



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

JOELMA NAYARA SILVA XAVIER

**MICORRIZAS ARBUSCULARES NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE
GLIRICÍDIA**

**CAMPINA GRANDE - PB
2019**

JOELMA NAYARA SILVA XAVIER

**MICORRIZAS ARBUSCULARES NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE
GLIRICÍDIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Biologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Microbiologia Agrícola.

Orientador: Prof. Dr. Simão Lindoso de Souza.

**CAMPINA GRANDE – PB
2019**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

X3m Xavier, Joelma Nayara Silva.
Micorrizas arbusculares no desenvolvimento de mudas de gliricídia [manuscrito] / Joelma Nayara Silva Xavier. - 2019.
22 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2019.
"Orientação : Prof. Dr. Simão Lindoso de Souza ,
Coordenação de Curso de Biologia - CCBS."
1. Micorrizas arbusculares. 2. Fungos micorrízicos arbusculares. 3. Gliricídia sepium. 4. Proteína vegetal. I. Título
21. ed. CDD 579.5

JOELMA NAYARA SILVA XAVIER

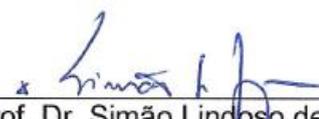
**MICORRIZAS ARBUSCULARES NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE
GLIRICÍDIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Biologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Microbiologia Agrícola.

Aprovada em: 18 / 11 / 2019.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Simão Lindoso de Souza (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Carlos Henrique Salvino Gadelha Meneses
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. George Rodrigues Lambais
Instituto Nacional do Semiárido (INSA)

Aos meus pais, por todo o carinho e
dedicação, amor e apoio, **DEDICO**.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	08
2	METODOLOGIA	09
2.1	Extração dos esporos de FMA's para inoculação das mudas.....	09
2.2	Produção das mudas de Gliricídia	09
2.3	Inoculação das mudas	10
2.4	Parâmetros biométricos das mudas	10
2.4.1	Massa das matérias fresca e seca da parte aérea e das raízes	10
2.5	Teor de água	10
2.6	Determinação da Taxa de Colonização Radicular das Mudas	10
2.7	Extração de Proteínas solúveis Totais (PST)	11
2.8	Determinação do teor nutricional das mudas	11
2.9	Análises estatísticas	12
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	12
4	CONCLUSÃO	16
	REFERÊNCIAS	17

MICORRIZAS ARBUSCULARES NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE GLIRICÍDIA

ARBUSCULAR MYCORRHIZA ON THE DEVELOPMENT OF GLIRICIDE SEEDLINGS

Joelma Nayara Silva Xavier¹

RESUMO

As micorrizas são associações mutualísticas entre raízes de plantas e fungos de solo pertencentes ao filo Glomeromycota, conhecidos como fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Quando associados às raízes de plantas, formam um micélio externo e interno com o desenvolvimento de arbúsculos que auxiliam na troca de nutrientes entre os simbiossomas. A *Gliricidia sepium* é uma leguminosa comumente usada para forragem animal e estabelece relação simbiótica com fungos micorrízicos e bactérias fixadoras de nitrogênio. Objetivou-se com este estudo analisar a resposta da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de mudas de gliricídia. Os esporos para inoculação foram extraídos do banco de micorrizas da UEPB. As sementes de gliricídia foram germinadas em bandejas e posteriormente transplantadas para os vasos. O experimento contou com 38 mudas no total, sendo metade inoculada. As mudas foram avaliadas por um período de 4 meses, tendo acompanhamento dos parâmetros biométricos (altura, comprimento, diâmetro do caule, número de folhas). Avaliou-se também a massa fresca e seca, a taxa de colonização do fungo nas raízes e o teor de proteína, bem como dados nutricionais. Não houve diferenças significativas entre os dois grupos quanto às variáveis analisadas, o que pode indicar que a gliricídia não responde precocemente à inoculação na fase de muda. Apesar disso, os resultados mostram indícios de diferenças entre alguns parâmetros como, por exemplo, proteína solúvel, proteína bruta, N e Mg. Novas avaliações das mudas em condições de campo devem ser realizadas para elucidação dos efeitos da micorrização em gliricídia.

Palavras-chave: Micorrizas Arbusculares, fungos micorrízicos arbusculares, *Gliricidia sepium*, Proteína vegetal.

ABSTRACT

Mycorrhizae are associations between plant roots and soil fungi belonging to the phylum Glomeromycota, known as arbuscular mycorrhizal fungi (AMF's). When associated with plant roots, they form an external and internal mycelium with the development of arbuscule that assist in the exchange of nutrients between symbionts. *Gliricidia sepium* is a legume commonly used for animal fodder and establishes symbiotic relationship with mycorrhizal fungi and nitrogen-fixing bacteria. The aim of this study was to analyze the arbuscular mycorrhiza response in the development of gliricidia seedlings. Inoculation spores were extracted from our own collection. Gliricidia seeds were germinated in trays and later transplanted into the pots. The experiment had 38 seedlings in total, half of them inoculated. After 4 months the seedlings were evaluated biometric parameters (height, length, stem diameter, number of leaves). Fresh and dry mass, root colonization rate and protein content, as well as nutritional data were also evaluated. There were no significant differences between the two groups regarding the analyzed variables, which may indicate that gliricidia does not respond early to inoculation in the seedling phase. Nevertheless, the results show evidence of differences between some parameters evaluated under the experimental conditions, such as soluble protein, crude protein, N and Mg. New evaluations of seedlings under field conditions should be performed to elucidate the effects of mycorrhizae on gliricidia.

