mudas de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.). Os resultados de massa seca da parte aérea demonstraram que o FMA *Rhizophagus clarus*, possui potencial para uso na produção de mudas de bracatinga.



## 4 CAPÍTULO 2. COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA EM NÍVEIS DE pH INTERFERE NO CRESCIMENTO DE BRACATINGA

### 4.1 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de dois isolados de FMAs (*Acaulospora colombiana* – SCT115A e *Rhizophagus clarus* – SCT720A), no crescimento e nodulação de mudas de bracatinga, em diferentes pH. O experimento foi conduzido em casa de vegetação no período de outubro a dezembro de 2017. Plântulas de bracatinga foram cultivadas em vasos com 0,4 Kg de solo estéril e inoculadas com rizóbios em todos os tratamentos. Os tratamentos consistiram da inoculação dos FMAs *Rhizophagus clarus* e *Acaulospora colombiana* e o tratamento controle sem FMA e cinco diferentes pH do solo: pH 5,1; 5,4; 5,7; 6,0 e 6,3. A colheita foi realizada 57 dias após a emergência de plântulas e constatou-se que as plantas não micorrizadas não nodularam. Em pH 5,1 não houve diferença do tratamento inoculado com *Rhizophagus clarus* e o tratamento controle. Além disso, a colonização micorríca foi menor em raízes de plantas cultivadas em pH 5,1. Entretanto, as plantas inoculadas com FMA e cultivadas nos pH 5,4; 5,7 e 6,0 ocorreu maior crescimento refletindo em dez, oito e nove vezes maior massa seca da parte aérea, massa seca de raiz e massa seca total, respectivamente, em relação ao controle. Esses resultados demonstram que a existência de interação entre FMAs e bactérias fixadoras de nitrogênio, são influenciados pelos diferentes pH, em relação ao crescimento das plantas de bracatinga.

**Palavras-chave:** pH do solo. *Mimosa scabrella*. *Rhizophagus clarus*. *Acaulospora colombiana*.

### 4.2 ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of inoculation of two isolates of FMAs (*Acaulospora colombiana* - SCT115A and *Rhizophagus clarus* - SCT720A) on growth and nodulation of bracatinga seedlings, at different pH. The experiment was conducted in a greenhouse from October to December 2017. Bracatinga seedlings were cultivated in pots containing 0.4 kg of sterile soil and inoculated with rhizobia (all treatments). The treatments consisted of the inoculation of the FMAs *Rhizophagus clarus* and *Acaulospora colombiana* and the control treatment without FMA and five different pH of the soil: pH 5.1; 5.4; 5.7; 6.0 and 6.3. Harvest was performed 57 days after emergence of seedlings and it was verified that the non-mycorrhizal plants did not nodulate. In pH 5.1 there was no difference in treatment with *Rhizophagus clarus* and control. In addition, mycorrhizal colonization was lower in plant roots grown at pH 5.1. However, in plants inoculated with FMA and cultured in pH 5.4; 5.7 and 6.0 higher growth occurred, reflecting in ten, eight and nine times greater shoot dry mass, root dry mass and total dry mass, respectively, in relation to the control. These results demonstrate that the existence of interaction between FMAs and nitrogen fixing bacteria are influenced by the different pH in relation to the growth of bracatinga plants.

**Keywords:** soil pH. *Mimosa scabrella*. *Rhizophagus clarus*. *Acaulospora colombiana*.

#### 4.3 INTRODUÇÃO

A capacidade de associação da bracatinga com microrganismos do solo, como bactérias nodulíferas, é relatada em vários trabalhos (CHEN et al., 2007; MOREIRA et al., 2010; LAMMEL et al., 2013; EHRHARDT-BROCARDO, 2015). Além das bactérias fixadoras de nitrogênio, os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) tem sido relacionados como um importante microrganismo simbótico para as plantas e com capacidade de estabelecer efeitos sinérgicos com bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) uma vez inoculados em leguminosas (YASMEEN et al., 2012). Neste contexto, a interação FMAs e rizóbios podem auxiliar as leguminosas nos requerimentos energéticos para a nodulação e fixação de nitrogênio, mediante absorção do P do solo pelas plantas micorrizadas que é utilizado no processo de fixação de nitrogênio (LEITE, 2007).

A fim de buscar sustentabilidade e minimizar custos, pesquisas vem sendo realizadas com o uso de leguminosas, inoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Os efeitos benéficos dos FMAs sobre o crescimento e a nodulação de leguminosas já são bem conhecidos (BAREA; AZCÓN-AGUILAR, 1983; CARDOSO, 1985; CARDOSO, 1986), mais recentemente no milho (MIYAUCHI et al., 2008), soja (PEREIRA et al., 2013) e maracujazeiro-doce (VITORAZI FILHO, 2012) e também em leguminosas arbóreas como *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. (BURITY, 2000; MENDES, 2013).

Entretanto, a melhor combinação entre BFN e FMA, em termos de crescimento do vegetal e outros parâmetros, não é determinada somente pela bactéria mais eficiente ou pelo fungo; outros fatores podem interferir na eficiência dessa relação sobre o crescimento das plantas (SOARES; MOREIRA, 2010). Segundo Zhao et al. (2016), os microrganismos no solo são fortemente influenciados por vários fatores químicos e físicos, incluindo a disponibilidade de nutrientes, matéria orgânica, umidade do solo e temperatura. Além disso o pH do solo é conhecido por ter um efeito considerável sobre as atividades das comunidades microbianas e processos biogeoquímicos.

Segundo Rheinheimer e Kaminski (1994), a disponibilidade de P e a acidez do solo influenciam qualitativa e quantitativamente as micorrizas determinando o sucesso da inoculação de FMAs. As espécies de FMAs podem mostrar diferenças marcantes na sua adaptabilidade ou resposta à acidez do solo e à calagem (SIQUEIRA et al., 1986). Maia (2010) relata que *Rhizophagus clarus*, é uma espécie de FMA mais adaptada a pH mais elevado, o mesmo com o gênero *Glomus* (SIQUEIRA et al., 1986). Nas condições de solo moderadamente

ácidos predominam os gêneros *Acaulospora* e *Scutelospora* (SPAGNOL et al., 1993) enquanto a espécie *Gigaspora margarifa* apresentou melhor desempenho em solo ácido (SIQUEIRA et al., 1986).

Recentemente, trabalho realizado por Primieri (2016), foi demonstrado o potencial do uso de FMAs e BFN em bracatinga. Entretanto, ainda não existem informações relativas ao crescimento da bracatinga sob associação de FMAs em conjunto com BFN em diferentes condições de acidez do solo. Como a bracatinga é encontrada na maioria das vezes em solos pobres, ácidos, com pH variando entre 3,5 e 5,5 (CARPANEZZI; CARPANEZZI, 1992), o uso de práticas agrícolas como a correção do pH do solo pode ser necessária para atingir uma condição ótima para o crescimento, tanto em substratos como no solo de cultivo.

Nossa hipótese é que a inoculação de FMAs e BFN em diferentes pH podem influenciar o desenvolvimento dessa, bem como afetar a formação de nódulos. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de dois isolados de FMAs (*Acaulospora colombiana* – SCT115A e *Rhizophagus clarus* – SCT720A), no crescimento e nodulação de mudas de bracatinga em diferentes pH.

#### 4.4 MATERIAL E MÉTODOS

##### **4.4.1 Delineamento experimental e condições de crescimento**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), Estação Experimental de Lages (SC), no período de outubro a dezembro de 2017. Os tratamentos constituíram-se de um fatorial 3 x 5, ou seja: dois FMAs (*Acaulospora colombiana* – SCT20A e *Rhizophagus clarus* – SCT115A) e o tratamento controle (sem inoculação com FMA); e cinco níveis de pH (5,1; 5,4; 5,7; 6,0 e 6,3). O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com 5 repetições por tratamento.

Os FMAs testados foram provenientes da Coleção Internacional de Cultura de Glomeromycota (CICG) da Universidade de Blumenau (FURB). Sementes foram coletadas de uma única planta, localizada no município de Irineópolis (SC), no ano de 2015, sob as coordenadas geográficas 26°16'03,80" S e 50°45'41,73" O. O solo utilizado foi um Cambissolo, coletado no município de Painel (SC), em área com cobertura de mata nativa, mas sem ocorrência de bracatinga no local. Após a coleta, o solo foi previamente peneirado em malha de 5,0 mm e uma subamostra foi tomada para análises químicas, as quais foram realizadas no

laboratório de rotina de análise de solo da Universidade do Estado de Santa Catarina, apresentando as seguintes características: pH ( $H_2O$ ) = 4,7; Índice SMP = 5,0; P = 6,1 mg/dm<sup>3</sup>; K = 32,0 mg/dm<sup>3</sup>; MO = 2,5%; Al = 1,4 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; Ca = 2,6 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; Mg = 0,7 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; CTC (pH=7) = 17,08 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>. O solo foi esterilizado em autoclave por 1 hora a uma temperatura de 121°C, duas vezes com intervalo de 24 horas entre os ciclos.

