

**UFRRJ
INSTITUTO DE FLORESTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
AMBIENTAIS E FLORESTAIS**

Tese

**SUBSTRATOS, BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO E
FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NA PRODUÇÃO DE
MUDAS E PLANTIO DE *Samanea saman* (Jacq.) Merr EM
ESTRESSE HÍDRICO**

GUSTAVO WYSE ABAURRE

2019



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
AMBIENTAIS E FLORESTAIS**

**SUBSTRATOS, BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO E
FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NA PRODUÇÃO DE
MUDAS E PLANTIO DE *Samanea saman* (Jacq.) Merr EM
ESTRESSE HÍDRICO**

GUSTAVO WYSE ABAURRE

Sob a orientação do Professor
Sergio Miana de Faria

e Co-orientação do Professor
Dr. Orivaldo José Saggin Junior

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências Ambientais e Florestais**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Florestais, Área de Concentração em Conservação da Natureza.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2019

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

W121s Wyse Abaurre, Gustavo, 1986-
Substratos, bactérias fixadoras de nitrogênio e
fungos micorrizicos arbusculares na produção de mudas
e pós plantio de Samanea saman (Jacq.) Merr. / Gustavo
Wyse Abaurre. - 2019.
101 f.

Orientador: Sergio Miana de Faria.
Coorientador: Orivaldo José Saggin Junior.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências
Ambientais e Florestais, 2019.

1. Substratos. 2. Bactérias fixadoras de
nitrogênio. 3. Fungos micorrizicos arbusculares. 4.
Produção de mudas. 5. Estresse hídrico. I. Miana de
Faria, Sergio, 1958-, orient. II. Saggin Junior,
Orivaldo José, 1964-, coorient. III Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação
em Ciências Ambientais e Florestais. IV. Título.

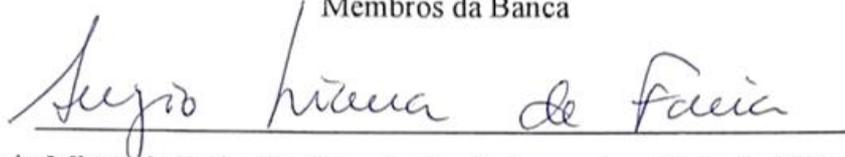
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E
FLORESTAIS**

GUSTAVO WYSE ABAURRE

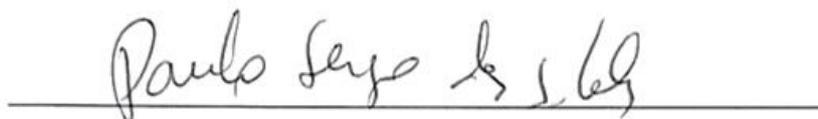
Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências Ambientais e Florestais**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Florestais, área de concentração em Conservação da Natureza.

TESE APROVADA EM: 20 DE FEVEREIRO DE 2019.

Membros da Banca



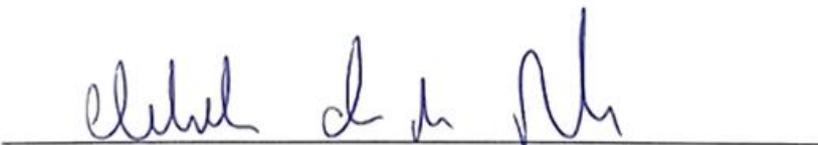
Sergio Miana de Faria, Dr. Pesquisador Embrapa Agrobiologia (Orientador)



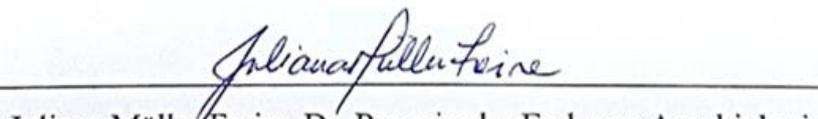
Paulo Sérgio dos Santos Leles, Dr. Professor UFRRJ



Eliane Maria Ribeiro da Silva, Dr. Pesquisador Embrapa Agrobiologia



Alexander Silva de Resende, Dr. Pesquisador Embrapa Agrobiologia



Juliana Müller Freire, Dr. Pesquisador Embrapa Agrobiologia

AGRADECIMENTO

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO GERAL

ABAURRE, Gustavo Wyse. **Substratos, bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas e plantio de *Samanea saman* (Jacq.) Merr em estresse hídrico**. 2019. 101p. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais e Florestais). Instituto de Florestas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

Mudas florestais são produzidas principalmente para atender a demanda de projetos de restauração florestal e produção de madeira. *Samanea saman* é uma espécie de rápido crescimento e de fácil obtenção de sementes. Por essas razões, tem sido amplamente utilizada em plantios de restauração florestal. A interação de espécies florestais com bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) tem sido amplamente estudada e o substrato é um dos fatores que mais influencia essas simbioses. O objetivo do trabalho foi selecionar substratos que otimizem a associação simbiótica com bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de *Samanea saman* e no crescimento das mudas após o plantio em condições de estresse hídrico. Os objetivos específicos de cada capítulo foram: Capítulo I: Selecionar substratos que favorecem o estabelecimento de simbiose com BFN e FMAs e o crescimento em mudas de *Samanea saman* relacionando os resultados com as características físicas, químicas e nutricionais dos substratos; Capítulo II: Analisar a dupla inoculação na formação de mudas de *Samanea saman* produzidas em substratos que favorecem a simbiose com fungos micorrízicos arbusculares e bactérias fixadoras de nitrogênio; Capítulo III: Avaliar a tolerância ao estresse hídrico após o plantio de mudas de *Samanea saman* associadas às bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares que foram produzidas em substratos que favorecem a simbiose. No capítulo I verificou-se que o substrato Carolina Soil padrão 0,7 (a base de turfa) foi o que mais favoreceu a nodulação e os substratos lodo de esgoto e mistura de terra de subsolo argiloso acrescida de 10% de cama de frango (V:V) foram os que mais favoreceram a colonização das raízes com FMAs e a multiplicação de esporos. No capítulo II foi demonstrado que o substrato Lodo é mais indicado para a produção de mudas de *S. saman* pois aumentou todas as características de crescimento da muda e que nesse substrato a inoculação aumentou a parte aérea e reduziu o enraizamento e o diâmetro de colo. No substrato Padrão, as simbioses aumentaram a biomassa, área foliar e diâmetro de colo das mudas, porém, nesse substrato o crescimento das mudas foi menor que nos demais. No capítulo III, foi verificado que a utilização BFN+FMAs no substrato Padrão, aumentou o crescimento em altura e biomassa após o plantio. Para o substrato Lodo, maior altura e biomassa ocorreram quando não foi utilizado inoculantes nem adubação na produção das mudas, sendo que para esse substrato a adubação reduziu a biomassa radicular e os microorganismos reduziram a biomassa radicular e aérea das plantas. Nesse capítulo também foi concluído que não é indicado o plantio de mudas de *Samanea saman* produzidas no substrato Comercial em condições de estresse hídrico.

Palavras-chave: viveiros florestais, inoculantes biológico, lodo de esgoto e biossólido.

ABSTRACT

ABAURRE, Gustavo Wyse. **Substrate, nitrogen-fixing bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi in the production of *Samanea saman* (Jacq.) Merr. seedlings and planting under water stress conditions.** 2019. 101p. Thesis (Doctorate in Environmental and Forestry Science). Instituto de Florestas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, 2019.

Forest seedlings are mainly produced to meet forest restoration projects and timber production demands. *Samanea saman* is a fast growing species and easily-obtained seeds. For these reasons, it has been widely used for forest restoration plantations. The interaction of forest species with nitrogen-fixing bacteria (NFB) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) has been extensively studied and the substrate is one of the factors that most influence these symbioses. The objective of the work was to select substrates that optimize the symbiotic association with nitrogen-fixing bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi in the production of *Samanea saman* seedlings and in the growth of the seedlings after planting under water stress conditions. The specific objectives of each chapter were: Chapter I: To select substrates that favor the establishment of BFN and AMF symbiosis and the growth in *Samanea saman* seedlings correlating the results with the physical, chemical and nutritional characteristics of the substrates; Chapter II: To analyze the double inoculation in the formation of *Samanea saman* seedlings produced in substrates favoring arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen-fixing bacteria symbiosis; Chapter III: To evaluate the tolerance to water stress after planting of *Samanea saman* seedlings associated with nitrogen-fixing bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi that were produced on substrates favoring symbiosis. In Chapter I, it was verified that the substrate Carolina Soil 0.7 (peat based) was the one that most favored the nodulation and the substrates sewage sludge and clayey subsoil with the addition of 10% poultry litter (V: V) were the ones most favored the root colonization and the spore multiplication by AMF. In chapter II it was shown that substrate sewage sludge is more suitable for the production of *S. saman* seedlings because it increased all the growth characteristics of the seedlings and in this substrate the inoculation increased shoot and reduced the rooting and the diameter of the colon. In the standard substrate, the symbioses increased the biomass, leaf area and lap diameter of the seedlings, but in this substrate the growth of the seedlings was lower than in the others. In Chapter III, it was verified that the use of NFB + AMF in the Standard substrate, increased the growth in height and biomass after planting. For the substrate Sewage Sludge, higher height and biomass occurred when neither inoculants nor fertilization were used in the seedlings production, and for this substrate the fertilization reduced the root biomass and the microorganisms reduced the root and shoot biomass of the plants. In this chapter it was also concluded that the planting of *Samanea saman* under conditions of water stress is not indicated when the seedlings were produced with Commercial substrate.