Keywords: Arbuscular Mycorrhizae, Arbuscular mycorrhizal fungi, *Gliricidia sepium*, Plant protein.

¹Aluna de Graduação em Ciências Biológicas na Universidade Estadual da Paraíba – *Campus I*. Email: joelma.xavierr@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

O estudo do solo tem sido intensificado nas últimas décadas, sobretudo nos aspectos relacionados aos microrganismos, dentre os quais se destacam as micorrizas. O termo foi proposto pelo botânico alemão Albert Bernard Frank, em 1885, originado do grego em que “mico” significa fungo e “riza” raízes. Existem dois grupos principais de micorrizas, as ectomicorrizas e as endomicorrizas conhecidas também como Micorrizas. O primeiro corresponde às associações com fungos que envolvem, mas não penetram as células das raízes, o que ocorre é a formação de hifas ao seu redor (SOUZA et al., 2006). Já as endomicorrizas, segundo Esposito e Azevedo (2010), representa as associações em que há a penetração do fungo nas células das raízes.

As micorrizas arbusculares (MA) são associações entre raízes de plantas e fungos do solo pertencentes ao filo Glomeromycota (SCHÜßLER et al., 2001), conhecidos como fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Essa associação é caracterizada pela formação de micélio externo e interno com o desenvolvimento de arbúsculos, estruturas fúngicas formadas no interior das células corticais das raízes (ESPOSITO; AZEVEDO, 2010; HARRISON, 1999). Cerca de 90% das plantas terrestres formam associações micorrízicas, as quais foram estabelecidas há mais de 400 milhões de anos e hoje são encontradas em quase todos os habitats no mundo (KISTNER; PARNISKE, 2002).

A maioria ou quase todas as trocas entre fungos e plantas ocorre nos arbúsculos, provocando a extensão da hifa por vários centímetros no solo (RAVEN et al., 1996). Os benefícios dessa simbiose, expressos principalmente como o estímulo ao crescimento vegetal, devem-se a fatores nutricionais, principalmente ao aumento da absorção de nitrogênio (COSTA; LOVATO, 2004), potássio e, especialmente, fósforo (CALVET et al., 2003). Os FMA, além de melhorarem o estado nutricional, aumentam a tolerância a doenças radiculares (BORGES et al., 2007), e aceleram o crescimento e melhoram o vigor das mudas na sua fase de formação (LINDERMANN; DAVIES, 2001).

Uma das espécies vegetais que estabelece essa relação simbiótica é a *Gliricidia sepium* (Jacq.), pertencente à família Leguminosae, subfamília Mimosoideae (LORENZI, 2002), e que, segundo Gomes (2004), além de ser uma espécie arbórea bem adaptada às condições climáticas da Caatinga, apresenta elevado valor energético e forrageiro. Também conhecida como gliricídia, a mesma tem apresentado boa aceitação para plantio em propriedades rurais do Agreste e Cariri paraibano em virtude à sua alta capacidade de produzir biomassa em condições de baixa disponibilidade hídrica, sendo introduzida recentemente, na forma consorciada (GOMES, 2004).

Estudos prévios demonstram que a introdução da gliricídia em áreas de cultivo agrícola pode apresentar várias vantagens potenciais, a saber: produção de biomassa rica em nutrientes para adubação orgânica, presença de um sistema radicular perene, cobertura e proteção do solo, manutenção ou melhoria das condições físicas, químicas e biológicas do solo, manutenção da microfauna em profundidade e produção de forragem para alimentação animal, além de outros produtos florestais ou não-florestais (BARRETO; FERNANDES, 2001). Além da associação da gliricídia com os FMA, a espécie ainda apresenta íntima relação com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico (MIRANDA et al., 2008).

Tanto associações entre planta e FMA como entre planta e bactérias fixadoras são utilizadas como ferramentas biológicas capazes de minimizar o uso de fertilizantes químicos e beneficiar o desenvolvimento da planta, especialmente em ambientes com déficit nutricional (MENDES et al., 2013). É interessante também o sinergismo que

existe entre os FMA e bactérias diazotróficas. No caso das leguminosas, a nodulação e a quantidade de N fixada pelos rizóbios são aumentadas em plantas inoculadas simultaneamente com FMA. As plantas micorrizadas absorvem mais o nitrogênio presente no solo. Evidências recentes indicam que os FMA são capazes de mineralizar N orgânico no solo, facilitando assim a nutrição nitrogenada das plantas (SIQUEIRA et al., 2002).

