

**FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E
MICROORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATO
E RIZÓBIO EM SISTEMAS DE MANEJO DO SOLO NO
CERRADO**

Autor: Tiago Rodrigo Gonçalves Barroso
Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Souchie

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde - Área de Concentração Ciências Agrárias

Rio Verde - GO
Fevereiro – 2012

B28f

BARROSO, Tiago Rodrigo Gonçalves.

Fungos micorrízicos arbusculares
e microrganismos solubilizadores de fosfato e
rizóbio em sistema de manejo do solo do cerrado/
Tiago Rodrigo Gonçalves Barroso – Rio Verde –
2012.

74 f.: il.;

Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)
apresentada ao Instituto Federal de Educação,
Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde
– 2012.

1. Fungos micorrízicos arbusculares 2.
Solubilizadores de Fosfato 3. Rizóbio.
Gilmar José Terra. CRB1 2524

561.28:573.4

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E
MICROORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE
FOSFATO E RIZÓBIO EM SISTEMAS DE MANEJO DO
SOLO NO CERRADO**

Autor: Tiago Rodrigo Gonçalves Barroso
Orientador: Dr. Edson Luiz Souchie

TITULAÇÃO: Mestre em Ciências Agrárias – Área de concentração
Ciências Agrárias – Ciências Agrárias

APROVADA em 28 de fevereiro de 2012.

Prof^a. Dra. Ana Maria R. Cassiolato
Avaliadora externa
UNESP - Ilha Solteira

Prof^a. Dra. Ednalva Patrícia de A. Silva
Avaliadora interna
IF Goiano – Campus Rio Verde

Prof. Dr. Edson Luiz Souchie
Presidente da banca
IF Goiano – Campus Rio Verde

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Edson Luiz Souchie, pelo incentivo, pela compreensão, pelo profissionalismo, sabendo exercer de maneira preciosa sua função de professor e orientador. Além do mais, um amigo que jamais esquecerei.

Agradeço a Deus, por todas as coisas boas que vivi e conquistei até agora, mas peço a ele para me dar sabedoria para conquistar muito mais.

Aos meus familiares: Maria Aparecida Gonçalves (mãe), Maria Ana Pinto Gonçalves (Avó), Sônia Gonçalves (Tia), que nos deram a vida e nos ensinaram a vivê-la com dignidade, que iluminaram os caminhos obscuros com afeto e dedicação para que os trilhássemos sem medo e cheios de esperanças.

À Rafayane Barros Cabral, minha querida esposa pela paciência, compreensão e amor fornecido a mim durante essa etapa da minha vida.

Aos meus companheiros de pesquisa: Isabel Cristina e Tiago Moreira, Juliana Cabral e Luciana Vitorino que se tornou um dos meus melhores amigos, e que sem sua ajuda eu não estaria concluindo hoje esta etapa.

Aos meus mais importantes amigos: Agnaldo, Márcio Arantes, Márcio Rosa, Rodrigo, Moacir, Pedro e muitos outros.

Ao CNPq e CAPES, pela bolsa concedida.

A todos os docentes do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde.

BIOGRAFIA

Tiago Rodrigo Gonçalves Barroso, filho de Maria Aparecida Gonçalves e Lourival Pereira Barroso, nasceu em Junqueirópolis - SP, no ano de 1986. Sua formação profissional iniciou em 2004, no curso superior de Ciências Biológicas pela Fundação Dracense de Educação e Cultura – FUNDEC de Dracena-SP. Em 2010, iniciou seu Mestrado em Ciências Agrárias no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde, concluindo no ano de 2012.

ÍNDICE GERAL

	Página
ÍNDICE DE TABELAS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE ANEXOS	x
RESUMO GERAL	x
GENERAL ABSTRACT	x
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
CAPÍTULO 1.....	3
POPULAÇÃO MICROBIANA SOLUBILIZADORA DE FOSFATOS E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM SOLOS SOB DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO.....	3
Resumo.....	4
Abstract.....	5
Introdução.....	6
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão.....	14
Conclusões	21
Referências Bibliográficas.....	22
CAPÍTULO 2.....	35
INOCULAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS E MICROORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATO EM SOJA EM CASA DE VEGETAÇÃO	28
Resumo	29
Abstract	30
Introdução	31
Material e Métodos	34
Resultados e Discussão.....	36
Conclusões	39
Referências Bibliográficas.....	40
CAPÍTULO 3.....	48
DOSES DE CALCÁRIO E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NA CULTURA DA SOJA.....	45
Resumo	46
Abstract	47
Introdução	48

Material e Métodos	50
Resultados e Discussão	53
Conclusões.....	59
Referências Bibliográficas.....	60
Anexo.....	61

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO 1

	Página
Tabela 1. Análise textural, de pH e dos teores de P em quatro áreas do Sudoeste Goiano, submetidas a distintas formas de manejo, para isolamento de microrganismos solubilizadores de fosfato e fungos micorrízicos arbusculares.....	9
Tabela 2. Densidade populacional de bactérias (BSF-Ca) e fungos solubilizadores de fosfato de cálcio (FSF-Ca), em solos sob diferentes sistemas de cultivo no Sudoeste Goiano	14
Tabela 3. Solubilização de fosfatos (FePO_4) e (AlPO_4) em meio sólido, indicada pela presença ou ausência do halo de solubilização, após 48 horas de incubação de isolados bacterianos (BSF) e fúngicos (FSF) obtidos de diferentes sistemas de cultivo, no Sudoeste Goiano.....	16
Tabela 4. Quantificação em meio líquido do potencial de solubilização de fosfatos de CaHPO_4 , de FePO_4 e AlPO_4 por isolados bacterianos (BSF) e fúngicos (FSF), obtidos de solos sob diferentes sistemas de cultivo no Sudoeste Goiano.....	18
Tabela 5. Quantificação do potencial de produção de ácido indol acético (AIA) por isolados bacterianos (BSF) e fúngicos (FSF) solubilizadores de fosfatos, obtidos de solos sob diferentes sistemas de cultivo, no sudoeste Goiano.....	19

CAPÍTULO 2

	Página
Tabela 1. Análise física e química de um Latossolo Vermelho Distroférico, coletado na área de preservação permanente do IF Goiano – Campus Rio Verde, GO.....	34
Tabela 2. Matéria seca de parte aérea e de nódulos e número de nódulos de soja cultivada em casa de vegetação, aos 35 dias após a emergência, inoculada com isolados solubilizadores de fosfato (BSF1 e FSF1), na presença e ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), em Rio Verde, GO.....	36

CAPÍTULO 3

	Página
Tabela 1. Matéria seca de raízes e de parte aérea de plantas de soja, aos 35 dias após a emergência, cultivada em campo, sob crescentes doses de calcário, em Rio Verde, GO.....	53
Tabela 2. Matéria seca e número de nódulos de plantas de soja, aos 35 dias após a emergência, cultivada em campo, sob crescentes doses de calcário, em Rio Verde, GO.....	53
Tabela 3. Altura, matéria fresca e seca de parte aérea de plantas de soja, aos 100 dias após a emergência, cultivada em campo, sob doses crescentes de calcário, em Rio Verde, GO.....	54
Tabela 4. Matéria fresca e seca de raízes e número de vagens de plantas de soja, aos 100 dias após a emergência, cultivada em campo, sob doses crescentes de calcário, em Rio Verde, GO.....	54
Tabela 5. Número, matéria fresca e seca de nódulos de plantas de soja, aos 100 dias após a emergência, cultivada em campo, sob doses crescentes de calcário, em Rio Verde, GO.....	55
Tabela 6. Volume, extensão radicular de plantas de soja e densidade de esporos de FMAs, aos 100 dias após a emergência, cultivada em campo, sob doses crescentes de calcário, em Rio Verde, GO.....	56
Tabela 7. Colonização total de raízes de soja por FMA, aos 100 dias após a emergência, cultivada em campo, sob doses crescentes de calcário, em Rio Verde, GO.....	57
Tabela 8. Produtividade de grãos de soja (13% de umidade), cultivada em campo, sob doses crescentes de calcário, em Rio Verde, GO.....	58

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

	Página
Figura 1. Solubilização de FePO_4 por isolados de bactérias (BSF), indicada pela presença ou ausência do halo de solubilização, após 48 horas de incubação, de isolados obtidos de diferentes sistemas de cultivo, no Sudoeste Goiano.....	16
Figura 2. Solubilização de AlPO_4 por isolados fúngicos (FSF), indicada pela presença ou a ausência do halo de solubilização, após 48 horas de incubação, de isolados obtidos de diferentes sistemas de cultivo, no Sudoeste Goiano.....	17
Figura 3. Densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares em solos sob diferentes sistemas de cultivo, no sudoeste Goiano.....	20

ÍNDICE DE ANEXOS

CAPÍTULO 3

	Página
Figura 1. Demarcação das parcelas experimentais na Fazenda Paineiras, para implantação de experimento com soja cultivada com doses crescentes de calcário, em Rio Verde, GO.....	63
Figura 2. Distribuição das doses crescentes de calcário nas parcelas experimentais para implantação de experimento com soja, na Fazenda Paineiras, em Rio Verde, G.....	63
Figura 3. Esporos de fungos micorrízicos arbusculares extraídos de solo da área do experimento com soja, na Fazenda Paineiras, em Rio Verde, GO.....	64
Figura 4. Determinação do volume radicular de raízes de soja, avaliadas 100 dias após a emergência, cultivadas com doses crescentes de calcário, na Fazenda Paineiras, Rio Verde, GO	64

RESUMO GERAL

Com este trabalho objetivou-se avaliar: 1) a população de MSF e FMA em solos da região sudoeste Goiana, submetidos a diferentes sistemas de cultivo; 2) o efeito da inoculação de FMA e de MSF na cultura da soja; 3) doses crescentes de calcário na ocorrência, densidade de esporos e colonização por fungos micorrízicos arbusculares (FMA), na cultura da soja, cultivada em campo. Para atingir o primeiro objetivo, amostras de solo foram coletadas em duas áreas sob sistema de plantio direto (rotação de culturas e sucessão de culturas - SRC), uma área sob sistema de plantio convencional (PC) e uma área em pousio. A densidade populacional de MSF foi estimada pela técnica de diluições sucessivas e contagem direta em placas (UFC g^{-1} de solo), em meio GL sólido e a densidades de esporos de FMA, pelo método de peneiramento úmido e contagem direta. Quanto aos MSF, foram obtidos seis isolados fúngicos: quatro da área sob sucessão de culturas, um da área sob rotação de culturas e um da área sob plantio convencional e três isolados bacterianos: dois da área sob sucessão de culturas e um da área de sistema convencional. Os solos das áreas sob sucessão de culturas e sob pousio apresentaram maior densidade de bactérias solubilizadoras de fosfato. A maioria dos isolados obtidos é capaz de solubilizar $CaHPO_4$, $FePO_4$ e $AlPO_4$ em condições *in vitro*. Os sistemas de PC, SRC e pousio não tiveram diferenças nas densidades e esporos de FMA, porém, a área sob pousio foi a que apresentou maiores densidades de esporos em relações às demais. Foi observado que 100% dos MSF foram capazes de produzir ácido indolacético (AIA), enquanto o isolado FSF2 apresenta a maior produção de AIA, comparado aos demais. Os isolados FSF2 e FSF3 se destacam com a maior solubilização de $CaHPO_4$. Quanto à solubilização de $FePO_4$ e $AlPO_4$, os isolados não apresentaram diferenças quanto à capacidade de solubilização. Em prol do segundo objetivo, foi instalado um experimento em casa de vegetação (vasos de polietileno de 8L), com solo coletado na profundidade de 40-60 cm. Este foi peneirado, sua acidez

corrigida com calcário dolomítico e feita a semeadura do cultivar de soja AS 3421 YG. O delineamento experimental adotado foi inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial 3x2 (três tratamentos de inoculação de MSF: inoculação do isolado FSF1, inoculação de FSF1+BSF1 e controle não inoculado com MSF), na presença e ausência de FMA, com quatro repetições. O tratamento controle consistiu na ausência e presença de FMA e ausência de inoculação de MSF. Após a germinação, foi realizado desbaste, deixando quatro plantas por vaso. Aos 35 dias após a emergência, foi coletada uma planta de cada repetição determinando o número de nódulos, massa seca de parte aérea, de nódulos e colonização micorrízica das raízes. A massa seca dos nódulos da soja com e sem FMA foi estatisticamente semelhante às plantas controle. Não foi verificado efeito dos tratamentos de inoculação de solubilizadores de fosfato (FSF, FSF1+BSF1 e controle não inoculado) e, tampouco, da inoculação com o FMA *Glomus etunicatum*, avaliando a massa seca de parte aérea e de nódulos. Porém, a inoculação com o FMA *Glomus etunicatum* incrementou o número de nódulos de soja, independente do tratamento de inoculação de MSF. Para atingir o terceiro objetivo, em nível de campo, foi instalado um experimento em delineamento experimental em blocos ao acaso, contendo quatro doses crescentes de calcário (1,2; 1,8; 2,6 e 3,9 Mg ha⁻¹), com quatro repetições. Tais doses corresponderam a 46, 70, 100 e 150% da recomendação de calagem para a efetiva correção da acidez. Aos 35 dias após a emergência (DAE), foi avaliada a massa seca de parte aérea, de raízes, bem como a massa seca e número de nódulos. Na colheita, 100 DAE, foram avaliadas: altura, massa fresca e seca de parte aérea, massa fresca, seca, volume e extensão de raízes, massa fresca, seca e número de nódulos, produtividade de grãos a 13% de umidade, densidade de esporos, percentual de colonização e ocorrência de FMA. Aos 35 DAE, não se verifica efeito das doses crescentes de calcário, avaliando a massa seca das raízes e de parte aérea, bem como a massa seca e número de nódulos. Aos 100 DAE, não se verifica efeito das doses de calcário na altura, massa fresca e seca de parte aérea e radicular e no número de vagens por plantas de soja. Observa-se efeito positivo das doses de calcário 1,2 e 2,6 Mg ha⁻¹ no volume e extensão radicular e na densidade de esporos de FMA, com a adição de 2,6 e 3,9 Mg ha⁻¹ de calcário. A produtividade de grãos é favorecida com a aplicação de 2,6 Mg ha⁻¹ comparada às demais doses de calcário testadas.

Palavras-chave – calagem, solubilizadores de fosfato, simbiose micorrízica.