Keywords: forest nurseries, biological inoculants, sewage sludge and biosolids.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Folha de <i>Samanea saman</i> na posição “aberta” (durante o dia) – à esquerda e na posição “fechada” (durante a noite) – à direita. Figura extraída do artigo de Satter et al. (1974). -----	09
FIGURA 2: Incremento em altura de mudas de <i>Samanea saman</i> aos 31, 61 e 113 dias após a semeadura produzidas em três tratamentos de substratos e três tratamentos de inoculação. -----	45
FIGURA 3: Linha do tempo mostrando o crescimento em altura após o plantio, de <i>Samanea saman</i> produzidas em de três tratamentos de substratos e três tratamentos de inoculação. -----	67
FIGURA 4: Massa da parte aérea seca (MAS), massa da raiz seca (MRS), em plantas de <i>Samanea saman</i> produzidas diferentes tratamentos de substratos e inoculação. -----	75
FIGURA 5: Linha do tempo mostrando o potencial hídrico foliar (bar), após o plantio, de <i>Samanea saman</i> produzidas em de três tratamentos de substrato e três tratamentos de inoculação. -----	78

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Características físicas e químicas dos substratos (realizadas no Laboratório de Substratos da Faculdade de Agronomia da UFRGS) de acordo com a Instrução Normativa SDA N.º 17 de 24 de maio de 2007 (MAPA, 2007)	24
TABELA 2: Teores de nutrientes nos substratos através da metodologia de análise de fertilidade do solo (nutrientes disponíveis) e análise de tecidos de plantas (nutrientes totais) de acordo com os procedimentos descritos por Nogueira e Souza, (2005)	25
TABELA 3: Variáveis morfológicas de crescimento de mudas de <i>Samanea saman</i> , massa dos nódulos secos, percentual de colonização radicular e densidade de esporos no substrato após 196 dias de cultivo	28
TABELA 4: Coeficientes de correlação de Pearson entre o resultado das análises física, química e nutricional dos substratos e as das variáveis de crescimento de mudas de <i>Samanea saman</i> , e do estabelecimento da simbiose com BFN e FMAs	31
TABELA 5: Teores de nutrientes nos substratos através da metodologia de análise de fertilidade do solo (nutrientes disponíveis) e análise de tecidos de plantas (nutrientes totais) de acordo com os procedimentos descritos por Nogueira e Souza. (2005)	43
TABELA 6: Simbioses e crescimento de mudas de <i>Samanea saman</i> produzidas em diferentes tratamentos de substrato e inoculação aos 113 dias após a semeadura	48
TABELA 7: Teores de nutrientes do argissolo amarelo (solo de plantio das mudas) através da metodologia de análise de fertilidade do solo (nutrientes disponíveis) e análise de tecidos de plantas (nutrientes totais) de acordo com os procedimentos descritos por Nogueira e Souza. (2005)	65
TABELA 8: Altura, e incremento médio diário em altura, aos 3, 20, 31, 52 e 66 dias após o plantio de mudas de <i>Samanea saman</i> produzidas com diferentes tratamentos de inoculação e substratos sob efeito de estresse hídrico simulando um veranico (até o 36º dia) e reidratação (após o 36º dia)	70

TABELA 9: Coeficientes de correlação linear de Pearson entre as características morfológicas das mudas de <i>Samanea saman</i> produzidas com diferentes tratamentos de substratos e de inoculantes (Tabela 6 – capítulo II) e as características das plantas em estresse hídrico -----	71
TABELA 10: Potencial hídrico foliar (bar) aos 0, 7, 16, 22, 28 e 37 dias após o plantio de <i>Samanea saman</i> produzidas em diferentes tratamentos de substratos e de inoculação em condição de estresse hídrico -----	80

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL -----	01
2 OBJETIVO GERAL -----	01
3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS -----	02
4 REVISÃO DE LITERATURA -----	02
4.1 Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) -----	02
4.2 Bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) -----	05
4.3 <i>Samanea saman</i> -----	08
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	11
6 CAPÍTULO I -----	19
6.1 Resumo -----	20
6.2 Abstract -----	21
6.3 Introdução -----	22
6.4 Material e métodos -----	22
6.5 Resultados e discussão -----	27
6.6 Conclusões -----	32
6.7 Referências bibliográficas -----	33
7 CAPÍTULO II -----	37
7.1 Resumo -----	38
7.2 Abstract -----	39
7.3 Introdução -----	40
7.4 Material e métodos -----	40
7.5 Resultados e discussão -----	44
7.6 Conclusões -----	51
7.7 Referências bibliográficas -----	53
8 CAPÍTULO III -----	60
8.1 Resumo -----	61
8.2 Abstract -----	62
8.3 Introdução -----	63
8.4 Material e métodos -----	63
8.5 Resultados e discussão -----	66
8.6 Conclusões -----	81
8.7 Referências bibliográficas -----	83

1 INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, o custo da restauração florestal (implantação e manutenção do povoamento) é superior às receitas obtidas com 20 anos de cultivo agrícola na mesma extensão de área (ARONSON et al., 2011) e mesmo com custo elevado, poucos são os plantios de sucesso (BARBOSA et al., 2003). Posto isso, evidencia-se uma grande demanda por pesquisas e estudos que apontem estratégias para viabilizar que a restauração florestal seja realizada com qualidade e redução de custos.

Neste sentido, a Embrapa Agrobiologia vem estudando há mais de 30 anos, a simbiose de espécies florestais com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) (DE FARIA et al., 1984; PEREIRA et al., 2018). A dupla inoculação tem potencial de reduzir os custos de implantação aumentando a chance de sucesso do povoamento, pois favorece o estabelecimento da muda frente a condições adversas, como salinidade (RAO e TARAFDAR, 1998; GIRI e MUKERJI, 2004) e estresse hídrico (RUIZ-LOZANO et al., 2001), dentre os benefícios da dupla inoculação, pode-se citar o aumento da absorção de água e nutrientes, principalmente o fósforo (FRANCO e FARIA, 1997) a maior tolerância a doenças (GREEN et al., 1999) e a possibilidade de fixação biológica do nitrogênio atmosférico em substituição à adubação química nitrogenada (PELEGRIN et al., 2009).

Mesmo com tantos estudos abordando a inoculação biológica em espécies florestais, essa tecnologia não é utilizada nos projetos de restauração florestal. Dentre os principais gargalos destaca-se: a) melhor compreensão das características dos substratos que favorecem a inoculação, b) estabelecimento de uma metodologia para produção de inóculo misto de FMAs no próprio viveiro, c) manejo de adubação e combinação de BFN e FMAs para produção de mudas inoculadas de boa qualidade e d) comprovação dos benefícios da inoculação no estabelecimento das mudas no campo. Posto isso o presente estudo tem os seguintes objetivos:

2 OBJETIVO GERAL

Selecionar substratos que favoreçam a associação simbiótica com bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de *Samanea saman* e no crescimento das mudas após o plantio em condições de estresse hídrico e posterior reidratação.

3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Capítulo I: Selecionar substratos que favorecem o estabelecimento de simbiose com BFN e FMAs e o crescimento em mudas de *Samanea saman* relacionando os resultados com as características físicas, químicas e nutricionais dos substratos.

Capítulo II: Analisar a dupla inoculação na formação de mudas de *Samanea saman* produzidas em substratos que favorecem a simbiose com fungos micorrízicos arbusculares e bactérias fixadoras de nitrogênio.

Capítulo III: Avaliar a tolerância ao estresse hídrico após o plantio de mudas de *Samanea saman* associadas às bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares que foram produzidas em substratos que favorecem a simbiose.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs)

A simbiose das plantas com fungos iniciou-se no período paleozóico (460 milhões de anos atrás) paralelamente à colonização das plantas no ambiente terrestre (SIMON et al., 1993). A hipótese de que essa simbiose tenha sido de fundamental relevância pelo sucesso da expansão do nicho vegetal para além do ambiente aquático embasa a discussão de que a maior parte das plantas preservou os genes ancestrais responsáveis pelo fomento desta importante relação mutualista (HOFFMANN & LUCENA, 2006). Com isso, estima-se que, atualmente, 80% das famílias de plantas vasculares realizam associação com FMAs (BONFANTE e PEROTO, 1995).

Na simbiose mutualista entre os FMAs e as espécies vegetais, as hifas dos fungos exploram o solo com grande eficiência, devido ao seu pequeno diâmetro e alto potencial de ramificação. Para o vegetal, as hifas dos FMAs se tornam uma expansão do sistema radicular aumentando a absorção de água e nutrientes (DINIZ, 2007) e por isso, a simbiose facilita o estabelecimento das mudas no campo (OLIVEIRA et al., 2015). Em contrapartida, a planta fornece aos fungos fotoassimilados (HOFFMANN & LUCENA, 2006) podendo chegar a até 20% do carbono obtido pela planta através da fotossíntese (PFEFFER et al., 1999). Essa contrapartida se torna, na verdade, um investimento, pois

aproximadamente 25% do carbono cedido pela planta é utilizado na expansão das hifas dos fungos, gerando, para a planta, aumento nos benefícios da simbiose (HAMEL, 2004).

A simbiose dos vegetais com os FMAs aumenta o vigor e o crescimento das plantas na fase de formação das mudas. Além disso, os vegetais inoculados com FMAs apresentam maior tolerância a patógenos radiculares (SOARES et al., 2012). A simbiose com FMAs provoca efeito mais significativo no desenvolvimento vegetal nos casos em que ocorrem restrições nutricionais (BRECHELT, 1987). O percentual de colonização de FMAs nas raízes é inversamente proporcional ao aumento da matéria orgânica (TRINDADE, et al., 2000) e de fósforo (SIQUEIRA & COLOZZI FILHO, 1986) no substrato.

Mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis*) inoculadas com FMAs e expostas a situação de estresse hídrico, mantém o crescimento vegetativo e recuperam a turgescência das folhas com mais velocidade do que mudas não inoculadas (CAVALCANTE et al., 2001). Plantas de *Andropogon gayanus* e *Stylosanthes guianensis*, produzem mais biomassa em condição de estresse hídrico quando inoculadas (DE SOUZA, et al., 2000). Esses autores discutem que em solos com alto teor de fósforo (cerca de 300 mg/kg de solo) a influência da inoculação diminui.

A inoculação de FMAs em mudas florestais pode reduzir o tempo de produção das mudas no viveiro em até dois meses (COSTA et al., 2001), porém, o maior benefício da inoculação com FMAs ocorre no momento pós plantio, e não durante o período de produção (CARNEIRO et al., 2004).

É importante resaltar que alguns FMAs podem assumir característica parasitária ao invés de simbiótica nas situações em que o benefício oferecido para a planta é pequeno em relação a quantidade de carbono drenada pelo fungo (SMITH et al., 2003). Nas situações em que existe grande disponibilidade de P no solo, o custo benefício da relação simbiótica é reduzido pois a presença dos FMAs torna-se apenas um dreno do carbono do vegetal (GRANT et al., 2005). Flores-Aylas et al, (2003) concluíram que a presença de FMAs influenciou no crescimento e na dinâmica competitivas de espécies florestais nativas pioneiras de forma que a presença do fungo em substrato com baixa concentração de P (0,02 mg L⁻¹) auxiliou o crescimento das espécies menos adaptadas a essa condição, gerando maior equilíbrio entre o crescimento das espécies e em substrato com maior concentração de P (0,2 mg L⁻¹) o fungo atuou como dreno de carbono em algumas espécies provocando a dominância de outras.

Os vegetais podem ser classificados como micotróficos obrigatórios (precisam de FMAs para sobreviver), micotróficos facultativos (sobrevivem com ou sem os FMAs) e não micotróficos, que não se associam com FMAs (ALLEN, 1991). Outra forma de classificar a relação entre os FMAs e os vegetais é avaliando a dependência micorrízica “grau no qual uma planta é dependente da condição micorrízica para produzir seu máximo desenvolvimento em um dado nível de fertilidade” (GERDEMANN, 1975).

Alguns autores discutem que a dependência micorrízica pode estar relacionada ao potencial que o vegetal tem em absorver P e a demanda da planta por este nutriente (PLENCHETTE et al, 1983), outros discutem que espécies pioneiras de rápido crescimento apresentam maior demanda por P e como consequência aumentam a liberação de exsudados na raiz que fomentam a simbiose (ZANGARO et al., 2005). A colonização dos FMAs ocorre de forma decrescente de acordo com o aumento dos níveis sucessionais das espécies florestais nativas podendo variar de 55% para espécies pioneiras até 5% para espécies climáx (ZANGARO et al, 2000). O aumento na colonização e no efeito dos FMAs em espécies pioneiras ocorre, dentre outros motivos, devido à configuração do sistema radicular dessas espécies, que apresentam raízes finas, longas e com abundantes pelos absorventes, tornando-se mais atrativas para o FMA (ZANGARO et al, 2007).

