



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE *Gliricidia sepium* INOCULADAS COM
FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES**

Maylla Maria Correia Leite Silva

**Campina Grande – PB
Novembro de 2018.**

MAYLLA MARIA CORREIA LEITE SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE *Gliricidia sepium* INOCULADAS COM
FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Estadual da Paraíba, Campus I,
como requisito obrigatório para a conclusão do
curso de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Simão Lindoso de Souza

**Campina Grande – PB
Novembro de 2018**

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.

S586d Silva, Maylla Maria Correia Leite.

Desenvolvimento de mudas de *Gliricidia sepium* inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares [manuscrito] /Maylla Maria Correia Leite Silva. -2018.

26 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde , 2018.

"Orientação : Prof. Dr. Simão Lindoso de Souza ,
Coordenação de Curso de Biologia - CCBS."

1. Biomassa. 2. Nutrientes. 3. Fisiologia vegetal. 4.
Gliricídia. I. Título

21. ed. CDD 571.2

MAYLLA MARIA CORREIA LETTE SILVA

DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE *Glyricidia sepium* INOCULADAS COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES

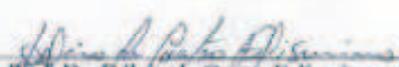
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Estadual da Paraíba, Campus I, como requisito obrigatório para a conclusão do curso de Bacharel em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Microbiologia Agrícola.

Aprovada em: 25/11/2019.

BANCA EXAMINADORA


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


Prof. Dr. Délcio de Castro Felismino
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)
Examinador


Dr. Aldrin Perez Marin
Instituto Nacional do Semiárido (INSA)
Examinador

Aos meus pais por todo incentivo, amor e paciência,
por lutarem ao meu lado por todos os meus sonhos, com todo meu amor
DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus grande arquiteto, rei, pai, dono e escritor de toda minha vida e história, agradeço. Por ter me abençoado com a entrada neste curso, por ter me guiado durante toda minha vida acadêmica e me preenchido de paz em todos os momentos de caos. Por ter me capacitado e me feito perseverante em todos os processos que tive que passar até aqui chegar. Teus planos sempre são perfeitos pra mim. A Deus toda honra e glória por essa conquista em minha vida.

Agradeço aos meus pais Jorge Luís e Maria do Socorro por serem meus maiores incentivadores, por sempre comprarem todos os meus sonhos e projetos, por se esforçarem para me conduzir a oportunidades que promovem crescimento em minha vida. Pai e Mãe vocês são as grandes inspirações de minha vida. Em meu coração eterna gratidão e amor por vocês.

A minha família por todo apoio, atenção, e por sempre vibrarem comigo a cada passo que dei, durante os anos que estive me preparando para esse momento. As minhas primas Mayara e Maysa por todas as noites de descontração, pela irmandade, cumplicidade e carinho, por sempre caminharem ao meu lado em todas as situações e com sabedoria me ensinarem sobre a vida, por embarcarem comigo nas minhas fantasias e cantarem comigo as minhas músicas de Rock mesmo sem eu saber as letras, por todos os auxílios quando eu me desespero com uma pequena porcentagem, sem dúvidas é uma dádiva ter vocês em minha vida. Ao meu primo Pedro Jazeel um grande presente de Deus em minha vida, por sempre ser amável, por todos os abraços de tirar o fôlego e por me fazer brincar de carrinho e esconde – esconde até às dez horas da noite, me tirando da frente do computador quando eu já não aguentava lê milhares de artigos, obrigada por despertar a criança que há em mim.

A minha amiga Monalisa por ter construído esse sonho comigo, acompanhando desde o princípio da nossa vida estudantil todos os passos que foram traçados até aqui, por sua disposição em me ajudar, sou grata pelo carinho, atenção, cuidado e por poder sempre contar com sua amizade. Este é mais um momento inesquecível que entrará na nossa conta de momentos compartilhados.

A minha amiga Louyse por todos os conselhos, por sua amizade e apoio, por ter me conduzido a momentos de paz quando eu mais precisei, por nossos momentos de dança lançando fora todo o estresse do dia a dia, por pular de alegria comigo até nas mínimas coisas, por sempre melhorar meus dias até os que são mais nublados, deixo aqui minha gratidão por todo carinho e amor, e por ter você em minha vida (Provérbios 17:17).

A meu amigo Israel por ter me escutado pacientemente sempre que precisei, por todos os momentos que me tirou da rotina, por seu carinho e compreensão, por ter colocado mais cores em minha vida, deixo minha gratidão por sua amizade e amor que esteve presente em toda a minha jornada. Que bom que te encontrei.

Aos amigos que a vida acadêmica me presenteou (Nadja, Isabela, Eduardo, Isabel, Raianne, e Andriely) por todos os momentos memoráveis vividos, por todas as conquistas que compartilhamos, por sempre encontramos juntos um motivo para sorrir, pelos conselhos, apoio e direcionamento em todos os momentos que precisei. Por todo carinho e amizade deixo aqui minha gratidão por todos esses anos que ao lado de todos foi ainda mais gratificante.

Aos meus amigos e companheiros de projeto (Breno, Bruno, Joelma e Antônio) que sempre foram solícitos e me ajudaram em todas as etapas para realização desse trabalho. Por terem me apoiado, sempre me incentivando e encorajando, deixo minha gratidão pela amizade e por todos os momentos que vivemos juntos.

Ao meu orientador Simão Lindoso por ser uma inspiração profissional, por todo conhecimento que me foi dado, pela paciência e compreensão. Por todo apoio e por fazer o possível para que eu alcance êxito em minhas metas. Sem dúvidas estás no pódio dos profissionais que mais admiro.

Aos membros da banca Dr. Aldrin Perez por ter sido tão solícito, sempre disponível para sanar dúvidas, para que esse trabalho pudesse ser finalizado, minha gratidão por seu apoio, ao Prof. Délcio de Castro por sua contribuição intelectual, deixo aqui minha admiração por sua pessoa. Agradeço por terem aceitado o convite.

A todos os professores que contribuíram com minha formação. A UEPB e CNPq por possibilitarem a realização desse trabalho.