Diante das importâncias ecológica e nutricional que os FMA associados à gliricídia para a produção de forragem animal, objetivou-se avaliar efeitos biométricos, bioquímicos e nutricionais da micorriza arbuscular no desenvolvimento de mudas de gliricídia.

2 METODOLOGIA

2.1 Extração dos esporos de FMA para inoculação das mudas

Os esporos foram extraídos a partir de 100 ml de solo coletado do banco de micorrizas do Departamento de Biologia da UEPB. As frações de solo coletadas foram homogeneizadas, secas e peneiradas via úmida utilizando-se um conjunto de peneiras com diâmetro de 500 µm, 250 µm e 53 µm cada (GERDEMANN; NICOLSON, 1963). Em seguida, o coletado foi centrifugado em água a uma força de centrifugação relativa igual a 5031 g e depois em solução de sacarose 50% a uma força centrífuga relativa de 2236 g (JENKINS, 1964). O sobrenadante foi coletado, separado, contado e armazenado a uma temperatura de 5°C para ser analisado e utilizado posteriormente para inocular as mudas.

2.2 Produção das mudas de Gliricídia

Foram feitos dois experimentos, o solo utilizado como substrato para as mudas de ambos foi previamente esterilizado em autoclave. Para a aquisição das mudas, foi feito o teste de germinação com sementes de *Gliricidia sepium* em bandejas, conforme mostra a figura 1.

Figura 1 – Germinação das sementes de Gliricídia



Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

2.3 Inoculação das mudas

A partir da germinação das sementes, as plântulas com seis dias de germinação foram transplantadas para os respectivos vasos contendo 3 litros de substrato onde foram inoculadas com 120 esporos cada uma. O experimento contou com dois tratamentos, vinte mudas inoculadas e vinte mudas não inoculadas, totalizando quarenta mudas. As mudas foram cultivadas no viveiro da UEPB situado no prédio das Três Marias.

2.4 Parâmetros biométricos das mudas

Os parâmetros biométricos foram obtidos a partir de oito medições realizadas quinzenalmente em um período de quatro meses com o auxílio de paquímetro analógico, régua e fita métrica com a finalidade de medir os seguintes fatores:

- Altura
- Comprimento
- Diâmetro do colo do caule
- Contagem do número de folhas

2.4.1 Massa das matérias fresca e seca da parte aérea e das raízes

Quatro meses após o plantio, as mudas foram coletadas para determinação das massas de matéria fresca e seca da parte aérea e das raízes. A determinação de massa de matéria fresca foi feita em balança analítica logo após a separação das raízes e parte aérea. Para determinação da massa da matéria seca, as amostras vegetais da parte aérea e raízes foram secas em estufa com ventilação forçada a 70°C por 48 horas e, em seguida a 50°C por 72 horas ou até atingir massa constante, passando posteriormente a esse processo por uma nova pesagem.

2.5 Teor de água

Os dados de massa de matéria fresca e seca das mudas possibilitam avaliar além do crescimento vegetal, a quantidade de água retida pelas mudas cultivadas, o que foi realizado por meio da diferença entre a massa da matéria seca e a massa da matéria fresca, dividido pela massa da matéria fresca ($MS-MF/MF$), tanto para a parte aérea como para a parte radicular das mudas inoculadas e não inoculadas.

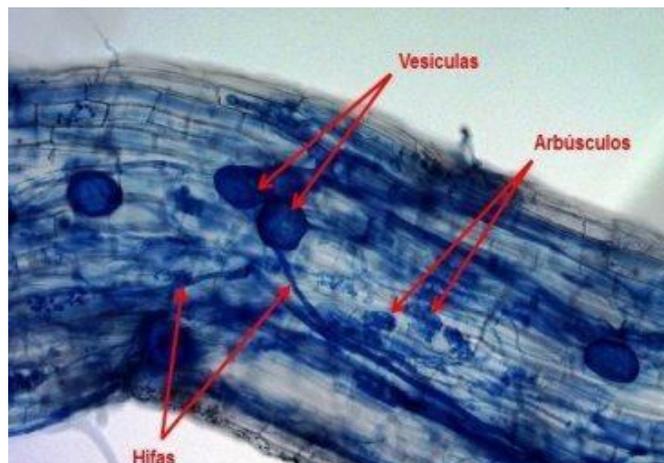
2.6 Determinação da Taxa de Colonização Radicular das Mudas

Foram coletadas amostras do terço médio das raízes das mudas de gliricídia que posteriormente foram conservadas em álcool a 70% até o momento das análises. Em seguida, foram clarificadas em solução de KOH 10% por 60 minutos a 90 °C, colocadas em solução de H₂O₂ 10% por 5 minutos e posteriormente em solução de HCl 1% por 5 min. Em seguida as raízes foram coradas com tinta de caneta (Parker)

5%(v/v) diluída em solução de ácido acético 5% (v/v) por 3 minutos a 90 °C, lavadas duas vezes em ácido acético 5% (v/v) para interromper a reação e remover o excesso de tinta (VIERHEILIG et al., 1998). Após este processo as raízes foram mantidas em solução de lacto-glicerol.