GENERAL ABSTRACT

The aim of this work was aimed to evaluate: 1) the MSF and AMF population of MSF and AMF in soils from the southwestern region of Goiás, under different cropping systems, 2) the effect of AMF and MSF inoculation and MSF in soybeans crop, 3) increasing doses limestone in the occurrence, density of spores and colonization by arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), on soybeans grown in the field. To achieve the first goal, soil samples were collected at two areas under no-tillage (crop rotation and crop sequence succession of cultures - SRC), an area under conventional tillage (PC) system and one fallow area set aside. Population density of PSM was estimated by successive dilution technique and direct counting in Petri dishes (CFU g⁻¹ of soil), in GL medium and the spore density of AMF, by the method of wet sieving and direct counting. The population density was estimated by the MSF technique serial dilutions and counting direct plating (CFU g⁻¹ soil), through GL and solid densities of spores by wet sieving method and direct counting. About the PMS were found six fungi isolates (four from the crop sequence area, one from the crop rotation area and one from tillage system area) and three bacteria isolates (two from the crop sequence area and one from the area under tillage system). As for MSF, six fungal isolates were obtained: four of the area under crop succession, one of the area under crop rotation and an area under conventional tillage and three bacterial strains: two of the area under a succession of crops and the area of system conventional. The soils from the areas under crop sequence and fallow had higher density of phosphate solubilizing bacteria the soils of the areas under crop succession and under fallow had a higher density of phosphate solubilizing bacteria. Most of the isolates are able to solubilize CaHPO₄, FePO₄ and AlPO₄ under in vitro conditions. The tillage system, crop rotation system and fallow area showed no difference in density of AMF spores in comparison to the others. Most isolates are capable of solubilizing CaHPO₄, FePO₄ and AlPO₄ in vitro conditions. The PC systems, SRC and fallow had no differences in densities and spores, however, the area under fallow showed the highest densities of spores in

relations to others. However the fallow area had the highest density of spores compared to the others. It was observed that 100% of the PMS were able to produce indole acetic acid (IAA). However, the isolate FSF2 had the highest production of IAA in comparison to the other isolates. The isolates FSF2 and FSF3 stand out due to the highest CaHPO_4 solubilization. The isolates showed no difference as to the solubilization of the other phosphates (FePO_4 and AlPO_4). It was observed that 100% of MSF were able to produce indole acetic acid (IAA), while the isolated FSF2 has the highest production of IAA, compared to the other. Isolates FSF2 FSF3 and stand out with greater solubilization of CaHPO_4 . As for the solubilization FePO_4 and AlPO_4 , the isolates showed no differences in the solubilization capacity. Towards the second goal, an experiment was conducted in a greenhouse (8L polyethylene vessels), with soil collected at a depth of 40-60 cm. It was sieved, its acidity corrected with lime and sowed the cultivar YG AS 3421 YG cultivar. The experimental design was completely randomized in a 3x2 factorial arrangement (three inoculations MSF: inoculation of FSF1 isolated inoculation of isolated FSF1, FSF1 + BSF1 inoculation and uninoculated a control without inoculation of MSF) in the presence and absence of AMF, with four replications. The control treatment consisted in the absence and presence of AMF and absence of AMF MSF inoculation of MSF. After germination, thinning was carried out, leaving four plants per pot. At 35 days after emergence, one plant was collected from each repetition by to determine the number of nodules, shoot dry weight, of roots nodules and mycorrhizal colonization of roots. The dry weight of soybean nodules with and without AMF was statistically similar to control plants. There was no effect of the inoculations of phosphate solubilizing (FSF, FSF1 + BSF1 and uninoculated control), and even for in the inoculation with *Glomus etunicatum*, evaluating shoots and nodules the dry weight of shoots and nodules. However, inoculation with *Glomus etunicatum* increased the number of soybean nodules, regardless of the MSF inoculation treatment of MSF. To achieve the third goal an experiment was carried out , at the field, level, an experiment was conducted in randomized complete blocks, with four increasing doses of limestone (1.2, 1.8, 2.6 and 3.9 Mg ha⁻¹) with four replications. These doses corresponded to 46, 70, 100 and 150% of liming for effective correction of soil acidity liming. At 35 days after emergence (DAE), were evaluated the dry mass of shoots, roots, and dry mass and number of nodules. At harvest, 100 DAE were evaluated: height, fresh and dry weight

of shoot, fresh weight, dry, volume and length of roots, fresh, dried, and number of nodules, grain yield at 13% moisture content, density spores, percentage of colonization and AMF percentage of occurrence of AMF. At 35 DAE, there is no effect of increasing doses of lime, to evaluate the dry mass of roots and shoots, and dry mass and number of nodules. At 100 DAE, there is no effect of lime doses at heightthe time, fresh and dry mass of root and shoot and in the number of pods per soybean plant. It is observed positive effect of limestone dosesand 1.2 and 2.6 Mg 1.2 ha⁻¹ in volume and root length and in density of AMF spores, with the addition of 2.6 and to 3.9 Mg ha⁻¹ of limestone. The yield is favored by the application of 2.6 Mg ha⁻¹ compared to the other limestone evaluated doses tested limestone.

Key words - liming, phosphate solubilizing, mycorrhizal symbiosis

INTRODUÇÃO GERAL

O cerrado é considerado o segundo maior bioma brasileiro, possui solos antigos, profundos e bem drenados, de baixa fertilidade, com altos níveis de ferro (Fe) e alumínio (Al). Até a década de 1970, era considerado um solo impróprio para a agricultura. Entretanto, com o uso de tecnologias, a começar pela calagem, estes solos têm possibilitado expressivo retorno econômico.

A acidez do solo do cerrado é um dos fatores que mais limitam a produção das culturas de interesse agrônomico no Centro-Oeste. Os problemas como a acidez estão relacionados, principalmente, à baixa capacidade de troca de cátions, baixa saturação por bases, elevados teores de Al, manganês (Mn) e Fe, podendo afetar direta e indiretamente a disponibilidade de outros nutrientes essenciais como o fósforo (P), causar distúrbios fisiológicos nas plantas e afetar seriamente o rendimento das culturas.

A necessidade de ampliação das áreas para a produção de grãos motivou a busca por alternativas para o uso dos solos do cerrado. Neste sentido, a calagem é a melhor alternativa, quanto ao custo benefício, capaz de elevar os valores de pH do solo e, conseqüentemente, favorecer a disponibilidade da maioria dos macro e micronutrientes às plantas.

O P é um elemento essencial e indispensável para todos os seres vivos. Está presente na composição de macromoléculas como ácidos nucleicos e fosfolipídios, no metabolismo das plantas, desempenhando papel importante na transferência de energia da célula, na respiração e na fotossíntese. Assim, o P não pode ser substituído por outros elementos, com considerável importância para a produção agrícola mundial, sendo imprescindível para a manutenção da vida em geral.

A concentração de P na solução do solo é relativamente baixa. Este pode ser encontrado na forma orgânica, em seres vivos edáficos, ou na forma inorgânica, em rochas e como fosfato precipitado no solo, por sua forte interação com óxidos hidratados de Ca, Fe ou Al.

O uso de fertilizantes fosfatados é imprescindível para suprir sua baixa disponibilidade às plantas. Porém, paradoxalmente, a maioria do P adicionado ao solo se torna indisponível às plantas, pela sua adsorção aos colóides do solo e seu fornecimento corresponde, junto com o nitrogênio (N) a, no mínimo, 70% dos custos de adubação.

Entre as alternativas para minimizar esses problemas da adubação fosfatada está o uso de microrganismos do solo capazes de mineralizar o P orgânico ou solubilizar o P inorgânico. Tal mecanismo, de forma resumida, ocorre pela liberação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular e síntese enzimática, que transforma o P na forma lábil.

Entre simbioses parasíticas e mutualísticas formadas entre plantas e microrganismos, o estabelecimento entre raízes e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) é a mais comum associação mutualística dentro de ecossistemas naturais e agroecossistemas. Os FMA estão distribuídos em todos os ecossistemas terrestres, representam associação mutualística entre as raízes da maioria das plantas, caracterizada pela penetração inter e intracelular dos fungos nas células do córtex radicular e a formação de estruturas intracelulares, denominadas arbúsculos. O principal benefício para a planta hospedeira se traduz no aumento da absorção de nutrientes, especialmente o P, conferida pelas hifas em explorar o substrato, tanto em área de superfície de contato, quanto em volume.

Desta forma, justificam-se estudos que visam reduzir o uso de fertilizantes fosfatados solúveis e maximizar o aproveitamento do P na agricultura, bem como a ampliar o entendimento da interação entre microrganismos solubilizadores de fosfato, FMA e plantas de interesse agrônômico.

CAPÍTULO 1

POPULAÇÃO MICROBIANA SOLUBILIZADORA DE FOSFATOS E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM SOLOS SOB DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO

RESUMO - Microrganismos solubilizadores de fosfato (MSF) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) têm sua dinâmica populacional influenciada pelas práticas de manejo do solo. O objetivo desse trabalho foi avaliar a população de MSF e FMA em solos da região Sudoeste Goiana, submetidos a diferentes sistemas de cultivo. Amostras de solo foram coletadas em duas áreas sob sistema de plantio direto (rotação de culturas e sucessão de culturas - SRC), uma área sob sistema de plantio convencional (PC) e uma área em pousio. A densidade populacional de MSF foi estimada pela técnica de diluições sucessivas e contagem direta em placas (UFC g⁻¹ de solo), em meio GL sólido e a densidades de esporos de FMA, pelo método de peneiramento úmido e contagem direta. Quanto aos MSF, foram obtidos seis isolados fúngicos: quatro da área sob sucessão de culturas, um da área sob rotação de culturas e um da área sob plantio convencional e três isolados bacterianos: dois da área sob sucessão de culturas e um da área de sistema convencional. Os solos das áreas sob sucessão de culturas e sob pousio apresentaram maior densidade de bactérias solubilizadoras de fosfato. A maioria dos isolados obtidos é capaz de solubilizar CaHPO₄, FePO₄ e AlPO₄ em condições *in vitro*. Os sistemas de PC, SRC e pousio não tiveram diferenças nas densidades e esporos de FMA, porém, a área sob pousio foi a que apresentou maiores densidades de esporos em relações às demais. Foi observado que 100% dos MSF foram capazes de produzir ácido indolacético (AIA). Porém, o isolado FSF2 apresentou a maior produção de AIA em comparação aos demais isolados. Os isolados FSF2 e FSF3 se destacaram com a maior solubilização de CaHPO₄. Quanto à solubilização de FePO₄ e AlPO₄, os isolados não apresentaram diferenças quanto à capacidade de solubilização.

Palavras-chave – fósforo, rizosfera, manejo do solo.

ABSTRACT – Phosphate solubilizing microorganisms (PSM) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) have their population dynamics influenced by soil management practices. The aim of this work was to evaluate the population of PSM and AMF in soils of the southeast region of Goiás state submitted to different cultivation systems. Soil samples were collected in two areas under no-tillage (crop rotation and crop sequence), one area under conventional tillage system and one fallow area. Population density of PSM was estimated by successive dilution technique and direct counting in Petri dishes (CFU g⁻¹ of soil), in GL medium and the spore density of AMF, by the method of wet sieving and direct counting. About the PMS were found six fungi isolates (four from the crop sequence area, one from the culture rotation area and one from tillage system area) and three bacteria isolates (two from the crop sequence area and one from the area under tillage system). The soils from the areas under crop sequence and fallow had higher density of phosphate solubilizing bacteria. Most of the isolates are able to solubilize CaHPO₄, FePO₄ and AlPO₄ under *in vitro* conditions. The tillage system, crop rotation system and fallow area showed no difference in density of AMF spores in comparison to the others. It was observed that 100% of the PMS were able to produce indole acetic acid (IAA). However, the isolate FSF2 had the highest production of IAA in comparison to the other isolates. The isolates FSF2 and FSF3 stand out due to the highest CaHPO₄ solubilization. The isolates showed no difference as to the solubilization of the other phosphates (FePO₄ and AlPO₄).

Keywords: phosphorus, rhizosphere, soil management.

1. INTRODUÇÃO

A necessidade de maximizar a produção de alimentos e, ao mesmo tempo, aumentar a sustentabilidade dos agroecossistemas, a fim de reduzir os processos degenerativos do solo, enfatiza a importância de estudos sobre a microbiota do solo, parte fundamental ao funcionamento dos ecossistemas terrestres (SIQUEIRA & FRANCO, 1988; SIQUEIRA et al., 2007).

O fósforo (P) é um macronutriente essencial e limitante à sobrevivência e produtividade dos vegetais. Esse elemento está presente no solo sob formas orgânicas e inorgânicas, sendo absorvido pelas raízes dos vegetais, na forma de fosfato. Uma vez na solução do solo, esse íon está sujeito à adsorção pelos colóides do solo e se complexa a outros cátions como o cálcio (Ca), ferro (Fe) e alumínio (Al), tornando-se cada vez menos disponível aos vegetais. Muitos tipos de solos são deficientes em P, tendo sua concentração menor que 10 μM , em pH 6,5, faixa em que o P encontra-se mais solúvel (SOBRAL, 2003). No entanto, quando esse nutriente é mal manejado, pode ser lixiviado para os ambientes aquáticos, onde a diluição impede sua recuperação, causando danos severos a esse ambiente (GATIBONI, 2003).

No caso dos solos brasileiros, o P é um dos elementos mais limitantes à produção agrícola, e a utilização de formas solúveis para a adubação das culturas de interesse agrônomo, requer a aplicação de doses muito superiores às necessárias ao desenvolvimento da planta, pois cerca de 90% do P aplicado ao solo é rapidamente adsorvido pelos oxi-hidróxidos de Fe e de Al, comumente presentes em altas quantidades em solos tropicais muito intemperizados (NOVAIS & SMYTH, 1999; SILVA FILHO et al., 2002).

A atividade biológica do solo é um dos principais fatores que afetam a disponibilidade de P aos vegetais. Determinados microrganismos do solo possuem a capacidade de solubilizar P a partir de rochas insolúveis, tornando-se uma maneira promissora para reduzir os custos com adubação fosfatada e a poluição ambiental. Os mecanismos atribuídos a esses solubilizadores de P incluem acidificação, quelação e

reações de troca catiônica (CHAI et al., 2011). A população e a atividade dos microrganismos solubilizadores de fosfato (MSF) está relacionada ao manejo e tipo do solo, sendo considerados indicadores microbiológicos associados ao ciclo do P (KUCEY, 1983; NAHAS et al., 1994; CARNEIRO et al., 2004).

Entre as diversas simbioses parasíticas e mutualísticas formadas entre plantas e microrganismos, o estabelecimento entre raízes e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) é a mais comum associação mutualística dentro de ecossistemas naturais e agroecossistemas (STÜRMER & SIQUEIRA, 2006). Os FMA estão distribuídos em todos os ecossistemas terrestres, no entanto, somente a partir da década de 1950, suas estruturas reprodutivas começaram a ser conhecidas e estudadas (COLOZZI FILHO & NOGUEIRA, 2007).

Os FMA representam uma associação mutualística entre as raízes da maioria das plantas, caracterizada pela penetração inter e intracelular dos fungos nas células do córtex radicular e a formação de estruturas intracelulares, denominadas arbúsculos. O principal benefício para a planta hospedeira traduz-se no aumento da absorção de nutrientes, especialmente o P, conferida pelas hifas em explorar o substrato, tanto em área de superfície de contato, quanto em volume (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Estudos sobre a dependência micorrízica são importantes para se conhecer as respostas das plantas a esta simbiose, já que essas podem apresentar associações micorrízicas compatíveis ou incompatíveis, de acordo com as variações das condições ambientais, tais como disponibilidade de P, conteúdo de água, pH, salinidade, temperatura, qualidade e intensidade luminosa, entre outras (MEHROTA, 2005). As atividades dos microrganismos envolvidos nos ciclos biogeoquímicos são consideradas bons indicadores de qualidade do solo, visto que influenciam diretamente a disponibilidade dos nutrientes e auxiliam na elucidação das mudanças de seu funcionamento (TÓTOLA & CHAER, 2002). No entanto, as práticas de manejo do solo podem influenciar a dinâmica populacional de fungos (FSF) e bactérias solubilizadores de fosfato (BSF), FMA, interferir na eficiência da simbiose micorrízica, no crescimento das plantas e também na interação dos FMA com outros microrganismos benéficos (MIRANDA & MIRANDA, 2007).

Estudos sobre grupos microbianos de interesse agrônômico em agrossistemas sob distintos tipos de manejo são necessários para melhorar a compreensão de sua dinâmica populacional e, conseqüentemente, resultar em economia de fertilizantes na

agricultura. O objetivo desse trabalho foi avaliar a população de MSF e FMA em solos da região Sudoeste Goiana, submetidos a diferentes sistemas de cultivo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia Agrícola do IF Goiano – Campus Rio Verde. Primeiramente, amostras de solo foram coletadas na camada de 0-20 cm, em 10 pontos diferentes de cada área. Foram coletadas amostras em quatro áreas de cultivo de soja da região: duas sob sistema de plantio direto, sendo uma em sucessão de culturas (SSC, 18° 17' 11.10" S e 51° 10' 27.52" O, a 574m de altitude) e outra em rotação de culturas (SRC, 17° 53' 10.74" S e 50° 58' 36.50" O, a 675m de altitude), uma área de plantio convencional (PC, 17° 48' 24.85" S e 50° 54' 10.63" O, a 744m de altitude) e uma área em pousio (POUSIO, 18° 17' 31.77" S e 51° 07' 36.50" O, a 568m de altitude). Nessas amostras, foram feitas análises químicas e físicas e determinado os teores de P (Tabela 1).