A todos que contribuíram e acompanharam a construção desse trabalho, muito obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO

1	INTRODUÇÃO	08
2	METODOLOGIA.....	09
2.1	Extração de Inoculantes de FMA's.....	09
2.2	Inoculação das Mudas de Gliricídia.....	09
2.3	Determinação da Taxa de Colonização Radicular das Mudas.....	10
2.4	Medida dos parâmetros biométricos de crescimento das mudas	10
2.5	Massa da matéria fresca e seca da parte aérea e das raízes.....	11
2.6	Conteúdo de água e proporção raiz: Parte aérea	11
2.7	Aspectos fisiológicos.....	11
2.8	Análises de macronutrientes e carbono orgânico.....	11
2.9	Delineamento e Análises estatísticas.....	13
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	13
3.1	Parâmetros Biométricos.....	13
3.2	Aspectos Fisiológicos.....	17
3.3	Nutrição.....	19
4	CONCLUSÕES.....	21
5	REFERÊNCIAS.....	24

DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE *Gliricidia sepium* INOCULADAS COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES

Maylla Maria Correia Leite Silva¹

RESUMO – A *Gliricidia sepium* (Jacq.), espécie vegetal popularmente conhecida como gliricídia, bem adaptada às condições climáticas do semiárido, é uma espécie versátil que pode ser cultivada para produção de forragem animal. Demonstra responder bem a associação com microrganismos como rizóbios e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). A inoculação com os FMAs pode ser importante estratégia na produção de mudas, pois aumenta o volume de solo explorado pelo vegetal, resultando em mudas com maior aporte nutricional e tolerância às variações climáticas. Objetivou-se com esse trabalho avaliar o desenvolvimento inicial de mudas de *Gliricidia sepium* inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares. O experimento foi conduzido com mudas de gliricídia inoculadas com FMAs e controle não inoculadas. Foram utilizadas para cada tratamento onze repetições, sendo cada unidade experimental constituída de uma muda, totalizando 22 unidades. O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado. As mudas foram cultivadas e avaliadas por um período de quatro meses com o acompanhamento biométrico, fisiológico e nutricional das mesmas. Os dados foram tratados pelo Teste de Tukey a um nível de significância de 5%. Foi observado que as mudas inoculadas responderam significativamente para altura, comprimento e diâmetro. Para as avaliações fisiológicas o FMA mostrou-se como dreno de carbono. Quanto ao teor de nutrientes, não foi observado diferença significativa entre os tratamentos. O processo de inoculação das mudas promoveu a depressão do crescimento do vegetal nessa fase inicial do desenvolvimento da simbiose, uma vez que o estabelecimento da mesma pode demorar além do período observado na experimentação realizada neste trabalho.

Palavras Chaves: Biomassa; Nutrientes; Fisiologia; Gliricídia

¹Aluna de Graduação em Ciências Biológicas na Universidade Estadual da Paraíba – Campus I. Email: mayllacorreira21@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A espécie vegetal *Gliricidia sepium* (Jacq.) popularmente conhecida como gliricídia, pertencente à família Fabaceae, é uma leguminosa arbórea de porte médio nativa da América do Sul e Central com distribuição nas regiões tropicais e bem adaptada às condições climáticas do semiárido. Possui enraizamento profundo que lhe garante tolerância à seca e se destaca por apresentar rápido crescimento e alta capacidade de regeneração. É uma espécie versátil, com propagação por meio de suas sementes, estacas ou mudas. Pode ser cultivada com finalidade de produção de forragem animal devido seu alto valor energético e alta capacidade de produzir biomassa em condições de baixa disponibilidade hídrica, um fator estressor para muitas espécies do semiárido. Pode ainda ser utilizada como cerca viva, possibilitando a construção de cercas permanentes que ofertam sombra aos animais, adubação verde, quebra-vento, ornamentação, revegetação e cobertura do solo evitando o processo de erosão, são as vastas possibilidades de utilização da espécie (Gomes, 2004; Lorenzi, 2002; Wandelli et al., 2006; Carvalho Filho et al., 1997; Drumond; Carvalho Filho, 1999).

Acredita-se que sua grande produção de biomassa e a qualidade da forragem produzida se relacionam com as associações que ela promove com microrganismos como as bactérias fixadoras de nitrogênio conhecidas como rizóbios, principalmente as estirpes pertencentes ao gênero *Rhizobium*. A associação proporciona ao vegetal maior acumulação de N na parte aérea aumentando sua biomassa e valor nutricional, como citado por Florentino et al. (2014).

A gliricídia também apresenta eficiente interação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) pertencentes ao filo Glomeromycota. Estes fungos se associam às raízes dos vegetais, se propagando na rizosfera por meio de seus esporos multinucleados. Por ser um simbiote obrigatório, o fungo só desenvolve seu micélio quando, por trocas de sinais houver reconhecimento entre o fungo e a planta, com a associação estabelecida esta passa a ser denominada de micorriza arbuscular (MA) (Oehl et al., 2011; Gutjahr et al., 2015; Moreira; Siqueira, 2002; Moreira; Siqueira, 2006; Raven, 2014; Maia; Silva; Goto, 2010). Os FMAs e rizóbios, quando associados às leguminosas, apresentam sinergismo quanto sua função e estabelecimento no vegetal como citado nos trabalhos de Colozzi Filho; Nogueira (2007) e Chagas Jr (2010).

As micorrizas arbusculares aumentam o volume do solo explorado pela raiz absorvendo maiores quantidades de nutrientes que são essenciais ao desenvolvimento da planta. Além disso, a dinâmica de absorção de nutrientes pelo micélio fúngico, garante que formas orgânicas de nutrientes, principalmente os que apresentam baixa mobilidade no solo sejam absorvidos, conferindo um maior aporte nutricional à planta. Em contrapartida o FMA recebe carboidratos resultantes da fotossíntese para que a associação possa ser mantida e os benefícios usufruídos por ambos os simbiossiontes (RAVEN, 1996; RAVEN, 2014). Esse benefício pode ser fisiológico, nutricional, ecológico ou qualquer combinação desses processos (IVAM, 2018).

Objetivou-se com esse trabalho avaliar o desenvolvimento inicial de mudas de *Gliricidia sepium* inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares.

2. METODOLOGIA

2. Extração de Inoculantes de FMA's

A extração dos esporos de FMAs foi realizada a partir de 100 ml de solo dos vasos de cultivo de coleção de micorrizas mantida por projetos do Departamento de Biologia da UEPB. As alíquotas de solo foram homogeneizadas, secas e peneiradas em peneira com malha de 2 mm. Após este procedimento o solo foi peneirado via úmida em peneiras com diâmetro de 0,053 mm (GERDEMANN; NICOLSON, 1963). Em seguida, o coletado foi centrifugado em água a 3.000 rpm por 3 minutos e depois em sacarose 50% a 2.000 rpm por 2 minutos (JENKINS, 1964). O sobrenadante contendo os esporos foi coletado, selecionado, contado e conservado a 5 °C para ser utilizado nas avaliações e inoculações.

2.2 Inoculação das Mudas de Gliricídia

As sementes de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud foram cedidas pelo Coletivo Articulação do Semiárido Cariri Oriental (CASACO) com sede em Boqueirão.