De acordo com a análise do solo (índice SMP=5,0), a correção da acidez para pH 5,5 (valor de referência) necessitaria aplicação de 6,6 t/ha de calcário Filler (100% PRNT) conforme as recomendações para a espécie (CQFS-RS/SC, 2016). Por meio da curva de incubação, obteve-se a necessidade de calcário nos seguintes níveis: 0% = 0 t/ha; 25% = 1,65 t/ha; 50% = 3,30 t/ha; 75% = 4,95 t/ha e 100% = 6,60 t/ha. Após 15 dias de incubação com umidade próxima a capacidade de campo, foi realizada análise de pH em  $H_2O$  das amostras do solo, de acordo com metodologia Tedesco et al. (1995). Com os valores de pH construiu-se uma curva de regressão, corrigindo-se o pH do solo para: pH 5,1=(sem adição de calcário); pH 5,4=0,74 t/ha; pH 5,7=1,53 t/ha; pH 6,0=2,45 t/ha e pH 6,3= 3,57 t/ha. Logo após, em vasos contendo 0,4 Kg de solo esterilizado, foi adicionado o calcário e a umidade mantida próxima a capacidade de campo, permanecendo incubado por um período de 7 dias antes da semeadura. Para corrigir a necessidade de K na bracatinga (K= 32 mg/dm<sup>3</sup> = Teor baixo (limite de muito baixo < 30 mg/dm<sup>3</sup>)), o solo recebeu antes da semeadura uma aplicação de 29,27 mg/KCL/vaso (65 kg K<sub>2</sub>O/ha), conforme as recomendações para a espécie (CQFS-RS/SC, 2016).

O substrato para a produção dos inóculos dos FMAs foi composto por uma mistura de Cambissolo e quartzo moído na proporção de 2:1(v/v) esterilizado em autoclave por 1 hora a uma temperatura de 121°C, duas vezes com intervalo de 24 horas entre os ciclos. Para a multiplicação do inóculo foram utilizadas mudas micropagadas de missioneira gigante (*Axonopus catharinensis*) semeadas em vasos contendo 1,7 Kg da mistura (Cambissolo e quartzo moído). Após a semeadura, os vasos foram mantidos, por um período de 100 dias, em casa de vegetação na EPAGRI. Até 90 dias, os vasos foram irrigados diariamente com água destilada. Após esse período a irrigação foi suspensa, para promover a esporulação dos fungos. A parte aérea seca das plantas foi descartada e a mistura do solo, contendo raízes colonizadas e esporos dos FMAs, foi conservada em câmara fria a 4°C.

No momento da implantação do experimento, foi realizada a extração de esporos dos FMAs via peneiragem úmida (GERDEMANN; NICOLSON, 1963). O procedimento consistiu na transferência de 10 g de solo inóculo para um Béquer plástico, que foi suspenso em água; após agitação o sobrenadante foi passado em peneiras de malhas 0,71, 0,25 e 0,053 mm. Após repetido quatro vezes esse procedimento, o material retido na peneira de menor malha foi

acondicionado em tubos e centrifugados por cinco minutos a 2000 rpm. Em seguida, o sobrenadante dos tubos foi drenado cuidadosamente, sendo adicionada aos mesmos, uma solução de sacarose a 50% (JENKINS, 1964) agitando-se o conteúdo com auxílio de um bastão de vidro e em seguida centrifugados por um minuto a 2000 rpm. Após, o sobrenadante foi drenado com cuidado, em papel filtro. Posteriormente, o material foi lavado com água destilada para remover o excesso de sacarose e transferido para placas de Petri. Para conhecer a densidade de esporos  $\text{g}^{-1}$  solo, os esporos foram observados na lupa e contados. O número de esporos observados em foi de 17 e 33 esporos  $\text{g}^{-1}$  solo para *Acaulospora colombiana* e *Rhizophagus clarus*.

As sementes de bracatinga utilizadas no experimento foram desinfestadas superficialmente com 80% de etanol por um minuto, 3% de hipoclorito de sódio por cinco minutos e lavadas cinco vezes em água destilada. Para quebra da dormência, as sementes foram imersas em água quente ( $80^{\circ}\text{C}$ ) durante 5 minutos e deixadas imersas na água à temperatura ambiente por 18 horas. A semeadura foi efetuada utilizando-se 2 sementes de bracatinga por vaso.

Cada vaso recebeu 10 g de substrato inóculo, colocado a 1 cm abaixo da superfície do solo e no tratamento controle foram adicionados 10 g inóculo misto esterilizado.

Os rizóbios foram cultivadas em meio líquido levedura manitol, que foi incubado à  $28^{\circ}\text{C}$  em agitador de bancada por três dias, até turvação do meio. Após esse período, 1 mL do caldo proveniente da mistura de dois isolados bacterianos foram adicionados em todos os tratamentos, dez dias após a semeadura.

Duas semanas após a semeadura, quando as mudas já estavam com um par de folhas definitivas, foi feito o desbaste, deixando-se a planta mais vigorosa. A umidade do solo foi mantida próximo à capacidade de campo durante o período de condução experimental.

#### **4.4.2 Colheita e variáveis analisadas**

A colheita do experimento foi realizada aos 57 dias após a emergência de plântulas. A parte aérea e raízes foram separadas a partir do colo da planta. Raízes foram lavadas e os nódulos separados e contados para avaliar a nodulação. Em seguida, o sistema radicular foi armazenado em etanol 50%. Para a colonização micorrízica, fragmentos de 1 cm de raízes finas de uma sub amostra representativa de cada repetição foram colocadas em tubos de ensaio. As amostras foram clareadas com KOH 10% por 1 hora à  $90^{\circ}\text{C}$ , após lavadas em água corrente e em seguida acidificadas com ácido acético glacial a 5% por 35 minutos e então coradas com

solução de tinta de caneta-tinteiro a 5% em ácido acético a 5% por 10 minutos a 90°C. Depois de lavadas em água corrente, foram colocadas em uma solução de ácido acético glacial (1 ml da solução de ácido acético glacial 5% em 1000 mL de água destilada) por 1 hora de acordo com a metodologia descrita por (VIERHEILIG et al., 1998). As raízes foram armazenadas em água destilada. Os segmentos de raízes foram depositados, com o auxílio de uma pinça, sobre lâminas microscópicas, com gotas de Polivinil-Lacto-Glicerol (PVLG), sendo posteriormente cobertas por uma lamínula.

A determinação da colonização micorrízica foi realizada pelo método de intersecção radicular em lâminas, avaliando à presença de estruturas fúngicas (hifas intraradiculares, vesículas e arbúsculos) (GIOVANNETTI; MOSSE, 1980).

A parte aérea da planta e as raízes foram secas em estufa de circulação forçada à 65°C até obtenção da massa constante para determinação da massa seca total da planta.

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias quando significativas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Todos os procedimentos estatísticos foram realizados no software R.

## 4.5 RESULTADOS

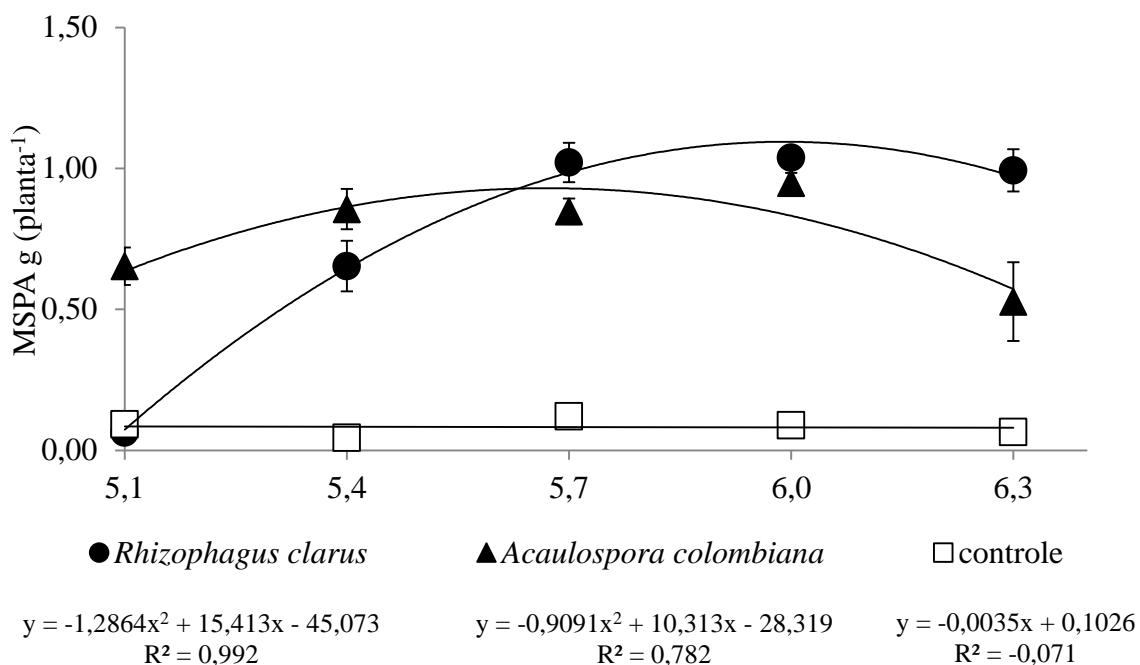
### 4.5.1 Crescimento da planta

Os FMAs e o pH tiveram efeitos significativos sobre o acúmulo de biomassa da bracatinga. As plantas não micorrizadas (controle) apresentaram crescimento menor do que as plantas micorrizadas, exceto no valor de pH 5,1 onde não houve diferença da massa seca total(MST) entre as plantas micorrizadas com *Rhizophagus clarus* e as não micorrizadas. Entretanto, *Acaulospora colombiana* teve maior produção de MST em comparação ao controle neste mesmo pH.