Tabela 1. Análise textural, de pH e dos teores de P em quatro áreas do Sudoeste Goiano, submetidas a distintas formas de manejo, para isolamento de microrganismos solubilizadores de fosfato e fungos micorrízicos arbusculares.

Análise física (%)		
Solo	Argila	Areia
SRC	35,93	48,37
SSC	30,95	56,73
PC	46,39	36,23
POUSIO	22,63	70,05
Análise química		
Solo	pH em água	P (mg dm ⁻³)
SRC	6,0	11,12
SSC	5,5	7,17
PC	6,1	38,73
POUSIO	5,5	4,14

SRC: Solo sob rotação de culturas; SSC: solo sob sucessão de culturas; PC: solo sob plantio convencional; POUSIO: solo em pousio.

2.1 - Isolamento e densidade populacional de microrganismos solubilizadores de fosfato, obtidos de solos sob diferentes sistemas de cultivo no Sudoeste Goiano.

Para o isolamento de BSF e FSF, a amostragem foi feita na camada 0-20 cm, em 10 diferentes pontos, formando amostras compostas em cada área. Parte das amostras coletadas foi submetida à análise química e física, no Laboratório de Solos do IF Goiano-Campus Rio Verde e os resultados estão apresentados na Tabela 1. A outra parte foi levada para o Laboratório de Microbiologia Agrícola da instituição e armazenada em geladeira, por três dias, até as análises microbiológicas.

Para o isolamento de bactérias (BSF-Ca) e fungos solubilizadores de fosfato de cálcio (FSF-Ca), foi utilizado o meio de cultura GL (10g L⁻¹ glicose e 0,5g L⁻¹ extrato de levedura), descrito por Sylvester-Bradley et al. (1982), adicionado de CaCl₂(10%) e K₂HPO₄(10%). O isolamento foi feito a partir de 10 g de solo, contendo pedaços de radicelas das plantas que foram misturados em 90 mL de NaCl 1g L⁻¹ (10⁻¹), seguindo o método das diluições sucessivas até 10⁻⁵, pelo método “pour-plate”, em triplicatas. Como testemunha, foi utilizada a solução salina, sem adição de solo nas mesmas diluições. Após quatro dias de incubação, a 28 °C, no escuro, as placas foram avaliadas para quantificação do número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) e identificação de BSF e FSF, por meio da presença ou ausência do halo de solubilização ao redor das colônias. As colônias que apresentaram esse halo, foram isoladas e purificadas no mesmo meio de isolamento. O número de UFC em cada placa foi contado, sendo o cálculo feito considerando-se a diluição de origem e o resultado expresso em UFC g⁻¹ de solo.

Os isolados obtidos foram armazenados em geladeira e, posteriormente, testados quanto à sua capacidade de solubilização de FePO₄ e AlPO₄, utilizando o meio basal modificado por Gadagi & Sa (2002). Após 48 h de incubação, a 30 °C, os isolados foram avaliados considerando como positivos aqueles que apresentaram halo de solubilização ao redor da colônia (Tabela 3).

Os dados foram submetidos à análise estatística, e as médias de três repetições comparadas pelo teste Scott-Knott (5%), utilizando o programa SAEG, versão 9.1 (SAEG, 2007).

2.2 - Quantificação do potencial de solubilização de CaHPO_4 , FePO_4 e AlPO_4 por isolados bacterianos (BSF) e fúngicos (FSF), obtidos de solos sob diferentes sistemas de cultivo no Sudoeste Goiano.

Para a quantificação *in vitro* da solubilização de CaHPO_4 , FePO_4 e AlPO_4 , os isolados de BSF e FSF, obtidos na Etapa 2.1, foram repicados em triplicata para cada tipo de fosfato, em meio GL, com pH 7, descrito por Sylvester-Bradley et al. (1982). Especificamente, os isolados foram avaliados quanto à capacidade de solubilização das fontes fosfatadas supracitadas, adicionando ao meio GL $1,26 \text{ g L}^{-1}$ de PO_4^{3-} de cada uma.

Após incubação, por 15 dias a $27 \text{ }^\circ\text{C}$, a fase líquida foi submetida à centrifugação (8.000 rpm), por 20 min e determinou-se, no sobrenadante, a quantidade de P inorgânico, pelo método colorimétrico da vitamina C modificado, a 725 nm (BRAGA & DEFELIPO, 1974), modificado por Reis et al. (2008).

2.3 - Quantificação do potencial de produção de ácido indol acético (AIA) por isolados bacterianos (BSF) e fúngicos solubilizadores de fosfatos (FSF), obtidos de solos sob diferentes sistemas de cultivo no Sudoeste Goiano.

2.3.1 – Meios de cultura e reagentes utilizados.

- **Meio GL:** 10 g L^{-1} glicose e $0,5 \text{ g L}^{-1}$ extrato de levedura, descrito por Sylvester-Bradley et al. (1982).
- **Solução de triptofano:** foi preparada uma solução estoque ($10,1 \text{ mg mL}^{-1}$) de triptofano em água destilada, adicionando aos poucos algumas gotas de KOH, necessárias para a dissolução do triptofano. Após filtração em papel millipore ($0,2 \text{ }\mu\text{m}$), a solução foi armazenada na geladeira ($4 \text{ }^\circ\text{C}$), em frasco escuro. Para uma concentração final de $100 \text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ de triptofano, adicionou-se 1 mL da solução estoque ($10,1 \text{ mg mL}^{-1}$) em 100 mL de meio de cultura esterilizado.
- **Reagente de Salkowski (GORDON & WEBER, 1951):** uma alíquota de 1 mL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $0,5 \text{ M}$ ($1,35 \text{ g } 10 \text{ mL}^{-1}$) foi adicionado a 50 mL de HClO_4 (35%).

2.3.2 – Construção da curva de calibração de AIA.

Concentrações crescentes de 0 a 1000 $\mu\text{M mL}^{-1}$ de AIA (Vetec[®]), foram utilizadas na construção da curva de calibração, empregando-se o método descrito por Sarwar e Kremer (1995). Alíquotas de 150 μL de cada diluição, foram transferidas para microplacas de poliestireno de 96 poços com capacidade de 300 μL por poço. Em seguida, foram adicionados 100 μL do reagente de Salkowski. Após 30 minutos de reação no escuro, a temperatura ambiente, a intensidade da coloração foi avaliada em comprimento de onda (λ) de 540 nm, utilizando o espectrofotômetro Labsystems iEMS Reader MF. Os dados de absorvância foram processados pelo programa Ascent Software for iEMS Reader MF e, posteriormente, plotados em um gráfico de dispersão (X,Y).

2.3.3 – Quantificação do potencial de produção de ácido indol acético (AIA).

Para tal, foi empregado o método colorimétrico descrito por Sarwar & Kremer (1995), o qual utiliza o reagente de Salkowski para análises em microplacas. Após crescimento, a 30 °C por três dias, os isolados foram inoculados com palitos em microplacas de polipropileno com 96 poços com capacidade de 2 mL, cada um contendo 1 mL de meio líquido LGI-P, acrescido de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de L-triptofano (Vetec[®]), como precursor da biossíntese de ácido-indol-acético (AIA) e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de canamicina.

A primeira coluna de cada microplaca foi reservada para os controles negativos (não inoculados) e positivos (isolados solubilizadores). Após cultivo a 30 °C sob agitação (200 rpm), por 48 horas, no escuro, 200 μL da cultura de cada isolado foram transferidos para microplacas de poliestireno, com 96 poços com capacidade de 300 μL para leitura da Densidade Ótica (620 nm). Os isolados restantes foram centrifugados a 4000 rpm, por 15 minutos e o sobrenadante utilizado nas reações colorimétricas, conforme descrito acima. A concentração de AIA foi determinada utilizando a equação da curva de calibração de AIA.

Os dados foram submetidos à análise estatística e as médias das três repetições, comparadas pelo teste Scott-Knott (5%), com o programa SAEG, versão 9.1 (SAEG, 2007).

3.4. Densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares, obtidos de solos sob diferentes sistemas de cultivo no Sudoeste Goiano.

Para esta análise, foram utilizados 50 g de solo, de onde os esporos dos FMA foram separados e coletados, segundo uma associação de métodos de decantação e peneiramento úmido (GERDEMANN & NICOLSON, 1963) e de centrifugação e flutuação com sacarose (JENKINS, 1964). Especificamente, cada amostra foi misturada em balde, contendo de 3 a 4 L de água, sendo a mesma destorroada e a água agitada vigorosamente. Após alguns minutos, as amostras foram separadas por decantação das partículas maiores e/ou mais densas que os esporos. O sobrenadante foi passado por duas peneiras de malha 0,42 e 0,053mm. Tal procedimento foi repetido 3 a 4 vezes, até que a água ficasse aparentemente limpa. Com o auxílio de uma pisseta, o material depositado na peneira de 0,053mm foi recolhido, transferido para tubos e centrifugado por 3 minutos, a 3000 rpm.

O sobrenadante foi cuidadosamente descartado e adicionado solução de sacarose 50% nos tubos com as partículas decantadas no fundo, para novamente ser centrifugado (2000 rpm, por 2 min). Os esporos presentes no sobrenadante foram transferidos para a peneira de malha de 0,053mm, lavados com água em abundância, para retirar o excesso de resíduos de sacarose e recolhidos em placas de Petri. A contagem dos esporos de FMA foi realizada usando uma placa de acrílico com anéis concêntricos, sob microscópio estereoscópico.

Os dados foram submetidos à análise estatística, e as médias de três repetições comparadas pelo teste Scott-Knott (5%), com o programa SAEG, versão 9.1 (SAEG, 2007).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como resultados do isolamento de BSF-Ca e FSF-Ca, foram obtidos seis isolados fúngicos (quatro da área de sucessão de cultura, um da área de rotação de culturas e um da área de plantio convencional) e três isolados bacterianos (dois da área de sucessão de culturas e um da área de sistema convencional). Similarmente, Oliveira et al. (2008) isolaram BSF e FSF em áreas de cultivo de milho sob sistema de plantio direto em sucessão e rotação de culturas e obtiveram maior densidade de isolados na área de sucessão de culturas. Barroti & Nahas (2001), também detectaram maior número de isolados fúngicos em comparação aos bacterianos, independentemente do sistema de cultivo adotado.

Os resultados de densidade populacional de MSF, na literatura, geralmente são muito variáveis. Por exemplo, Chabot et al. (1993), relatam que estes microrganismos podem representar cerca de 50% da população microbiana do solo. Por outro lado, Kucey (1983) descreve uma população fúngica e bacteriana solubilizadora equivalente a apenas 0,1 e 0,5%, respectivamente. De acordo com Silva Filho (1998), a população de MSF existente nos solos está entre 10^4 e 10^7 UFC g^{-1} de solo, variando conforme o local e o método de avaliação.

Tabela 2. Densidade populacional de bactérias (BSF-Ca) e fungos solubilizadores de fosfato de cálcio (FSF-Ca), em solos sob diferentes sistemas de cultivo, no Sudoeste Goiano.

SOLO	UFC g^{-1} de solo	
	BSF-Ca	FSF-Ca
SRC	nd*	$3,33 \times 10^5$ c
SSC	$1,61 \times 10^7$ a	$4,24 \times 10^6$ a
POUSIO	$2,57 \times 10^7$ a	nd*
PC	$1,84 \times 10^6$ b	$1,45 \times 10^6$ b

SRC: Solo sob rotação de culturas; SSC: solo sob sucessão de culturas; PC: solo sob plantio convencional; POUSIO: solo em pousio. *nd: crescimento não detectado. Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (5%).

Não foram detectados isolados de BSF-Ca e de FSF-Ca nas áreas de SRC e POUSIO, respectivamente. Para BSF-Ca, as áreas de SRC e POUSIO, foram as que apresentaram maior densidade destes microrganismos (Tabela 2). Similarmente, Castro et al. (1993) avaliaram o efeito de diferentes manejos do solo na população total de microrganismos do solo e detectaram maiores densidades em solos sob plantio direto.

O fato da maior densidade de BSF-Ca e de FSF-Ca ter sido detectada na área SSC (Tabela 2) e também de bactérias e fungos totais (dados não mostrados), podem estar relacionados ao baixo teor de P do solo desta área (Tabela 1), que pode impulsionar tanto o crescimento populacional quanto a atividade microbiana desses microrganismos, assim como igualmente observado por Carneiro et al. (2004).

A alta deposição de resíduos orgânicos, alta quantidade de raízes e de água retida no solo, típicas características de um ecossistema de mata nativa, estimulam a manutenção da microbiota do solo, enquanto que os solos submetidos à atividade agrícola costumam apresentar condições adversas que, normalmente, reduzem a população microbiana (PEREZ et al., 2004). Esse fato indica que a adoção do sistema de rotação de culturas tende a favorecer o desenvolvimento dos diversos grupos microbianos do solo. Ao contrário, a adoção do sistema de plantio convencional, expõe os microrganismos a um ambiente altamente estressante, resultando em menor densidade e diversidade microbiana.

Todos os isolados de FSF-Ca obtidos, foram capazes de solubilizar FePO_4 e AlPO_4 . Dentre os isolados de BSF-Ca, o isolado BSF1 não apresentou halo de solubilização nas duas outras fontes fosfatadas, enquanto que o isolado BSF5 solubilizou apenas FePO_4 (Tabela 3). De acordo com Souchie et al. (2005), o Al livre, e não complexado, no meio de cultura pode inibir o crescimento de bactérias, mais do que isolados fúngicos solubilizadores de P. Estes últimos, geralmente apresentam maior tolerância à presença do Al tóxico no meio.

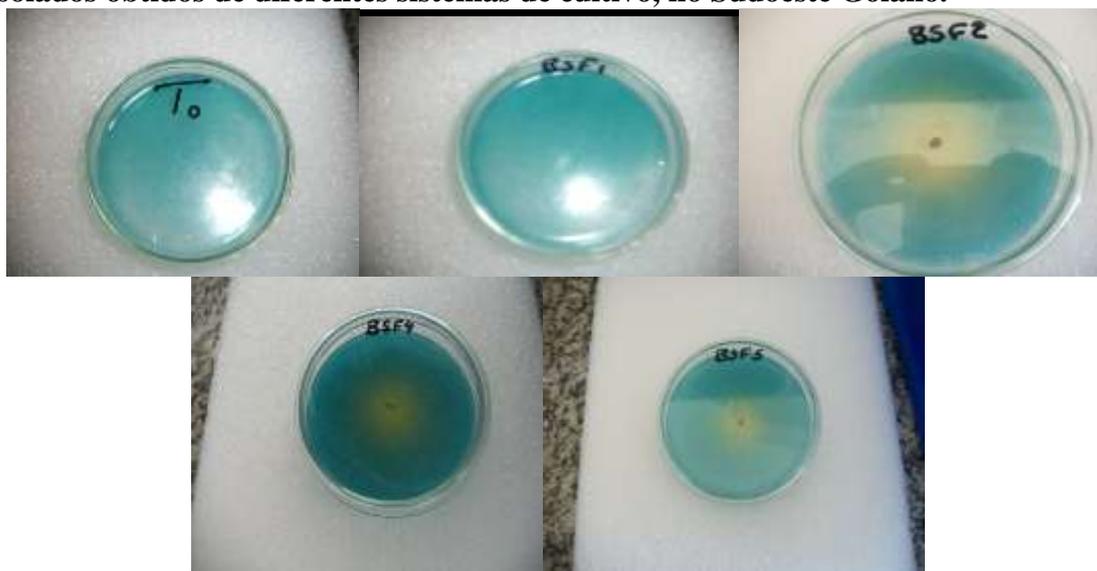
Segundo Gyaneshwar et al. (2002), a maioria das bactérias e fungos possui habilidade para solubilizar o P ligado ao Ca e poucos conseguem solubilizar complexos de P-Al e P-Fe, podendo ser ainda eficientes na solubilização de fosfatos de rocha. Isto pode justificar a menor incidência de isolados bacterianos capazes de solubilizar FePO_4 e AlPO_4 (Tabela 3).