A resposta da inoculação com FMAs varia de acordo com a combinação da espécie do fungo com a espécie do vegetal, de forma que espécies de uma mesma família podem apresentar respostas diferentes frente a inoculação com à mesma espécie de FMA (BAGYARAJ, 1991). A diferença na idade, no estado nutricional, na desfolha e na poda do vegetal podem influenciar no sucesso da micorrização e nos benefícios gerados pela simbiose (CAVALCANTE et al, 2013). Além da interação entre o fungo e a espécie, as condições do meio, como quantidade de P, excesso de água, pH, salinidade, temperatura, presença de outros FMAs ou outros microrganismos, também podem influenciar no sucesso da colonização da planta (MEHROTRA, 2005).

Estudos mostram que quanto maior a diversidade de FMAs no solo, maior será a diversidade vegetal (ALLEN et al., 2003) e maior será o equilíbrio no crescimento das espécies vegetais, evitando a dominância de poucas espécies bem adaptadas às situações adversas do sítio (SANTOS, 2008). Além disso, estudos apontam que o crescimento vegetal também está associado ao aumento da diversidade de fungos no solo (SANTOS, 2008).

As diferentes linhas evolutivas possibilitaram que algumas espécies de FMAs se especializassem em algumas funções, e por essa razão, é necessário considerar a diversidade funcional dos fungos (ALLEN, et al., 2003). Os FMAs podem ser divididos em grupos funcionais de acordo com o seu potencial de auxiliar o hospedeiro na absorção de água, N, C, na resistência a doenças, na produção de fitormônios, ou na tolerância a elementos fitotóxicos (ALLEN et al., 2003). Normalmente, no solo são encontradas espécies dominantes de FMAs desempenhando funções específicas de forma mais eficientes do que as espécies de FMAs menos dominantes, que, por sua vez exercem funções semelhantes de forma menos eficiente ou até mesmo com custo benefício prejudicial ao crescimento das plantas (WALKER et al., 1999).

Os FMAs também podem ser divididos em dois grupos: no primeiro estão os fungos que ocorrem em ambientes iniciais da sucessão desempenhando as funções ecológicas mais demandadas nesse estágio, como absorção de água e nutrientes, e no segundo grupo estão os FMAs que ocorrem em estágio de sucessão tardio, realizando prioritariamente funções relacionadas ao equilíbrio e manutenção do sistema, como a transferência de nutrientes de uma planta para a outra (MASON et al., 1982).

Posto isso, uma estratégia interessante para inocular mudas florestais que serão utilizadas nos processos de restauração ecológica seria utilizar uma mistura de FMAs adaptados às condições inóspitas geralmente encontradas nas áreas de plantio (baixo P, restrição hídrica, pouca matéria orgânica, baixo pH, etc.), e que apresentem simbiose eficiente com espécies florestais de estágio inicial de sucessão. Os FMAs que são encontrados com maior frequência na rizosfera de espécies pioneiras em locais de estágio inicial de regeneração, teoricamente, apresentam essas características desejáveis.

4.2 Bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN)

Os adubos nitrogenados compõem grande parte dos fertilizantes utilizados no Brasil (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). A utilização de adubo nitrogenado em grande escala aumenta significativamente os custos da produção vegetal e gera impactos negativos ao meio ambiente, pois parte do nutriente se perde por volatilização sem que seja aproveitado pelas plantas e cerca de 90% deles é importado (MAILSON, 2017).

Apesar de estar pouco disponível no solo, 78% da atmosfera é composta por nitrogênio e alguns microrganismos conseguem utilizar o nitrogênio atmosférico através de um processo chamado de Fixação Biológica do Nitrogênio (FBN). Nesse processo, o

N₂ atmosférico é convertido em NH₃ por um complexo enzimático conhecido como nitrogenase, que está presente nesses seres vivos (REIS et al., 2006).

Algumas espécies vegetais da família das leguminosas realizam simbiose mutualista com bactérias fixadoras de nitrogênio, aqui chamadas de rizóbio, e acabam se beneficiando do potencial de fixação do nitrogênio atmosférico dessas bactérias. (MERCANTE et al, 2011). Em troca, as plantas oferecem à bactéria parte dos fotoassimilados obtidos através do processo fotossintético.

Um grande exemplo do benefício agrônômico gerado a partir desta relação simbiótica é a cultura da soja, na qual, no Brasil, praticamente não utiliza adubação nitrogenada. Isso possibilita que a soja brasileira seja competitiva no mercado externo (ALVES et al., 2003). A soja pode receber mais do que 80% da sua demanda por nitrogênio fornecida através dos processos de FBN, o que corresponde a uma aplicação de aproximadamente 200 kg N ha⁻¹ (ALVES et al., 2006).

Para a produção de mudas de espécies florestais nativas da Mata Atlântica, a FBN também tem grande potencial de fornecer nitrogênio para as plantas. Ao utilizar substrato composto por bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro de usina açucareira, Barroso et al. (1998) concluíram que o nitrogênio foi o único nutriente limitante na utilização do substrato para produção de *Mimosa caesalpiniiifolia* e *Schinus terebinthifolius*. Porém, ao testar a produção de *Sesbania virgata* neste mesmo substrato, Chaves et al. (2003) concluíram que a nodulação com bactérias fixadoras de nitrogênio, que ocorreu naturalmente na espécie, já foi suficiente para suprir a demanda das mudas por nitrogênio, não sendo necessário realizar nenhum tipo de adubação.

Döbereiner (1967) verificou que mudas de *Mimosa caesalpiniiifolia* inoculadas com BFN apresentaram maior sobrevivência e crescimento em campo, quando comparadas com mudas não inoculadas. Neste experimento, 7 meses após o plantio, os resultados apontavam 94% de sobrevivência nas mudas inoculadas e 54% de sobrevivência nas mudas não inoculadas. A autora relata que após o plantio, as mudas não inoculadas se tornavam cada vez mais fracas e amareladas (sintoma de deficiência de nitrogênio) até o terceiro mês e a partir desse período elas adquiriram vigor. Tal fenômeno foi atribuído à colonização pós plantio das mudas não inoculadas com BFN nativas do solo.

Ao estudar a produção de mudas de *Acacia sp.* com e sem BFN em diferentes fontes orgânicas de substrato (lodo de esgoto [33%] e [100%], esterco [33%] e substrato

sem fração orgânica), Cunha et al. (2006) perceberam que apenas no tratamento em que não havia fração orgânica, a BFN não expressou diferença significativa em relação ao acúmulo de N na parte aérea das plantas. Como nesse substrato foi verificada uma menor presença de P do que nos demais, os autores justificaram o ocorrido com base nos trabalhos de Holanda et al. (1982) e Rocha e Holanda (1983), que concluíram que o P do solo é o nutriente que mais limita a atividade de fixação biológica do nitrogênio.

Outro fator que interfere na nodulação é a concentração de nitrogênio no solo, pois a planta estimula a simbiose apenas nas situações em que o nutriente é escasso. Nogueira et al., (2010) verificaram o efeito de diferentes doses de adubação nitrogenada sobre a inoculação de soja e concluíram que a disponibilidade deste elemento prejudicou a nodulação.

A presença ou ausência de molibdênio, elemento constituinte do sítio ativo da enzima nitrogenase, também interfere na eficiência da FBN. Leite et al. (2009), estudando o efeito que a aplicação de diferentes doses de molibdênio exercia sobre a nodulação de feijão-caupi, verificaram que a inoculação das sementes associada à aplicação do micronutriente favorece a nodulação e o acúmulo de N pela planta, aumentando a produtividade de grãos.

A associação entre BFN e a leguminosa pode ser positiva, negativa ou indiferente de acordo com a bactéria que ocupa o sítio de nodulação. Bassan et al. (2001) discutem em sua publicação que a ocupação do sítio de nodulação do feijoeiro por estirpes de bactérias nativas mais agressivas do que a estirpe inoculada prejudicaram a produtividade esperada.

Algumas espécies florestais só apresentam nodulação com bactérias fixadoras de nitrogênio quando também estão colonizadas com FMAs (JESUS et al, 2005). A dupla inoculação de mudas florestais (FMAs + BFN) pode gerar maiores resultados na altura, no crescimento da área foliar, na atividade da enzima nitrogenase e na nodulação é favorecida pela presença dos FMAs (BURITY, et al., 2000).

4.2 *Samanea saman*

Samanea saman pertence à família Leguminosae (subfamília: Caesalpinioideae e Tribo: Inga) (AZANI et al., 2017). *S. saman* ocorre naturalmente no Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Pará, Amazonas, Bahia, Paraguai, Bolívia, Colômbia, Venezuela e Peru.

Trata-se de uma espécie pioneira, higrófito, heliófilo, caducifólio e frequentemente se comporta como colonizadora em várzeas aluviais e beira de rio (LORENZI, 1998).

Tolera ambiente alagado e resiste bem a períodos de seca. Também é flexível no que se refere à fertilidade do solo apresentando bom crescimento em solos muito ou pouco férteis ocorrendo em condições de acidez moderada ou até mesmo com pH abaixo de 4,6 (BARWICK et al., 2004). As sementes de *S. Saman* apresentam tegumento duro e resistente dificultando sua germinação espontânea (FERREIRA, et al., 2005).

Nesta espécie, a luz solar estimula que a bomba de potássio que saliniza a parte extensora (dorsal) do pulvino aumentando a turgência celular nessa região e fazendo com que as folhas se posicionem de maneira transversal aos raios solares aumentando assim a taxa fotossintética da planta. Na ausência da luz solar (período noturno) a região flexora (ventral) do pulvino apresenta maior concentração de K^+ causando o fechamento das folhas, encostando a parte dorsal de folhas pareadas e reduzindo o efeito da perda de água (Figura 1) (SATTER et al., 1974).