Entre pH 5,4 e 6,0 a inoculação com os isolados *Rhizophagus clarus* e *Acaulospora colombiana* aumentou o crescimento da planta em dez vezes para massa seca de parte aérea (MSPA) (Figura 4), oito vezes para massa seca de raiz (MSR) (Figura 5) e nove vezes para MST (Figura 6) em comparação ao tratamento controle.

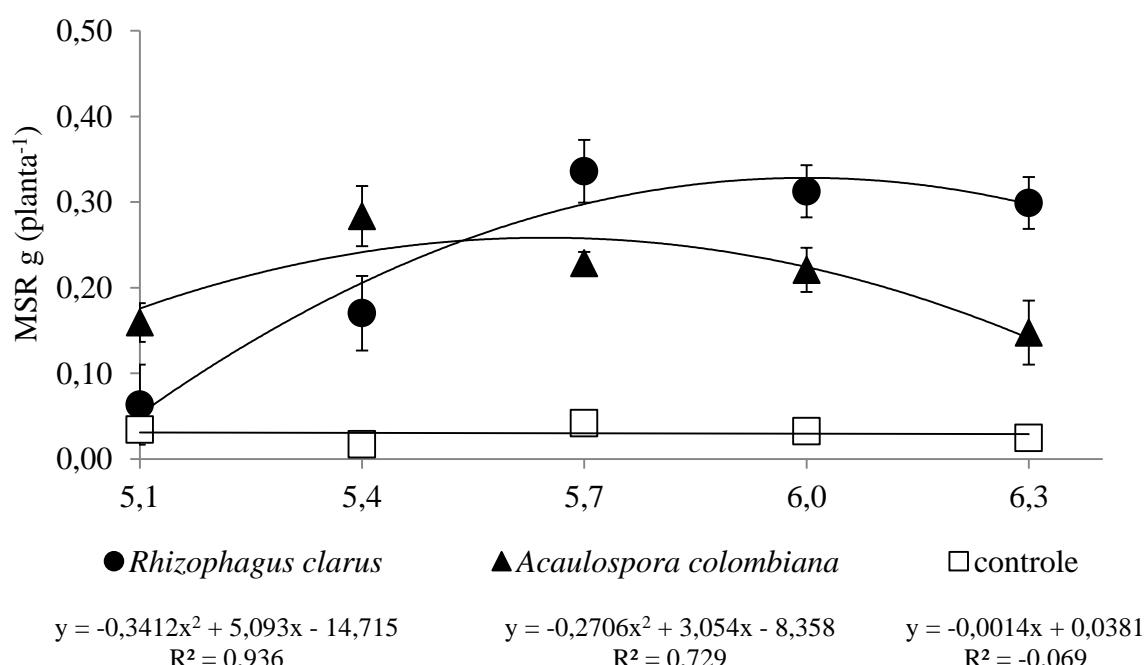
Em pH 5,1 *Rhizophagus clarus* apresentou menor crescimento em relação *Acaulospora colombiana*, sendo que em pH 6,3 foi o inverso, *Acaulospora colombiana* teve menor crescimento em relação a *Rhizophagus clarus*.

Figura 4-Massa da matéria seca de parte aérea (MSPA) de mudas de bracatinga inoculadas com os FMAs *Acaulospora colombiana* (AC) e *Rhizophagus clarus* (RC), cultivadas em diferentes pH após 57 dias de cultivo. Barras indicam erro padrão da média.



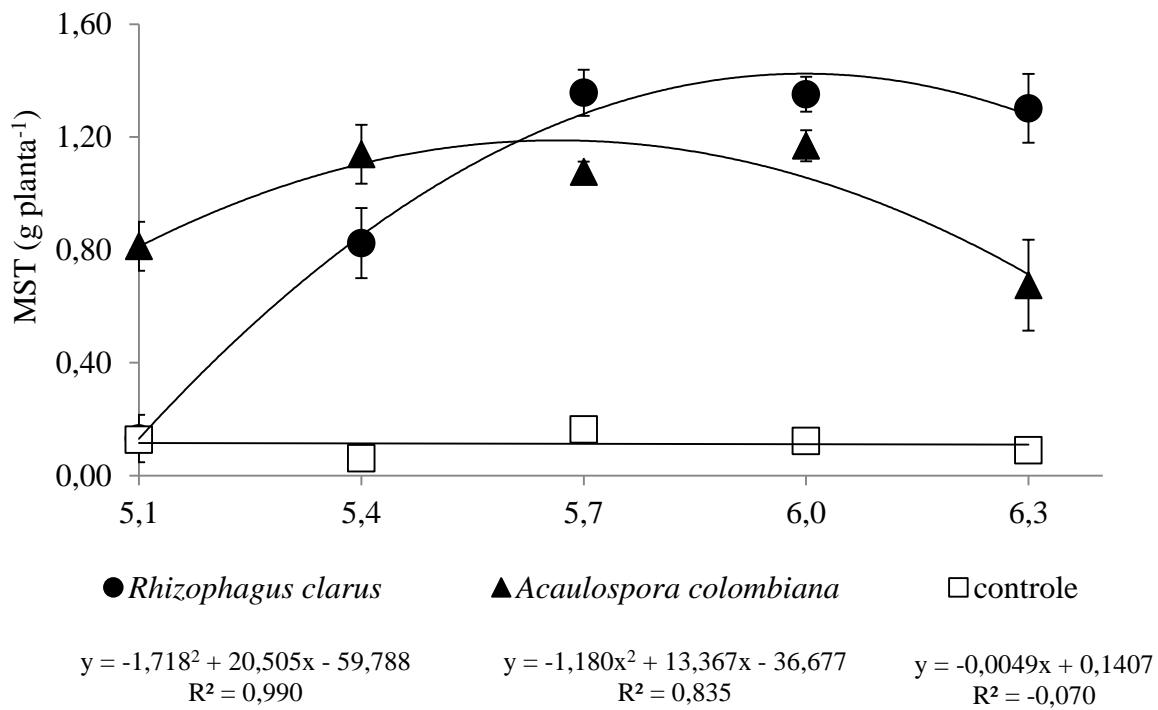
Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

Figura 5-Massa da matéria seca de raiz (MSR) de mudas de bracatinga inoculadas com os FMAs *Acaulospora colombiana* (AC) e *Rhizophagus clarus* (RC), cultivadas em diferentes pH após 57 dias de cultivo. Barras indicam erro padrão da média.



Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

Figura 6-Massa da matéria seca total (MST) de mudas de bracatinga inoculadas com os FMAs *Acaulospora colombiana* (AC) e *Rhizophagus clarus* (RC), cultivadas em diferentes pH após 57 dias de cultivo. Barras indicam erro padrão da média.



Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

#### 4.5.2 Colonização micorrízica

Houve diferença significativa nas estruturas micorrízicas, como hifas, vesículas e arbúsculos entre os tratamentos com FMAs. *Acaulospora colombiana* apresentou quase três vezes mais colonização por hifas em relação ao *Rhizophagus clarus*. No entanto, quanto aos tratamentos de pH, não houve diferença para hifas. O percentual de vesículas e arbúsculos foram significativamente influenciados em relação ao pH. Em todos os níveis de pH, *Rhizophagus clarus* apresentou mais dessas estruturas micorrízicas. No tratamento controle não ocorreu colonização, indicando que não houve contaminação (Tabelas 4, 5 e 6).

As taxas de colonização das raízes por FMAs, foram altas em todos os níveis de pH; em pH 5,1 (tratamento sem calagem, pH original do solo), ocorreu a menor taxa de colonização em relação aos demais tratamentos (Tabela 6). No entanto, a colonização micorrízica total (Tabela 6) com *Rhizophagus clarus* foi maior que *Acaulospora colombiana* em todos os níveis de pH.

Tabela 4- Percentual de hifas em raízes de bracatinga inoculadas com os FMAs *Acaulospora colombiana* (AC) e *Rhizophagus clarus* (RC) e o tratamento controle, aos 57 dias após a emergência.

<b>pH</b>	<b>Tratamentos</b>			<b>Média</b>
	<b>AC</b>	<b>RC</b>	<b>C</b>	
5,1	20,0 %	9,5 %	0,0 %	<b>14,8 % (ns)</b>
5,4	17,7 %	5,5 %	0,0 %	<b>16,6 %</b>
5,7	16,8 %	6,3 %	0,0 %	<b>11,5 %</b>
6,0	19,2 %	5,3 %	0,0 %	<b>12,3 %</b>
6,3	16,7 %	6,7 %	0,0 %	<b>11,7 %</b>
<b>Média</b>	<b>18,1 % a</b>	<b>6,7 % b</b>	<b>0,0 %</b>	
<b>CV (%)</b>	<b>33,7</b>			

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade; (ns) – não significativo pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

Tabela 5-Percentual de vesículas e arbúsculos em raízes de bracatinga inoculadas com os FMAs *Acaulospora colombiana* (AC) e *Rhizophagus clarus* (RC) e o tratamento controle, aos 57 dias após a emergência em solo estéril em casa de vegetação.