Tabela 3. Solubilização de fosfatos (FePO_4) e (AlPO_4) em meio sólido, indicada pela presença ou ausência do halo de solubilização, após 48 horas de incubação de isolados bacterianos (BSF) e fúngicos (FSF) obtidos de diferentes sistemas de cultivo, no Sudoeste Goiano.

Isolados	FePO_4	AlPO_4
Bactérias		
BSF1	-	-
BSF2	+	+
BSF4	+	+
BSF5	+	-
Fungos		
FSF1	+	+
FSF2	+	+
FSF3	+	+
FSF4	+	+
FSF5	+	+
FSF6	+	+

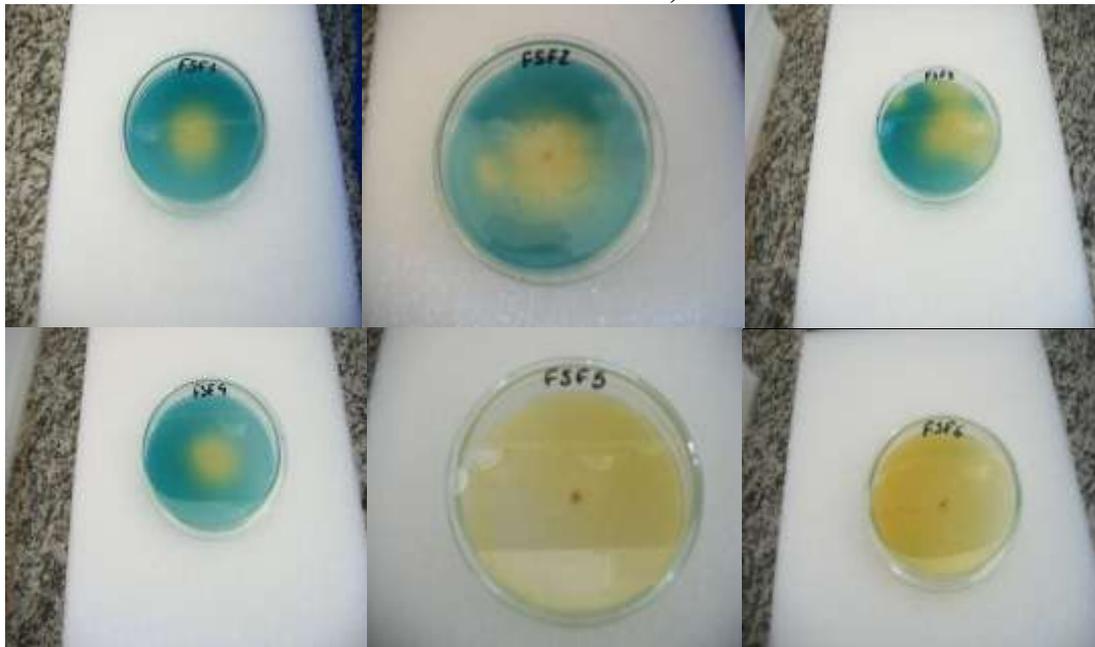
+ = presença de halo; - = ausência de halo.

Figura 1. Solubilização de FePO_4 por isolados de bactérias (BSF), indicada pela presença ou ausência do halo de solubilização, após 48 horas de incubação, de isolados obtidos de diferentes sistemas de cultivo, no Sudoeste Goiano.



Fonte: BARROSO et al. (2012).

Figura 2. Solubilização de $AlPO_4$ por isolados fúngicos (FSF), indicada pela presença ou a ausência do halo de solubilização, após 48 horas de incubação, de isolados obtidos de diferentes sistemas de cultivo, no Sudoeste Goiano.



Fonte: BARROSO et al. (2012).

Em meio líquido, foi observada diferença entre os isolados quanto à capacidade de solubilização das três fontes fosfatadas, apenas para $CaHPO_4$ (Tabela 4). Especificamente, os isolados FSF2 e FSF3 se destacaram quanto à capacidade de solubilização dessa fonte, comparado aos demais (Tabela 4). A variação no potencial de solubilização de microrganismos tem sido observada por vários autores, sendo utilizada como uma das principais características no processo de seleção (ILLMER & SCHINNER, 1992; MIKANOVA & KUBÁT, 1994; SILVA FILHO & VIDOR, 2000). Banik e Dey (1982), avaliando a capacidade de solubilização de diversos isolados de MSF, verificaram que dois fungos do gênero *Aspergillus* foram os mais eficientes. Por outro lado, Silva Filho & Vidor (2000), também avaliando a capacidade de solubilização em meio líquido, verificaram que isolados do gênero *Penicillium* foram os que se sobressaíram.

Quanto ao potencial de solubilização de $FePO_4$ e $AlPO_4$, não foi detectada diferença entre os isolados fúngicos e bacterianos (Tabela 4). Não obstante, há relatos de que os fungos são mais eficientes na solubilização das fontes fosfatadas supracitadas. Além disso, relata-se que a capacidade dos diferentes organismos de solubilizar $CaHPO_4$ é influenciada pela fonte de carbono e nitrogênio no meio, pela capacidade de

tamponamento do meio e da fase em que as culturas são avaliadas (KUCEY, 1983; ILLMER et al., 1995; WHITELAW et al., 1999; NAHAS, 2007).

Tabela 4 – Quantificação em meio líquido do potencial de solubilização de fosfatos de CaHPO₄, de FePO₄ e AlPO₄ por isolados bacterianos (BSF) e fúngicos (FSF), obtidos de solos sob diferentes sistemas de cultivo no, Sudoeste Goiano.

Isolado solubilizador de fosfatos	CaHPO ₄	FePO ₄	AlPO ₄
	-----µg mL ⁻¹ -----		
BSF1	0,717 b	0,994 a	0,405 a
FSF1	0,535 b	1,098 a	0,401 a
FSF2	1,018 a	0,944 a	0,369 a
FSF3	1,435 a	1,092 a	0,414 a
FSF5	0,535 b	1,189 a	0,307 a
FSF6	0,622 b	0,911 a	0,502 a
CV (%)	38,3	17,6	18,5

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (5%).

Quanto à capacidade de produção de AIA, foi observada diferença entre os isolados solubilizadores de P, sendo que os isolados FSF1 e FSF2, foram os que tiveram o menor (3,308 µg mL⁻¹) e o maior potencial (5,310 µg mL⁻¹), respectivamente (Tabela 5). Já os isolados BSF1, FSF3 e FSF5, não apresentaram diferença entre si, quanto à produção de AIA (Tabela 5).

As auxinas, de origem vegetal ou microbiana, são substâncias que, em baixas concentrações (variando de µmol a nmol L⁻¹), promovem o crescimento das plantas, estimulando a atividade da bomba eletrogênica H⁺-ATPase da membrana plasmática (HAGER et al., 1991), resultando nos eventos de expansão celular e de ativação de transportadores secundários em membranas celulares (SONDERGAARD et al., 2004). Desta forma, torna-se estratégica a seleção de microrganismos com alto potencial de produção deste fitormônio, visando incrementar a produtividade, a baixo custo, de culturas de interesse agrônômico, como no caso da soja. Por exemplo, diversas bactérias de solo já foram identificadas como capazes de produzir auxinas, sendo algumas inclusive utilizadas como inoculante comercial para gramíneas no Brasil e em outros países (BUCHER & REIS, 2008).

Tabela 5 – Quantificação do potencial de produção de ácido indol acético (AIA) por isolados bacterianos (BSF) e fúngicos (FSF) solubilizadores de fosfatos, obtidos de solos sob diferentes sistemas de cultivo, no Sudoeste Goiano.

Isolado solubilizador de fosfatos	Produção de AIA ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
BSF1	3,898 c
FSF1	3,308 d
FSF2	5,738 a
FSF3	3,713 c
FSF5	3,632 c
FSF6	5,310 b
CV (%)	9,4

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (5%).

A avaliação da influência dos sistemas de manejo demonstrou diferenças quanto à densidade de esporos de FMA, em que menor densidade foi detectada na área SSC e as demais três áreas foram similares quanto a esta variável (Figura 3). A esporulação dos FMA é bastante heterogênea e depende do fungo, da planta, de fatores do solo e da sazonalidade (CARDOSO et al., 2003), sendo que a sensibilidade ou tolerância aos componentes dos ecossistemas, tais como tipo de solo, pH, umidade, fertilidade natural e outros é bastante específica. Schultz et al. (1999) encontraram evidências que a densidade de esporos de FMA difere de acordo com a época, com alguns fungos esporulando no fim da primavera e outros ao término do verão.

Diversos trabalhos relatam alta variação quanto à densidade de esporos de FMA. Por exemplo, Maia e Trufem (1990) observaram, em áreas com plantas de interesse econômico, variação de 26 a 437 esporos por 100 g de solo. Silva et al. (2001) verificaram, em áreas de caatinga nativa e degradadas por mineração, densidade de esporos inferior a 160 por 100 g de solo. Klauberg-Filho et al. (2002), em áreas poluídas com metais pesados, encontraram número de esporos variando de 8 a 335 esporos por 50g de solo, tendo maiores valores em locais de menor contaminação. Souza et al. (2003), trabalhando em área de Caatinga, observaram variação de 34 a 860 esporos por 100g de solo. Considerando que alta densidade de esporos de FMA pode ser considerada um indicativo de ambiente sob alto nível de estresse, a área de SSC mostrou-se como a de maior grau de estabilidade.

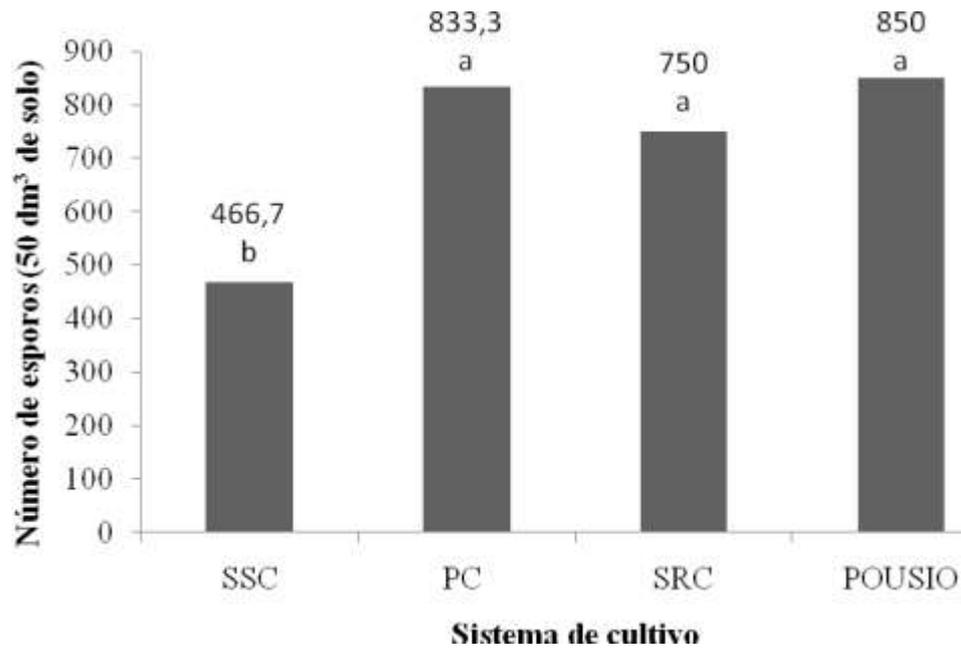


Figura 3. Densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares em solos sob diferentes sistemas de cultivo, no Sudoeste Goiano. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste Skott-Knott (5%). SSC = sistema de sucessão de culturas; SRC = sistema de rotação de culturas; pousio e PC = plantio convencional.

4. CONCLUSÕES

- Detecta-se a presença dos isolados de BSF-Ca e de FSF-Ca nas áreas de SRC e POUSIO, respectivamente. Para BSF-Ca, as áreas de SRC e POUSIO, apresentam maior densidade destes microrganismos.
- Os isolados fúngicos e bacterianos apresentam diferenças no potencial de solubilização de FePO_4 e AlPO_4 .
- Em meio líquido, observa-se diferenças entre os isolados quanto à capacidade de solubilização, apenas para CaHPO_4 .
- Os isolados fúngicos FSF2 e FSF3 possuem o maior potencial, comparados aos demais.
- Todos os isolados de MSF, são capazes de produzir AIA.
- O isolado fúngico FSF2 possui o maior potencial de produção de AIA.
- As áreas sob PC, SRC e POUSIO apresentam densidades similares de esporos de FMA.
- A menor densidade de esporos de FMA encontra-se na área sob SSC.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROTI, G.; NAHAS, E. População microbiana total e solubilizadora de fosfato em solo submetido a diferentes sistemas de cultivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 2043-2050, 2001.

BRAGA, J. M.; DEFELIPO, B. V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solos e plantas. **Ceres**, v. 21, p. 73-85, 1974.

BUCHER, C. A.; REIS, V. M. **Biofertilizante contendo bactérias diazotróficas**. Série Documentos, Embrapa Agrobiologia, 17p. 2008.

CARDOSO, I. M.; BODDINGTON, C.; JANSSEN, B. H.; OENEMA, O.; KUYPER, T. W. Distribution of mycorrhizal fungal spores in soils under agroforestry and monocultural coffee systems in Brazil. **Agroforestry Systems**, v. 58, p. 33-43, 2003.

CARNEIRO, R. G.; MENDES, I. C.; LOVATO, P. E. et al. Indicadores biológicos associados ao ciclo do fósforo em solos de Cerrado sob plantio direto e plantio convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 661-669, 2008.

CARVALHO, A. M.; VIVALDI, L. J. Indicadores biológicos associados ao ciclo do fósforo em solos de cerrado sob plantio direto e plantio convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 661-669, 2004.

CASTRO, O. M.; PRADO, H.; SEVERO, A. C. R.; CARDOSO, E. J. B. N. Avaliação da atividade de microrganismos do solo em diferentes sistemas de manejo de soja. **Scientia Agricola**, v. 50, p. 212-219, 1993.

CAVALCANTE, V. A.; DÖBEREINER, J. A new acid tolerant nitrogen fixing bacterium associated with sugarcane. **Plant and Soil**, v. 108, p. 23-31, 1988.

COLOZZI FILHO, A.; NOGUEIRA, M. A. **Micorrizas arbusculares em planas tropicais: café, mandioca e cana-de-açúcar**. In: Silveira, A.P.D. & Freitas, S.S. (Ed.),

Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental. Campinas, Instituto Agronômico, p. 39-56, 2007.

CHABOT, R.; ANTOUN, H.; CESCAS, M. P. Stimulation de la croissance du maïs et de la laitue romaine par des microorganismes dissolvant le phosphore inorganique. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 941-947, 1993.

CHAI, B.; MU, Y.; LIU, P.; LIU, B.; GAO, M.; Isolation and phosphate-solubilizing ability of a fungus, *Penicillium* sp. from soil of an alum mine. **Journal of Basic Microbiology**, v. 51, p. 5-14, 2011.

GADAGI, R. S.; SA, T. New isolation method for microorganisms solubilizing iron and aluminum phosphates using dyes. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 48, p. 615-618, 2002.

GATIBONI, L. C. **Disponibilidade de formas de fósforo do solo às plantas**. 2003. 231p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

GORDON, S. A.; WEBER, R. P. Colorimetric estimation of indoleacetic acid. **Plant Physiology**, v. 26, p.192-195, 1951.