A taxa de colonização intrarradicular foi determinada pela presença de estruturas fúngicas no tecido cortical das raízes (figura 2) utilizando microscópio estereoscópico e placas reticuladas (GIOVANNETTI; MOSSE, 1980).

Figura 2 – Estruturas fúngicas no interior das raízes



Fonte: West Analítica y Servicios S.A. de C.V.

2.7 Extração de Proteínas solúveis Totais (PST)

Para a determinação do teor de proteína das amostras vegetais frescas tanto de parte aérea quanto de raiz, foram extraídos 200 mg de cada amostra, macerados em 2 mL de tampão fosfato de potássio (50 mM e pH 7,8), acrescido de ácido ascórbico (0,1 mM), EDTA (0,1 mM) e polivinilpirrolidona (0,3%). Posteriormente, os extratos foram centrifugados a 5000 rpm, 4°C, durante 20 minutos. O sobrenadante foi transferido para microtubos, os quais foram mantidos em freezer a -20°C até o momento das análises.

Para a determinação de proteínas hidrossolúveis totais foram utilizados 23,4µL do extrato proteico vegetal e 700 µL de Bradford, para a leitura do branco utilizou-se essa mesma quantidade de reagentes sendo substituído o extrato por água. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 595 nm de comprimento de onda (BRADFORD, 1976). A concentração foi expressa em mg de proteínas g por mf⁻¹.

2.8 Determinação do teor nutricional das mudas

Para a determinação das dosagens dos nutrientes (fósforo, magnésio, nitrogênio e cálcio) bem como para a determinação do teor de proteína bruta, seguiu-se o Manual de Laboratório: Solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e de alimentos (NOGUEIRA; SOUZA, 2005) e Métodos de análises de tecidos vegetais utilizados na Embrapa Solos (CARMO et al., 2000).

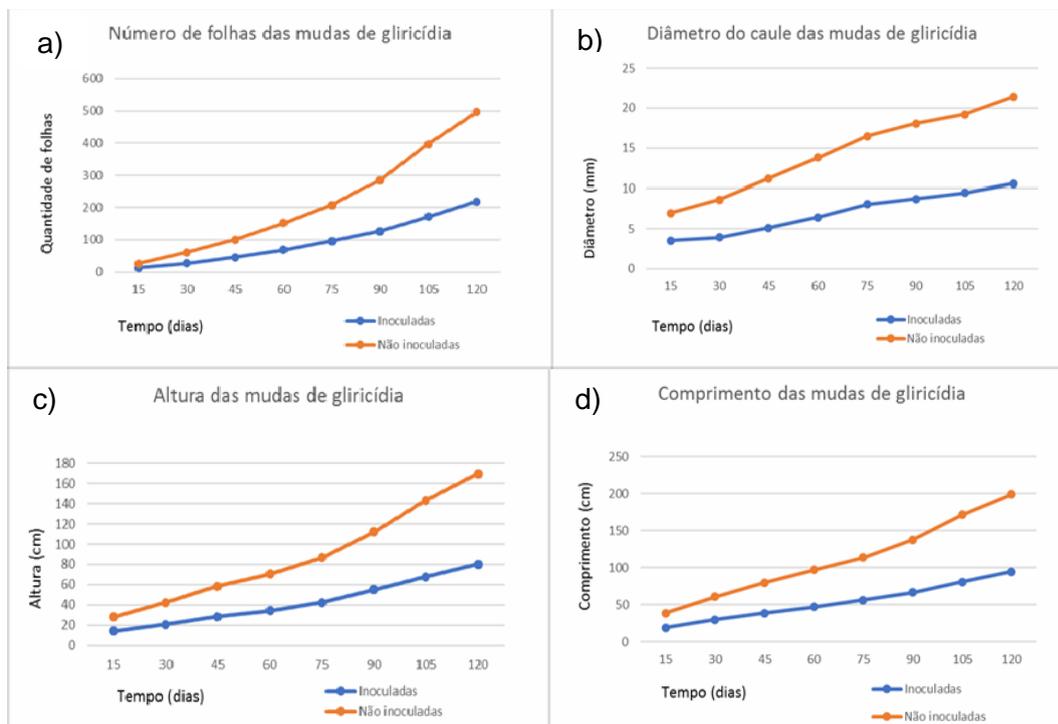
2.9 Análises estatísticas

Os dados biométricos como altura, comprimento, diâmetro do colo do caule, número de folhas e a massa fresca e seca das mudas, bem como as determinações de proteína e nutrientes foram tratados utilizando-se do teste t-Student a uma significância de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para os dados biométricos (altura, comprimento, diâmetro do colo do caule e número de folhas) observou-se que não houve diferenças significativas entre os dois grupos analisados (inoculadas e não inoculadas), isso pode ser explicado pelo fato de que o experimento foi conduzido sob condições ambientais não totalmente controladas. Para tanto, observando-se os dados reais (gráfico 1), pôde-se verificar que as mudas não inoculadas se sobressaíram em todos os parâmetros supracitados quando comparadas às mudas inoculadas, o que sugere que o tempo de condução do experimento (4 meses) não foi o suficiente para que esses parâmetros respondessem aos estímulos da simbiose.