<b>pH</b>	<b>Tratamentos</b>			<b>Média</b>
	<b>AC</b>	<b>RC</b>	<b>C</b>	
5,1	45,8 %	70,3 %	0,0 %	<b>58,1 % B</b>
5,4	70,8 %	89,5 %	0,0 %	<b>80,2 % A</b>
5,7	67,2 %	92,3 %	0,0 %	<b>79,7 % A</b>
6,0	62,7 %	90,5 %	0,0 %	<b>76,6 % A</b>
6,3	69,5 %	88,2 %	0,0 %	<b>78,8 % A</b>
<b>Média</b>	<b>63,2 % b</b>	<b>86,2 % a</b>	0,0 %	
<b>CV (%)</b>	<b>31,7</b>			

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

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

Tabela 6- Colonização micorrízica em raízes de bracatinga inoculadas com os FMAs *Acaulospora colombiana* (AC) e *Rhizophagus clarus* (RC) e o tratamento controle, aos 57 dias após a emergência.

<b>pH</b>	<b>Tratamentos</b>			<b>Média</b>
	<b>AC</b>	<b>RC</b>	<b>C</b>	
5,1	65,8 %	79,8 %	0,0 %	<b>72,8 % B</b>
5,4	88,5 %	95,0 %	0,0 %	<b>91,8 % A</b>
5,7	84,0 %	98,5 %	0,0 %	<b>91,3 % A</b>
6,0	81,8 %	95,8 %	0,0 %	<b>88,8 % A</b>
6,3	86,2 %	94,8 %	0,0 %	<b>90,5 % A</b>
<b>Média</b>	<b>81,3 % b</b>	<b>92,8 % a</b>	<b>0,0 %</b>	
<b>CV (%)</b>		<b>14,3</b>		

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

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

#### 4.5.3 Nodulação por BFN

As bactérias fixadoras de nitrogênio inoculadas não foram capazes de nodular a bracatinga no tratamento controle, onde os vasos não receberam os FMAs (Tabela 7). *Rhizophagus clarus* e *Acaulospora colombiana* não diferiram no número de nódulos. Entretanto houve diferença entre os níveis de pH. Os dados mostram que independente da inoculação de FMAs, houve menor número de nódulos em pH 5,1 em comparação com pH 5,4, mas não houve diferenças estatisticamente significativas em relação aos outros níveis de pH. A massa seca dos nódulos não diferiu entre os fungos micorrízicos e os níveis de pH (Tabelas 8).

Tabela 7-Número de nódulos radiculares, em g (planta<sup>-1</sup>), obtidos em mudas de bracatinga em resposta aos diferentes pH e aos FMAs *Acaulospora colombiana* (AC) e *Rhizophagus clarus* (RC) e o tratamento controle aos 57 dias após a emergência.

pH	Tratamentos			Média
	AC	RC	C	
5,1	28,7	3,3	0,0	<b>16,0 A</b>
5,4	45,5	30,2	0,0	<b>37,8 B</b>
5,7	26,5	36,0	0,0	<b>31,3 AB</b>
6,0	43,8	25,0	0,0	<b>34,4 AB</b>
6,3	27,2	35,8	0,0	<b>31,5 AB</b>
<b>Média</b>	<b>34,3<sup>(ns)</sup></b>	<b>26,1</b>	<b>0,0</b>	
<b>CV (%)</b>		<b>99</b>		

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade; <sup>(ns)</sup> – não significativo pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.CV: coeficiente de variação.  
Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

Tabela 8-Massa seca de nódulos radiculares, em g (planta<sup>-1</sup>), obtidos em mudas de bracatinga em resposta aos diferentes de pH e aos FMAs *Acaulospora colombiana* (AC) e *Rhizophagus clarus* (RC) e o tratamento controle aos 57 dias após a emergência.

pH	Tratamentos			Média
	AC	RC	C	
5,1	6,1 <sup>(ns)</sup>	0,5 <sup>(ns)</sup>	0,0	<b>3,3<sup>(ns)</sup></b>
5,4	8,2	11,7	0,0	<b>9,9</b>
5,7	3,6	15,0	0,0	<b>9,3</b>
6,0	11,1	10,8	0,0	<b>11,0</b>
6,3	7,7	14,2	0,0	<b>11,0</b>
<b>Média</b>	<b>7,3</b>	<b>10,4</b>	<b>0,0</b>	<b>95</b>
<b>CV (%)</b>		<b>96</b>		

<sup>(ns)</sup> – não significativo pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.CV: coeficiente de variação.

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

#### 4.6 DISCUSSÃO

Vários estudos tem relatado que espécies de leguminosas, apresentam melhor desenvolvimento e nodulação quando inoculadas com FMAs; *Acacia mangium*, *Acacia auriculiformis* (CRUZ et al., 1988), *Albizia lebeck* (FARIA et al., 1995), *Centrolobium tomentosum* (MARQUES et al., 2001) e *Anadenathera peregrina* (GROSS et

al., 2004), *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth (BURITY, 2000; MENDES, 2013), *M. scabrella* (PRIMIERI 2016), são exemplos.

Os dados obtidos neste estudo suportam a hipótese de interação entre FMAs e BFN, proporcionando crescimento na bracatinga, permitindo superar limitações impostas pela acidez. Sendo esta espécie arbórea encontrada na maioria das vezes em solos ácidos, com pH variando entre 3,5 e 5,5, (CARPANEZZI; CARPANEZZI, 1992), sugerindo que quando realizado a calagem nas áreas de bracatinga, pode-se aumentar o crescimento da planta, quando em conjunto com a inoculação de FMAs *Rhizophagus clarus* e *Acaulospora colombiana* e BFN.

Para a MSPA, foi verificado interação da associação micorrízica na bracatinga em conjunto com BFN nos níveis de pH. Segundo Maia (2010) em solos ácidos, o Al na sua forma trivalente ( $\text{Al}^{3+}$ ), pode diminuir as taxas de germinação dos esporos, e afetar etapas iniciais do estabelecimento da simbiose. A magnitude desses efeitos depende da tolerância das espécies e isolados. O estudo de Clark (1997) demonstrou que em solo com alta saturação de Al a taxa de germinação de esporos de *Rhizophagus clarus* foi  $\leq 3\%$ , sendo profundamente afetada. Maia (2010) relata que *Rhizophagus clarus* é uma espécie mais adaptada a pH mais elevado. Isso pode explicar o resultado encontrado para *Rhizophagus clarus* em pH 5,1. SILVA et al. (2017) descrevem que o gênero *Acaulospora* apresentou correlação positiva para o pH 5,0 em área de floresta nativa. Esse resultado corrobora o encontrado em pH 5,1 para *Acaulospora colombiana*, pois o crescimento das plantas não foi afetado no mesmo grau que *Rhizophagus clarus*. Entretanto, no pH 5,1, as plantas cresceram menos que nos demais valores de pH.

O pH do solo 5,4; 5,7 e 6,0 proporcionou às plantas micorrizadas as condições mais favoráveis para o crescimento da bracatinga, que tiveram MSPA dez vezes maiores que o tratamento controle. Segundo Hayman e Tavares (1985), a eficácia micorrízica é aumentada pela calagem. Caldeira et al. (2003), descreve que o pH do solo é um fator que pode interferir na resposta da associação, podendo resultar em respostas positivas ou não da inoculação com os FMAs. *Acaulospora colombiana*, em pH 6,3 apresentou diminuição no acúmulo da MSPA. De acordo Stürmer e Bellei (1994), o gênero *Acaulospora* é frequentemente encontrado em solos com pH menor que 6,2 sendo favorecido em ambientes com pH inferior. O fato desse gênero ser mais comum em solos de pH mais ácido (SOUZA et al., 2010), pode explicar a diminuição da biomassa seca no pH menos ácido. A massa seca das raízes de plantas micorrizadas foi significativamente maior em relação ao controle. De acordo com Sugai et al. (2010), o aumento do volume das raízes é fundamental para mudas destinadas a reflorestamento em locais de baixa fertilidade, o qual pode melhorar as condições de absorção de água e nutrientes e aumentar a sobrevivência no campo após o transplantio. Em comparação com os

níveis de pH e entre os FMAs os fungos micorrízicos, as respostas entre os tratamentos foram similares a MSPA.

A colonização micorrízica nas raízes de bracatinga foi significativamente menor em pH mais ácido. *Rhizophagus clarus* em todos os níveis de pH produziu menor quantidade de hifas em comparação com *Acaulospora colombiana*. Clark (1997), observou que em solos ácidos a presença de Al reduziu o crescimento de hifas de *Rhizophagus clarus*. Entretanto, a resposta da menor taxa de hifas não influenciou em menor taxa de vesículas, arbúsculos e colonização pelo FMA *Rhizophagus clarus* em relação a *Acaulospora colombiana*.

O isolado de *Rhizophagus clarus* não foi eficiente em promover o crescimento das mudas em pH 5,1. No entanto, a colonização micorrízica foi maior para *Rhizophagus clarus* em comparação com *Acaulospora colombiana*, sem reflexo no crescimento das plantas.

Na nodulação, plantas quando somente inoculadas com BFN (controle) não nodularam. No entanto quando micorrizadas apresentaram nódulos nos dois tratamentos com FMAs, demonstrando que a micorriza é importante para o estabelecimento da BFN, melhorando o crescimento da planta, visto a baixa produção de MSPA na ausência de micorrização. Trabalho realizado por Jesus et al. (2005), com leguminosas arbóreas, (*Piptadenia gonoacantha* e *paniculata*) também encontrou ausência de nódulos nas plantas inoculadas apenas com rizóbio, sendo que as plantas que receberam rizóbios e fungos micorrízicos (*Gigaspora margarita* e *Glomus clarum*) apresentaram-se noduladas e com maior produção de massa seca. Burity (2000), também encontrou resultados semelhantes, no qual a nodulação em *Mimosa caesalpiniaefolia* foi favorecida pela micorrização, uma vez que as mudas inoculadas apenas com *Rhizobium* apresentaram nodulação significativamente menor. Primieri (2016) descreve que a presença do FMA aumentou a nodulação em bracatinga, e Costa et al. (1990), também relatam o aumento na nodulação, fixação de nitrogênio e crescimento das leguminosas em solos de baixa fertilidade com a inoculação de rizóbio e fungos micorrízicos em leguminosas.