GERDEMANN, J. N.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet-sieving and decanting. **Transactions of British Mycorrhizal Society**, v. 46, p. 235-244, 1963.

GYANESHWAR, P.; NARESH KUMAR, G.; PAREKH; L. J.; POOLE, P. S. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant and Soil**, v. 245, p. 83-93, 2002.

HAGER, A.; DEBUS, G.; EDEL, H.G.; STRANSKY, H.; SERRANO, R. Auxin induces exocytosis and rapid synthesis of a high-turnover pool of plasma-membrane H⁺-ATPase. **Planta**, v. 185, p. 527-537, 1991.

ILLMER, P.; SCHINNER, F. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 24, p. 389-395, 1992.

ILLMER, P.; SCHINNER, F. Solubilization of hardly-soluble AlPO_4 with P-solubilizing microorganisms. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 27, p. 265-270, 1995a.

ILLMER, P.; SCHINNER, F. Solubilization of inorganic calcium phosphates – solubilization mechanisms. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 27, p. 257-263, 1995b.

KLAUBERG-FILHO, O.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Fungos micorrízicos arbusculares em solos de área poluída com metais pesados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, 125-134, 2002.

KUCEY, R. M. N. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 63, p. 671-678, 1983.

MIKANOVÁ, O.; KUBAT, J. Phosphorus solubilization from hardly soluble phosphates by soil microflora. **Rostlinná Výroba**, v. 40, p. 833-840, 1994.

SILVA FILHO, G. N.; VIDOR, C. Solubilização de fosfatos por microrganismos na presença de fontes de carbono. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 311-329, 2000.

MAIA, L. C.; TRUFEM, S. F. B. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em solos cultivados no Estado de Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 13, p. 89-95, 1990.

MEHROTA, V. S. **Mycorrhizas: role and applications**. New Delhi: Allied Publishers, 2005.

MIRANDA, J. C. C. de.; MIRANDA, L. N. de. Impacto do sistema de plantio direto na diversidade de fungos micorrízicos arbusculares nativos em solos de Cerrado. **Comunicado Técnico, 135**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 4 p

MOREIRA, F. M. de S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

NAHAS, E.; CENTURION, J. F.; ASSIS, L. C. Microrganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases de vários solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 18, p. 43-48, 1994.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. Fósforo em solo e planta em condições tropicais. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1999. 399p.

OLIVEIRA, C. A.; GOMES, E. A.; MARRIEL, I. E. **Microrganismos solubilizadores de fosfato isolados da rizosfera de genótipos de milho em plantio direto e convencional**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, dez. 2008. 28 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 04).

PEREZ, K. S.; RAMOS, M. L. G.; McMANUS, C. Carbono da biomassa microbiana em solo cultivado com soja sob diferentes sistemas de manejo nos Cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 567-573, 2004.

RODRIGUES NETO, J.; MALAVOLTA JR., V. A.; VICTOR, O. Meio simples para isolamento e cultivo de *Xanthomonas campestris* pv. citri Tipo B. **Summa Phytopathologica**, v. 2, p. 16-16, 1986.

SARWAR, M.; KREMER R. J. Determination of bacterially derived auxins using a microplate method. **Letters in Applied Microbiology**, v. 20, p. 282-285, 1995.

SCHULTZ, P.A.; BEVER, J.D.; MORTON, J. *Acaulospora colossica* sp. nov. from an old field in North Carolina and morphological comparisons with similar species, *A. laevis* and *A. koskei*. **Mycology**, v. 91, p. 676-683, 1999.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. **Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC/ABEAS; Lavras: ESAL/FAEPE, 1988. 236 p.

SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S.; SANTOS, J. G. D. dos; SCHNEIDER, J.; CARNEIRO, M. A. C. Micorrizas e degradação do solo: caracterização, efeitos e ação recuperadora. **Tópicos em Ciência do Solo**, v. 5, p. 219-306, 2007.

SILVA FILHO, G. N. **Solubilização de fosfatos pela microbiota do solo**. 1998. Tese. (Doutorado em Agronomia– Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SILVA FILHO, G. N.; VIDOR, C. Solubilização de fosfatos por microrganismos na presença de fontes de carbono. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 311-329, 2000.

SILVA, G. A.; MAIA, L. C.; SILVA, F. S. B. da.; LIMA, P. C. F. Potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares oriundos de área de caatinga nativa e degradada por mineração, no Estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, p. 135-143, 2001.

SILVA FILHO, G. N.; NARLOCH, C.; SCHARF, R. Solubilização de fosfatos naturais por microrganismos isolados de cultivos de Pinus e Eucalyptus de Santa Catarina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 847-854, 2002.

SOBRAL, J. K. **A comunidade bacteriana endofítica e epifítica de soja (*Glycine max*) e estudo da interação endófitos-planta**. 2003. 108p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2003.

SONDEGAARD, T. E.; SCHULZA, A.; PALMGREN, M. G. Energization of transport processes in plants. Roles of plasma membrane H⁺-ATPase. **Plant Physiology**, v. 136, p. 2475-2482, 2004.

SOUCHIE, E. L.; AZCÓN, R.; BAREA, J. M.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J.; SILVA, E. M. R. Solubilização de fosfatos em meios sólido e líquido por bactérias e fungos do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, p.1149-1152, 2005.

SOUZA, R. G.; MAIA, L. C.; SALES, M. F.; TRUFEM, S. F. B Diversidade e potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares em área de caatinga, na Região de Xingó, Estado de Alagoas, Brasil, **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, p.49-60, 2003.

STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. **Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Brazilian ecosystems**. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Ed.). Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems. Wallingford: CABI-Pub., 2006. p. 206-236.

SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; LA TORRACA, S.; MAGALHÃES, F. M. M.; OLIVEIRA, L. A.; PEREIRA, R. M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfato na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. **Acta Amazonica**, v. 12, p. 15-22, 1982.

TÓTOLA, M. R.; CHAER, G. M. **Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos**. In: ALVAREZ, V. V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R.; BARROS, N. F.; MELLO, J. W. V.; COSTA, L. M. (Eds). Tópicos em Ciência do Solo, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2002. v. 2, p. 196-276.

CAPÍTULO 2

INOCULAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E MICRORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATO NA FASE INICIAL DO DESENVOLVIMENTO DE SOJA EM CASA DE VEGETAÇÃO

Resumo: Vários grupos de microrganismos rizosféricos possuem a capacidade de associação e disponibilização de elementos essenciais ao crescimento vegetal. Entre esses microrganismos, destacam-se fungos micorrízicos arbusculares (FMA), microrganismos solubilizadores de fosfato (MSF) e rizóbios. Com este trabalho objetivou-se avaliar o efeito da inoculação de FMA e de MSF na cultura da soja. O experimento foi conduzido em casa de vegetação (vasos de polietileno de 8L), com solo coletado na profundidade de 40 - 60 cm. Este foi peneirado, sua acidez corrigida com calcário dolomítico e feita a semeadura do cultivar de soja AS 3421 YG. O delineamento experimental adotado foi inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial 3x2 (três tratamentos de inoculação de MSF: inoculação do isolado FSF1, inoculação de FSF1+BSF1 e controle não inoculado com MSF), na presença e ausência de FMA, com quatro repetições. O tratamento controle consistiu na ausência e presença de FMA e ausência de inoculação de MSF. Após a germinação, foi realizado desbaste, deixando quatro plantas por vaso. Aos 35 dias após a emergência, foi coletada uma planta de cada repetição determinando o número de nódulos, massa seca de parte aérea, de nódulos e colonização micorrízica das raízes. A massa seca dos nódulos da soja com e sem FMA foram estatisticamente semelhantes comparada às plantas controle. Não foi verificado efeito dos tratamentos de inoculação de solubilizadores de fosfato (FSF, FSF1+BSF1 e controle não inoculado) e, tampouco, da inoculação com o FMA *Glomus etunicatum*, avaliando a massa seca de parte aérea e de nódulos. Porém, a inoculação com o FMA *Glomus etunicatum* incrementou o número de nódulos de soja, independente do tratamento de inoculação de isolados solubilizadores de P.

Palavras-chave: rizosfera, promoção do crescimento vegetal, interação microbiana.

Abstract: Many groups of rhizospheric microorganisms are able to associate and providing essential elements to plant growth. Among those microorganisms stand out the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), phosphate solubilizing microorganisms (PSM) and rhizobium. This work aimed to evaluate the effect of AMF and PSM inoculation in soybean. The trial was carried out under greenhouse conditions (polyethylene pots), with soil collected in the depth of 40-60 cm. The soil was sieved and its acidity was corrected with dolomitic limestone. The soybean sown was AS 3421 YG. The experimental design was completely randomized in a factorial design 3x2 (three PSM inoculation treatments: inoculation of the isolate FSF1; inoculation of FSF1+BSF1 and control without inoculation of PSM), in the presence and absence of AMF, with four replicates. The control consisted of absence and presence of AMF, and absence of PSM inoculation. After germination, the pots were thinned to four plants each. At 35 days after emergence, one plant of each replicate was harvested to determination of number of nodules, shoot and nodules dry matter, and mycorrhizal colonization of roots. The nodule dry matter with and without AMF were statistically similar to control. It was not verified effect of PSM inoculation treatments and neither of AMF *Glomus etunicatum* inoculation, when shoot and nodules dry matter were evaluated. However, the inoculation with *Glomus etunicatum* increased the number of nodules in soybean, independently of the inoculation of P-solubilizing isolates.

Keywords: rhizosphere, plant growth promotion, microbial interaction.

1. INTRODUÇÃO

A produção agrícola sustentável implica no desenvolvimento de novas tecnologias que minimizem os impactos ambientais negativos e reduzam as aplicações de insumos não renováveis, principalmente os fertilizantes fosfatados.

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é uma das culturas exigente em termos nutricionais, principalmente em relação à necessidade de nitrogênio (N) e fósforo (P). O fornecimento de N, no Brasil, é garantido exclusivamente pela fixação biológica de nitrogênio (FBN). Este processo é realizado, principalmente, por bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, que fornecem eficientemente N à planta de soja, podendo fornecer mais de 90% do N requerido pelas cultivares mais produtivas (HUNGRIA et al., 2005).

A FBN tem reduzido substancialmente os custos de produção na cultura da soja, conseqüentemente, gerando um aumento na competitividade dessa *commodity* no mercado internacional (HUNGRIA et al., 2005). A eficiência desse processo, especialmente em regiões tropicais, pode ser alterada por vários fatores edafoclimáticos, além das práticas de manejo do solo adotadas e o tratamento de sementes com fungicidas, antes da inoculação (HUNGRIA et al., 2007; CAMPO et al., 2009; ZILLI et al., 2009).

Estudos para maximizar a eficiência da FBN são uma das formas para aumentar a produtividade da cultura da soja (FRANCO et al., 2002). A FBN, em outras culturas, como o feijão caupi, tem sido relatada como estratégica para dispensar o uso de fertilizantes nitrogenados e garantir a obtenção de altos rendimentos (RUMJANEK et al., 2005).

Atualmente, pesquisas focadas no efeito de grupos microbianos em culturas de interesse agrônômico, têm atingido relevância crescente no cenário da agricultura tropical, já que possuem papel fundamental na manutenção da fertilidade dos solos agrícolas e maximização da sustentabilidade dos agrossistemas. Entre os componentes da microbiota do solo, merecem destaque aqueles que formam associações mutualistas com as raízes, como os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), que desempenham funções relevantes para incrementar a nutrição, o desenvolvimento e a produção vegetal

(PARNISKE, 2008). A associação micorrízica contribui para o aumento da absorção de nutrientes, favorece a colonização de outros microrganismos benéficos (fixadores de nitrogênio e solubilizadores de fosfato), ameniza os efeitos de mudanças de pH e concentração de metais pesados em ambientes degradados. Além disso, exerce papel não-nutricional com o acúmulo de substâncias promotoras de crescimento vegetal, aumento da tolerância a estresses e fitotoxidez, redução de danos causados por patógenos, agregação do solo e produção de substâncias bioativas (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006; SIQUEIRA et al., 2007).

Outro grupo de microrganismos do solo de alto interesse agrônômico são os solubilizadores de fosfatos, que possuem a capacidade de solubilizar P a partir de rochas insolúveis ou mesmo daquele adicionado ao solo, mas presente na forma não lábil. A inoculação de tais microrganismos traduz-se em uma maneira promissora para reduzir as adubações fosfatadas, custos de produção e, conseqüentemente, minimizar a poluição ambiental. A solubilização microbiológica de fosfatos está relacionada à redução do pH e/ou à produção de ácidos orgânicos (CEREZINI et al., 2009; STEINER et al., 2009).

De acordo com Vessey (2003), a co-inoculação de microrganismos solubilizadores de fosfatos e rizóbio, pode incrementar a disponibilidade de P e N e favorecer o desenvolvimento de espécies vegetais. Além disso, estirpes de rizóbio, também capazes de solubilizar P, podem aumentar o crescimento vegetal pelo aumento da eficiência da fixação biológica do nitrogênio.

A utilização das simbioses entre plantas e microrganismos de interesse na agricultura tem crescido, porém, pouco ainda é conhecido sobre as diferentes práticas agrícolas podem selecionar simbioses com comportamento parasítico ou mutualista nos sistemas de produção, e até mesmo suas interações (KIERS et al., 2002).

Atualmente, há carência de estudos focados ao efeito de microrganismos benéficos (rizóbio, FMA e solubilizadores de fosfato) em sistemas agrícolas na região do Cerrado brasileiro. Esta região é, atualmente, uma das mais importantes na geração de divisas, em nível nacional, por sua pujante produção agrícola. Entretanto, no modelo agrícola, dominante nesta região, a dependência por fertilizantes solúveis é alta, principalmente os fosfatados, o que onera o custo de produção das lavouras.

Desta forma, estudos sobre a ocorrência e o efeito de FMA e sua interação com outros microrganismos benéficos em culturas comumente utilizadas nesta região, como a soja, tornam-se estratégicos para racionalizar o uso destes fertilizantes e,

consequentemente, reduzir o custo de produção agrícola. Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da inoculação de microrganismos solubilizadores de fosfato e de FMA na cultura da soja, em casa de vegetação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do IF Goiano – Câmpus Rio Verde, GO. Foram utilizados 24 vasos de polietileno (capacidade para 8L), contendo solo não esterilizado, pertencente à classe Latossolo Vermelho distroférico, coletado na profundidade entre 40 e 60 cm na área de Preservação Permanente (Cerrado nativo) da instituição. Este foi peneirado (malha de 4,0 mm) e, aleatoriamente, coletas amostras para análise química e física (Tabela 1). Nestas mesmas amostras, foi determinada a densidade de esporos de FMA e identificadas as possíveis espécies presentes. Com base na análise química do solo, foi feita calagem (calcário dolomítico), utilizando uma betoneira para a incorporação total do calcário (50 g de calcário por vaso).

Tabela 1. Análise física e química de um Latossolo Vermelho distroférico, coletado na área de preservação permanente do IF Goiano – Câmpus Rio Verde, GO.

Análise Física										
-----Textura (g kg ⁻¹) -----										
Argila			Silte				Areia			
463,9			173,8				362,3			
Análise Química										
pH	P	K ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	H+Al	S	T	V%	Al ⁺⁺⁺	Matéria
(em água)	mg dm ⁻³	-----mmol dm ⁻³ -----								Orgânica
6,1	38,7	8,2	44,4	16,0	57,8	68,6	126,3	54,3	0,0	34,9

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3x2 (três tratamentos de inoculação de MSF: inoculação do isolado FSF1,

inoculação de FSF1+BSF1 e controle não inoculado com MSF), na presença e ausência de FMA, com quatro repetições. O tratamento controle de MSF consistiu na ausência e presença de FMA e ausência de inoculação de MSF. A espécie de FMA inoculada (5 g vaso⁻¹, adicionados logo abaixo das sementes, na semeadura) foi *Glomus etunicatum*, procedente da coleção do Laboratório de Solos da Universidade Federal de Goiás – Câmpus Jataí. Já os isolados de MSF foram obtidos de solos do Sudoeste Goiano, submetidos a diferentes sistemas de manejo, descritos no Capítulo 1.