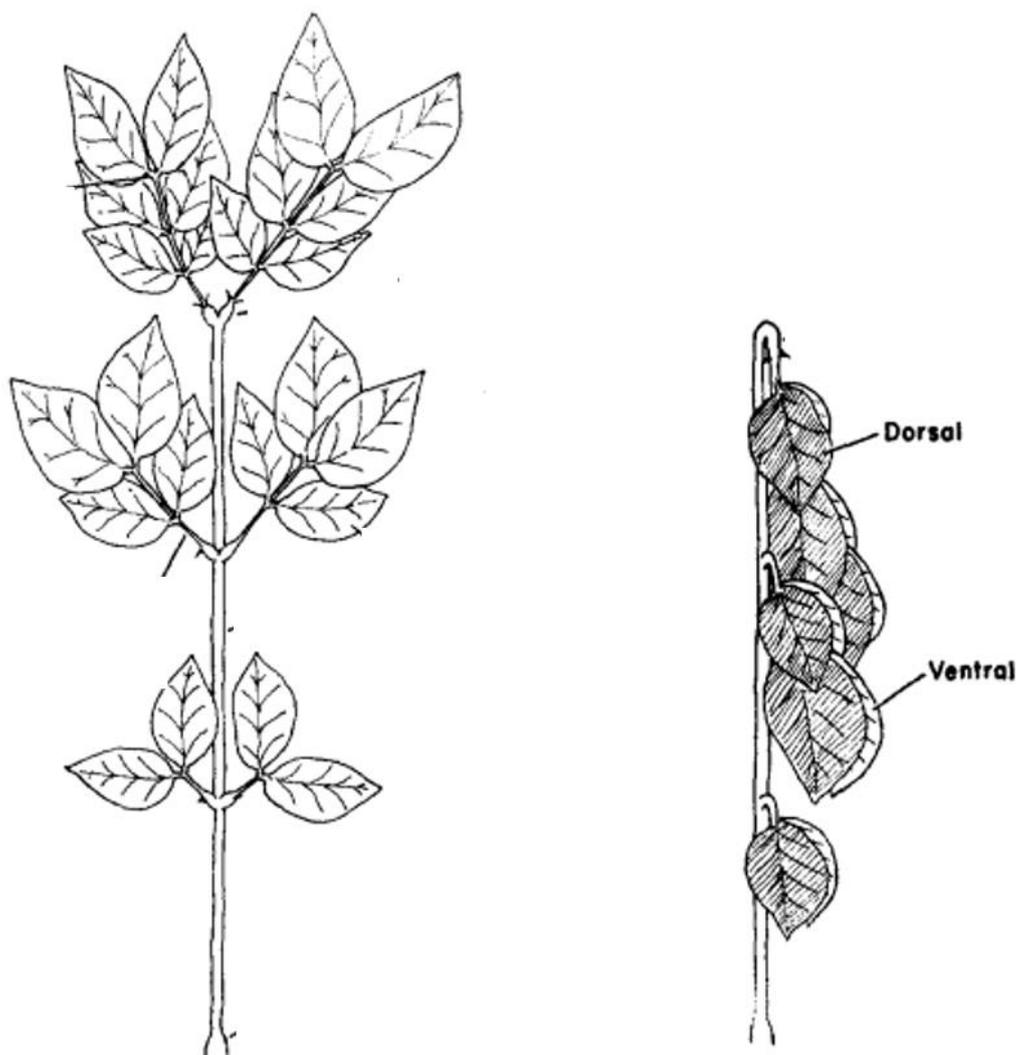


Figura 1: Folha de *Samanea saman* na posição “aberta” (durante o dia) – à esquerda e na posição “fechada” (durante a noite) – à direita. Figura extraída do artigo de Satter et al. (1974).

Quando *S. saman* é infectada por estirpes de rizóbio selecionadas com base nos índices de eficiência e eficácia – IEE, forma-se uma simbiose na qual a bactéria fornece nitrogênio para a planta em troca de fotoassimilados possibilitando o maior crescimento do vegetal (GONÇALVES et al., 2009).

A espécie apresenta boa rebrota quando sofre corte ou podas e tem sido utilizada para sombrear culturas agrícolas (erva mate, café, cacau) e para arborização de pastagem. Oliveira & Luz, (2012) verificaram que quando utilizada em sistemas silvipastoris junto com *Brachiaria brizantha*, a leguminosa provocou o aumento da taxa de acúmulo de matéria seca na pastagem e a porcentagem de proteína bruta na forragem (devido ao

aporte de N). Além disso, aumentou os níveis de P, Ca, a soma de bases e a saturação de bases no solo abaixo de sua copa.

Por ser uma espécie rústica e de rápido crescimento tem sido amplamente utilizada em plantios de restauração florestal, principalmente quando o objetivo é recuperação de área degradada. Isso ocorre porque as leguminosas arbóreas inoculadas com BFN possibilitam a melhoria do sítio gerando condições para a instalação de outras espécies (CHADA et al., 2004; LASTE, 2011). Nesse estudo foram plantadas três espécies exóticas de leguminosas arbóreas fixadoras de nitrogênio e após sete anos foi inventariada a chegada de 50 espécies (pertencentes a 25 famílias distintas) na área de plantio. Os autores não verificaram a ocorrência das espécies exóticas utilizadas no plantio na regeneração natural. Talvez, isso tenha ocorrido devido ao fato das sementes de *S. Saman* apresentam tegumento duro e resistente dificultando sua germinação espontânea (FERREIRA et al, 2005).

Considerando o potencial de uso de *S. saman* para ser utilizada em projetos de restauração florestal visando melhorar a qualidade do sítio, faz-se necessário a realização de estudos que tenham como objetivo potencializar a simbiose dessa espécie com BFN e FMAs

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, M. F. **The ecology of mycorrhizae**. Cambridge: University Press, 1991
- ALVES, B. J. R.; ZOTARELLI, L.; FERNANDES, F. M.; HECKLER, J. C.; DE MACEDO, R. A. T.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Fixação biológica de nitrogênio e fertilizantes nitrogenados no balanço de nitrogênio em soja, milho e algodão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 3, p. 449-456, 2006.
- ALVES, B. J.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. The success of BNF in soybean in Brazil. **Plant and soil**, v. 252, n. 1, p. 1-9, 2003
- ARONSON, J.; BRANCALION, P. H.; DURIGAN, G., RODRIGUES, R. R.; ENGEL, V. L.; TABARELLI, M.; MARQUES, M. C. What role should government regulation play in ecological restoration? Ongoing debate in São Paulo State, Brazil. **Restoration Ecology**, v. 19, n. 6, p. 690-695, 2011.
- AZANI, N.; BABINEAU, M.; BAILEY, C. D.; BANKS, H.; BARBOSA, A. R.; PINTO, R. B.; CANDIDO, E. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). **Taxon**. v. 66, n. 1, p. 44-77, 2017.
- BAGYARAJ, D.J. Ecology of vesicular–arbuscular mycorrhizae. In: ARORA, D.K.; RAI, B.; MUKERJI, K.G.; KNUDSEN, G.R. **Handbook of applied micology: soil and plant**. New York. Marcel Dekker. 1991. v. 1, p. 4–34.
- BARVOSA, L. M.; PARAJARA, F. C.; TEIXEIRA, E. E.; BARBOSA, T. C.; BARBOSA, K. C.; JÚNIOR, N. S.; BARBOSA, J. M.; Diagnóstico sobre produção de sementes e mudas de espécies florestais nativas do Estado de São Paulo. **Informativo Abrates**, v. 12, n. 2, p. 527, 2009.
- BARWICK, M.; VANDER SCHANS, A; CLAUDY, J. B. **Tropical & subtropical trees: a worldwide encyclopaedic guide**. London: Thames & Hudson, 2004.

BASSAN, D. A. Z.; ARF, O.; BUZETTI, S.; Carvalho, M. A. C.; Santos, N. C. B.; SÁ, M. D.; GUERREIRO NETO, G. Inoculação de sementes e aplicação de nitrogênio e molibdênio na cultura do feijão de inverno: produção e qualidade fisiológica de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 1, p. 76-83, 2001.

BONFANTE, P.; PEROTTO, S. Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. **New Phytology**, v. 130, p. 3-21, 1995.

BRASIL (1980) Lei nº 6.894, de 16 de dezembro 1980. Dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos e inoculantes ou biofertilizantes destinados à agricultura, e dá outras providências. Diário Oficial da União - Seção 1 Poder Executivo, Brasília, DF, de 11 de dezembro de 2013.

BRASIL (2004) Decreto nº. 4.954, de 14 de Janeiro de 2004. Aprova o Regulamento da Lei no 6.894, de 16 de dezembro de 1980, que dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, ou biofertilizantes, remineralizadores e substratos para plantas destinados à agricultura. Diário Oficial da União, Seção 1, p. 2. Poder Executivo, Brasília, DF, 15 de janeiro de 2004.

BRASIL (2010) Instrução Normativa nº 30, de 12 de novembro de 2010. Estabelece os métodos oficiais para análise de inoculantes, sua contagem, identificação e análise de pureza. Diário Oficial da União, Seção 1, p.4-10. Brasília, DF, 17 de novembro de 2010.

BRASIL (2011). Instrução Normativa nº 13, de 24 de março de 2011. Aprova as normas sobre especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos inoculantes destinados à agricultura, bem como as relações dos micro-organismos autorizados e recomendados para produção de inoculantes no Brasil. Diário Oficial da União. Seção 1, p.3-7, Brasília, DF, 25 de março de 2011.

BRECHTEL, A. Wirkung verschiedener organischer Düngemittel auf die Effizienz der VA-Mykorrhiza. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Berlin, v.158, p.280-286, 1987.

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

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; DAVIDE, A. C. Fósforo e inoculação com fungos micorrízicos arbusculares no estabelecimento de mudas de embaúba (*Cecropia pachystachya* Trec). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 34, n. 3, p. 119-125, 2004

CAVALCANTE, U. M. T., MAIA, L. C., NOGUEIRA, R. J. M. C.; SANTOS, V. D. Respostas fisiológicas em mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico. **Acta Botanica Brasilica**, v. 15, n. 3, p. 379-390, 2001.

CAVALCANTE, U. M. T.; GOTO, B. T.; MAIA, L. C. Aspectos da simbiose micorrízica arbuscular. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 5, p. 180-208, 2013.

CHADA, S. S.; CAMPELLO, E. F. C.; DE FARIA, S. M. Sucessão vegetal em uma encosta reflorestada com leguminosas arbóreas em Angra dos Reis, RJ. **Revista Árvore**, v.28, n.6, p.801-809, 2004.

COSTA, C. M. C.; MAIA, L. C.; CAVALCANTE, U. M. T.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de dois genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* DC). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 6, p. 893-901, 2001.

CUNHA, A. M.; CUNHA, G. M.; SARMENTO, R. A.; CUNHA, G. M.; AMARAL, J. F. T. Efeito de diferentes substratos sobre o desenvolvimento de mudas de *Acacia sp.* **Revista árvore**, v. 30, n. 2, p. 207-214, 2006.

DE FARIA, S. M.; FRANCO, A. A.; MENANDRO, M. S.; DE JESUS, R. M.; BAITELLO, J. B.; DE AGUIAR, O. T.; DOBEREINER, J. Levantamento da nodulação de leguminosas florestais nativas na região sudeste do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 19, n. 13, p. 143-153, 1984.

DE SOUZA, R. F.; PINTO, J. C.; SIQUEIRA, J. O.; MENDES, Y. L. A. Micorriza e fósforo no crescimento de *Andropogon gayanus* e *Stylosanthes guianensis* cultivados sob condições de estresse hídrico em um Latossolo Vermelho escuro distrófico. **Pasturas Tropicales**. v. 2, n. 1, p. 42-46, 2000.