A não nodulação em plantas inoculadas com BFN e não micorrizadas em bracatinga, ainda não tinha sido relatado. Segundo Souza et al. (1996), de maneira geral existe alta demanda de P por espécies de leguminosas arbóreas noduladas, proporcionando oportunidade para a contribuição dos FMAs em sinergismo com rizóbio, o qual segundo Soares et al. (2008) interfere diretamente no processo de fixação do N<sub>2</sub>, aumentando a produção de raízes e a fotossíntese, o que aumenta a nodulação das plantas micorrizadas.

Em pH 5,1 o número de nódulos foi menor em relação aos demais pH, o que confirma a hipótese que a nodulação é afetada pela acidez do solo. Conforme Siqueira et al. (1994), as bactérias são mais adaptadas a pH com valores entre 6 e 8 e os fungos a valores abaixo de 5,

contudo eles são menos sensíveis ao aumento do pH que as bactérias. A ocorrência de nodulação apenas nos tratamentos inoculados com FMAs *Rhizophagus clarus* e *Acaulospora colombiana* evidencia a necessidade da micorrização para a nodulação na bracatinga evidenciando o papel benéfico desses fungos no crescimento da bracatinga.

#### 4.7 CONCLUSÃO

Os dados mostraram que existe uma faixa de pH adequada no crescimento de bracatinga, que está associada com a espécie de FMA inoculada. Além disso o número de nódulos e a colonização micorrízica é influenciada pelo pH do solo.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste trabalho, sugerem que a seleção de FMAs mais eficientes em promover o crescimento e desenvolvimento da bracatinga é um bom caminho para futuras pesquisas;

A melhor combinação entre FMAs e BFN pode influenciar no desenvolvimento da bracatinga e o sucesso de seu desenvolvimento está associado ao pH ideal para o crescimento desses microrganismos.

A influência de populações indígenas de FMAs no desenvolvimento de mudas de bracatinga devem ser melhor exploradas a fim de entender suas relações com a espécie, uma vez que as plantas cultivadas em solo não estéril apresentaram crescimento semelhante á plantas inoculadas com *A.colombiana*.



## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A. C. S.; QUEIROZ, M. H.; HERMES, R. A. L.; OLIVEIRA, V. L. Mycorrhizal status of some plants of the Araucaria forest and the Atlantic rainforest in Santa Catarina, Brazil. **Mycorrhiza**, v. 10, n. 3, p. 131-136, 2000.
- ANGELINI, G. A. R.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; SILVA, E. M. R. Seleção de fungos micorrízicos arbusculares e ectomicorrízicos para simbioses eficientes com *Acacia mangium* Willd. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 3529-3542, 2013.
- ARTURSSON, V.; FINLAY, R. D.; JANSSON, J. K. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. **Environmental microbiology**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2006.
- AZCÓN, R.; BAREA, J. M. Mycorrhizosphere interactions for legume improvement. In: **Microbes for legume improvement**. Springer, Vienna, p. 237-271, 2010.
- BAGGIO, A. J. **Estudio sobre el sistema agroflorestal tradicional de la bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.) em Brasil: productividad, manejo de residuos y elaboración de compost**. Tese (Doutorado em Ingenieria de Montes) – Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes, Departamento de Silvopascicultura, Madrid, 242f., 1994.
- BALOTA, E. L.; MACHINESKI, O.; COLAUTO STENZEL, N. M. Resposta da acerola à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em solo com diferentes níveis de fósforo. **Bragantia**, v. 70, n. 1, 2011.
- BAREA, J. M.; AZCON, R.; AZCÓN-AGUILAR, C. 21 Vesicular-arbuscular Mycorrhizal Fungi in Nitrogen-fixing Systems. In: **Methods in microbiology**. Academic Press, p. 391-416, 1992.
- BAREA, J. M.; AZCON-AGUILAR, C. Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. **Advances in Agronomy**, v. 36, p. 1-54, 1983.
- BAREA, J. M. et al. Arbuscular mycorrhizas and their significance in promoting soil-plant systems sustainability against environmental stresses. In: GONZÁLEZ, M. B. R.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, J. (Ed.). **Beneficial plant-microbial interactions: ecology and applications**. Boca Raton: CRC Press, p. 353387, 2013.
- BARTOSZECK, A. C. P. S. **Evolução da relação hipsométrica e da distribuição diamétrica em função dos fatores idade, sítio e densidade inicial em bracatingais da Região Metropolitana de Curitiba**. 2000. Dissertação – Mestrado em Engenharia Florestal, UFPR, 214 p. 2000.
- BASSO, S. M. S. **Caracterização morfológica e fixação biológica de nitrogênio de espécies de Adesmia DC. E Lotus L.** Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 268 f. 1999.

BERBARA, R. L. L; SOUZA, F. A; FONSECA, H. M. A. C. **Nutrição Mineral de Plantas.** In: FERNANDES, M. S. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. Viçosa: SBCS, p.53-85. 432 p., 2006.

BRAGHIROLI, Felipe Luiz et al. Fungos micorrízicos arbusculares na recuperação de florestas ciliares e fixação de carbono no solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 3, p. 733-744, 2012.

BURITY, H. A.; DE SOUZA, E. S.; SANTO MERGULHÃO, A. C. D. E.; DA SILVA, M. L. R. B. Efetividade da inoculação com rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares em mudas de sabiá submetidas a diferentes níveis de fósforo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 35, n. 4, p. 801-807, 2000.

CALDEIRA, M. V. W.; SILVA, E. M. R.; FRANCO, A. A.; ZANON, M. L. B. Comportamento de mudas de leguminosas arbóreas inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares. **Ciência Florestal**, v. 9, n. 1, p. 135-142, 1999.

CALDEIRA, M. V. W.; DA SILVA, E. M. R.; FRANCO, A. A.; WATZLAWICK, L. F. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de três leguminosas arbóreas. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 1, n. 1, p. 27-32, 2003.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; DAVIDE, A. C.; GOMES, L. J.; CURI, N.; VALE, F. R. DO. Fungo micorrízico e superfosfato no crescimento de espécies arbóreas tropicais. **Scientia Forestalis**, v.1, n. 50, p.21-36, 1996.

CARNEIRO, R. F. V. et al. Inoculação micorrízica arbuscular e adubação fosfatada no cultivo de forrageiras consorciadas. **Archivos Zootecnia**, v. 60, n. 232, p. 1191-1202, 2011.

CARDOSO, E. J. B. N. Efeito de micorriza vesículo-arbuscular e fosfato-de-rocha na simbiose Soja-Rhizobium. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 9, p. 125-130, 1985.

CARDOSO, E.J.B.N.; CARDOSO, I.M.; NOGUEIRA, M.A.; BARETTA, C.R.D.M.; PAULA, M.A. Micorrizas arbusculares na aquisição de nutrientes pelas plantas. In: SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. (Eds.). **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Editora UFLA: Lavras; 2010.

CARPANEZZI, A. A.; CARPANEZZI, O. T. B. Cultivo da bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth) no Brasil e prioridades para o seu aperfeiçoamento. In: CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL, 7., 1992, Nova Prata. **Anais...** Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, v. 2, p. 640-655, 1992.

CARPANEZZI, A. A. **Banco de sementes e deposição de folhedo e seus nutrientes e povoamentos de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth) na região metropolitana de Curitiba.** Tese (Doutorado). Rio Claro, UNESP. 1997.

CARPANEZZI, A. A.; CARPANEZZI, O. T. B.; BAGGIO, A. J. Manejo de bracatingais. In: Oficina sobre Bracatinga no Vale da Ribeira / Guarapuava, 2004, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Agência de Desenvolvimento da Mesorregião do Vale da Ribeira, EMATER-Paraná, EMBRAPA Florestas. p. 50-58, 60 p., 2004.

CARPANEZZI, A. A. **Aspectos técnicos da produção de bracatinga.** In: **Memórias da oficina sobre bracatinga no Vale do Ribeira.** Dados eletrônicos, Colombo: Embrapa Florestas, p. 39-44. 2006.

CARVALHO, P. E. R. Composição e povoamento de bracatingal em povoamento natural. In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS, 4; Bracatinga uma alternativa para reflorestamento, 1981, Curitiba. **Anais...** Curitiba: EMBRAPA-URPFCS (Documentos, 5), p. 67-75, 1983.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras.** Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2003.

CARVALHO, P. E. R. Espécies arbóreas de usos múltiplos na região sul do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE SISTEMAS AGROFLORESTAIS. 1994., Porto Velho. **Anais...** Colombo: EMBRAPA-CNPF, v.1, p.289-320, 1994.

CHEN, W. M.; FARIA, S. M.; JAMES, E. K.; ELLIOTT, G. N.; LIN, K. Y.; CHOU, J. H.; SHEU, S. Y.; CNOCKAERT, M.; SPRENT, J. I.; VANDAMME, P. Burkholderia nodosa sp. nov., isolated from root nodules of the woody Brazilian legumes *Mimosa bimucronata* and *Mimosa scabrella*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.57, p.1055-1059, 2007.