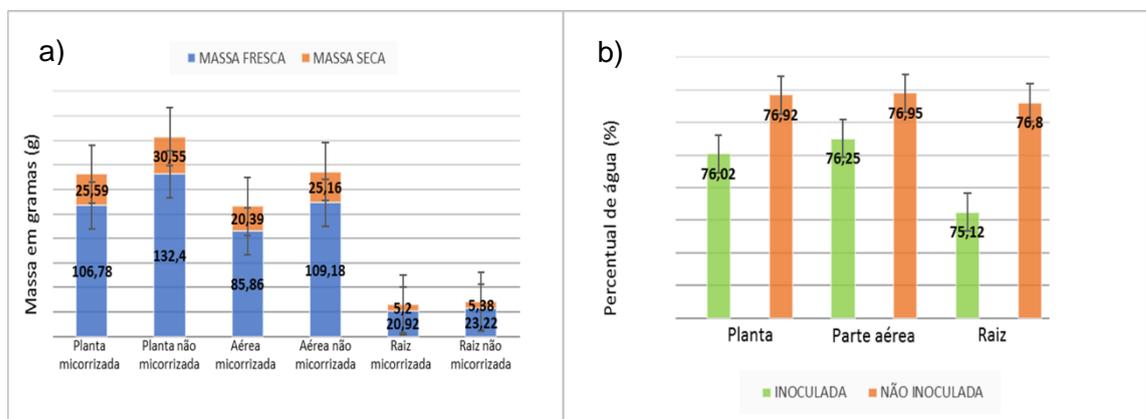
Gráfico 1 – Biometria (a) número de folhas; (b) diâmetro do colo do caule; (c) altura e (d) comprimento



Quanto aos dados da massa da matéria fresca e matéria seca das mudas, também não foi possível observar diferenças significativas entre os tratamentos, o que

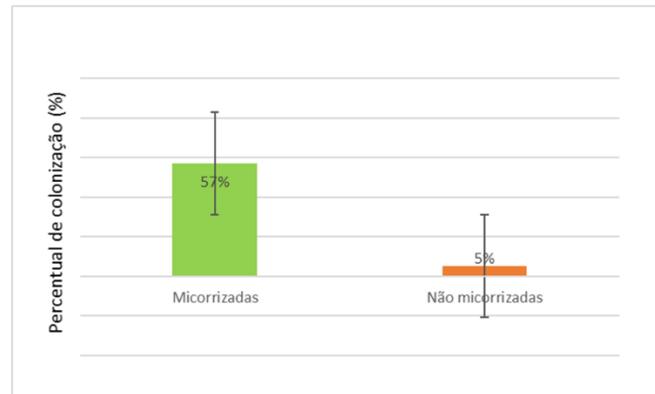
pode também ser justificado pelo tempo de condução e condições do experimento. Entretanto, é possível identificar no gráfico 2 a, o qual mostra o peso real dos tratamentos, que a planta não micorrizada apresenta uma maior média de massa fresca e seca comparada à planta micorrizada. Esses dados possibilitaram avaliar, além do crescimento vegetal, a quantidade de água retida pelas mudas a partir de um cálculo simples, subtraindo a matéria seca da matéria fresca e dividindo o resultado pela massa da matéria fresca ($MS-MF/MF$). O gráfico 2 b mostra a média do teor de água das mudas, onde, percebe-se também que não houve diferenças significativas. Ambos os gráficos apresentam barras de erro padrão.

Gráfico 2 – (a) Massa das matérias fresca e seca e (b) teor de água das mudas de gliricídia



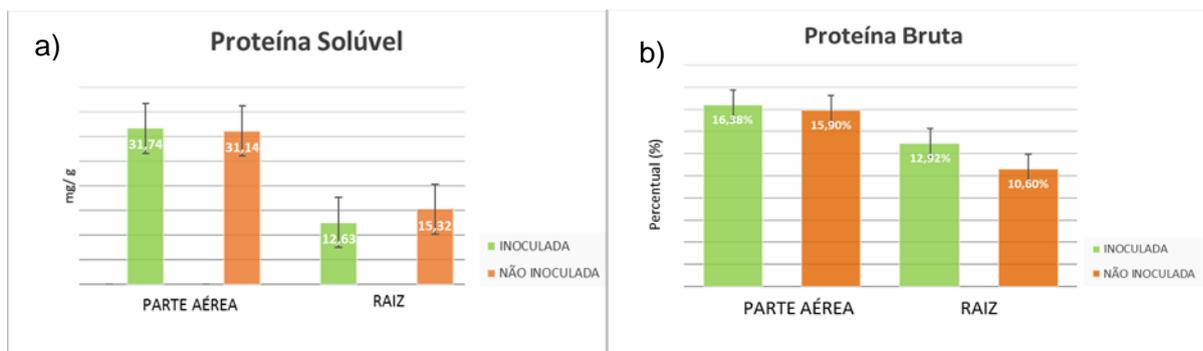
O motivo pelo qual a maioria dos parâmetros não ter apresentado diferenças significativas ou a observação de uma maior média no crescimento das mudas não inoculadas pode ser justificado conforme Colozzi Filho e Nogueira (2007), argumentam em seus trabalhos que a formação micorrízica é um processo lento e que demanda energia da planta destinada à formação de biomassa fúngica. Explicam ainda que na fase inicial da simbiose pode haver uma depressão no crescimento das plantas hospedeiras, consequência dos benefícios da simbiose que ainda não foram alcançados. Uma vez que a coleta das mudas foi realizada em um período em que a relação simbiótica estava ainda sendo estabelecida, é possível sugerir que as influências da micorrização não tenham ainda sido observadas.