DINIZ, P. F. A. **Influência do fungo micorrízico arbuscular (*Glomus clarum*) sobre características biofísicas, nutricionais, metabólicas e anatômicas em plantas jovens de seringueira**. 2007. 125 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

DOBEREINER, J. Efeito da inoculação de sementeiras de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) no estabelecimento e desenvolvimento de mudas no campo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 2, p. 301-305, 1967.

FLORES-AYLAS, W. W.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J.; SIQUEIRA, J. O.; DAVIDE, A. C. Efeito de *Glomus etunicatum* e fósforo no crescimento inicial de espécies arbóreas em semeadura direta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 2, p. 257-266, 2003.

FRANCO, A. A. Fixação de nitrogênio em árvores e fertilidade do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 19, n. 13, p. 253-261, 1984.

FRANCO, A. A.; DE FARIA, S. M. The contribution of N₂-fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n. 5-6, p. 897-903, 1997.

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological society**, v. 46, n. 2, p. 235-244, 1963.

GIRI, B.; MUKERJI, K. G. Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in *Sesbania aegyptiaca* and *Sesbania grandiflora* under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. **Mycorrhiza**, v. 14, n. 5, p. 307-312, 2004.

GONÇALVES, F.; DALLE LASTE, K. C.; FILHO, O. G. O.; FONSECA, E. D. S.; de FARIA, S. M. **Recomendação de estirpes para leguminosas florestais - ano 2009**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, p. 27, 2009.

GRANT, C.; BITTMAN, S.; MONTREAL, M.; PLENCHETTE, C.; MOREL, C. Soil and fertilizer phosphorus: Effects on plant P supply and mycorrhizal development. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 85, n. 1, p. 3-14, 2005.

GREEN, H.; LARSEN, J.; OLSSON, P. A.; JENSEN, D. F.; JAKOBSEN, I. Suppression of the Biocontrol Agent *Trichoderma harzianum* by Mycelium of the Arbuscular Mycorrhizal Fungus *Glomus intraradices* in Root-Free Soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 4, p. 1428-1434, 1999.

HAMEL, C. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on N and P cycling in the root zone. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 84, n. 4, p. 383-395, 2004.

HOFFMANN, L. V.; LUCENA, V. **Para entender Micorrizas Arbusculares**. Campina Grande: *Embrapa Algodão-Documentos (INFOTECA-E)*. 2006

HOLANDA, F. J. M.; VASCONCELOS, I.; DE OLIVEIRA, M. S. Fatores nutricionais limitantes da fixação do nitrogênio atmosférico em cunha (*Clitoria ternatea* L.). **Revista Ciência Agrônômica**, v. 13, n. 1/2, p. 29-33, 1982.

JESUS, E.C.; SCHIAVO, J.A.; DE FARIA, S. M. Dependência de micorrizas para a nodulação de leguminosas arbóreas tropicais. **Revista Árvore**. v. 29, n. 4, p. 545-552, 2005.

LASTE, K. C. D. **Monitoramento de Uma Encosta Reflorestada Com Leguminosas Arbóreas na Mata Atlântica Após 17 Anos do Plantio**. 2011. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais e Florestais) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**. vol. 2. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda. P. 352, 1998.

MATOS, M. **Desenvolvimento de fertilizante nano-estruturado para liberação lenta de nitrogênio**. 2017. 91 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MASON, P. A.; LAST, F. T.; PELHAM, J.; INGLEBY, K. Ecology of some fungi associated with an ageing stand of birches (*Betula pendula* and *B. pubescens*). **Forest Ecology and Management**, v. 4, n. 1, p. 19-39, 1982.

MEHROTRA, V. S. **Mycorrhiza: Role and Applications**. Mumbai: Allied Publishers, 2005.

MERCANTE, F. M.; HUNGRIA, M.; MENDES, I. D. C.; DOS REIS JUNIOR, F. B. **Estratégias para aumentar a eficiência de inoculantes microbianos na cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 4 p. (Embrapa Soja, Comunicado técnico, 169)

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

NOGUEIRA, P. D. M.; JÚNIOR, D. G. S.; RAGAGNIN, V. A. Clorofila foliar e nodulação em soja adubada com nitrogênio em cobertura. **Global science and technology**, v. 3, n. 2, p. 117–124, 2010.

OLIVEIRA, C.; LAZARINI, E.; TARSITANO, M. A.; PINTO, C.; DE SÁ, E. M. Custo e lucratividade da produção de sementes de soja enriquecidas com molibdênio. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. v. 45, n. 1, 2015.

PEREIRA, J. E. S.; GARCIA, P.; SCORIZA, R. N.; SAGGIN JUNIOR, O. J.; GOMES, V. D. S. Fungos micorrízicos arbusculares em solo sob Caatinga arbórea submetida a manejo florestal. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 13, n. 1, p. 5497, 2018.

PFEFFER, P. E.; DOUDS, D. D.; BÉCARD, G.; SHACHAR-HILL, Y. Carbon uptake and the metabolism and transport of lipids in an arbuscular mycorrhiza. **Plant Physiology**, v. 120, n. 2, p. 587-598, 1999.

PLENCHETTE, C.; FORTIN, J. A.; FURLAN, V. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. **Plant and soil**, v. 70, n. 2, p. 211-217, 1983.

RAO, A. V.; TARAFDAR, J. C. Significance of micro-organismos in afforestation programmes in arid zone. **Annals of Arid Zone**, v. 37, n. 4, p. 337-346, 1998.

REIS, V. M.; OLIVEIRA, A. D. M.; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 153-174.

ROCHA, D. R.; HOLANDA, F. J. M. Efeitos da nutrição mineral e da inoculação na fixação simbiótica do nitrogênio atmosférico em *Stylosanthes humata* (L.) Taub. cv. Verano. **Revista Ciência Agronômica**, v. 14, n. 1/2, p. 97-105, 1983.

RUIZ-LOZANO, J. M.; COLLADOS, C.; BAREA, J. M.; AZCÓN, R. Arbuscular mycorrhizal symbiosis can alleviate drought-induced nodule senescence in soybean plants. **New Phytologist**, v. 151, n. 2, p. 493-502, 2001.

SANTOS, J. G. D. **Riqueza de fungos micorrízicos arbusculares no solo e o crescimento inicial de espécies arbóreas nativas**. 2008. 80 f. Tese (Doutorado)– Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SATTER, R. L.; GEBALLE, G. T.; APPLEWHITE, P. B.; GALSTON, A. W. Potassium flux and leaf movement in *Samanea saman*. **The Journal of General Physiology**, v. 64, n. 4, p. 413-430, 1974.

SIMON, L.; BOUSQUET, J.; LÉVESQUE, R. C.; LALONDE, M. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. **Nature**, v. 363, n. 6424, p. 67-69, 1993.

SIQUEIRA, J. O.; COLOZZI-FILHO, A. Micorrizas vesículo-arbusculares em mudas de cafeeiro. Efeito do fósforo no estabelecimento e funcionamento da simbiose. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. V. 10, n. 3, p. 207-211, 1986.

SMITH, S. E.; SMITH, F. A.; JAKOBSEN, I. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. **Plant physiology**, v. 133, n. 1, p. 16-20, 2003.

SOARES, A. C. F.; SOUSA, C. S.; DA SILVA GARRIDO, M.; DE SOUSA, F. L. Fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e nutrição de mudas de jenipapeiro. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 1, p. 47-54, 2011.

DE OLIVEIRA, T. K.; OLIVEIRA, S. A. L. **Influência do bordão-de-velho (*Samanea tubulosa* (Bentham) Barnedy; Grimes) na Pastagem e no solo em sistema silvipastoril no Acre.** Rio Branco: Embrapa Acre, 2012. 28 p. (Embrapa Acre, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 49).

TRINDADE, A. V.; FARIA, N. G.; DE ALMEIDA, F. P. Uso de esterco no desenvolvimento de mudas de mamoeiro colonizadas com fungos micorrízicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 7, p. 1389-1394, 2000.

WALKER, B.; KINZIG, A.; LANGRIDGE, J. **Plant attribute diversity, resilience, and ecosystem function: the nature and significance of dominant and minor species.** *Ecosystems* 2: 95-113. 1999

ZANGARO, W.; BONONI, V. L. R.; TRUFEN, S. B. Mycorrhizal dependency, inoculum potential and habitat preference of native woody species in South Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v. 16, n. 04, p. 603-622, 2000.

ZANGARO, W.; NISHIDATE, F. R.; CAMARGO, F. R. S.; ROMAGNOLI, G. G.; VANDRESSEN, J. Relationships among arbuscular mycorrhizas, root morphology and seedling growth of tropical native woody species in southern Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v. 21, n. 05, p. 529-540, 2005.

ZANGARO, W.; NISHIDATE, F. R.; VANDRESEN, J.; ANDRADE, G.; NOGUEIRA, M. A. Root mycorrhizal colonization and plant responsiveness are related to root plasticity, soil fertility and successional status of native woody species in southern Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, p. 53-62, 2007.

CAPÍTULO I

SELEÇÃO DE SUBSTRATOS QUE FAVOREÇAM ÀS SIMBIOSES DE
BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO E FUNGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES EM MUDAS DE *Samanea saman* (Jacq.) Merr

RESUMO

Samanea saman (Jacq.) Merr é uma espécie arbórea muito utilizada em plantios de restauração florestal e a simbiose da mesma com bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) pode favorecer a formação da muda e o crescimento da espécie no campo. O presente trabalho selecionou substratos que favorecem o estabelecimento de simbiose com BFN e FMAs e o crescimento em mudas de *Samanea saman* relacionando os resultados com as características físicas, químicas e nutricionais dos substratos. O experimento foi conduzido em casa de vegetação em blocos casualizados, sendo os tratamentos compostos de nove substratos. As mudas de todos os tratamentos foram inoculadas com BFN e FMAs. O crescimento das mudas foi favorecido nos substratos com menor densidade e pH e com maior porosidade total, espaço de aeração e teor de Mg. O estabelecimento da simbiose com BFN foi favorecido nos substratos com mais magnésio e a simbiose com FMAs foi favorecida nos substratos com maior percentual de água tamponante. As mudas produzidas em substratos comerciais a base de turfa e a base de casca de pinus apresentaram melhor crescimento. O substrato Carolina Soil padrão 0,7 (a base de turfa) foi o que mais favoreceu a nodulação enquanto os substratos lodo de esgoto e mistura de terra de subsolo argiloso acrescida de 10% de cama de frango (V:V) foram os que mais favoreceram a colonização radicular e a esporulação.

Palavras chave: viveiros florestais, inoculantes biológico, lodo de esgoto e bio sólido.