O cultivar de soja utilizado foi AS 3421 YG. Antes do plantio, todas as sementes foram tratadas com Standak Top (120 mL ha⁻¹) e inoculadas com as estirpes de rizóbio *Bradyrhizobium elkanii* (semia 587) e *Bradyrhizobium japonicum* (semia 5079), na concentração de $5,0 \times 10^9$ UFC mL⁻¹, aplicando-se 2 mL kg de semente⁻¹. Os vasos foram semeados e, após a germinação das sementes, as plantas foram desbastadas, mantendo-se quatro plantas por vaso.

Cinco dias após a emergência das plântulas, foi feita a inoculação com os tratamentos de MSF. Para tanto, estes foram cultivados em meio líquido GL (SYLVESTER-BRADLEY et al., 1982), sob agitação constante (90 rpm), com o auxílio de agitador orbital – Shaker (Nova Técnica NT 712), por 24h (isolado bacteriano BSF1) e 72h (isolado fúngico FSF1), a 30 °C. Para a inoculação destes isolados, pipetou-se, no orifício de transplante, 1 mL de meio líquido GL contendo o equivalente a $1,55 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ de cada cultura.

Aos 35 dias após a emergência, foi coletada uma planta de cada repetição, para a determinação do número e massa seca de nódulos, massa seca de parte aérea e colonização micorrízica das raízes. As raízes foram separadas da parte aérea, lavadas em água corrente e, com o auxílio de uma peneira, os nódulos foram destacados, contados e acondicionados em sacos de papel, separados das raízes, antes de serem levados à estufa de ventilação forçada (65 °C, por 48h). A parte aérea também foi levada à estufa para determinação de sua massa seca, de forma similar às raízes.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott (5%), utilizando o programa SAEG, versão 9.1 (SAEG, 2007).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi verificado efeito dos tratamentos de inoculação de solubilizadores de fosfato (FSF, FSF1+BSF1 e controle não inoculado) e, tampouco, da inoculação com o FMA, avaliando-se a massa seca de parte aérea e massa de nódulos (Tabela 2). Entretanto, avaliando-se o número de nódulos, a inoculação com o FMA resultou em incremento desta variável, independente do tratamento de inoculação de isolados solubilizadores de P (Tabela 2). Nogueira et al. (2005) evidenciaram que a produção de massa seca de parte aérea de soja, teve efeito positivo dos tratamentos de inoculação com FMA, apenas aos 60 e 90 dias após a emergência das plântulas.

Tabela 2 – Massa seca de parte aérea e de nódulos e número de nódulos de soja cultivada em casa de vegetação, aos 35 dias após a emergência, inoculada com isolados solubilizadores de fosfato (BSF1 e FSF1), na presença e ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA), em Rio Verde, GO.

	Massa seca de parte aérea (g planta ⁻¹)		Massa seca de nódulos (mg planta ⁻¹)*		Número de nódulos por planta*	
	Com inoculação de FMA	Sem inoculação de FMA	Com inoculação de FMA	Sem inoculação de FMA	Com inoculação de FMA	Sem inoculação de FMA
Controle	0,38 Aa	0,21 Aa	5,2 Aa	4,0 Aa	12 Aa	6 Ab
FSF 1	0,43 Aa	0,40 Aa	8,0 Aa	6,1 Aa	14 Aa	9 Ab
FSF1+BSF1	0,46 Aa	0,43 Aa	8,5 Aa	9,3 Aa	17 Aa	12 Ab
CV (%)	48,6		55,5		49,1	

Médias seguidas de mesma letra, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (5%). *Dados transformados: Raiz quadrada de $Y + 0.5 - \text{SQRT}(Y + 0.5)$

Bethlenfalvay et al. (1982) observaram inibição inicial de crescimento de soja, o que foi atribuído a uma demanda de carboidratos pelo FMA, numa fase em que a relação parte aérea/raiz e a capacidade fotossintética do hospedeiro eram baixas.

Segundo Jakobsen (1995), pode-se observar depressão transitória de crescimento nas primeiras fases da colonização em plantas com reservas limitadas de carbono.

Os resultados do presente trabalho apontam que a inoculação do FMA *Glomus etunicatum*, traduz-se numa estratégia para incrementar a nodulação e favorecer a FBN na cultura da soja. Os efeitos positivos dos FMA sobre o crescimento e a nodulação de plantas leguminosas já são bem conhecidos (BAREA & AZCÓN-AGUILAR, 1983; CARDOSO, 1985; CARDOSO, 1986; SILVEIRA & CARDOSO, 1987; GUZMAN-PLAZOLA & FERRERA-CERRATO, 1990). As espécies *Acacia mangium* e *Acacia auriculiformis* (DELACRUZ et al., 1988), *Albizia lebeck* (FARIA et al., 1995), *Centrolobium tomentosum* (MARQUES et al., 2001) e *Anadenanthera peregrina* (GROSS et al., 2004) são exemplos de algumas leguminosas que tiveram seu desenvolvimento e nodulação maximizados, quando inoculadas com FMA. A FBN é um processo altamente exigente em energia, na forma de ATP, para a planta. Assim, o adequado suprimento de P, ampliado pelos FMA, favorece o investimento na nodulação (BAREA & AZCÓN-AGUILAR, 1983; BAREA et al., 1992).

No Brasil, a produção de inoculante de FMA ainda é embrionária, o que torna essa área da pesquisa para produção e comercialização deste tipo de inoculante muito promissora. Atualmente, a produção de inóculo de FMA se concentra em universidades e instituições de pesquisa onde a estrutura e as tecnologias utilizadas desafiam os pesquisadores a uma produção em escala comercial. A produção de inoculantes micorrízicos normalmente utiliza a multiplicação de FMA em vasos, com os mais variados tipos de plantas hospedeiras, gramíneas em sua maioria, sendo cultivadas em substratos ou misturas de substratos (areia, solo, vermiculita, turfa, entre outros) (GIANINAZZI & VOSÁTKA, 2004).

Como os FMA são organismos benéficos para os vegetais e, portanto, de grande interesse agrônomo, devem ser produzidos em larga escala, a fim de possibilitar a sua aplicação e a conseqüente redução dos insumos agrícolas (BAGYARAJ & REDDY, 2005). Entretanto, considerando que: a) os FMA formam simbiose com mais de 80% das espécies vegetais existentes, incluída a soja; b) são comumente encontrados nos solos submetidos às diversas técnicas de manejo agrícola; c) geralmente não é observado efeito da inoculação de FMA em solo superficial (0-30 cm) não esterilizado, cultivado com plantas diversas; d) que os FMA exigem, para sua multiplicação, um hospedeiro vegetal vivo, o que dificulta a produção de inoculante; e)

a cultura da soja é a que ocupa a maior área plantada no mundo, não se justificam estudos visando comprovar a importância da inoculação de FMA nesta cultura, mas sim, estudos que indiquem as melhores práticas de manejo agrícola a serem adotadas para esta cultura, a fim de maximizar a diversidade e a eficiência simbiótica de FMA, aliada à inoculação com rizóbios. Ao contrário, a produção de inoculante de MSF é mais fácil que a de FMA e a inoculação de MSF pode maximizar o sinergismo entre FMA e/ou rizóbios, além de incrementar a nutrição e o desenvolvimento vegetal (SOUCHIE et al., 2006; WANI et al., 2007; AFZAL & BANO, 2008; ADITYA et al., 2009). A inoculação de MSF já é amplamente adotada em culturas de larga escala (trigo, soja, milho, beterraba, arroz etc), em países como Canadá, Estados Unidos, Argentina, Rússia e Austrália, resultando em incremento de sua nutrição e produtividade. Entretanto, em países de clima tropical, como o Brasil, tal prática ainda não foi adotada e justificam-se mais estudos para seleção e uso de isolados com alto potencial de solubilização de P e alta capacidade de estabelecimento na rizosfera os quais, combinados com outros grupos microbianos benéficos às plantas, como rizóbio e FMA, maximizem o benefício às culturas de interesse agrônômico e reduzam custos com adubação.

4. CONCLUSÕES

- Não se verifica efeito dos tratamentos de inoculação de solubilizadores de fosfato (FSF, FSF1+BSF1 e controle não inoculado) e, tampouco, da inoculação com o FMA *Glomus etunicatum*, avaliando-se a massa seca de parte aérea e dos nódulos.
- A inoculação com o FMA *Glomus etunicatum* incrementou o número de nódulos de soja, independente do tratamento de inoculação de isolados solubilizadores de P.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADITYA, B.; GHOSH, A.; CHATTOPADHYAY, D. Co-inoculation effects of nitrogen fixing and phosphate solubilising microorganisms on teak (*Tectona grandis*) and indian redwood (*Chukrasia tubularis*). **Journal of Biological Sciences**, v. 1, p. 23-32, 2009.

AFZAL, A.; BANO, A. *Rhizobium* and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.). **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 10, p. 85-88, 2008.

BAGYARAJ, D. J.; REDDY, B. J. D. **Application of arbuscular mycorrhizal fungi in horticulture**. In: MEHROTRA, V.S. (Ed). Mycorrhiza: role and applications. New Dehli: Allied Publisher, 2005. p. 237-254.

BAREA, J. M.; AZCÓN-AGUILAR, C. Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogenfixing plants. **Advances in Agronomy**, v. 36, p. 1-54, 1983.

BAREA, J. M. et al. **Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in nitrogen fixing systems**. In: NORRIS, J. R.; READ, D. J.; VARMA, A. K. (Eds.). Methods in microbiology: Techniques for the study of Mycorrhizae. London: Academic Press, 1992. v. 24. p. 391-416.

BETHLENFALVAY, G. J.; BROWN, M. S.; PACOVSKY, R. S. Parasitic and mutualistic associations between a mycorrhizal fungus and soybean: development of the host plant. **Phytopathology**, v. 72, p. 889-893, 1982.

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. Eficiência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em soja, com *Rhizobium japonicum* e fosfato de rocha, em função do tipo de solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 10, p. 17-23, 1986.

CARNEIRO, M. A. C. et al. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas nativas de ocorrência no sudeste do Brasil. **Cerne**, v. 4, p. 129-145, 1998.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras – Recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: Embrapa – CNPF/SPI, 1994. 640p.

CEREZINI, P.; MILANI, K. M. L.; BALOTA, E. L. Seleção de microrganismos solubilizadores de fosfato. **Synergismus Scyentifica**, v. 4, p. 1-3, 2009.

DELA CRUZ, R. E. et al. Growth of trees inoculated with VA mycorrhizal fungi and *Rhizobium*. **Plant and Soil**, v. 108, p. 111-115, 1988.

FARIA, M. P. et al. Crescimento de leguminosas arbóreas em resposta a fósforo, nitrogênio, fungo micorrízico e rizóbio. I. *Albizia lebbek* (L.) Benth. **Revista Árvore**, v. 19, p. 293-307, 1995.

FRANCO, M. C. et al. Nodulação em cultivares de feijão dos conjuntos gênicos andino e mesoamericano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 1145-1150, 2002.

GIANINAZZI, S.; VOSÁTKA, M. Inoculum of arbuscular mycorrhizal fungi for production systems: science meets business. **Canadian Journal of Botany**, v. 82, p. 1264-1271, 2004.

GUZMAN-PLAZOLA, R. A.; FERRERA-CERRATO, R. **La endomicorriza vesiculoarbuscular en las leguminosas**. Montecillo: Colegio de Post graduados, 1990. 122p.

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, p. 95-101, 2004.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; GRAHAM, P. H. **The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America**. In: WERNER, D. & NEWTON, W.E., eds. Nitrogen fixation in agriculture, forestry, ecology and the environment. Amsterdam: Springer-Verlag, 2005. p. 25-42.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80p. (Embrapa Soja. Documentos, 283).

JAKOBSEN, I. **Transport of phosphorus and carbon in VA mycorrhizas**. In: VARMA, A.; HOCK, B. (Eds). Mycorrhiza: structure, function, molecular biology and biotechnology. Berlin: Springer-Verlag, 1995. p. 297-324.

KIERS, E. T.; WEST, S. A.; DENISON, R. F. Mediating mutualisms: farm management practices and evolutionary changes in symbiont co-operation. **Journal of Applied Ecology**, v. 39, p. 745–54, 2002.

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, p. 107–117, 2001.

MOREIRA, F. M. de S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2006. 729p.

NOGUEIRA, M. A.; CARDOSO, E. J. B. N. Dependência de micorrizas para a nodulação de leguminosas arbóreas tropicais **Revista Árvore**, v. 29, p.545-552, 2005.

PARNISKE, M. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6, p. 763-775, 2008.

RUMJANEK, N. G.; MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; NEVES, M. C. P. **Fixação Biológica de Nitrogênio**. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; SILVA, P. H. S.; VIANA, F. M. P. (Org.). Feijão caupi: avanços tecnológicos. p. 281-335, 2005.

SAEG. **Sistema para Análises Estatísticas**, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S.; SANTOS, J. G. D. dos; SCHNEIDER, J.; CARNEIRO, M. A. C. Micorrizas e degradação do solo: caracterização, efeitos e ação recuperadora. **Tópicos em Ciência do Solo**, v. 5, p. 219-306, 2007.

SOUCHIE, E. L.; AZCÓN, R.; BAREA, J. M.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J. SILVA, E. M. R. da. Phosphate solubilization and synergism between P-solubilizing and arbuscular mycorrhizal fungi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 1405-1411, 2006.

STEINER, F.; LANA, M. do C.; FRANDOLOSO, J. F.; FEY, R.; ZOZ, T. Fosfato de Gafsa e fungos solubilizadores de fosfato e seus efeitos na cultura do trigo. **Cultivando o Saber**, v. 2, p. 156-164, 2009.

SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASKAWA, N.; LATORRACA, S.; MAGALHÃES, F. M. M.; OLIVEIRA, L. A.; PEREIRA, R. M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfato na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. **Acta Amazonica**, v. 12, p. 12-22, 1982.

WANI, P. A.; KHAN, M. S.; ZAIDI, A. Synergistic effects of the inoculation with nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing rhizobacteria on the performance of field-grown chickpea. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 170, p. 283-287, 2007.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v. 255, p. 571-586, 2003.

ZILLI, J. E. et al. Contribuição de estirpes de rizóbio para o desenvolvimento e produtividade de grãos de feijão-caupi em Roraima. **Acta Amazonica**, v. 39, p. 749-758, 2009.

CAPÍTULO 3

DOSES DE CALCÁRIO E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NA CULTURA DA SOJA

RESUMO - Estudos sobre a comunidade de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e suas interações com doses crescentes de calcário são requisitos básicos para a adoção de estratégias para efetiva correção da acidez do solo, favorecimento deste grupo microbiano e da nutrição, desenvolvimento e produtividade da cultura da soja. Com este trabalho, objetivou-se avaliar o efeito de doses crescentes de calcário na ocorrência, densidade de esporos e colonização por fungos micorrízicos arbusculares (FMA), na cultura da soja, cultivada em campo. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, contendo quatro doses crescentes de calcário (1,2; 1,8; 2,6 e 3,9 Mg ha⁻¹), com quatro repetições. Tais doses corresponderam a 46, 70, 100 e 150% da recomendação de calagem para a efetiva correção da acidez. Aos 35 dias após a emergência (DAE), foi avaliada a massa seca de parte aérea, de raízes, bem como a massa seca e número de nódulos. Na colheita, 100 dias após a emergência, foram avaliadas: altura, massa fresca e seca de parte aérea, massa fresca, seca, volume e extensão de raízes, massa fresca, seca e número de nódulos, produtividade de grãos a 13% de umidade, densidade de esporos, percentual de colonização e ocorrência de FMA. Aos 35 DAE, não se verifica efeito das doses crescentes de calcário, avaliando a massa seca das raízes e de parte aérea, bem como a massa seca e número de nódulos. Aos 100 DAE, não se verifica efeito das doses de calcário na altura, massa fresca e seca de parte aérea e radicular e no número de vagens por plantas de soja. Observa-se efeito positivo das doses de calcário 1,2 e 2,6 Mg ha⁻¹ no volume e extensão radicular e na densidade de esporos de FMA, com a adição de 2,6 e 3,9 Mg ha⁻¹ de calcário. A produtividade de grãos é favorecida com a aplicação de 2,6 Mg ha⁻¹ comparada às demais doses de calcário testadas.