As sementes foram submetidas à quebra de dormência pela imersão em água à temperatura ambiente por 24 horas, sendo 12 horas de escuro e 12 horas de luz.

Após a germinação das sementes, as plântulas foram transplantadas para vasos contendo 3L de substrato de uma mistura formada por terra argilosa, solo vegetal, areia e

esterco na proporção 3:1:1:1 (v/v), previamente esterilizada com 300 mL de solução de hipoclorito de sódio a 0,5%.

A inoculação das mudas de gliricídia foi realizada no momento do transplante das plântulas para os vasos de cultivo e foi feita com o inoculante de FMAs extraídos do Banco de Micorrizas do Departamento de Biologia. Para cada planta utilizou-se no momento da inoculação um *pool* contendo 150 esporos e fragmentos de raízes.

O experimento foi conduzido com 11 repetições para cada tratamento (com e sem inoculação) totalizando 22 amostras, em casa de vegetação no campus I da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) localizada no município de Campina Grande, PB (7°13'50" S e 35°52'52" W) no período de novembro de 2017 a março de 2018.

2.3 Determinação da Taxa de Colonização Radicular das Mudanças

Amostras do terço médio de raízes das mudas de gliricídia foram coletadas e 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, em seguida, 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, utilizando microscópio estereoscópico e placas reticuladas (GIOVANNETTI; MOSSE, 1980).

2.4 Medida dos parâmetros biométricos de crescimento das mudas

O crescimento das mudas foi realizado por medições de parâmetros biométricos a cada quinze dias, totalizando oito medições no período final de quatro meses de condução do experimento. As mudas foram medidas usando régua e paquímetro e foram avaliados os seguintes parâmetros:

- . Altura (cm)
- . Comprimento (cm)
- . Número de folhas maduras
- . Diâmetro do colo do caule (mm) com auxílio de paquímetro manual.

2.5 Massa da matéria 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 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 de parte aérea e raízes foram secas em estufa com ventilação forçada a 70 °C por 16 horas e, em seguida a 50 °C por 72 horas ou até atingir massa constante.

2.6 Conteúdo de água

Os dados de massa de matéria fresca e seca das mudas possibilitam avaliar além do crescimento vegetal, à 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 seca, tanto para a parte aérea como para a parte radicular das mudas inoculadas e não inoculadas.

2.7 Aspectos fisiológicos

As trocas gasosas das plantas foram avaliadas para registro da taxa fotossintética líquida (A) ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), taxa transpiratória (E) ($\mu\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$), condutância estomática (gs) ($\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 (Ci) ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) sendo calculada a e a eficiência do uso da água (EUA) $(A/E) [(\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}) (\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1})^{-1}]$ e a eficiência instantânea de carboxilação (EiC) $[(\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}) (\mu\text{mol mol}^{-1})^{-1}]$, utilizando-se o analisador de gás infravermelho (IRGA) modelo LCpro+Sistem, com fonte de radiação artificial (cerca de $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). As medições foram feitas em folhas mais jovens de cada planta, no período da manhã. Foram realizadas duas medições: aos 105 e 120 dias de condução do experimento.

2.8 Análises de macronutrientes e carbono orgânico

Seguindo o método de Tedesco et al. (1995) inicialmente procedeu-se a digestão de 0,2 g da amostra em tubo de digestão seco, e adicionado 1 ml de H_2O_2 a 30%. A realização da digestão no próprio tubo de digestão facilita o procedimento. Logo após no bloco digestor

com controle eletrônico de temperatura, foi adicionado, vagarosamente, 2 ml de H_2SO_4 . Em seguida, foram adicionados 0,7 g da mistura de digestão (100 g de Na_2SO_4) moído para elevação do ponto de ebulição do ácido, 10 g de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ e 1 g de selênio). A homogeneização da mistura foi realizada com ar comprimido (utilizando bomba de laboratório, com bucha de algodão na linha do ar para evitar contaminação das amostras com óleo).

De acordo com Tedesco et al. (1995) a temperatura foi elevada até $350^\circ C$ - $375^\circ C$ para se obter a digestão completa, após o clareamento da solução, manteve-se a temperatura por uma hora e depois deixou esfriar. Em seguida acrescentou 50 ml de água destilada, e transferiu para um snap-cap de 90 ml, onde foi decantada e obtida a solução para as determinações de N, P e K.

2.8.1 Determinação de Nitrogênio

O teor de nitrogênio nos vegetais geralmente varia de 0,5 a 5%, e conforme descrito por Tedesco et al. (1995) para determinar o NH_4^+ uma alíquota de 10-20 ml foi destilada no destilador, após adição de NaOH, coletando-se o destilado de 30-40 ml em indicador de ácido bórico seguidamente titulando com H_2SO_4 diluído.

2.8.2 Determinação de fósforo

De acordo com Tedesco et al. (1995) o teor de P varia entre 0,08 e 1,5% sendo determinado por meio de espectrofotometria (660 nm), após adição de molibdato de amônio e ácido aminonaftolsulfônico. Amostras com alto teor de P devem ser diluídas convenientemente com o extrato da prova em branco.

2.8.3 Determinação de potássio

O teor de K geralmente varia entre 0,2% e 10%. Foi determinado por fotometria de chama após diluição do extrato. Nos fotômetros que dispõem de controle de sensibilidade, ajusta-se o máximo da escala com padrão adequado conforme as amostras.

2.8.4 Determinação de carbono

De acordo com a metodologia determinada por Souza (2002) pesou-se 2 g de cada amostra seca, em cadinho de porcelana de peso conhecido, levando à estufa a $100^\circ C$ por 3h. Retirando o cadinho com a amostra, da estufa e sendo esfriado em dessecador e após pesado novamente descontando o peso do cadinho e assim obtendo o peso da amostra seca à $100^\circ C$.

Em seguida as amostras foram transferidas para mufla até que atingisse os 550° C sendo mantida por 1h, alcançando esta temperatura a mesma foi desligada e esperou-se o abaixamento da temperatura até 100° C. As amostras foram direcionadas novamente para o dessecador e após pesadas, descontando o peso do cadinho e se obtendo o peso da amostra seca à 550° C. Por fim calculando o teor de matéria orgânica na amostra.