ABSTRACT

Samanea saman (Jacq.) Merr is a tree species widely used for forest restoration and its symbiosis with nitrogen-fixing bacteria (NFB) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) may favor seedling formation and species growth in field. The present work selected substrates that favor the establishment of symbiosis with NFB and AMF and the growth in *Samanea saman* seedlings correlating the results with the physical, chemical and nutritional characteristics of the substrates. The experiment was carried out in a greenhouse experiment with a completely randomized block design, the treatments were composed of nine substrates. The seedlings of all treatments were inoculated with NFB and AMF. The growth of the seedlings was favored in substrates with lower density and pH and with higher total porosity, aeration space and Mg content. The establishment of symbiosis with NFB was favored in the substrates with more magnesium and the AMF symbiosis was favored in the substrates with greater percentage of buffering water. The seedlings produced in commercial and pinus bark peat based substrates presented better growth. The substrate Carolina Soil 0.7 (peat based) was the one that most favored nodulation while the substrates sewage sludge and the mixture of clayey subsoil with the addition of 10% poultry litter (V: V) were the ones that most favored root colonization and sporulation.

Keywords: forest nurseries, biological inoculants, sewage sludge and biosolids.

6.3 INTRODUÇÃO

Leguminosas arbóreas, quando inoculada com bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) possibilitam o aumento dos teores de nitrogênio e de matéria orgânica no solo, ajudando na entrada de outras espécies arbóreas através da sucessão natural da vegetação (Chaer et al., 2011). *Samanea saman* é uma leguminosa arbórea que possui rápido crescimento em campo, alta resistência ao estresse hídrico, tolerância a solos de baixa fertilidade com alto teor de Al^{+3} . Somado a isso, a facilidade de produção de mudas e obtenção de sementes, fazem com que essa espécie seja amplamente utilizada em plantios de restauração florestal, principalmente quando o objetivo é de recuperação de áreas degradadas em geral.

A simbiose de leguminosas florestais com FMAs e BFN tem sido estudada há mais de 30 anos (De Faria, et al. 1984; Pereira, et al., 2018) tendo a Embrapa desenvolvido um pacote tecnológico que permite a recuperação de áreas degradadas (Martins et al. 1999) com redução nos custos de implantação. Entretanto, para aprimorar a utilização dessa tecnologia é importante estudar a simbiose nos substratos disponíveis aos produtores.

Neste sentido, alguns autores estudaram as características nutricionais dos substratos em relação à formação de mudas inoculadas com FMAs (Siqueira e Colozzi-Filho, 1986) e com BFN (Marques, et al. 2009). De maneira geral, esses trabalhos concluem que as características morfológicas das mudas, o estabelecimento e a eficiência das simbioses dependem da fertilidade do substrato. Porém, poucos estudos abordam as características físicas dos substratos em relação ao estabelecimento da simbiose.

Dessa forma o presente estudo teve o objetivo de selecionar substratos que favorecem o estabelecimento de simbiose com BFN e FMAs e o crescimento em mudas de *Samanea saman* relacionando os resultados com as características físicas, químicas e nutricionais dos substratos.

6.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido entre maio e novembro de 2017 (196 dias) na casa de vegetação do Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (22°45'26,99"S ; 43°41'46,87"W) com temperatura máxima de 32°C e resfriamento automatizado que funciona através de um painel de umedecimento do ar e um ventilador de exaustão.

O experimento teve como tratamento mudas inoculadas com BFN e FMAs em nove substratos, sendo eles: terra de subsolo argiloso acrescida de 33% de cama de frango (V:V) - Barro 2:1; terra de subsolo argiloso acrescida de 10% de cama de frango (V:V) - Barro 9:1; Carolina Soil Padrão 0,7 – Turfa 1; Turfa Fértil Semente CA – Turfa 2; Mecplant Florestal 3 – Pinus 1; Basaplant Tubete Florestal (Pinus 2); Golden Mix 47 – Fibra 1; Bioplant Plus Prata - Fibra 2 e Lodo de esgoto - Lodo. O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados contendo quatro blocos (repetições) e cada unidade amostral (parcela) foi composta de nove mudas de cada tratamento (substrato).

Dos nove substratos utilizados, seis eram comerciais indicados para culturas florestais, um era composto por lodo de esgoto fornecido pela Companhia Estadual de Águas e Esgoto do Rio de Janeiro (CEDAE) e dois foram formulados a partir de misturas com terra de subsolo argiloso (barro) e cama de frango (compostada com acréscimo de serragem de eucalipto).

Amostras dos substratos foram enviadas para o Laboratório de Substratos da Faculdade de Agronomia da UFRGS para a realização das análises físicas e químicas previstas na Instrução Normativa SDA N.º 17 de 24 de maio de 2007 (BRASIL, 2007). As análises realizadas foram: densidade em base seca, porosidade total, espaço de aeração, água facilmente disponível, água tamponante, água disponível, água remanescente, potencial hidrogeniônico e condutividade elétrica (Tabela 1).

Tabela 1: Características físicas e químicas dos substratos de acordo com a Instrução Normativa SDA N.º 17 de 24 de maio de 2007 (MAPA, 2007)

Substrato	pH (H ₂ O)	CE (mS cm ⁻¹)	DS (kg m ⁻³)	PT	EA	AFD	AT	AD	AR
----- % -----									
Barro 2:1	7,6	0,92	918	64	13	20	3,9	24	27
Barro 9:1	7,4	0,38	705	64	12	21	4,9	26	26
Turfa 1	5,7	1,03	183	84	24	22	3,9	26	34
Turfa 2	5,4	2,38	355	84	23	16	4,0	20	41
Pinus 1	4,9	1,06	267	91	35	13	2,7	15	40
Pinus 2	4,9	0,44	311	82	32	16	3,3	19	32
Fibra 1	5,7	0,83	109	77	13	32	3,9	36	28
Fibra 2	6,2	0,67	171	89	38	18	3,6	22	29
Lodo	4,7	2,97	453	83	15	28	7,8	36	32

pH: potencial hidrogeniônico, determinado em água na diluição 1:5 (V:V); CE: condutividade elétrica obtida em solução 1:5 (V:V); DS: densidade do substrato seco; PT: porosidade total; EA: espaço de aeração; AFD: água facilmente disponível; AT: água tamponante; AD: água disponível; AR: água remanescente.

As análises de nutrientes dos substratos foram realizadas no Laboratório de Química Agrícola da Embrapa Agrobiologia aonde foram quantificados os teores de N, P, K, Ca e Mg totais submetendo os substratos às metodologias de análise de tecido de plantas, extraindo os nutrientes por digestão nítrico-perclórica e determinação por espectrofotometria de absorção atômica (Tabela 2). A acidez potencial (H⁺ + Al⁺³) e os teores de N potencialmente disponível (nitrato + amônio + nitrito + formas orgânicas lábeis) e de P, K, Ca, Mg e Al⁺³ disponíveis, foram determinados nos substratos com a metodologia de análise da fertilidade do solo, de acordo com os procedimentos descritos por Nogueira e Souza (2005). Antes do envio das amostras para análise todos os substratos receberam a adição de 50 gramas/m³ do adubo FTE BR 12 (9% Zn, 1,8% B, 0,8% Cu, 2% Mn, 3,5% Fe e 0,1% Mo).

Tabela 2: Teores de nutrientes nos substratos através da metodologia de análise de fertilidade do solo (nutrientes disponíveis) e análise de tecidos de plantas (nutrientes totais) de acordo com os procedimentos descritos por Nogueira e Souza, (2005)

Trat.	----- Nutrientes disponíveis -----							----- Nutrientes totais -----				
	N _{pot.}	P	K	H+Al	Al	Ca	Mg	N	P	K	Ca	Mg
	----- mg L ⁻¹ -----			----- cmol _c dm ⁻³ -----				%	----- g kg ⁻¹ -----			
Barro 2:1	45	1279*	1632*	0 *	0 *	2,0	1,8	0,19	2,28	4,53	18,23	1,99
Barro 9:1	40	381*	497*	0 *	0 *	2,4	1,4	0,07	0,55	2,49	0,95	1,45
Turfa 1	193	198	355	4,0	0,04	6,6	8,2	0,35	1,38	2,31	8,57	45,20
Turfa 2	207	932	761	11,2	0,21	17,1	3,2	0,57	2,43	1,29	13,90	2,42
Pinus 1	22	334	602	10,4	0,11	7,4	3,2	0,44	1,42	1,71	4,19	1,31
Pinus 2	42	190	250	16,7	0,37	6,8	2,7	0,32	1,59	0,79	3,58	1,74
Fibra 1	42	108	902	6,9	0,39	1,5	0,6	0,32	0,80	5,99	2,59	0,70
Fibra 2	116	367	689	5,1	0	3,7	3,1	0,33	1,84	3,05	5,74	8,77
Lodo	797	678	137	9,6	0,05	20,5	2,9	1,30	4,94	1,21	12,32	2,01

Metodologia de extração utilizada nas análises de fertilidade do solo: N_{pot.} (extração em KCl do substrato seguida pela digestão ácida - Kjeldahl); P (método colorimétrico - extrator Mehlich I); K (fotometria de chama - extrator Mehlich I); H+Al e Al (titulação – Extrator KCl 1M); Ca e Mg (espectrometria de absorção atômica). N_{pot.} = nitrogênio potencialmente disponível para as plantas (nitrato + amônio + nitrito + formas orgânicas lábeis). Metodologia de extração utilizada nas análise de tecido de plantas: Digestão nítrico-perclórica e determinação por espectrofotometria de absorção atômica. * Elevado pH (tabela 1) resulta na não detecção de Al⁺³, H⁺ e H⁺ + Al⁺³, tornando inadequada a metodologia do extrator ácido de Mehlich I.

Como recipiente de produção das mudas foram utilizados tubetes de 280 cm³ (modelo Mecprec T54P). Os tubetes foram apoiados em bandejas de 54 células das quais foram utilizados 50% das células disponíveis (27 tubetes por bandeja). Antes da semeadura, as sementes de *Samanea saman* foram submetidas a escarificação química com ácido sulfúrico durante 10 minutos para quebra de dormência (Nascimento e Oliveira, 1999). Três sementes foram inoculadas e semeadas em cada tubete e após duas semanas foi realizado o desbaste deixando apenas a plântula de maior vigor.

As mudas foram irrigadas diariamente com 1,8 mm de lâmina d'água (3,6 mL por tubete) parcelados em quatro irrigações e aplicados por microaspersão. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Aw.

Todas as mudas foram inoculadas com BFN através da mistura das sementes com o inoculante turfoso composto pelas estirpes BR 6208 e BR 6204, selecionadas para *Samanea saman* (Gonçalves et al., 2009). A inoculação com FMAs foi realizada através da aplicação de um inoculante composto por nove espécies no orifício de semeadura. Cada tubete recebeu uma dose de inoculante que continha aproximadamente cinco esporos de cada uma das seguintes espécies de FMAs: *Acaulospora colombiana*, *Acaulospora morrowiae*, *Acaulospora scrobiculata*, *Dentiscutata heterogama*, *Gigaspora candida*, *Glomus formosanum*, *Rhizophagus clarus*, *Scutellospora calospora*, *Scutellospora gilmorei*. Ambos os inoculantes (BFN e FMAs) foram produzidos e fornecidos pelo Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner da Embrapa Agrobiologia.