Palavras-chave – calagem, manejo de solo, simbiose micorrízica.

ABSTRACT - Studies on the community of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and its interactions with increasing doses of limestone are basic requirements for the adoption of effective strategies for soil acidity correction, this microbial group favoritism and nutrition, soybean development and yield. This work aimed to evaluate the effect of increasing doses of limestone in the occurrence of spores and colonization by mycorrhizal fungi (AMF) on soybeans grown in the field. The experimental design was randomized blocks, with four increasing doses of limestone (1.2, 1.8, 2.6 and 3.9 Mg ha⁻¹) with four replications. These doses corresponded to 46, 70, 100 and 150% of liming for effective correction of soil acidity. At 35 days after emergence (DAE) were evaluated the dry mass of shoots, roots, and dry mass and number of nodules. At harvest, 100 DAE were evaluated: height, fresh and dry weight of shoot, fresh weight, dry, volume and length of roots, fresh, dry, and number of nodules, grain yield at 13% moisture content, density spores, percentage of colonization and AMF occurrence. At 35 DAE, there is no effect of increasing doses of lime, to evaluate the dry mass of roots and shoots, and dry mass and number of nodules. At 100 DAE, there is no effect of lime doses at height, fresh and dry mass of root and shoot and in the number of pods per soybean plant. It is observed positive effect of limestone doses 1.2 and 2.6 Mg ha⁻¹ in volume and root length and in density of AMF spores with the addition of 2.6 and 3.9 Mg ha⁻¹ of limestone. The yield is favored by the application of 2.6 Mg ha⁻¹ compared to the other limestone evaluated doses.

Key words - liming, soil management, mycorrhizal symbiosis

1. INTRODUÇÃO

A exploração dos solos da região do Cerrado brasileiro tem aumentado consideravelmente a partir da década de 1970. Esses solos, naturalmente, possuem elevada acidez, o que desfavorece a produtividade das culturas de interesse agrônomo. O calcário atua reduzindo a acidez superficial do solo, elevando seu pH e, conseqüentemente, favorecendo a disponibilização de nutrientes na solução do solo e o desenvolvimento vegetal de culturas de interesse econômico, como a soja (*Glycine max* L. Merrill) (SOUZA et al., 2007). Deste modo, a calagem é prática comum adotada na maioria dos solos brasileiros (CHAVES & FARIAS, 2008).

A calagem é a prática mais comumente utilizada pelos produtores para neutralizar a acidez, aumentar a disponibilidade de nutrientes, diminuir o teor de elementos tóxicos, melhorar o ambiente radicular e restaurar a capacidade produtiva dos solos (CAIRES et al., 2005). Assim, a calagem fornece retornos em relação ao custo de produção que geralmente são elevados pelas aplicações de insumos agrícolas para sanar deficiência dos solos por nutrientes.

O efeito da calagem em aumentar o pH, também favorece a atividade de diversos grupos microbianos (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) representam um dos principais componentes da microbiota do solo, na maioria dos agroecossistemas. Esses simbioses mutualistas obrigatórios, pertencentes ao filo Glomeromycota, possuem alta relevância na maximização do uso de nutrientes, principalmente do fósforo (P), cobre (Cu) e zinco (Zn) (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). As hifas extraradiculares dos FMA desempenham um papel fundamental na formação de agregados por meio da exsudação de glomalina, uma glicoproteína cuja função é cimentar as partículas do solo (KABIR, 2005), melhorando, portanto, suas características físicas e, conseqüentemente, o desenvolvimento e produtividade vegetal.

Sistemas de manejo do solo que impactam negativamente a comunidade de FMA podem ter conseqüências drásticas a médio e longo prazo, reduzindo sua capacidade de produção e sustentabilidade (ALGUACIL et al., 2008).

Estudos sobre a comunidade de FMA e suas interações com doses crescentes de calcário são requisitos básicos para a adoção de estratégias para efetiva correção da acidez do solo, favorecimento deste grupo microbiano e da nutrição, desenvolvimento e produtividade da cultura da soja. Com este trabalho, objetivou-se avaliar o efeito de doses crescentes de calcário na ocorrência, densidade de esporos e colonização por FMA na cultura da soja, cultivada em campo sob sistema convencional.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Paineiras, situada a 42 km da cidade de Rio Verde, GO, em uma área localizada 51° 00' 576'' de longitude Oeste e 18° 07' 997'' de latitude Sul, com altitude de 750 m. Antes da implantação do experimento, amostras de solo foram coletadas (0-20 cm), aleatoriamente, totalizando 15 amostras simples para formação de uma amostra composta, para análise física e química. Essa análise indicou: argila (24,3%), areia (67,6%), pH em água = 5,5 e P (mg dm⁻³) = 4,2.

Em 1978, a área experimental era composta por mata nativa, ao final do mesmo ano a mata nativa foi retirada para a implantação da cultura de arroz. Após a colheita do arroz, ainda em 1978, foi semeada *Brachiaria decumbens* e *B. ruziziensis* para a formação de pastagem. Entre 1995 e 1998 a área foi arada para a implantação da cultura de banana cultivar *Pacovan*. De 1998 a 2006 foi semeada *Brachiaria decumbens* e *B. ruziziensis* para a formação de pastagem. No final de 2006, a área foi arada e deixada em pousio, até a implantação deste experimento.

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, contendo quatro doses crescentes de calcário (1,2; 1,8; 2,6 e 3,9 Mg ha⁻¹), com quatro repetições. Tais doses corresponderam a 46, 70, 100 e 150% da recomendação de calagem para a efetiva correção da acidez. Cada parcela tinha 24 m² (4 m de largura x 6 m de comprimento) (Figura 1, Anexo). A calagem foi realizada em 27 de outubro de 2011 (Figura 2, Anexo).

O preparo do solo foi realizado por meio de uma gradagem. A semeadura foi realizada mecanicamente, em 10 novembro de 2011, com espaçamento de 0,45 m entre linhas e 18 sementes por metro linear. Foi utilizado o cultivar de soja MSoy 7639 RR. Antes do plantio, todas as sementes foram tratadas com Standak Top (120 mL ha⁻¹) e inoculadas com as estirpes de *Bradyrhizobium elkanii* (semia 587) e *Bradyrhizobium japonicum* (semia 5079), na concentração de 5,0 x 10⁹ UFC mL⁻¹, aplicando-se 2 mL kg de semente⁻¹. Como adubação de semeadura, foi adicionada 250 kg ha⁻¹ do fertilizante granulado 0-44-20.

O manejo da cultura consistiu em diferentes épocas de pulverização de defensivos: 30 dias após a emergência (DAE) (herbicida Roundup[®] - 200 mL 20 L⁻¹ água e inseticida Imunit[®] - 16 mL 20 L⁻¹ água + Premio[®] - 7 mL 20 L⁻¹ água); 73 DAE (inseticidas Imunit[®] 16 mL 20 L⁻¹ água + Engeo Pleno[®] e fungicida Ópera[®] - 100 mL 20 L⁻¹ água).

Aos 35 DAE, cinco plantas das duas linhas centrais de cada parcela foram coletadas aleatoriamente e avaliadas quanto à produção de massa seca de parte aérea, de raízes, de nódulos e número de nódulos.

Na colheita, 100 DAE, foram avaliadas: altura, massa fresca e seca de parte aérea, massa fresca, seca, volume e extensão de raízes, massa fresca, seca e número de nódulos, produtividade de grãos a 13% de umidade, densidade de esporos, percentual de colonização e ocorrência de FMA.

Para avaliar as características das plantas, foram coletadas 10 plantas em cada parcela (cinco por linha, nas duas linhas centrais). Similarmente, para a determinação da densidade de esporos de FMA, foram coletadas 10 amostras simples (0-10 cm) de cada parcela. Para esta análise, foram utilizados 50 g de solo, de onde os esporos dos FMA foram separados e coletados, seguindo uma associação de métodos de decantação e peneiramento úmido (GERDEMANN & NICOLSON, 1963) e de centrifugação e flutuação com sacarose (JENKINS, 1964). A contagem dos esporos de FMA foi realizada usando uma placa de acrílico com anéis concêntricos, em microscópio estereoscópico (Figura 3, Anexo).

Para a determinação da porcentagem de colonização micorrízica, o sistema radicular foi lavado em água corrente e as amostras de raízes (1g por planta) armazenadas em álcool (70%). Posteriormente, estas amostras foram lavadas e cortadas no comprimento de 1 cm, clarificadas em KOH (10%), acidificadas com HCL (1%) a 90 °C, coloridas com azul de tripano (0,05%) e preservadas em lactoglicerol (PHILLIPS; HAYMAN, 1970). Para a obtenção da porcentagem de segmentos colonizados foi realizada contagem em placa quadriculada, em que 100 segmentos foram avaliados, por tratamento, em microscópio estereoscópico (GIOVANETTI; MOSSE, 1980).

A massa seca de parte aérea, de raízes e de nódulos foi obtida após secagem em estufa de ventilação forçada (65 °C, por 48h). O volume radicular foi determinado, introduzindo-se as raízes em provetas que continham 90 mL d'água (Figura 4, Anexo) e observação da diferença, no referido volume. O método utilizado na determinação do

comprimento do sistema radicular foi o de interseção (TENNANT, 1975). Para tanto, as raízes, após lavadas, foram sobrepostas e prensadas em folhas de papel e deixadas em estufa a 65 °C, por 48h. Em seguida, com o auxílio de uma transparência com quadrículos de 1 cm², foi feita a contagem de interseções e empregados nas seguintes equações:

$$\mathbf{R = n/4 * N * G}$$

Em que R = comprimento das raízes (cm); n = π ; N = número de interseções; e G = unidade da malha (cm).

Para avaliar a produtividade de grãos de soja (kg ha⁻¹), foram colhidas, aos 120 DAE, as seis linhas centrais, desprezando-se 1m de cada extremidade. Em seguida a soja foi trilhada.

Os dados obtidos aos 35, 100 e 120 DAE, foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott (5%), utilizando o programa SAEG, versão 9.1 (SAEG, 2007).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos 35 DAE, não foi verificado efeito para as doses crescentes de calcário, avaliando-se a massa seca das raízes e de parte aérea (Tabela 1), massa seca e número de nódulos (Tabela 2).

Tabela 1. Massa seca de raízes e de parte aérea de plantas de soja, aos 35 dias após a emergência, cultivada em campo, sob crescentes doses de calcário, em Rio Verde, GO. Dados transformados: (Raiz quadrada de $Y + 1.0 - \text{SQRT}(Y + 1.0)$)

Doses de calcário (Mg ha ⁻¹)	Massa seca de raízes (mg planta ⁻¹)	Massa seca de parte aérea (g planta ⁻¹)
1,2	369,4 a	2,2 a
1,8	304,0 a	1,7 a
2,6	357,0 a	2,1 a
3,9	353,8 a	1,9 a
CV (%)	11,8	13,5

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (5%).

Tabela 2. Massa seca e número de nódulos de plantas de soja, aos 35 dias após a emergência, cultivada em campo, sob crescentes doses de calcário, em Rio Verde, GO. Dados transformados: (Raiz quadrada de $Y + 1.0 - \text{SQRT}(Y + 1.0)$)

Doses de calcário (Mg ha ⁻¹)	Massa seca de nódulos (mg planta ⁻¹)	Número de nódulos por planta
1,2	25,7 a	4,8 a
1,8	26,1 a	5,2 a
2,6	30,3 a	6,4 a
3,9	46,9 a	8,7 a
CV (%)	44,7	38,7

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (5%).

Aos 100 DAE, não foi verificado efeito da adição de doses crescentes de calagem na altura, massa fresca e seca de parte aérea de soja (Tabela 3). Similarmente, não foi detectado efeito desses tratamentos de calagem, na massa fresca e seca radicular e no número de vagens por planta (Tabela 4).

Tabela 3. Altura, massa fresca e seca de parte aérea de plantas de soja, aos 100 dias após a emergência, cultivada em campo, sob doses crescentes de calcário, em Rio Verde, GO.

Doses de calcário (Mg ha ⁻¹)	Altura de parte aérea (cm planta ⁻¹)	Massa fresca de parte aérea (g planta ⁻¹)	Massa seca de parte aérea (g planta ⁻¹)
1,2	74,7 a	63,7 a	20,0 a
1,8	69,3 a	54,7 a	17,3 a
2,6	73,7 a	56,5 a	17,1 a
3,9	74,2 a	64,5 a	19,9 a
CV (%)	15,3	42,1	40,6

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (5%).

Tabela 4. Massa fresca e seca de raízes e número de vagens de plantas de soja, aos 100 dias após a emergência, cultivada em campo, sob doses crescentes de calcário, em Rio Verde, GO.

Doses de calcário (Mg ha ⁻¹)	Massa fresca radicular (g planta ⁻¹)	Massa seca radicular (g planta ⁻¹)	Número de vagens por planta
1,2	6,1 a	2,1 a	38,4 a
1,8	6,0 a	2,0 a	35,3 a
2,6	6,4 a	1,9 a	34,9 a
3,9	4,8 a	1,7 a	39,9 a
CV (%)	47,8	64,9	39,9

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (5%).

A adição de 1,2 e 2,6 Mg ha⁻¹ de calcário resultou, de forma similar, em incremento da massa fresca de nódulos (Tabela 5). Entretanto, não foi detectado efeito desses tratamentos no número e massa seca de nódulos (Tabela 5).

Tabela 5. Número, massa fresca e seca de nódulos de plantas de soja, aos 100 dias após a emergência, cultivada em campo, sob doses crescentes de calcário, em Rio Verde, GO.

Doses de calcário (Mg ha ⁻¹)	Número de nódulos por planta	Massa fresca de nódulos (g planta ⁻¹)	Massa seca de nódulos (g planta ⁻¹)
1,2	50,9 a	2,6 a	0,4 a
1,8	54,9 a	1,7 b	0,3 a
2,6	50,1 a	3,2 a	0,4 a
3,9	63,8 a	1,6 b	0,4 a
CV (%)	62,3	81,3	52,4

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (5%).

Foi verificado efeito dos tratamentos de doses crescentes de calcário no volume e extensão radicular e na densidade de esporos de FMA (Tabela 6). Similarmente à massa fresca de nódulos, foi verificado incremento do volume e extensão radicular, com a adição de 1,2 e 2,6 Mg ha⁻¹ de calcário (Tabela 6). Já nas parcelas que receberam de 2,6 e 3,9 Mg ha⁻¹ de calcário, foi detectada maior densidade de esporos de FMA (Tabela 6).

Miranda et al. (1997) mostram que a população de FMA nativos aumentou até a dose de 4 Mg ha⁻¹ de calcário aplicado em um solo glei pouco húmico, decrescendo nas doses mais elevadas. Sieverding (1991) observou similar decréscimo sugerindo a ocorrência de diferentes graus de sensibilidade à calagem, entre espécies de FMA, sendo que tal prática pode interferir também no número de espécies presentes no solo.