CHU, E. Y.; YARED, J. A. G.; ONUKI MAKI, H. J. I. Efeitos da inoculação e da adubação fosfatada em mudas de *Vochysia maxima* Ducke. **Revista Árvore**, v. 28, n .2, p. 157-165, 2004.

CLARK, R. B. Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization, and host plant growth and mineral acquisition at low pH. **Plant Soil**, v.192, n. 1, p.15-22, 1997.

**COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. Manual de Calagem e Adubação para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina.** Sociedade Brasileira de Ciência do Solo – Núcleo Regional Sul. 11. ed. Porto Alegre, 2016. 376 p.

**CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul.** 1.ed. Brasília: MMA, 934 p. 2011.

COSTA, N. L.; PAULINO, V. T.; RODRIGUES, A. N. A. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal and phosphate fertilization on growth, nodulation and nitrogen and phosphorus uptake of pigeonpea. **Nitrogen Fixing Tree Res. Reports**, v.8, p.123-125, 1990.

CRUZ, R. D.; MANALO, M. Q.; AGGANGAN, N. S.; TAMBALO, J. D. Growth of three legume trees inoculated with VA mycorrhizal fungi and Rhizobium. **Plant and Soil**, v. 108, n. 1, p. 111-115, 1988.

DALLA, COSTA, M.; PRIMIERI, S.; STÜRMER, S. L.; RAMOS, G. B.; RECH, T. D.; CIOTTA, M. N. Eficiência simbiótica e teor de nutrientes em bracatinga inoculada com fungos micorrízicos arbusculares. In: **SIMPÓSIO INTERNACIONAL CIÊNCIA, SAÚDE E TERRITÓRIO**, 4., 2017, Lages. **Anais...** Lages: Uniplac, 2017.

- DAYNES, C. N.; FIELD, D. J.; SALEEBAA, J. A.; COLE, M. A.; MCGEE, P. A. Development and stabilization of soil structure via interactions between organic matter, arbuscular mycorrhizal fungi and plant roots. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 57, p. 683-694, 2013.
- DE FARIA, S.M.; MOREIRA, V.C.G.; FRANCO, A.A. Seleção de estirpes de Rhizobium para espécies leguminosas florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.19, n.13, p.175-179, 1984.
- DUTRA, V.F., MORIM, M.P. **Mimosa in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2012. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB100978811>>. Acesso em: 15 jun 2018.
- EHRHARDT-BROCARDO, N. C. M. et al. Diversidade cultural, morfológica e genética de diazotróficos isolados de nódulos de bracatinga. **Revista Árvore**, v. 39, n. 5, p. 923-933, 2015.
- EMBRAPA FLORESTAS. Centro Nacional de Pesquisa de Florestas, Curitiba, PR. **Manual técnico da bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth)**. Autor: Antonio Aparecido Carpanezzi e outros. (EMBRAPA. CNPF. Documentos, 20), Curitiba, 1988, 70p.
- FANTINI, A.C.; ULLER-GÓMEZ, C.; GARTNER, C.; VICENTE,N.R.; SCHLINDWEIN, S.L.; BAUER, E.; MENEZES, G.T.C. Produção de carvão e de saberes na agricultura familiar de SC. **Agropecuária Catarinense**, v. 23, p.13-15, 2010.
- FARIA, M. P.; SIQUEIRA, J. O.; VALE, F. R.; CURI, N. Crescimento de leguminosas arbóreas em resposta a fósforo, nitrogênio, fungo micorrízico e rizóbio. I-Albizia lebbeck (L.) BENTH. **Revista Árvore**, v. 19, n. 3, p. 293-307, 1995.
- FARIA, T. M.; SCABORA, M. H.; MALTONI, K. L.; CASSIOLATO, A. M. R. Micorrização e crescimento de progêneres de *Hymenaea stignocarpa* Mart. ex Hayne em subsolo de área degradada. **Ciência Florestal**, v. 23, n. 1, p. 233-243, 2013.
- FERNANDES, J.M.; GARCIA, F.C.P.; AMOROZO, M.C.M.; SIQUEIRA, L.C.; MAROTTA, C.P.B. & CARDOSO, I.M. Etnobotânica de Leguminosae entre agricultores agroecológicos na Floresta Atlântica, Araponga, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 65, n. 2, p. 539-554, 2014.
- FERREIRA, P. I.; GOMES, J. P.; BATISTA, F.; BERNARDI, A. P.; COSTA, N. D.; BORTOLUZZI, R. D.; MANTOVANI, A. Espécies potenciais para recuperação de áreas de preservação permanente no Planalto Catarinense. **Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 2, p. 173-182, 2013.
- FRANCO, A. A.; CAMPELLO, E. F. C.; DIAS, L. E.; FARIA, S. M. **Use of nodulated and micorrhizal legume trees of revegetation of residues from bauxite mining**. In: International symposium on sustainable agriculture for the tropics -the role of biological nitrogen fixation, 1995, Angra dos Reis. Abstracts...Rio de Janeiro: Embrapa-CNPAB; UFRRJ; The Brazilian Academy of Sciences, p.80-81, 1995.

- GARG, N.; MANCHANDA, G. Effect of Arbuscular Mycorrhizal Inoculation on Salt-induced Nodule Senescence in Cajanus cajan (Pigeonpea). *Journal Plant Growth Regulation*, v. 27, n. 02, p. 115-124, 2008.
- GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogon species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society, Cambridge**, v.6, p. 235-246, 1963.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New phytologist**, v. 84, n. 3, p. 489-500, 1980.
- GRIMALDI, F.; MUNIZ, A.W.; DALLA COSTA, M. et al. Seleção de estirpes de rizóbio para Mimosa scabrella Benth. In: FERTBIO 2012, Maceió. A Responsabilidade Socioambiental da Pesquisa Agrícola. **Anais...Maceió: SBCS**, 2012.
- GROSS, E.; CORDEIRO, L.; CAETANO, F. H. Nodulação e micorrização em anadenanthera peregrina var. falcata em solo de cerrado autoclavado e não autoclavado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 1, p. 95-101, 2004.
- HART, M. M.; READER, R. J. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v. 153, n. 2, p. 335-344, 2002.
- HEPPER, C. M.; AZCON-AQUILAR, C.; ROSENDAL, S.; SEM, R. Competition between three species of Glomus used as spatially separated introduced and indigenous mycorrhizal inocula for leek (*Allium porrum* L.). **New Phytologist**, v. 110, n. 2, p. 207-215, 1988.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, J. R.; MENDES, I. C. **Fixação Biológica de Nitrogênio na Soja**. Embrapa, p. 11-15, 2001.
- JANOS, D. P. Mycorrhizas, succession, and the rehabilitation of deforested lands in the humid tropics. In: **Fungi and environmental change**. Cambridge University Press, for British Mycological Society, 1996.
- JESUS, E. C.; SCHIAVO, J. A.; FARIA, S. M. Dependência de micorrizas para a nodulação de leguminosas arbóreas tropicais. **Revista Árvore**, v.29, n.4, p.545-552, 2005.
- JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. Artmed, Porto Alegre, 2009.
- KIRIACHEK, S. G.; AZEVEDO, L. C. B.; PERES, L. E. P.; LAMBAIS, M. R. Regulação do desenvolvimento de micorrizas arbusculares. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 1, p. 1-16, 2009.
- KLEIN, R. M. O aspecto dinâmico do pinheiro brasileiro. **Sellowia**, v.12, n.12, p.17-44, 1960.
- KOIDE, R. T. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. **New phytologist**, v. 117, n. 3, p. 365-386, 1991.
- LACERDA, K. A. P.; SILVA, M. M. S.; CARNEIRO, M. A. C.; FIALHO DOS REIS, E.; SAGGIN JÚNIOR, O. J. Fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada no crescimento inicial de seis espécies arbóreas do cerrado. **Cerne**, v. 17, n. 3, p.377-386, 2011.

LAMBAIS, M. R.; RAMOS, A. C. Sinalização e transdução de sinais em micorrizas arbusculares. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A. de; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. (Ed.). **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil.** Lavras: Ed. da UFLA, 2010. p. 119-132.

LAMMEL, D. R. **Diversidade de rizóbios em Florestas de Araucária no Estado de São Paulo.** Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. 2007.

LAMMEL, D. R. et al. Diversity and symbiotic effectiveness of beta-rhizobia isolate from sub-tropical legumes of a Brazilian Araucaria Forest. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 12, p. 2335-2342, 2013.

LAMMEL, D. R.; CRUZ, L. M.; MESCOLOTTI, D.; STÜRMER, S. L.; CARDOSO, E. J. Woody Mimosa species are nodulated by Burkholderia in ombrophylous forest soils and their symbioses are enhanced by arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). **Plant and soil**, v. 393, n. 1-2, p. 123-135, 2015.

LAURENT, J. M. E.; MENDONÇA, W. R. de. **A comercialização dos produtos do Sistema Bracatinga na Região Metropolitana de Curitiba.** Projeto FAOGCP/BRA/025/FRA, Convênio BRASIL/Paraná – FRANÇA-FAO. Curitiba. 46p. 1989.

LEIFHEIT, E. F.; VERESOGLOU, S. D.; LEHMANN, A.; MORRIS, E. K.; RILLIG, M. C. Multiple factors influence the role of arbuscular mycorrhizal fungi in soil aggregation—a meta-analysis. **Plant Soil**, v. 374, n. 1-2, p. 523-537, 2014.