2.9 Delineamento e Análises estatísticas

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos: mudas inoculadas com FMAs e controle sem inoculação. Cada tratamento constou de onze repetições e cada unidade experimental foi representada por um vaso contendo uma muda. Os dados foram tratados pelo programa estatístico **SISVAR** sendo submetidos ao Teste de Tukey a 5% de significância.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Parâmetros Biométricos

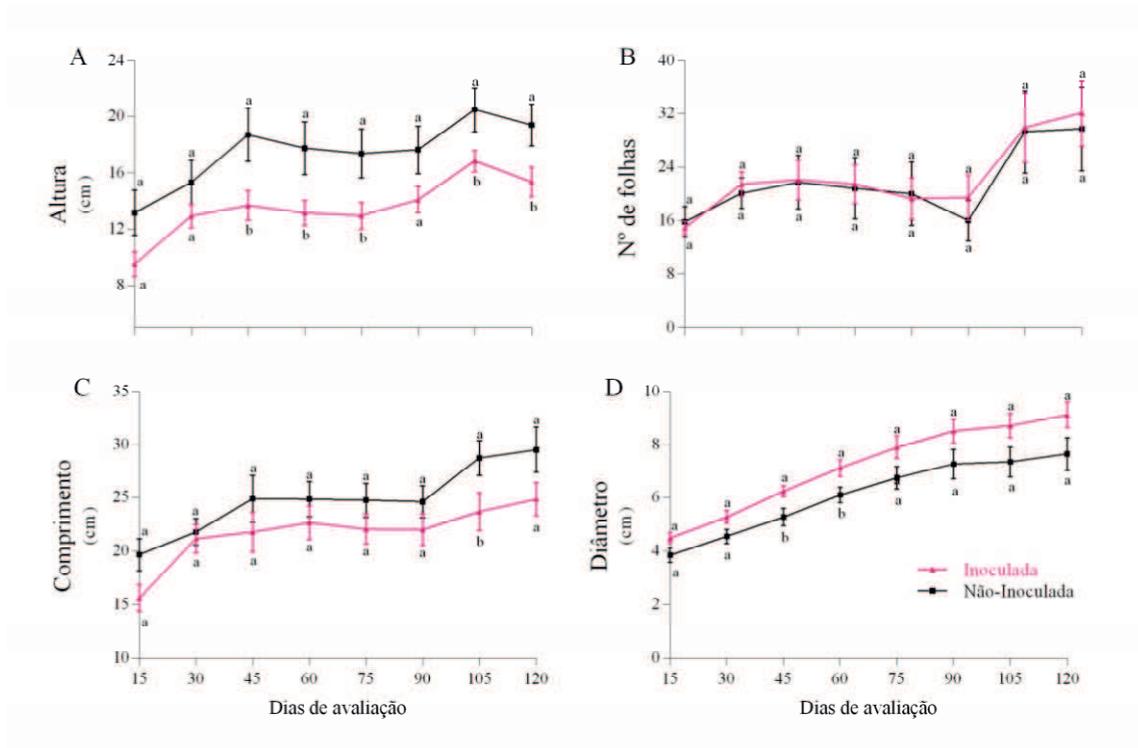
Para os atributos biométricos da parte aérea (altura, comprimento, diâmetro do colo do caule e número de folhas) foi possível constatar diferenças significativas para as variáveis altura e comprimento, com médias mais elevadas para as mudas não inoculadas, enquanto o diâmetro apresentou média mais elevada para mudas inoculadas (Figura 1).

A produção de folhas foi influenciada por ocasião da interferência de pragas, por se tratar de uma experimentação que não possuía todos os fatores ambientais controlados. Apesar das inoculadas exibirem médias mais elevadas, interferências como o Pulgão preto (*Toxoptera citricidus*) e formigas, influenciaram de maneira decisiva na produção de folhas. Ainda que utilizado extratos naturais para conter a infestação, o período decorrido do ataque de pragas até o seu controle foi longo, e neste intervalo algumas mudas não resistiram ou foram bem afetadas nas regiões da gema apical, o que pode ter interferido diretamente na produção de folhas. Na sexta medição algumas mudas apresentaram ausência total de folhas, contudo como observado na (Figura 1) às mudas conseguiram se recuperar, nas demais avaliações. Cavalcante et al. (2001) ao trabalharem com o maracujazeiro, observaram que as plantas foram beneficiadas pela inoculação na produção de folhas e as não inoculadas

restringiram a produção de folhas. Percebe-se que esse aumento contribuiu com a fotossíntese, aumentando assim o potencial fotossintético da planta.

Para o desenvolvimento do diâmetro do colo do caule (Figura 1), foi observado diferença significativa, onde as mudas inoculadas apresentaram média mais elevada. Resultado semelhante foi verificado por Nunes et al. (2013) com o pessegueiro, relataram a influência das micorrizas no crescimento da fruteira, provendo ganhos no diâmetro do caule. Portanto o inoculante atua proporcionando um aumento do fluxo ascendente de água e de nutrientes e de seiva elaborada no sentido descendente resultante do ganho em diâmetro.

Figura 1 - Parâmetros biométricos (A) altura, (B) número de folhas, (C) comprimento e (D) diâmetro, de plantas Inoculadas e Não-Inoculadas durante 120 dias de avaliação. Letras diferentes entre os tratamentos indicam diferenças significativas entre si por meio do Teste Tukey a 5% de nível de significância.

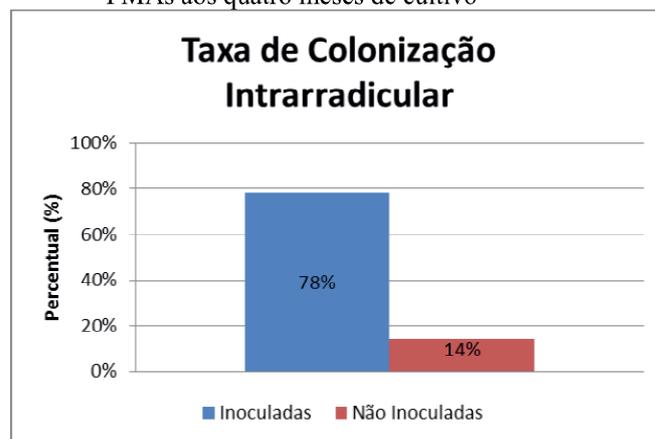


SILVA (2018)

Para a colonização intrarradicular (Figura 2) foi verificada diferença significativa, observa-se que a colonização das plantas inoculadas se sobressai nas médias, confirmando a eficiência da infecção pelo fungo através do inóculo utilizado, entretanto, as não inoculadas ainda apresentam uma porcentagem de colonização em suas raízes, atribuindo o fato ao experimento ser conduzido em condições que não são completamente controladas. Em outros experimentos é confirmada a vantagem no desenvolvimento das plantas por consequência do

sucesso da colonização da raiz por meio dos FMAs, além da variação de uma maior ou menor colonização dependendo da relação entre simbiossiontes. Gomide et al. (2009) em seu experimento conduzido com diversas espécies vegetais, entre elas caupi, milho e braquiária, relatam que a percentagem de colonização micorrízica variou entre as espécies, existindo então essa dependência do tipo de espécie para uma maior ou menor colonização intrarradicar, além da variação na presença das estruturas fúngicas típicas com o estabelecimento da simbiose, como os arbúsculos. As três espécies obtiveram uma colonização que foi superior a 50% com o processo de inoculação.