No presente estudo, a área escolhida para a implantação do experimento estava sob sistema de plantio convencional. Tal sistema, comparado ao sistema de plantio direto, é desfavorável à comunidade de FMA (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006; SCHNEIDER et al., 2011). O contínuo revolvimento do solo promove o rompimento da malha de hifas dos FMA. Ademais, a ausência de cobertura do solo (palhada), sua excessiva exposição à luz solar e a temperaturas elevadas, condições típicas de países tropicais, desfavorece a simbiose micorrízica. Segundo Furtini-Neto et al. (2004) e Moreira et al. (2010), a prática da calagem geralmente favorece a nodulação e a simbiose micorrízica em espécies de plantas leguminosas. Ainda segundo esses autores, em solos não corrigidos, com altos teores de Al³⁺ trocável, a calagem estimula a

formação de novas raízes, que são sítios preferidos para a formação micorrízica e nodulação.

Tabela 6. Volume, extensão radicular de plantas de soja e densidade de esporos de FMA, aos 100 dias após a emergência, cultivada em campo, sob doses crescentes de calcário, em Rio Verde, GO.

Doses de calcário (Mg ha ⁻¹)	Volume radicular (cm ³ planta ⁻¹)	Extensão radicular (cm planta ⁻¹)	Densidade de esporos de FMA (g solo seco ⁻¹)
1,2	6,3 a	5,0 a	59,6 b
1,8	5,6 b	4,4 b	49,6 b
2,6	6,7 a	5,3 a	106,9 a
3,9	5,4 b	4,2 b	108,1 a
CV (%)	39,3	39,4	38,0

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (5%).

A dose de calcário equivalente a 2,6 Mg ha⁻¹ de calcário foi a recomendada, com base na análise química do solo, para a correção de sua acidez. Nesta dose, foi constatado maior incremento das variáveis de crescimento, analisadas na cultura da soja. Os resultados também indicaram que não se justifica a adição de 3,9 Mg ha⁻¹ de calcário já que, nesta dose, as plantas tiveram desenvolvimento similar à dose de 1,2 Mg ha⁻¹ de calcário. A cultura da soja exige correção do pH do solo para garantir seu desenvolvimento e expressar, plenamente, seu potencial produtivo. Em solos ácidos, ocorre alta concentração de Al³⁺, que exerce efeito tóxico e indisponibilidade de P, Mo, Ca e Mg, nutrientes essenciais para garantir a nutrição e o desenvolvimento da cultura da soja, para o rizóbio e para a fixação do N₂ (GRAHAM et al., 1982). De acordo com Tanaka & Mascarenhas (1992) e Eichler et al. (1994), em teores de Al³⁺ trocável acima de 0,5 cmolc kg⁻¹, ocorrem efeitos tóxicos para a maioria das leguminosas, possivelmente por efeito negativo no desenvolvimento radicular, na sobrevivência do rizóbio e na colonização das raízes por FMA. Desta forma, torna-se necessária a correção do solo para neutraliza sua acidez, assim como aumentar a disponibilidade de nutrientes essenciais à cultura, o que geralmente incrementa a nodulação, a fixação biológica do N₂ e a produtividade da soja (TANAKA & MASCARENHAS, 1992).

Quanto à colonização micorrízica em soja sob doses crescentes de calcário, foram verificadas diferenças entre os tratamentos. Houve um aumento na colonização micorrízica quando se aplicou 2,6 Mg ha⁻¹ de calcário, a dose recomendada segundo a

análise de solo. Não foram verificadas diferenças entre as doses de 1,2, 1,8 e 3,9 Mg ha⁻¹ de calcário (Tabela 7).

Estudando a cultura do café, Andrade et al. (1995), em Latossolo roxo, no Paraná, observaram que a colonização micorrízica aumentou com a adição de calcário, e que os efeitos da calagem sobre a simbiose micorrízica não são claros porque, além de atuar diretamente sobre o fungo, a adição de calcário acarreta modificações químicas no solo que alteram o desenvolvimento da planta e da simbiose. Neste trabalho, a dose recomendada (2,6 Mg ha⁻¹) favoreceu uma maior porcentagem (58%) de colonização micorrízica (Tabela 7). Em certas plantas, baixas taxas de colonização micorrízica, como 5%, são suficientes para garantir bom desenvolvimento ao vegetal (KARANIKÁ et al., 2008).

Alguns fatores, além da calagem, podem influenciar a colonização micorrízica em plantas hospedeiras. Em estudos realizados foram demonstrados os efeitos negativos do preparo do solo nos FMA, sugerindo que isso decresce o rendimento da cultura, após o revolvimento do solo (COLOZZI-FILHO et al., 1999, KABIR, 2005, SOUZA et al., 2010). A espécie vegetal, a idade da planta, a densidade de raízes, dos propágulos de FMA no solo, pH, a concentração de nutrientes no solo, especialmente a alta disponibilidade de P entre outros são fatores determinantes na colonização micorrízica (MCGONIGLE, 2001). Especificamente, em condições de alta disponibilidade de nutrientes, especialmente de P, as plantas tendem a diminuir a colonização micorrízica (NOGUEIRA; CARDOSO, 2000; MOREIRA-SOUZA; CARDOSO, 2002; BALOTA et al., 2010).

Tabela 7. Colonização total de raízes de soja por FMA, aos 100 dias após a emergência, cultivada em campo, sob doses crescentes de calcário, em Rio Verde, GO.

Doses de calcário (Mg ha ⁻¹)	Colonização micorrízica total (%)
1,2	39,62 b
1,8	48,80 b
2,6	58,02 a
3,9	46,43 b
CV (%)	28,5

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (5%).

Quanto aos resultados de produtividade de grãos, foi verificada que a dose equivalente a 2,6 Mg ha⁻¹ de calcário foi a que incrementou esta variável, comparada às demais doses (Tabela 8). Apesar do referido incremento, a média de produtividade foi inferior à média obtida no Sudoeste Goiano, na safra 2011/2012 (3.120 kg ha⁻¹) e no Estado de Goiás (3.200 kg ha⁻¹) (CONAB, 2012). Provavelmente, o pouco intervalo de tempo (14 dias) entre a calagem e a semeadura da cultura não permitiu, de forma efetiva, a neutralização do Al tóxico e a elevação do pH de modo a favorecer maiores médias de produtividade de grãos.

Tabela 8. Produtividade de grãos de soja (13% de umidade), cultivada em campo, sob doses crescentes de calcário, em Rio Verde, GO.

Doses de calcário (Mg ha ⁻¹)	Produtividade de grãos (kg ha ⁻¹)
1,2	1.166,6 a
1,8	916,9 b
2,6	1.171,5 a
3,9	1.070,0 a
CV (%)	38,5

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (5%).

4. CONCLUSÕES

- Aos 35 DAE, não se verifica efeito das doses crescentes de calcário, avaliando-se a massa seca das raízes e de parte aérea, bem como a massa seca e número de nódulos.
- Aos 100 DAE, não se verifica efeito das doses de calcário na altura, massa fresca e seca de parte aérea e radicular e no número de vagens por plantas de soja.
- Observa-se efeito positivo das doses de calcário 1,2 e 2,6 Mg ha⁻¹ no volume e extensão radicular e na densidade de esporos de FMA, com a adição de 2,6 e 3,9 Mg ha⁻¹ de calcário.
- A produtividade de grãos é favorecida com a aplicação de 2,6 Mg ha⁻¹ comparada às demais doses de calcário testadas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALGUACIL, M. M. et al. The impact tillage practices on arbuscular mycorrhizal fungal diversity in subtropical crops. **Ecological Applications**, v. 18, p. 527-536, 2008.

ANDRADE, D. S. et al. Atividade microbiana em função da calagem em um solo cultivado com cafeeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 19, p. 191-196, 1995.

BALOTA, E. L. et al. Efeito dos fungos micorrízicos arbusculares em culturas oleaginosas. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 4.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE OLEAGINOSAS ENERGÉTICAS, 1., João Pessoa. **Anais...** Campina Grande: EMBRAPA Algodão, 2010. p. 680-684.

CAIRES, E. F.; ALLEONI, L. R. F.; CAMBRI, M. A.; BARTH, G. Surface application of lime for crop grain production under a no-till system. **Agronomy Journal**, v. 97, p. 791-798, 2005.

COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO. **Cronograma de divulgação de safra – Grãos – Soja – Ano Safra 2011/2012**. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_04_11_15_04_18_boletim_abril_2012.pdf

CHAVES, L. H. G.; FARIAS, C. H. de A. Escória de siderurgia e calcário na correção da acidez do solo e na disponibilidade de cálcio, magnésio e fósforo. **Revista Caatinga**, v. 21, p. 75-82, 2008.

COLOZZI-FILHO, A.; BALOTA, E. L.; ANDRADE, D. S. **Microrganismos e processos biológicos no sistema plantio direto**. *In*: SIQUEIRA, J.O.; et al. Inter-

relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1999. p. 487-508.

EICHLER, V. et al. Efeitos de doses de calcário e de potássio na cultura da soja (*Glycine Max* (L.) Merrill) em solo LV sob Cerrado. In: **REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS**, 21, 1994, Petrolina, *Anais...* Petrolina: Embrapa/CPATSA, 1994. p. 44-46.

FURTINI-NETO, A. E.; SIQUEIRA, J. O.; CURTI, N.; MOREIRA, F. M. S. **Fertilization in native species reforestation**. In: Gonçalves, J. L. M.; Benedetti, V. (Eds). *Forest Nutrition and Fertilization*. IPEF, Brazil, p. 351-383.

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of British Mycology Society**, v. 46, p. 234-244, 1963.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, v. 4, p. 484-500, 1980.

GRAHAM, P. H. et al. Variation in acid soil tolerance among strains of *Rhizobium phaseoli*. **Field Crop Research**, v. 5, p. 121-128, 1982.

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

KABIR, Z. Tillage or no-tillage: impact on mycorrhizae. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 85, p. 23- 29, 2005.

KARANIKA, E. D. et al. Arbuscular mycorrhizal fungi in Northern Greece and influence of soil resources on their colonization. **Pedobiologia**, v. 51, p. 409-418, 2008.

MIRANDA, L. N.; MIRANDA, J. C. C.; VIVALDI, L. Efeito residual do calcário e manejo da calagem em solo gley-pouco-húmico. **Relatório Técnico Anual do Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados 1991/1995**. Planaltina, 1997. p. 82-83.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2.ed. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2006. 729p.

MOREIRA, F. M. S.; CARVALHO, T. S.; SIQUEIRA, J. O. Effect of fertilizers, lime, and inoculation with rhizobia and mycorrhizal fungi on the growth of four leguminous tree species in a low fertility soil. **Biology and Fertility of Soils**, v. 46, p. 771-779, 2010.

MOREIRA-SOUZA, M.; CARDOSO, E. J. B. N. Dependência micorrízica de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. KTZE. Sob doses de fósforo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, p. 905-912, 2002.

MCGONIGLE, T. P. On the use of non-linear regression with the logistic equation for changes with time of percentage root length colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. **Mycorrhiza**, v. 10, p.249-254, 2001.

NOGUEIRA, M. A.; CARDOSO, E. J. B. N. Produção de micélio externo por fungos micorrízicos arbusculares e crescimento da soja em função de doses de fósforo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 329-338, 2000.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of British Mycological Society**, v. 55, p. 157-160, 1970.

SAEG. **Sistema para Análises Estatísticas**, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SCHNEIDER, J.; KLAUBERG FILHO, O.; FONTOURA, S. M.; ALVES, M. V. Influência de diferentes sistemas de manejo e calagem em experimento de longa

duração sobre fungos micorrízicos arbusculares. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 701-709, 2011.

SIEVERDING, E. **Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems**. Eschborn: GTZ, 1991. 371p.

SOUZA, F. R.; ROSA JUNIOR, E. J.; FIETZ, C. R.; BERGAMIN, A. C.; VENTUROSO, L. R.; ROSA, Y. B. C. J. Atributos físicos e desempenho agrônomo da cultura da soja em um Latossolo Vermelho distroférrico submetido a dois sistemas de manejos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, p. 1357-1364. 2010.

SOUZA, D. M. G.; MIRANDA, L. N.; OLIVEIRA, S. A. **Acidez do solo e sua correção**. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Eds). *Fertilidade do Solo*. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 205- 274

TANAKA, R. T.; MASCARENHAS, H. A. A. Efeito do gesso agrícola e do calcário aplicados em solo ácido na composição química das folhas, teores e produtividade de proteína e óleo da soja. In: **REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS**, 20, 1992, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba/SBCS, 1992. p. 354-355.

TENNANT, D.A. Test of modified line intersect method of estimating root length. **Journal of Ecology**, v. 63, p. 995-1001, 1975.

ANEXO

Figura 1 – Demarcação das parcelas experimentais na Fazenda Paineiras, para implantação de experimento com soja, cultivada com doses crescentes de calcário, em Rio Verde, GO.



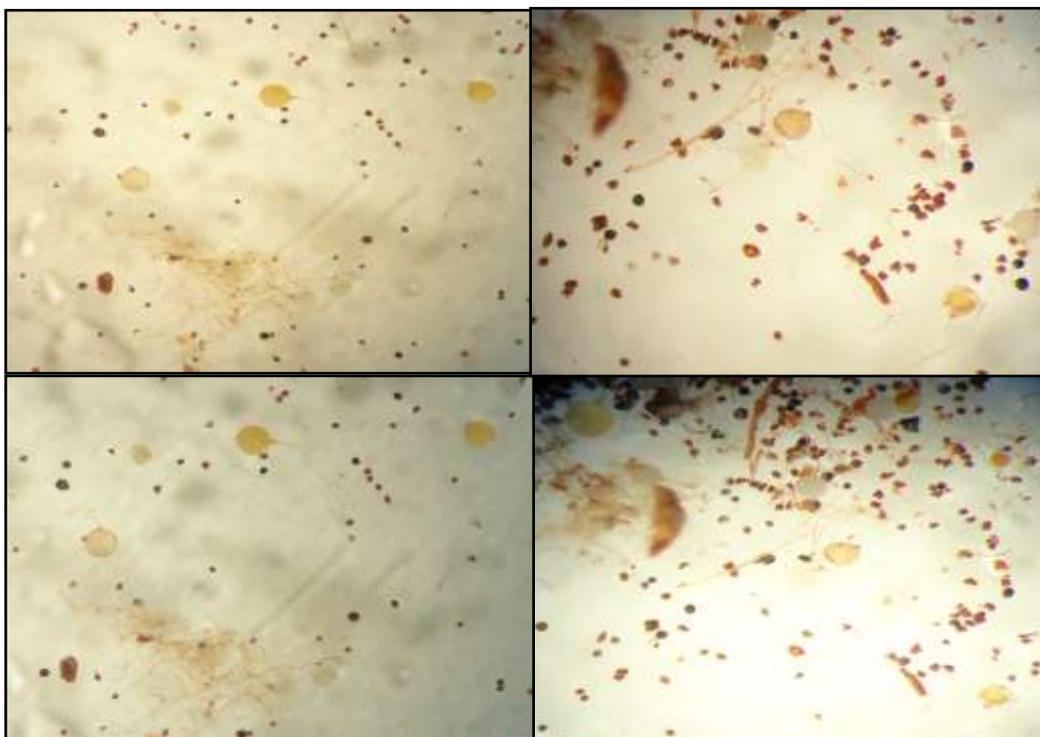
Fonte: BARROSO et al. (2012).

Figura 2 - Distribuição das doses crescentes de calcário nas parcelas experimentais para implantação de experimento com soja, na Fazenda Paineiras, em Rio Verde, GO.



Fonte: BARROSO et al. (2012).

Figura 3 - Esporos de fungos micorrízicos arbusculares, extraídos de solo da área do experimento com soja, na Fazenda Paineiras, em Rio Verde, GO.



Fonte: BARROSO et al. (2012).

Figura 4 - Determinação do volume radicular de raízes de soja, avaliadas 100 dias após a emergência, cultivadas com doses crescentes de calcário, na Fazenda Paineiras, Rio Verde, GO.



Fonte: BARROSO et al. (2012).