Mesmo não apresentando diferenças significativas entre os dois tratamentos, foi possível observar diferenças significativas quanto à taxa de colonização dos FMA nas raízes das mudas. Observa-se que a média se sobressai nas mudas inoculadas (gráfico 3), o que comprova a eficiência da infecção pelo fungo através do inóculo utilizado. Todavia, as não inoculadas apresentam ainda um pequeno percentual de colonização fúngica, fato este explicado pelo motivo do experimento não contar com total isolamento entre os tratamentos.

Gráfico 3 – Taxa de colonização intrarradicular das mudas de gliricídia

Dado o sucesso da infecção fúngica nas mudas inoculadas, é evidente que com um tempo maior de observação das respostas da planta à micorriza os resultados entre os dois tratamentos possam apresentar diferenças significativas.

Quanto ao teor de proteína solúvel, não foi possível observar diferenças significativas, entretanto, o gráfico 4 a, com barras de erro padrão, mostra que as raízes das mudas não inoculadas apresentam uma diferença real considerável, e isso se explica pelo fato de que a gliricídia é uma leguminosa e, portanto, realiza a Fixação Biológica de Nitrogênio com o auxílio das bactérias que a ela se associam. Essa afirmação sugere que os FMA presentes nas raízes das plantas inoculadas favoreceram a síntese de proteína para a parte aérea, a qual, em valores reais apresenta um maior percentual no gráfico 4a.

Gráfico 4 – Teor proteico da parte aérea e raiz das mudas de gliricídia

Ainda sobre as proteínas, especificamente seu composto essencial, o nitrogênio, Siqueira et al., (2002), mostram em seus trabalhos que as plantas micorrizadas absorvem mais o nitrogênio presente no solo, e evidências recentes indicam que os FMA são capazes de mineralizar N orgânico no solo, facilitando assim a nutrição nitrogenada das plantas.

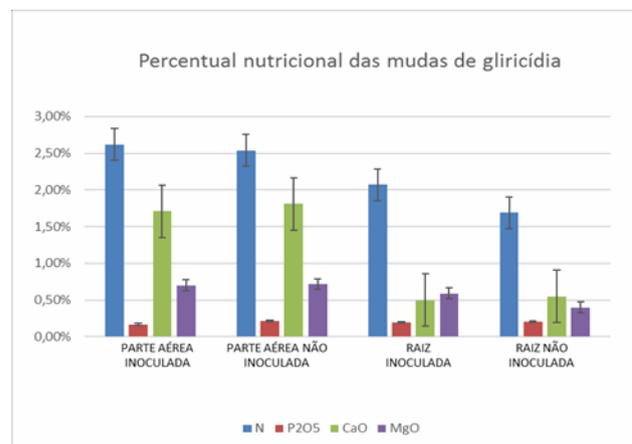
Outra evidência da eficiência da micorriza é vista no trabalho de Chiquete (2001) onde determinou a atividade de glutamato desidrogenase (GDH), glutamina sintetase (GS) e glutamatato sintase (GOGAT) na parte aérea e no sistema radicular de *Eucalyptus grandis*, com ou sem micorrizas, e concluiu que as plantas micorrizadas apresentavam um aumento na atividade de enzimas redutase de nitrato (RN) nas

folhas, com maior taxa de absorção de nitrato e aumento na produção de matéria seca. Ele afirma também que a concentração média de proteínas na parte aérea e no sistema radicular, foi em geral maior nas plantas micorrizadas.

O gráfico 4 b, com barras de erro padrão, mostra que, apesar de não ter havido diferenças significativas, em valores reais, o teor de proteína bruta foi maior tanto na parte aérea quanto na raiz das plantas micorrizadas e, isso deve ser levado em consideração uma vez que a glicíndia é uma forrageira do tipo leguminosa e a inclusão de leguminosas nas pastagens tropicais é de grande importância para a manutenção do nível adequado de proteína bruta na dieta animal, seja pelo efeito direto da ingestão de leguminosas ou pelo efeito indireto do acréscimo no conteúdo de N da pastagem.

Analisou-se também o teor nutricional dos seguintes compostos: nitrogênio, fósforo, cálcio e magnésio. Os resultados obtidos estão expressos no gráfico 5, o qual apresenta barras de erro padrão.