LEITE, L. F. C.; ARAÚJO, A. S. **Ecologia microbiana do solo.** Teresina, Embrapa Meio Norte, 2007. 24p. (Documentos/Embrapa Meio-Norte).

LIMA, K. B.; RITER NETTO, A. F.; MARTINS, M. A.; MENDONÇA FREITAS, M. S. Crescimento, acúmulo de nutrientes e fenóis totais de mudas de cedro australiano (*Toona ciliata*) inoculadas com fungos micorrízicos. **Ciência Florestal**, v. 25, n. 4, 2015.

LOPES, E. C. P.; MORAES, A. de; LANG, C. R. Estudo do fracionamento isotópico de nitrogênio aplicado à gramíneas e leguminosas forrageiras. **Applied Research & Agrotechnology**, v. 9, n. 1, p. 121-130, 2016.

MACHINESKI, O.; BALOTA, E. L.; COLOZZI FILHO, A.; ANDRADE, D. S.; SOUZA, J. R. P. Crescimento de mudas de peroba rosa em resposta à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 567-570, 2009.

MAIA, L. C.; SILVA, F. S. B.; GOTO, B. T. Estrutura, ultraestrutura e germinação de glomerosporos. In: SIQUEIRA, J. O. et al., eds. **Micorrizas: 30 Anos de Pesquisa no Brasil.** 1 ed. Lavras: UFLA. 2010.

MARQUES, M. S.; PAGANO, M.; SCOTTI, M. R. M. M. L.. Dual inoculation of a woody legume (*Centrolobium tomentosum*) with rhizobia and mycorrhizal fungi in south-eastern Brazil. **Agroforestry Systems**, v. 52, n. 2, p. 107–117, 2001.

MARTINS, R. **Livro das Árvores do Paraná.** Curitiba: Imprensa Oficial do Paraná. 2<sup>a</sup> ed., 2004, 224 p. il.

MAZUCHOWSKI, J.Z.; BECKER, J.C. **Relatório de Atividades do Projeto Unidades Rurais de Desenvolvimento Integrado 2004 a 2006.** Instituto EMATER e Agência de Desenvolvimento da Mesorregião Vale do Ribeira / Guaraqueçaba. Curitiba. 2006. 150 p., il.

MAZUCHOWSKI, J. Z.; RECH, T. D.; TORESAN, L. **Bracatinga, *Mimosa scabrella* Bentham: cultivo, manejo e usos da espécie.** Florianópolis: Epagri, 2014.

MAZUCHOWSKI, J. Z. **Exploração da Bracatinga.** Convênio BRASIL/Paraná – FRANÇA – FAO. Curitiba, 25p., 1989.

MAZUCHOWSKI, J.Z., **Sistema de produção de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.) sob técnicas de manejo silvicultural.** Universidade Federal do Paraná. 2012.

MELLO, A. H.; SILVA, E. M. R.; SAGGIN JÚNIOR, O. J. Seleção de fungos micorrízicos arbusculares eficientes para promoção do crescimento da leguminosa Mimosa artemisiana Heringer & Paula. **Agroecossistemas**, v. 4, n. 2, p. 40-51, 2012.

MENDES, M. M. C. et al. Crescimento e sobrevivência de mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) inoculadas com micro-organismos simbiontes em condições de campo. **Ciência Florestal**, v. 23, n. 2, p. 309-320, 2013.

MENEGATTI, R. D. **Caracterização genética em sementes e mudas de diferentes procedências e progêneres de *Mimosa scabrella* Benth. do estado de Santa Catarina.** 2015. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2015. 116 p.

MIYAUCHI, M.Y.H.; LIMA, D.S.; NOGUEIRA, M.A.; LOVATO, G.M.; MURATE, L.S.; CRUZ, M.F.; FERREIRA, J.M.; ZANGARO, W.; ANDRADE, G. Interactions between diazotrophic bacteria and mycorrhizal fungus in maize genotypes. **Scientia Agricola**, v. 65, n. 5, p. 525-531, 2008.

MOREIRA, F. M. S. et al. Biazotrophic associative bacteria: diversity, ecology and potential applications. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74, 2010.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo.** Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. **Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros.** UFLA: Lavras, p. 621-666, 2008.

MÜLLER, J. J. V. **Levantamento sócio ambiental do inventário florestal.** Florianópolis: Epagri, 2011.

NADEEM, S. M.; AHMAD, M.; ZAHIR, Z. A.; JAVAID, A.; ASHRAF, M. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. **Biotechnology advances**, v. 32, n. 2, p. 429-448, 2014.

NOVAIS, R. F.; BARROS, N. F.; NEVES, J. C. L. **Nutrição mineral do eucalipto.** In: BARROS, N. F.; NOVAIS, R. F. (Eds.). Relação solo-eucalipto. Viçosa, MG: Folha de Viçosa, 1990. p.25-98.

OLIVEIRA, D. E. C. et al. Resposta da inoculação de fungos micorrízicos e rizóbio no crescimento inicial de *Acacia mangium* em solo de mineração no estado de Goiás. **Engenharia na Agricultura**, v. 19, n. 3, p. 219-226, 2011.

PARNISKE, M. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6, n. 10, p. 763, 2008.

PASQUALINI, D.; UHLMANN, A.; STÜRMER, S. L. Arbuscular mycorrhizal fungal communities influence growth and phosphorus concentration of woody plants species from the Atlantic rain forest in South Brazil. **Forest Ecology and Management**, v. 245, n. 1-3, p.148-155, 2007.

PEGORARO, A. et al. Forrageamento da abelha Africaneizada na florada da bracatinga. **Archives of Veterinary Science**, v. 16, n. 2, p.1-8, 2011.

PEREIRA, M. G., SANTOS, C. E., DE FREITAS, A. D., STAMFORD, N. P., AROCHA,G. S., & BARBOSA, A. T. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi Rhizobium and actinomycetes in the rhizosphere of soybean. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 12, p. 1249-1256, 2013.

PEREIRA, E. G. J. O.; SIQUEIRA, N.; CURI, F. M. S.; MOREIRA. A.A. C. PURCINO. Efeitos da micorriza e do suprimento de fósforo na atividade enzimática e na resposta de espécies arbóreas ao nitrogênio. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.8, n. 1, p.59-65, 1996.

PLENCHETTE, C.; FORTIN, J. A.; FURLAN, V. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. **Plant and soil**, v. 70, n. 2, p. 199-209, 1983.

PONTES, M. M. C. M. et al. Dupla inoculação β-rizóbio e micorriza em sabiazeiro visando à recuperação de áreas degradadas. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 17, n. 1, p. 37-45, 2012.

POUYÚ-ROJAS, E.; SIQUEIRA, J.O. & SANTOS, J.G.D. Compatibilidade simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares com espécies arbóreas tropicais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 3, p.413-424, 2006.

PRIMIERI, S.; DALLA COSTA, M.; STROSCHEIN, M. R. D.; STOCCHI, P.; SANTOS, J. C. P.; ANTUNES, P. M. Variability in symbiotic effectiveness of N<sub>2</sub> fixing bacteria in *Mimosa scabrella*. **Applied Soil Ecology**, v. 102, p. 19-25, 2016.

PRIMIERI, S.; BRANCO, B.S.; DALLA COSTA, M. et al. Diversidade morfológica de rizobactérias em nódulos de bracatinga (*Mimosa scabrella*) no estado de Santa Catarina. In: SEMINÁRIO DE PESQUISA, EXTENSÃO E INOVAÇÃO DO IFSC, 3., 2013, Lages, SC. **Anais...** Lages, 2013.

REGENSBURGER, B.; COMIN, J. J.; AUMOND, J. Integração de técnicas de solo, plantas e animais para recuperar áreas degradadas. **Ciência Rural**, v. 38, n.6, p. 1773-1776, 2008.

REIS, M. S. & SIMINSKI, A. Espécies Medicinais Nativas da Região Sul do Brasil. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Brasília: MMA, 934 pp. 2011.

RHEINHEIMER, D. S.; KAMINSKI, J. Resposta do Capim-Pensacola à adubação fosfatada e à micorrização em solo com diferentes valores de pH. **Revista brasileira de ciência do solo**, v. 18, n. 2, p. 201-205, 1994.

ROEDER, R. **Bracatinga: Conflitos de legislação entre os Estados do Paraná e Santa Catarina**. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Desenvolvimento Regional, Universidade do Contestado, Canoinhas, 135 f., 2009.

ROTTA, E.; OLIVEIRA, Y. M. M. Área de distribuição natural da bracatinga (*Mimosa scabrella*). In: 4º Seminário sobre Atualidades e Perspectivas Florestais: bracatinga, uma alternativa para reflorestamento. **Anais...** EMBRAPA, URPFCS. Curitiba, 1981. p. 1-23.

SAMARÃO, S. S.; RODRIGUES, L. A.; MARTINS, M. A.; MANHÃES, T. N.; ALVIM, L. A. M. Desempenho de mudas de gravioleira inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares em solo não-esterilizado, com diferentes doses de fósforo. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.33, n.1, p.81-88, 2011.

SÁNCHEZ, F. J. Z.; ROMO LOZANO, J. L.; CERVANTES CARRILLO, J. O. A. Evaluación financiera y de riesgo de una plantación forestal comercial en Zihuateutla, Puebla. **Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente**, v. 16, n. 1, p. 69-78, 2010.