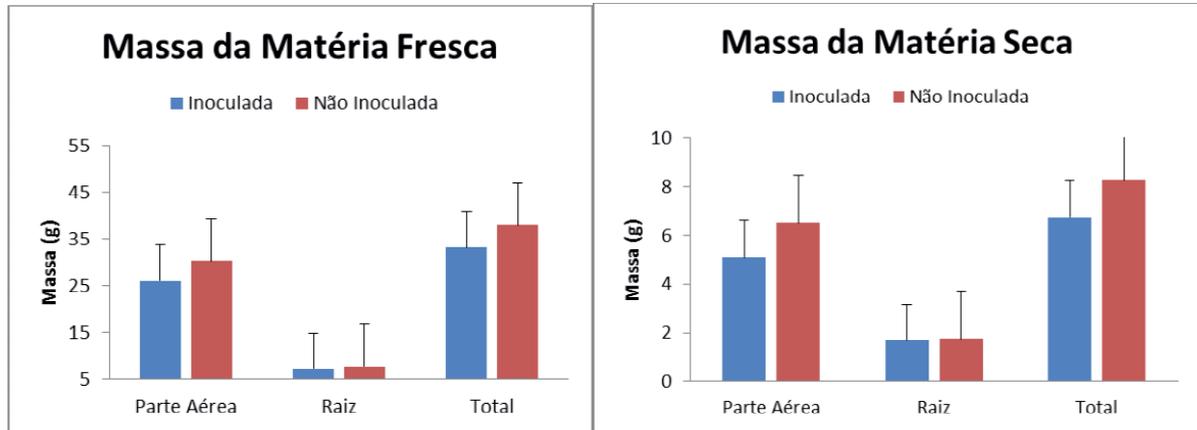
Figura 2: Taxa de Colonização Intrarradicar de raízes de mudas de gliricídia não inoculadas e inoculadas com FMAs aos quatro meses de cultivo



SILVA (2018)

Entre os tratamentos não se obteve diferença significativa para os teores de massa seca tanto para parte aérea como para raiz (Figura 3). Verifica-se que, para as mudas não inoculadas, menores quantidades de água acumulada na parte aérea. Nas mudas inoculadas e não inoculadas respectivamente, a quantidade de água acumulada para parte aérea foi de 4,11 g e 3,67 g, para raiz inoculadas apresentaram acúmulo de 3,25 g, enquanto que não inoculadas foi de 3,30 g.

Figura 3: Massa da matéria fresca e seca de mudas de glirícidia não inoculadas e inoculadas com FMAs aos quatro meses de cultivo.



SILVA (2018)

As médias apresentadas para massa fresca e seca total pelas não inoculadas, por serem mais elevadas, o próprio inoculante pode ter interferido, com relação à afinidade com a planta e promoção de efeitos mais eficientes em alguns aspectos (como diâmetro) e menos em outros (como altura). Como relatado por Silva et al. (2009), ao usar dois tratamentos de inoculação (*Gigaspora albida* e *Scutellospora heterogama*) em mudas de *Passiflora alata* Curtis, onde com relação à inoculação com *S. heterogama* não foi observado nenhuma diferença significativa, quanto à altura das mudas de maracujazeiro-doce, em contra partida, *G. albida* foi mais eficiente na altura. Observa-se que a espécie de FMA interfere muito nos efeitos esperados. De acordo com Silva et al. (2009), a própria quantidade de esporos para que se atinja valores máximos no desenvolvimento dos aspectos biométricos analisados.

Ainda segundo os autores Silva et al. (2009) o tipo de substrato utilizado influencia a simbiose principalmente devido à quantidade de nutrientes disponíveis no solo. O tempo influencia de maneiras diferentes dependendo do inóculo e da quantidade deste. Algumas espécies precisam de um tempo maior para o estabelecimento efetivo da simbiose, e esta simbiose está sujeita à exposição de variáveis ambientais (como pH, temperatura, presença de outros microrganismos) que no presente trabalho não estiveram controladas. Como a prática da inoculação foi realizada com solo esterilizado, segundo Miranda; Miranda (2000) com a esterilização do solo, patógenos são eliminados e fungos MA nativos também. Pode-se inferir então que as comunidades de FMA nativos poderiam promover respostas diferenciadas na promoção do crescimento das plantas, assim como relatado por Weber et al. (2004), podendo

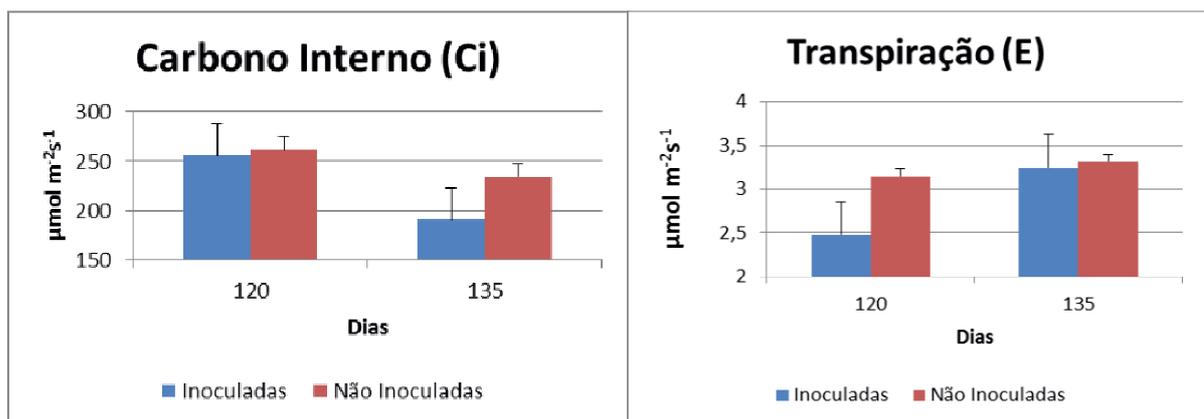
ser mais adequados às condições de baixa fertilidade do solo. Como o presente trabalho não realizou análise referente à quantidade de nutrientes presentes no solo, não foi possível trazer resultados quanto a este ponto.