Aos 196 dias após a semeadura mediu-se a altura e o diâmetro ao nível do colo das mudas. A parte aérea foi separada da parte radicular, da qual foram separados os nódulos e essas três frações foram secas em estufa de circulação forçada (65-70 °C) até alcançar a estabilidade de massa. Os dados de massa da parte radicular seca, da parte aérea seca e dos nódulos secos foram obtidos através de pesagem em balança de precisão com quatro casas decimais. A massa total seca foi obtida através da soma da massa de raiz seca com a massa aérea seca.

Para avaliar o percentual de colonização micorrizica foi utilizada a metodologia de clarificação proposta por Koske e Gemma (1989) e de coloração proposta por Grace e Stribley (1970). O percentual de colonização foi obtido através da metodologia sugerida por McGonigle (1990). Para quantificar a densidade de esporos no substrato, os mesmos foram extraídos das amostras por meio de peneiramento úmido (Gerdemann e Nicolson,

1963) e centrifugações em água e solução de sacarose (Jenkins, 1964) e posteriormente foram contados em microscópio estereoscópico.

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variância (Bartlett) com o auxílio do software R. Para obter a normalidade de homogeneidade da variância foi necessário transformar os dados de percentual de colonização micorrizica e densidade de esporos em \sqrt{X} e em $\log(x+1)$, respectivamente. Em seguida usou-se o software SISVAR 5.6 para analisar a variância e nos casos em que houve diferença estatística pelo teste F foi aplicado o teste de médias de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro, para separar as médias.

Por fim, utilizou-se o software Microsoft Excel 2010 para calcular o coeficiente de correlação linear de Pearson (ρ de Pearson) entre as características químicas e físicas dos substratos com as variáveis de crescimento das mudas e do estabelecimento da simbiose com as BFN e FMA. A significância das correlações foram verificadas através do software R utilizando-se o teste t de Student ao nível de 5% de probabilidade de erro.

6.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As mudas produzidas nos substratos Turfa 1 e 2 e Pinus 1 e 2 foram as que mais cresceram, sendo que o Turfa 1 promoveu a maior nodulação indicando que esse é o substrato mais indicado para produção de mudas inoculadas com BFN (Tabela 3).

Por outro lado, as mudas formadas no Turfa 1, assim como o Pinus 1 e Fibra 1 e 2, tiveram os menores percentuais de colonização e densidade de esporos, mostrando que esses substratos são menos indicados para a produção de mudas inoculadas com FMAs. As mudas produzidas nos substratos Barro 9:1 e Lodo tiveram os maiores percentuais de colonização radicular e densidade de esporos, indicando que esses substratos favoreceram a simbiose com FMAs. Dentre esses dois substratos, o Lodo proporcionou maior diâmetro de colo e enraizamento das mudas. O Barro 9:1, pode ter reduzido o crescimento das mudas devido ao pH elevado (Tabela 1) e ao menor teor de N_{pot} , P, Ca e Mg (Tabela 2).

Tabela 3: Variáveis morfológicas de crescimento de mudas de *Samanea saman*, massa dos nódulos secos, percentual de colonização das raízes por fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e densidade de esporos de FMAs no substrato após 196 dias de cultivo

Substratos	DC (mm)	H (cm)	MRS (g)	MAS (g)	MTS (g)	MNS (g)	Colonização (%)	Densidade de esporos
Barro 2:1	3,91 c	29,4 a	0,50 b	1,85 b	2,34 b	0,22 c	12,6 b	28 b
Barro 9:1	3,92 c	26,8 a	0,60 b	1,74 b	2,34 b	0,17 c	40,7 a	182 a
Turfa 1	5,23 a	32,9 a	1,42 a	3,18 a	4,60 a	0,45 a	6,1 b	6 c
Turfa 2	4,99 a	30,7 a	1,19 a	2,70 a	3,89 a	0,35 b	6,4 b	43 b
Pinus 1	5,23 a	30,6 a	1,23 a	2,71 a	3,94 a	0,30 b	5,3 b	9 c
Pinus 2	5,16 a	30,4 a	1,30 a	2,82 a	4,11 a	0,36 b	18,8 b	29 b
Fibra 1	4,84 b	28,5 a	0,65 b	2,29 b	2,95 b	0,23 c	6,9 b	2 c
Fibra 2	5,04 a	28,3 a	1,05 a	2,27 b	3,31 b	0,32 b	6,4 b	5 c
Lodo	4,58 b	28,3 a	0,93 a	2,22 b	3,15 b	0,22 c	33,3 a	126 a
CV	6,5	9,6	21,4	21,4	20,9	21,9	35,5	35,3

Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro. Para fazer o teste de média, os resultados de Colonização (%) foram transformados pela raiz quadrada de X e os resultados de Densidade de esporos foram transformados em $\log(x+1)$. DC (diâmetro de colo); H (altura); MRS (massa da raiz seca); MAS (massa da parte aérea seca); MTS (massa total seca); MNS (massa de nódulos secos); CV (coeficiente de variação). A densidade de esporos foi contada em 50 ml de substrato.

Com maior percentual de colonização do que os demais substratos, as mudas produzidas nos substratos Lodo e Barro 9:1 alcançaram valores de colonização considerados medianos segundo a classificação de Carneiro et al. (1998) e os demais substratos, alcançaram valores considerados baixos.

Hoffmann e Lucena (2006) discutem que o vegetal fornece ao fungo parte dos seus fotoassimilados em contrapartida aos benefícios nutricionais da simbiose, e Pfeffer et al. (1999) mencionam que esse fornecimento de energia pode chegar a até 20% do carbono obtido através da fotossíntese. Posto isso, o gasto energético pode ter sido maior nas mudas produzidas nos substratos Lodo e Barro 9:1, tratamentos que possibilitaram maior colonização, restringindo o crescimento das mesmas (Tabela 3).

Caldeira et al. (2012) concluíram que em substratos com maiores concentrações de lodo de esgoto foram produzidas mudas de *Toona ciliata* (cedro australiano) de maior crescimento do que em substrato comercial, ou seja, um resultado diferente do encontrado nesse experimento no qual as mudas cresceram mais nos substratos comerciais do que no substrato Lodo. Possivelmente, essa diferença ocorreu pois a lâmina d'água de irrigação utilizada no experimento com o cedro (12 mm) foi seis vezes maior do que a utilizada no presente estudo, o que pode ter causado lixiviação de nutrientes nos substratos comerciais, que tem menor CE que o Lodo (Tabela 1) gerando assim uma redução de nutrientes nesses substratos.

Samanea saman ocorre naturalmente em condições de acidez habitando ambientes de solos com pH inferior à 4,6 (BARWICK et al., 2004). A adaptação dessa espécie à solos ácidos fez com que nos substratos com menor pH houvesse maior acréscimo de biomassa nas mudas. Destaca-se a influência negativa que o pH dos substratos Barro 9:1 e Barro 2:1 (7,4 e 7,6 respectivamente) tiveram sobre o crescimento das mudas (Tabela 3) pois em condições de pH maior que 7,0 ocorre a redução na disponibilidade de fósforo (Kämpf, 2005), boro, ferro, zinco, cobre e manganês (Bailey et al. 2000) e além disso, é possível que *Samanea saman* não seja uma espécie adaptada a condições de solos alcalinos.

A única variável de crescimento que não apresentou diferença estatística entre os tratamentos foi a altura. Possivelmente isso ocorreu porque a variabilidade provocada pelo estiolamento das mudas pode ter superado o efeito dos tratamentos. O estiolamento mencionado foi visualmente percebido somente no momento de coleta do experimento, o que pode ter sido causado pelo espaçamento utilizado.

Os coeficientes de correlação entre as características físicas, químicas e nutricionais dos substratos com o crescimento das mudas e o favorecimento das simbioses é mostrada na Tabela 4. Observa-se nessa tabela que o crescimento das mudas foi influenciado positivamente pela porosidade, espaço de aeração, água remanescente e teor de magnésio disponível nos substratos, e negativamente pelo aumento da densidade e do pH dos substratos. O favorecimento à simbiose com BFN foi influenciada positivamente pelos teores mais elevados de Mg total e disponível nos substratos e o favorecimento à simbiose com FMAs foi influenciada positivamente pela água tamponante.

Assim, mudas produzidas em substratos menos densos e mais porosos tiveram maior crescimento. Isso ocorre porque em substratos de alta densidade e baixa porosidade as trocas gasosas são reduzidas impedindo que o oxigênio chegue até o sistema radicular (Kämpf, 2005) e a falta de oxigênio para o processo de respiração radicular causa distúrbios bioquímicos, fisiológicos e decréscimo na absorção de água em espécies florestais (De Oliveira et al., 2017).

O espaço de aeração representa a porção de macroporos do substrato e por isso, também influencia na drenagem e no potencial de trocas gasosas. Neste experimento, mudas com maior enraizamento e diâmetro foram produzidas nos substratos mais aerados pois sem a restrição de oxigênio, não há restrição do processo respiratório, gerando mais energia para o transporte ativo de água para dentro da raiz (Pimentel, 2004).

Tabela 4: Coeficientes de correlação de Pearson entre os resultados das análises física, química e nutricional dos substratos e o crescimento e estabelecimento da simbiose com BFN e FMAs em mudas de *Samanea saman*

	DS	PT	EA	AT	AR	pH	MgT	MgD
DC	-0,89	0,91	0,75			-0,79		
H							0,70	0,82
MRS	-0,68	0,89	0,74		0,84	-0,74		0,68
MAS	-0,69	0,73			0,70	-0,70		0,77
MTS	-0,71	0,81			0,78	-0,73		0,75
MNS							0,71	0,83
% Colonização				0,69				
Densidade de esporos				0,68				

Correlações significativas pelo teste t de Student a 5% de probabilidade de erro. DC (diâmetro ao nível do colo); H (altura); MRS (massa das raízes secas); MAS (massa da parte aérea seca); MTS (massa total seco); MNS (massa dos nódulos secos); Dens. Esp. (densidade de esporos medida em 50 ml de substrato), DS (densidade seca); PT (porosidade total); EA (espaço de aeração); AT (água tamponante); AR (água remanescente); pH (potencial hidrogeniônico, determinado em água na diluição 1:5 (V:V)); MgT (magnésio total no substrato); MgD (magnésio disponível no substrato).

A água tamponante fica adsorvida no substrato a pressões entre 50 e 100 hPa (Schafer et al. 2015), ou seja, para que esse recurso possa ser aproveitado pela planta é necessário que a raiz apresente redução no seu potencial hídrico. Os substratos com maior percentual de água tamponante favoreceram a esporulação e a colonização radicular mostrando que essa característica física dos substratos é relevante para a simbiose com FMAs (Tabela 4). As hifas dos FMAs, devido ao seu pequeno diâmetro, conseguem explorar os microporos do substrato em busca da água que está retida à maiores pressões com mais eficiência do que o sistema radicular (Cabral et al., 2010) e o acréscimo do percentual de água retida à pressões elevadas (água tamponante) pode ter induzido a planta à formar a simbiose.