Gráfico 5 – Teor de nutrientes das mudas de glicíndia



O gráfico 5 mostra que apenas o teor de N foi superior na parte aérea das plantas inoculadas e nas raízes das mesmas. Para P e Ca, os teores foram maiores nas plantas não inoculadas tanto para parte aérea quanto para raiz, muito embora, alguns estudos tenham mostrado que os estímulos ao crescimento das plantas atribuídos aos FMA estão fortemente correlacionados com a maior acumulação de nutrientes de baixa mobilidade, em particular o P.

Moreira e Siqueira (2006), por exemplo, citam em seu livro que o efeito da micorrização no crescimento das plantas é predominantemente nutricional, sendo esse efeito promovido pela ramificação das hifas e pelo micélio externo que aumenta o volume de solo explorado para as regiões onde as raízes não alcançam, aumentando assim a absorção dos nutrientes, principalmente o fósforo.

Soares et al. (2012) quando inoculam mudas de jenipapeiro com fungos micorrízicos obtêm respostas bem favoráveis à absorção de nutrientes como N, P K, Ca, Mg e Cu comparando com as mudas não inoculadas. Entretanto, os resultados obtidos neste trabalho divergem do que é visto na maioria dos trabalhos que envolvem a micorrização de plantas, quando é percebido que não há diferenças significativas diante da estatística.

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostraram respostas diferentes do que se vê na literatura a respeito da micorriza. O fato de não ter havido diferenças significativas entre os dois grupos quanto às variáveis analisadas, pode indicar que a gliricídia não responde à inoculação na fase de muda. Apesar disso, os resultados mostram indícios de diferenças entre alguns parâmetros avaliados nas condições do experimento como, por exemplo, proteína solúvel, proteína bruta, N e Mg para algumas áreas da planta (parte aérea ou raiz). Novas avaliações das mudas em condições de campo devem ser realizadas para elucidação dos efeitos da micorriza em gliricídia.

REFERÊNCIAS

- BARRETO, A.C.; FERNANDES, F.M. Cultivo de *Gliricidia sepium* e *Leucaena leucocephala* em alamedas visando a melhoria do solo dos tabuleiros costeiros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, pp 1287-1293, 2001.
- BORGES, Andréa Jaqueira da Silva et al. Reduction of fusarium wilt of "banana-maçã" by inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 01, p. 35-41, 2007.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, 72:248-254, 1976.
- CALVET, Cinta et al. Aptitude for mycorrhizal root colonization in *Prunus* rootstocks. **Scientia Horticulturae**, v. 09, n. 01, p.1-10, 2003.
- CARMO, Ciriaca Arcangela Ferreira de Santana do et al. **Metodos de análise de tecidos vegetais utilizados na Embrapa Solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2000. 41 p.
- CHIQUETE, A.A.S. **Atividades das enzimas de assimilação de nitrogênio em mudas de eucalipto com ectomicorrizas**. 2001. 40f. Dissertação (Pós-graduação em Microbiologia) Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. 2001.
- COLOZZI-FILHO, A.; NOGUEIRA, M. A. **Micorrizas Arbusculares em Plantas Tropicais: Café, Mandioca e Cana-de-açúcar**. Ed. A. Silveira e Sueli Freitas. Campinas: Instituto Agronômico, 2007.
- COSTA, M. D.; LOVATO, P. E. Fosfatases na dinâmica do fósforo do solo sob culturas de cobertura com espécies micorrízicas e não-micorrízicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 06, p. 603-605, 2004.
- ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. de. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. 2 ed. Caxias do Sul: Educs, 638 p. 2010.
- GERDEMANN, J.W; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal Endogene species extracted from soil by wet sieving and decanting. In: **Transactions of the British Mycological Society**. vol.46, p.235-244, 1963.
- GIOVANNETTI, M; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in roots. **New Phytologist**, 84: p.489-500, 1980.
- GOMES, M. V. M. **Efeitos da adubação nitrogenada e fontes de fósforos em mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia Benth*), submetido ao estresse hídrico**. 2004. 44 f. 22 Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Ciência Florestal, Recife, 2004.
- HARRISON, M. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.50, p.361-389, 1999.
- JENKINS, W. R. A rapid centrifugation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v.48, p.692, 1964.

KISTNER, C.; PARNISKE, M. Evolution of signal transduction in intracellular symbiosis. **Trends in Plant Science**, 7: 511-518, 2002.

LIDERMANN, R. G.; DAVIES, A. Comparative response of selected grapevine rootstocks and cultivars to inoculation with different mycorrhizal fungi. **American Journal Ecology Viticulture**, v. 52, n. 01, p. 1-9, 2001.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4. ed. Nova Odessa: Plantarum, 368p. v. 1, 2002.

MENDES, Marília Malta Cavalcante et al. Crescimento e sobrevivência de mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) inoculadas com microorganismos simbiotes em condições de campo. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, n.2, p. 309-320, 2013.

MIRANDA, E.M.; SAGGIN JÚNIOR, O.J.; SILVA, E.M.R. Seleção de fungos micorrízicos arbusculares para o amendoim forrageiro consorciado com braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 9, p. 1185-1191, 2008.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006. 626 p.