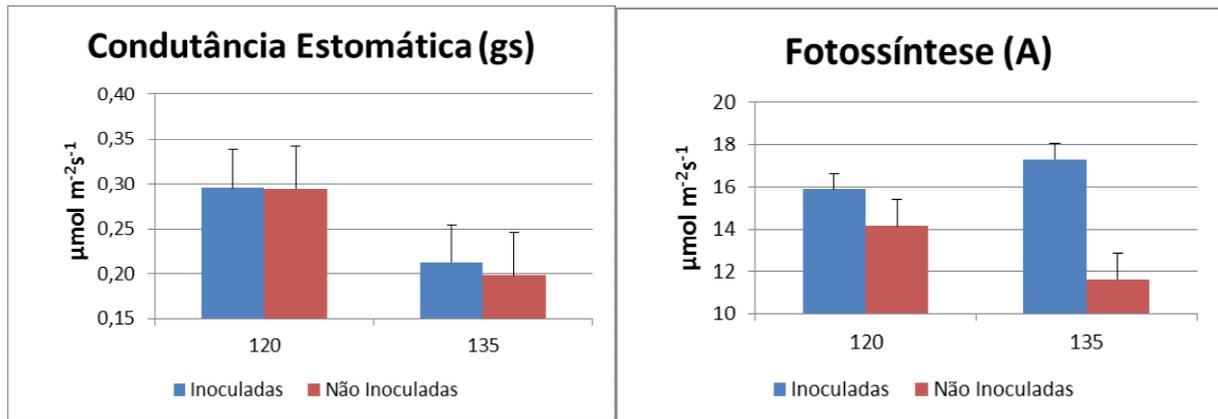
Deve-se considerar que, a formação micorrízica é um processo às vezes lento, que demanda energia da planta destinada à formação da biomassa fúngica. Nessa fase, pode inclusive haver depressão de crescimento da planta hospedeira, pois os benefícios da simbiose ainda não foram alcançados. Assim, é importante avaliar as plantas numa fase em que possam ter tido tempo hábil para se beneficiar da simbiose (COLOZZI FILHO; NOGUEIRA, 2007). Como a coleta das mudas foi realizada no período em que esta simbiose estaria se estabelecendo, notáveis influências da micorrização não foram possíveis de serem observadas para a maioria das variáveis avaliadas.

3.2 Aspectos Fisiológicos

A análise fisiológica foi realizada em duas medições, os dados obtidos constam quanto ao Carbono interno (Ci) diferença significativa, foi observado que mudas inoculadas apresentaram médias inferiores (Figura 4).

Figura 4: Aspectos fisiológicos de mudas de gliricídia não inoculadas e inoculadas com FMAs aos 120 e 135 dias de cultivo





SILVA (2018)

As médias inferiores obtidas reforçam resultados verificados por vários autores sobre a transferência de carbono para o fungo. A planta supre o fungo com energia para crescimento e manutenção via produtos fotossintéticos, enquanto que, o fungo provê a planta com nutrientes e água (BERBARA et al., 2006). Bucking; Shachar-Hill (2005) citam em seu estudo, que a transferência de carbono da raiz da planta para o fungo gera uma diminuição do P no fungo, demonstrando a entrada desse nutriente para o vegetal e confirmando o benefício mútuo da associação. Sendo assim, o FMA se posiciona como um dreno de C da planta. Wright; Read; Scholes (1998) relatam que para se obter o favorecimento de nutrientes por parte do parceiro simbiote, cerca de 20% do C assimilado da planta é transferido para o fungo para sua manutenção. Levando então a perda de 20% do C, porém com o aumento da fotossíntese a planta consegue compensar essa perda. Fungos micorrízicos podem, portanto, ser considerados canais de drenagem do C da atmosfera para o solo, via fotossíntese vegetal, por terem acesso direto a fontes de C da planta (BERBARA et al., 2006).

Para fotossíntese as médias, embora não estatisticamente significativas, se sobressaíram nas inoculadas Figura 4, levantando a hipótese de que o CO_2 está sendo fixado e utilizado para produção de fotoassimilados que são transferidos para o fungo, obtendo-se uma menor concentração de C_i nas folhas, além da transferência do mesmo ao fungo como relatado anteriormente. Plantas micorrizadas apresentam maior atividade fotossintética, maior atividade enzimática e de produção de substâncias reguladoras de crescimento (COLOZZI FILHO; NOGUEIRA, 2007). Segundo Paul; Kucey (1981), a assimilação aumentada de carbono com a presença do simbiote indica que a planta conseguiu se sobressair na fotossíntese em parte pelas necessidades do fungo.

Independentemente de possuir maior fotossíntese, as inoculadas revelaram menor transpiração (Figura 4), o que é confirmado pela quantidade de água na planta calculado

através da massa fresca e seca das mesmas. O que se torna importante, como relatado por Cavalcante et al. (2001), em seu experimento com mudas de maracujazeiro, onde por meio da inoculação os níveis de transpiração das plantas inoculadas foram significativamente inferiores, ocorrendo benefício da micorrização sobre a perda de água.

Para Condutância estomática, os resultados sugerem que a associação fúngica atuou na regulação estomática, o que proporcionou as plantas micorrizadas melhor controle estomático, o que reflete o aumento da fotossíntese e menor transpiração. Devido às mudas apresentarem uma menor transpiração, estas também apresentaram uma maior eficiência do uso da água (Tabela 1). Cavalcante et al. (2001) revela o potencial dos FMAs quando em associação com a planta no aumento da eficiência do uso da água em mudas de maracujazeiro. Compreende-se que menos água é utilizada pelas mudas inoculadas para realizar a fotossíntese.

Quanto a eficiência instantânea de carboxilação (EiC) as inoculadas se sobressaíram com 2% (Tabela 1) de elevação para esse parâmetro. Ocorre uma maior eficiência na assimilação do carbono para geração de intermediários da fotossíntese, levantando a hipótese de que o aumento da EiC levou ao menor valor do Ci, por consequência da necessidade que o vegetal sente em suprir o fungo com produtos da fotossíntese para que a simbiose continue estabelecida plenamente.

Tabela 1 – Valores para eficiência de utilização da água e instantânea de carboxilação.