SANTOS, J. V. **Biofertilizante formononetina (isoflavonóide) como estimulante de micorrização em milho para aumento de produtividade associada a eficiência do uso de fósforo em Minas Gerais**. Tese (Doutor em Microbiologia Agrícola)– Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 64 f., 2014.

SCHIAVO, J. A. et al. Avaliação nutricional de mudas de *Acacia mangium*, *Sesbania virgata* e *Eucalyptus camaldulensis* inoculadas com fungos micorrízicos, em casa de vegetação e em cava de extração de argila. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 31, n. 4, p. 701-707, 2009.

SCOTT, P. **Physiology and Behaviour of Plants**. West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd, 2008.318 p.

SILVA, A. F.; LEITÃO FILHO, H. F. Composição florística e estrutura de um trecho da Mata Atlântica no Município de Ubatuba (São Paulo, Brasil). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 5, n. 1-2, p. 43-51, 1982.

SILVA, E. P.; GOMES, V. F. F.; MENDES FILHO, P. F.; SILVA JÚNIOR, J. M. T.; ALMEIDA, A. M. M. Mudas de sabiá colonizadas com fungos micorrízicos arbusculares nativos e adubadas com fosfato natural e material orgânico. **Revista Científica Rural**, v. 18, n. 1, p. 83-99, 2017.

SIMINSKI, A. et al. Recursos florestais nativos e a agricultura familiar em Santa Catarina. Brasil. **Bonplandia**. v. 20, n. 2, p. 371-389, 2011.

SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C.; CURI, N.; SILVA-ROSADO, S. C.; DAVIDE, A. C. Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to successional groups in Southeastern Brazil. **Forest Ecology and Management**, v. 107, n. 1-3, p. 241-252, 1998.

SIQUEIRA, J. O.; MAHMUD, A. W.; HUBBELL, D. H. Comportamento diferenciado de fungos formadores de micorrizas vesicular-arbusculares em relação à acidez do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 10, n. 1, p. 10-16, 1986.

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S; GRISI, B. M.; HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R. S. 1994. **Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental**. Embrapa, Brasília. 142p. (Embrapa, documento, 45).

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. **Biologia e bioquímica do solo**. 1. ed. Lavras: UFLA/Faepe, 2001.

SMITH, S.E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. 3.ed. London: Academic Press, 2008. 815 p.

SOARES, A. C. F.; GARRIDO, M. S.; AZEVEDO, R. L.; MENDES, L. N.; GRAZZIOTTI, P. H. Produção de mudas de Ipê roxo inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares. **Magistra**, v. 15, n. 2, p. 123-127, 2003.

SOARES, T.; MOREIRA, F. M. S. Simbioses leguminosas, fungos micorrízicos e bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de Pesquisa no Brasil**. Lavras, Editora UFLA, 2010.

SOARES, P. S. M.; SANTOS, M. D. C.; POSSA, M. V. **Carvão Brasileiro: Tecnologia e Meio Ambiente**. Rio de Janeiro: CETEM, 2008. 289 p.

SOUZA, F. D.; STÜRMER, S. L.; CARRENHO, R.; TRUFEM, S. F. B. Classificação e taxonomia de fungos micorrízicos arbusculares e sua diversidade e ocorrência no Brasil. **Micorrizas**, v. 30, p. 15-73, 2010.

SOUZA, V. C. DE.; SILVA, R. A. DA.; CARDOSO, G. D.; BARRETO, A. F. Estudos sobre fungos micorrízicos. **Revista Brasileira de Engenharia agrícola e ambiental**, , v. 10, n. 3, p. 612-618, 2006.

SOUZA, F. A.; SCHLEMPER, T. R.; STÜRMER, S. L. **A importância da tecnologia de inoculação de fungos micorrízicos para a sustentabilidade na olericultura**. EMBRAPA MILHO E SORGO, 2017.

SOUZA, F. A.; SILVA, E. M. R. Micorrizas arbusculares na revegetação de áreas degradadas. In: SIQUEIRA, J.O. ed. **Avanços em Fundamentos e Aplicação de Micorrizas**. Lavras, UFLA/DCS e DCF, p. 255-290, 1996.

SPAGNOL, L. et al. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em espécies de forrageiras nativas do Campus, da UFSM. **Jornada de pesquisa da UFSM**, v. 3, p. 336, 1993.

STANDLEY, P. C.; STEYERMARK, J. A. **Flora of Guatemala**. Chicago: Chicago Natural History Museum., 502 p. (Fieldiana: Botany, v. 24, p. 5). 1946

STEENBOCK W. et al. Ocorrência da bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.) em bracatingais manejados e em florestas secundárias na região do planalto catarinense. **Revista Árvore**, v. 35, n. 4, p. 87-96, 2011.

STEENBOCK, W. **Domesticação de bracatingais: perspectivas de inclusão social e conservação ambiental**. Tese (Doutorado)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florinópolis, 2009.

STÜRMER, S. L.; CARDOSO, E. J. B. N.; SOUZA, F. A.; KASUYA, M. C. M. “Além das raízes”: o papel dos fungos micorrízicos. Viçosa: SBCS, 2009. p. 30-32.

STÜRMER, S. L.; BELLEI, M. M. Composition and seasonal variation of spore populations of arbuscular mycorrhizal fungi in dune soils on the Island of Santa Catarina, Brazil. **Canadian Journal of Botany**, v. 72, n. 3, p.359-363, 1994.

STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. **Fungos micorrízicos**. In: MOREIRA, F. M. S. (Ed.). O ecossistema solo. Lavras: UFLA, 2013. p. 291-310.

SUGAI, M. A. A.; COLLIER, L. S.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J. Inoculação micorrízica no crescimento de mudas de angico em solo de cerrado. **Bragantia**, v. 70, n. 2, p. 416-423, 2011.

TAVARES, S. L. R.; FRANCO, A. A.; SILVA, E. M. R. Resposta de *Acacia mangium* Willd a inoculações com rizóbio e micorriza em diferentes níveis de fósforo em solo de restinga degradado. **Holos**, v. 7, n. 32, p. 242-257, 2016.

TAYLOR, T. N.; REMY, W.; HASS, H.; KERP, H. Fossil arbuscular mycorrhizae from the early Devonian. **Mycologia**, v. 87, n. 4, p. 560-573, 1995.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre. UFRGS/FA/DS, 1995.

TRINDADE, A. V.; SIQUEIRA, J. O.; ALMEIDA, F. P. Eficiência simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares em solo não fumigado, para mamoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, n. 3, p. 505-513, 2000.

ULLER-GÓMEZ, C.; CARRIERI, M.; FANTINI, A.C.; MELLO, M.A.;TORESAN, L. **Estudo exploratório sobre o sistema de produção e a comercialização do carvão vegetal produzido por agricultores familiares da microbacia de São Mateus - Biguaçu, SC**. In: 5º Encontro da rede de estudos rurais - UFPA. Belém, 2012.

URBANO, E. et al. Equações para estimar o peso de carbono fixado em árvores de *Mimosa scabrella* Bentham (bracatinga) em povoamentos nativos. **Cerne**, v. 14, n. 3, p. 194-203, 2008.

VALADARES, R. B. S.; MESCOLOTTI, D. L. C.; CARDOSO, E. J. B. N. **Micorrizas**. In: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. Microbiologia do Solo. Piracicaba: ESALQ, 2016. p. 179-196.

VIERHEILIG, H.; COUGHLAN, A. P.; WYSS, U. R. S.; PICHE, Y. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. **Applied and environmental microbiology**, v. 64, n. 12, p. 5004-5007, 1998.

VITORAZI FILHO, J. A.; LIMA, K. B.; FREITAS, M. S. M.; MARTINS, M. A.; OLIVARES, F. L. Crescimento de mudas de maracujazeiro-doce inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas sob diferentes doses de fósforo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 2, p. 442-450, 2012.

WALDER, F. et al. Mycorrhizal networks: common goods of plants shared under unequal terms of trade. **Plant physiology**, v. 159, n. 2, p. 789-797, 2012.

WILHELM, W. W.; MCMASTER, G. S. Importance of the phyllochron in studying development and growth in grasses. **Crop Science**, v. 35, n. 1, p. 1-3, 1995.

YASMEEN, Tahira et al. Significance of arbuscular mycorrhizal and bacterial symbionts in a tripartite association with Vigna radiata. **Acta physiologiae plantarum**, v. 34, n. 4, p. 1519-1528, 2012.

ZANGARO, W.; BONONI, V.L.R. & TRUFEM, S.B. Mycorrhizal dependency, inoculum potential and habitat preference of native woody species in South Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v.16, n. 4, p.603-622, 2000.

ZANGARO, W. e ANDRADE, G. **Micorrizas arbusculares em espécies arbóreas nativas da bacia do rio Tibagi**. In: M.E. MEDRI; E. BIANCHINI; J.A. PIMENTA e O. SHIBATA (eds.). A bacia do rio Tibagi. Londrina. p.171-210, 2002.

ZANGARO, W. et al. Mycorrhizal response and successional status in 80 woody species from south Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v.19, n. 3, p.315-324, 2003.

ZHAO, C.; MIAO, Y.; YU, C.; ZHU, L.; WANG, F. et al. Soil microbial community composition and respiration along an experimental precipitation gradient in a semi arid steppe. **Scientific reports**, v. 6, n.24317, p.1-9, 2016.