NOGUEIRA, A. R. de A; SOUZA, G. B. **Manual de Laboratório: Solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e de alimentos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005. 334 p.

RAVEN, P. H. et al. **Biologia Vegetal**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

SCHÜBLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycological Research**, New York, v.105, p.1413-1421, 2001.

SIQUEIRA, J.O.; LAMBAIS, M.R.; STURMER, S.L. **Fungos Micorrízicos Arbusculares. Biotecnologia Ciência & desenvolvimento**, n.25, p. 12-21, 2002.

SOARES, Ana Cristina Fermineo et al. Fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e nutrição de mudas de jenipapeiro. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 43, n. 1, p.47-54, jan. 2012.

SOUZA, V. C. de. et al. Estudos sobre fungos micorrízicos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande – PB, v.10, n.3, p.612–618, 2006.

VIERHEILIG, Horst et al. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. **Applied Environmental Microbiology**, v.64, n.12, 1998.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por escrever a minha história de uma forma extraordinária. Por estar comigo em todos os momentos, principalmente nos mais difíceis e por seu incomparável amor. Muitas foram as vezes em que eu pensei não ser capaz de suportar, mas Ele, em sua infinita bondade, colocou pessoas que me incentivaram a não desistir dos meus objetivos.

Aos meus pais Maria Xavier e Pedro Xavier por toda demonstração de amor, carinho e cuidado. Eles mudaram o rumo da minha vida, fazendo de mim a pessoa que sou hoje e, se cheguei até aqui, é porque deles recebi todo o incentivo e apoio para a realização dos meus sonhos. Pai, mãe, vocês sempre serão meus maiores tesouros. Vocês são a maior demonstração e prova do amor que Deus tem por mim. Eu não poderia receber presente melhor. Amo vocês com todas as minhas forças!

A toda minha família serei eternamente grata, pois cada membro esteve sempre disposto a fazer o possível para que eu crescesse, além de todo amor demonstrado a mim todos esses anos da minha vida.

Agradeço de coração a Deyse e Val, um casal que esteve sempre de braços abertos para me acolher em sua casa para que eu pudesse almoçar quando passava o dia todo na UEPB, vocês merecem tudo o que há de melhor neste mundo. Muito obrigada, sem vocês tudo seria muito mais difícil.

Agradeço a Matheus Alves por todo apoio e incentivo, não poderia deixar de agradecer por todas as caronas que você me deu, principalmente quando eu estava assistindo aula durante a noite. Obrigada também pelos momentos incríveis de diversão que você me proporcionou. Você é muito especial para mim!

Ao Professor Doutor Simão Lindoso de Souza quero aqui expressar toda a minha gratidão como aluna e orientanda. Você confiou em mim e sempre esteve disposto a me ajudar, sempre paciente mesmo quando eu dava um pouco mais de trabalho. Aprendi muito em todo esse nosso tempo de convívio. Sem você eu também não chegaria até aqui. Obrigada!

A todos os professores que fizeram parte de toda a minha formação, da educação básica a graduação, pois cada um teve sua fundamental importância em cada degrau que avancei.

Aos meus colegas de classe (Rayssa, Estefany, Laissa, Rayelle, Karen e Stephannie), os quais junto comigo se divertiram e sofreram. Sem vocês a graduação não teria sido a mesma.

Aos meus amigos (Luana, Juliane, Yngwie e Antônio) que nas horas mais difíceis estenderam as mãos para me ajudar e me incentivaram, além de compartilharem comigo os melhores momentos de diversão.

Aos meus parceiros de projeto (Maylla, Mateus, Thales, Iohanna e Gabriela) que estiveram sempre dispostos a me ajudar nas atividades da melhor forma possível. Vocês são incríveis!

Agradeço ao pessoal do Laboratório de Botânica pelos equipamentos a mim disponibilizados, principalmente à técnica Elimar que sempre se mostrou muito solícita.

Agradeço ao pessoal do Laboratório de Ecologia Aquática pela disponibilização da autoclave e ao técnico Adriano pelo auxílio no uso da mesma.

Agradeço ao pessoal do Laboratório de Ecofisiologia de Plantas Cultivadas e - UEPB pela disponibilidade em me ajudar em algumas análises deste trabalho, principalmente ao mestre Yuri que foi muito solícito e prestativo.

Agradeço ao pessoal do Laboratório de Genética pela disponibilização do espaço.

Agradeço aos técnicos e funcionários como um todo, principalmente Edilma, que me cativava com sua alegria e receptividade nas Três Marias.

Agradeço ao Instituto Nacional do Semiárido (INSA) que me cedeu espaço para concluir etapas importantes da minha pesquisa.

Agradeço a EMBRAPA ALGODÃO, a qual disponibilizou de seus serviços para que este trabalho pudesse ser concluído.

Aos membros da banca pelas contribuições em meu trabalho, Professor Doutor Carlos Henrique Salvino Gadelha Meneses e Professor Doutor George Rodrigues Lambais.

Agradeço a Universidade Estadual da Paraíba pelo espaço e pelos profissionais a mim disponibilizados, pois sem os mesmos nada disso seria possível.