Variáveis	Inoculadas	Não Inoculadas
Eficiência de utilização da água (EUA)	5,80	3,98
Eficiência instantânea de carboxilação (EiC)	7%	5%
EUA - (A/E) [($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$)⁻¹]; EiC - (A/Ci) [($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)⁻¹]		

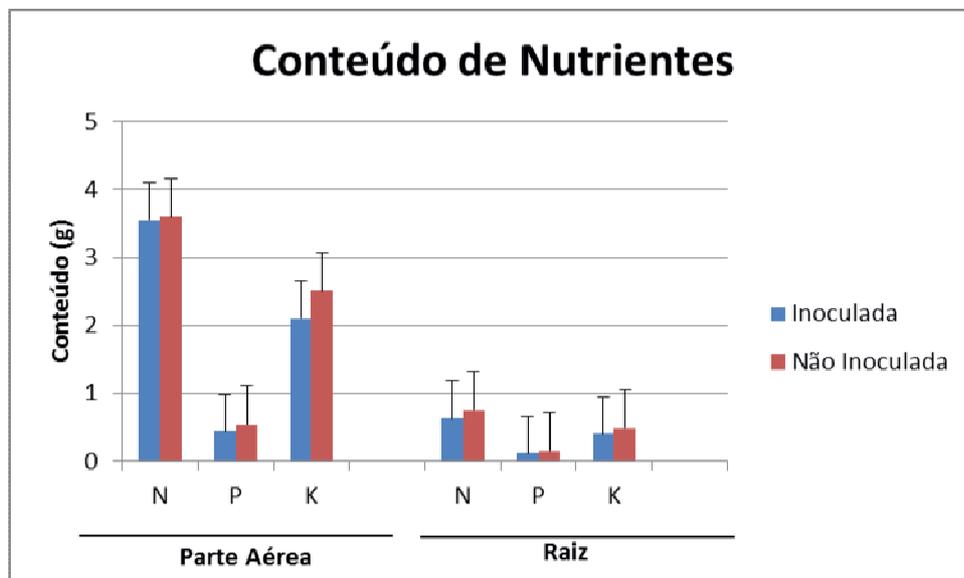
SILVA (2018)

3.3 Nutrição

Apesar de não ser observada diferença significativa entre os tratamentos, quanto aos teores nutricionais, para parte aérea nas mudas inoculadas N, P e K, obtiveram médias mais elevadas, (Figura 5). O FMA atua no fluxo ascendente desses nutrientes da raiz para parte aérea, fluxo facilitado pelo aumento do diâmetro do colo do caule, ocasionado pela associação, enquanto que, nas não inoculadas, estes nutrientes se sobressaíram nas raízes (Figura 5),

demonstrando que os nutrientes se encontram armazenados nas raízes, o que reflete no metabolismo do vegetal. Relacionando o teor de K aos resultados obtidos para fotossíntese, transpiração e regulação estomática, com relação ao teor de K, este determina a regularidade de abertura dos estômatos, observa-se que as mudas inoculadas apresentaram maior teor de K, o que refletiu em sua maior taxa fotossintética e capacidade de absorção de água, promovendo também fechamento dos estômatos reduzindo à transpiração.

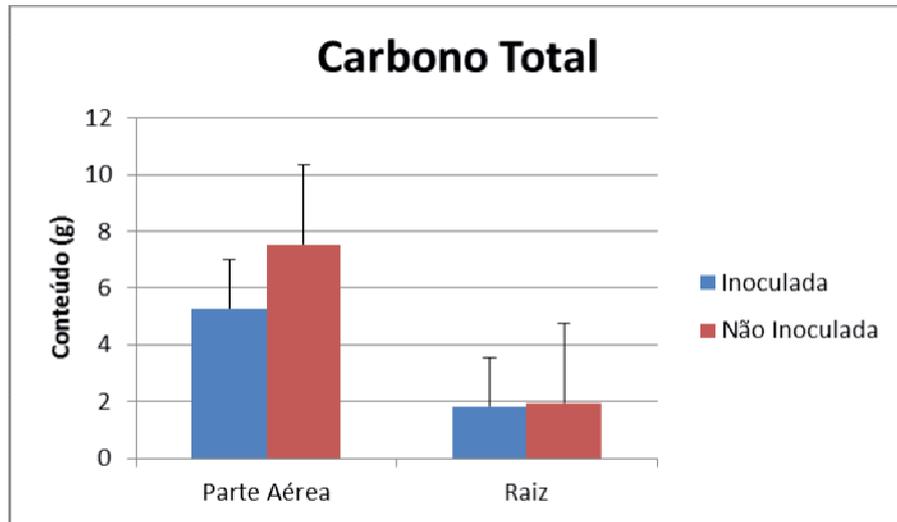
Figura 5: Conteúdo de nutrientes em mudas de gliricídia não inoculadas e inoculadas com FMAs aos quatro meses de cultivo



SILVA (2018)

O carbono total, embora na parte aérea das mudas inoculadas se apresente com médias inferiores (Figura 6), corrobora com a teoria que plantas inoculadas nem sempre se sobressaem no crescimento, porém são mais vigorosas com maior acúmulo de nutrientes e melhor utilização do recurso hídrico, embora tenham uma depressão do crescimento para as variáveis de altura e comprimento. Estas mudas também não precisam investir tanto em crescimento radicular, pois o fungo cumpre o papel de aumentar o volume de solo explorado, transferindo mais nutrientes ao vegetal, que fica então aportado nutricionalmente, o suficiente para não necessitar investir tanto em crescimento para realização de fotossíntese.

Figura 6: Conteúdo de Carbono Total em mudas de gliricídia inoculadas e não inoculadas.



SILVA (2018)

Acredita-se que o maior crescimento das mudas não inoculadas está relacionado com a necessidade de realizar mais fotossíntese para conseguir, sem o fungo, investir no crescimento de suas raízes para poder absorver os nutrientes. As mudas não inoculadas passam por processos de estiolamento, um crescimento em busca da luz ocorrendo redução no diâmetro do colo do caule, possuindo mais massa verde, porém com teores nutricionais baixos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

As mudas não inoculadas em campo não conseguem se sobressair às plantas micorrizadas. Sendo mais interessante para o transplântio ao campo as mudas inoculadas, que se adaptam mais rapidamente e respondem eficientemente aos fatores estressores. Além de serem transplantadas com a associação estabelecida, plantas não inoculadas ainda iriam passar pelo processo de reconhecimento com os fungos nativos para que pudesse ser estabelecida a associação, por mais que alcancem maior tamanho não conseguem resistir aos períodos de estresse ambiental.

4. CONCLUSÃO

A inoculação com FMAs pode agregar valores qualitativos ao desenvolvimento e estabelecimento de mudas de gliricídia. Porém, o processo de inoculação das mudas de

glicídica promoveu a depressão do crescimento do vegetal nessa fase inicial do desenvolvimento da simbiose, uma vez que o estabelecimento da mesma pode demorar além do período observado na experimentação realizada neste trabalho. Compreende-se que as variáveis utilizadas contribuíram de maneira positiva para avaliação e compreensão dos tempos para validação dos benefícios promovidos pela simbiose micorrízica.

DEVELOPMENT OF *Gliricidia sepium* SEEDLINGS INOCULATED WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI

ABSTRACT - *Gliricidia sepium* (Jacq.), a plant species popularly known as gliricidia, is well suited to the climatic conditions of the semi-arid region, and is a versatile species that can be cultivated for the production of animal fodder. It demonstrates the association with microorganisms such as rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). The inoculation with the AMF can be an important strategy due it increases the volume of soil explored by the plant, resulting in seedlings with greater nutritional contribution and tolerance to the climatic variations. The objective of this work was to evaluate the initial development of *Gliricidia sepium* seedlings inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. The experiment was conducted with seedlings inoculated and non-inoculated control. Eleven replicates were used for each treatment, each experimental unit consisting of one seedling, totaling 22 units. The statistical design was completely randomized. The seedlings were cultivated and evaluated for a period of four months with the biometric, physiological and nutritional monitoring. The data were treated by the Tukey test at a significance level of 5%. It was observed that the inoculated seedlings responded significantly for height, length and diameter. For the physiological evaluations AMF was shown to be a carbon tract. Regarding nutrient content, no significant difference was observed between treatments. The inoculation promoted the depression of the plant growth in this initial phase of symbiosis development, due the establishment of the symbiosis may take longer than the period observed in the experiment carried out in this work.

Key-words: Biomass; Nutrients; Physiology; Gliricidia

REFERÊNCIAS

- Berbara, R.L.L.; Souza, F.A.; Fonseca, H.M.A.C. (2006). III - **Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição**. In: Fernandes, M.S. (ed.) *Nutrição mineral de plantas*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, MG, p. 54-85.
- BÜCKING, Heike; SHACHAR-HILL, Yair. Phosphate uptake, transport and transfer by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is stimulated by increased carbohydrate availability. **New Phytologist**, [s.l.], v. 165, n. 3, p.899-912, 17 jan. 2005. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01274.x>.
- CHAGAS JUNIOR, A. F. et al. Efeito da inoculação de rizóbio e micorriza em feijão-caupi com fosfato natural em Gurupi, Tocantins. **Horticultura Brasileira**, Tocantins, v. 28, n. 2, S1449-S1456, 2010.
- CAVALVANTE, U. M. T. et al. Respostas fisiológicas em mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims. F. *flavicarpa* Deg.) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico. **Acta botânica brasílica**., v. 15, n. 3, p. 379-390, 2001.
- CARVALHO FILHO, O. M. de; DRUMOND, M. A.; LANGUIDEY, P. H. *Gliricídia sepium* - Leguminosa Promissora Para Regiões Semi-Áridas. 35. ed. Petrolina - Pe: Embrapa, 1997.
- COLOZZI FILHO, A; NOGUEIRA, M. A. Micorrizas Arbusculares em Plantas Tropicais: Café, Mandioca e Cana-de-açúcar. In: SILVEIRA, Adriana Parada Dias da; FREITAS, Sueli dos Santos. **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**.Campinas: Iac, 2007. Cap. 3. p. 39-56.
- DRUMOND, M.A., CARVALHO FILHO, O.M. de. Introdução e avaliação de ***Gliricídia sepium*** na região semi-árida do Nordeste Brasileiro. In: QUEIRÓZ, M.A. de, GOEDERT, C.O., RAMOS, S.R.R., (ed.) **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro**. (on line). Versão 1.0. Petrolina-PE: Embrapa Semi-Árido /Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, nov. 1999. Disponível via Word Wide Web <http://www.cpatia.embrapa.br>. ISBN 85-7405-001-6
- FLORENTINO, L. A. et al. Diversidade e potencial de utilização dos rizóbios isolados de nódulos de *Gliricídia sepium*. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 37, n. 3, p. 320-228, 2014.

GERDEMANN, J.W; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal Endogene species extracted from soil by wet sieving and decating. 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**, v. 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. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Ciência Florestal, Recife, 2004.

GOMIDE, P. H. O. et al. Diversidade e função de fungos micorrízicos arbusculares em sucessão de espécies hospedeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 11, p.1483-1490, nov. 2009.

INVAM. **International culture collection of (vesicular) arbuscular mycorrhizal fungi**. Disponível em: < <http://invam.caf.wvu.edu/>>. Acesso em: 20 abr. 2018

JENKINS, W. R. A rapid centrifugation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v.48, p.692, 1964.

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

MIRANDA, J. C. C. de; MIRANDA, L. N. de. **Introdução da Tecnologia de Inoculação com Fungos Micorrízicos Arbusculares na Produção de Mudas em Viveiro**. 24. ed. Planaltina: Embrapa, 2000. 4 p. Disponível em: <http://bbeletronica.cpac.embrapa.br/2000/comtec/comtec_24.pdf>. Acesso em: 30 maio 2018.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Mina Gerais: Ufla, 2006.

NUNES, J. L. da S. et al. Desenvolvimento de plântulas de pessegueiro ‘Okinawa’ inoculadas com micorrizas arbusculares isoladas de pomares de pessegueiros e de vinhedos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 3, p.845-852, set. 2013.

PAUL, E. A.; KUCEY, R. M. N.. Carbon Flow in Plant Microbial Associations. **Science**, [s.l.], v. 213, n. 4506, p.473-474, 24 jul. 1981. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.213.4506.473>.

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

RAVEN, P. H. et al. **Biologia Vegetal**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

SANTOS, E. R. D. dos. **Material Complementar ao livro Sistemática Vegetal I: Fungos**. 2015. Disponível em: <<https://moodle.ufsc.br/>>. Acesso em: 21 set. 2018.

SILVA, T. F. B. da et al. Influência da densidade de fungos micorrízicos arbusculares na produção de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* CURTIS). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 2, p.1-6, dez. 2009.

SOUZA, A. P. de. **MATÉRIA ORGÂNICA: Análise Química de Tecidos de Plantas**(Metodologia). Areia: UFPB, 2002.

TEDESCO, M. J. et al. **Análises de Solo, Plantas e Outros Materiais**. 2. ed. Porto Alegre: Ufrgs, 1995.

VIERHEILIG, H.; GOUGHLAN, A. P.; WYSS, U.; PICHÉ, Y. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. **Applied Environmental Microbiology**, v.64, n.12, 1998.

WANDELLI, E. V. et al. **Cerca-Viva de Gliricídia sepium**. 37. ed. Manaus: Embrapa, 2006.

WEBER, O. B. et al. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada em mudas de cajueiro-anão-precoce. **Pesq. agropec. bras.** [online]. v. 39, n. 5, pp.477-483, 2004. ISSN 0100-204X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2004000500010>.

WRIGHT, D. P.; READ, D. J.; SCHOLES, J. D. Mycorrhizal sink strength influences whole plant carbon balance of *Trifolium repens* L. **Plant, Cell And Environment**, [s.l.], v. 21, n. 9, p.881-891, set. 1998. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-3040.1998.00351.x>.