A água remanescente fica adsorvida no substrato a pressões elevadas (>100 hPa) e mesmo que não esteja acessível para a maioria das plantas (Schafer et al., 2015), ela exerce importante função no equilíbrio da condutividade elétrica dos substratos impedindo que a salinidade dentro do recipiente de cultivo se eleve em condições de restrição hídrica. Considerando que este experimento foi conduzido com baixa lâmina

d'água, a influência dos maiores percentuais de água remanescente em alguns substratos foi relevante para o acréscimo de biomassa das mudas (Tabela 4).

O teor de Mg disponível foi o fator nutricional que mais influenciou o crescimento de biomassa nas mudas (Tabela 4) corroborando assim com os resultados obtidos por Fonseca et al. (2011) para mudas de *Peltophorum dubium*. O Mg é o elemento central da molécula de clorofila e por essa razão mudas com mais Mg apresentam maior desempenho fotossintético (Tatagiba et al. 2017). É válido mencionar que as mudas produzidas no substrato Fibra 1 apresentaram clorose internerval nas folhas antigas (sintoma característico de deficiência de Mg) e que na análise nutricional dos substratos (Tabela 2) é mostrado que o Fibra 1 teve o menor teor de Mg disponível e total. A baixa quantidade de Mg nesse substrato pode ter contribuído para que as mudas produzidas no mesmo tenham tido o menor crescimento entre os substratos comerciais.

O teor de Mg disponível e total também influenciou no aumento da nodulação de forma que as mudas produzidas nos substratos com mais Mg favoreceram à simbiose BFN. Isso ocorre porque o Mg é um elemento essencial para a nutrição do rizóbio (Ruschel et al., 1966) e aumenta o desempenho fotossintético da planta (Tatagiba et al., 2017) possibilitando maior disponibilidade de fotoassimilados para a manutenção da simbiose.

6,6 CONCLUSÕES

As mudas produzidas nos substratos comerciais e a base de turfa (Turfa 1 e 2) e casca de pinus (Pinus 1 e 2) promoveram maior crescimento morfológico sendo que a porosidade total, espaço de aeração, teor de magnésio e pH foram as características químicas, físicas e nutricionais que se correlacionaram positivamente com esse crescimento.

A nodulação foi maior nas mudas produzidas no substrato Turfa 1 e correlacionou-se positivamente com o teor de magnésio nos substratos.

Os substratos que mais favoreceram o estabelecimento da simbiose com os FMAs foram Barro 9:1 e Lodo e a variável que se correlacionou positivamente com o percentual de colonização e a densidade de esporos no substrato foi o percentual de água tamponante.

Os substratos selecionados foram a Turfa 1, conduscente à simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio e o Lodo, conduscente a simbiose com fungos micorrízicos arbusculares, e que promovem mudas com crescimento aceitável para comercialização.

6.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAILEY, D. A.; NELSON, P. V.; FONTENO, W. C. **Substrates pH and water quality**. Raleigh, NC: North Carolina State University, 2000

BARWICK, M.; VANDER SCHANS, A; CLAUDY, J. B. **Tropical & subtropical trees: a worldwide encyclopaedic guide**. London: Thames & Hudson, 2004.

BRASIL (2007). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa Nº 17, de 21 de maio de 2007. Aprova os Métodos Analíticos Oficiais para Análise de Substratos e Condicionadores de Solos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Seção 1, p. 8. Brasília, DF, 24 de maio de 2007.

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

CABRAL, L.; SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S.; PINTO, J. E. B. P. Retenção de metais pesados em micélio de fungos micorrízicos arbusculares. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 25-29, 2010.

CALDEIRA, M. V. W.; GOMES, D. R.; GONÇALVES, E. O.; DELARMELINA, W. M.; SPERANDIO, H. V.; TRAZZI, P. A. Biossólido como substrato para produção de mudas de *Toona ciliata* var. australis. **Revista Árvore**, v. 36, n. 6, 2012.

CARNEIRO, M. A.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M.; CARVALHO, D. D.; BOTELHO, S. A.; SAGGIN-JUNIOR, O. J. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas nativas de ocorrência no sudeste do Brasil. **Cerne**, v. 4, n. 1, p. 129-145, 1998.

CHAER, G. M.; RESENDE, A. S.; CAMPELLO, E. F. C.; DE FARIA, S. M.; BODDEY, R. M. Nitrogen-fixing legume tree species for the reclamation of severely degraded lands in Brazil. **Tree Physiology**, v. 31, n. 2, p. 139-149, 2011.

CRUZ, C. A. F.; DA CUNHA, A. C. M.; DE PAIVA, H. N.; NEVES, J. C. L. Efeito de macronutrientes sobre o crescimento e qualidade de mudas de canafístula cultivadas em Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico. **Revista Árvore**, v. 35, n. 5, 2011

DE FARIA, S. M.; FRANCO, A. A.; MENANDRO, M. S.; DE JESUS, R. M.; BAITELLO, J. B.; DE AGUIAR, O. T.; DOBEREINER, J. Levantamento da nodulação de leguminosas florestais nativas na região sudeste do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 19, n. 13, p. 143-153, 1984.

DE OLIVEIRA, A. K. M.; GUALTIERI, S. C. J. Trocas gasosas e grau de tolerância ao estresse hídrico induzido em plantas jovens de *Tabebuia aurea* (paratudo) submetidas a alagamento. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 1, p. 181-191, 2017.

DO VALE, F. R.; NETTO, A. E. F.; RENÓ, N. B.; FERNANDES, L. A.; RESENDE, Á. V. Crescimento radicular de espécies florestais em solo ácido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 31, n. 9, p. 609-616, 1996.

FRANCO, A. A.; CAMPELLO, E.; SILVA, E.; DE FARIA, S. M. Uso de leguminosas florestais noduladas e micorizadas como agentes de recuperação e manutenção da vida do solo: um modelo tecnológico. **Oecologia Australis**. v. 1, n. 1, p. 459-467, 1992.

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 46, n. 2, p. 235-244, 1963.

GONÇALVES, F.; DALLE LASTE, K. C.; FILHO, O. G. O.; FONSECA, E. D. S.; DE FARIA, S. M. **Recomendação de estirpes para leguminosas florestais - ano 2009**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, p. 27, 2009.

GRACE, C.; STRIBLEY, D. P. A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Mycological Research**, v. 95, n. 10, p. 1160-1162, 1991.

HOFFMANN, L. V.; LUCENA, V. **Para entender Micorrizas Arbusculares**. Campina Grande: *Embrapa Algodão-Documentos (INFOTECA-E)*.2006

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**. v. 48, n. 9. p. 692, 1964.

KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guaíba: Agrolivros, 2005.

KOSKE, R. E.; GEMMA J. N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycological Research**. v. 92, n. 4, p. 486–488, 1989.

MARQUES, L. S.; DE PAIVA, N. H.; NEVES, L. J. C.; GOMES, J. M.; SOUZA, P. H. D. Crescimento de mudas de jacaré (*Piptadenia gonoacantha* JF Macbr.) em diferentes tipos de solos e fontes e doses de nitrogênio. **Revista Árvore**, v. 33, n. 1, p. 81-92, 2009.

MARTINS, C. R.; MIRANDA, J. C. C. D.; MIRANDA, L. N. D. Contribution of native arbuscular mycorrhizal fungi in the establishment of *Aristida setifolia* Kunth in degraded areas in the cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 665-674, 1999.

MCGONIGLE, T. P; MILLER, M. H.; EVANS, D. G.; FAIRCHILD, G. L.; SWAN, J. A.; A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v. 115, n. 3, p. 495-501, 1990.

NASCIMENTO, M. P. S. C. B.; OLIVEIRA, M. E. A. Quebra de dormência de sementes de quatro leguminosas arbóreas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 13, n. 2, p. 129-137, 1999.

NOGUEIRA, A. R. A.; DE SOUZA, G. B. **Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste. 2005.

PEREIRA, J. E. S.; GARCIA, P.; SCORIZA, R. N.; SAGGIN JUNIOR, O. J.; GOMES, V. D. S. Fungos micorrízicos arbusculares em solo sob Caatinga arbórea submetida a manejo florestal. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 13, n. 1, p. 5497, 2018.

PFEFFER, P. E.; DOUDS, D. D.; BÉCARD, G.; SHACHAR-HILL, Y. Carbon uptake and the metabolism and transport of lipids in an arbuscular mycorrhiza. **Plant Physiology**, v. 120, n. 2, p. 587-598, 1999.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Seropédica: Edur, 2004.

RAIJ, B. V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo.** Campinas: Instituto Agrônomo/Fundação IAC, 1997. 285 p. (Boletim técnico, 100).

RUSCHEL, A. P.; DA COSTA, W. F. Fixação simbiótica de nitrogênio atmosférico em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). III. Influência de alguns inseticidas e fungicidas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 1, n. 1, p. 147-149, 1966.

SCHAFER, G.; SOUZA, P. D.; FIOR, C. S. Um panorama das propriedades físicas e químicas de substratos utilizados em horticultura no sul do Brasil. **Ornamental Horticulture**, v. 21, n. 3, p. 299-306, 2015.

SCHMITZ, J. A. K.; SOUZA, P. V. D. D.; KAMPF, A. N. Propriedades químicas e físicas de substratos de origem mineral e orgânica para cultivo de mudas em recipientes. **Ciência Rural**. v. 32, n. 6, p. 937-944, 2002.

SIQUEIRA, J. O.; COLOZZI-FILHO, A. Micorrizas vesículo-arbusculares em mudas de cafeeiro. Efeito do fósforo no estabelecimento e funcionamento da simbiose. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. V. 10, n. 3, p. 207-211, 1986.

TATAGIBA, S. D.; PELOSO, A. F.; RODRIGUES, F. A. Ganho de desempenho fotossintético promovido pelo aumento na concentração foliar de magnésio em arroz. **Revista Univap**. v. 22, n. 40, p. 891-891, 2017.

CAPÍTULO II

MUDAS DE *Samanea saman* (Jacq.) Merr. EM SUBSTRATOS QUE FAVORESCEM
ÀS SIMBIOSES COM BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO E FUNGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES

RESUMO

Substratos orgânicos para produção de mudas florestais podem ser selecionados para favorecer o estabelecimento de simbioses das mudas com bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Dessa forma, esse trabalho analisou a formação de mudas de *Samanea saman* em substratos previamente selecionados como favoráveis às simbioses com bactérias fixadoras de nitrogênio e fungo micorrízicos arbusculares. Foram testados três substratos (terra de subsolo argiloso acrescida de 33% de esterco bovino, Carolina Soil Padrão 0,7 e Lodo de esgoto) e três tratamentos com e sem microrganismos e adubação (testemunha absoluta, Controle positivo (adubado) e BFN+FMAs). Aos 113 dias avaliou-se a altura, o diâmetro, a área foliar, a colonização radicular, a densidade de esporos e a massa seca da parte radicular, aérea, total e dos nódulos. O substrato Lodo favoreceu a simbiose com FMAs pois aumentou a densidade de esporos e o substrato Carolina Soil é favorável a simbiose com BFN pois aumentou a nodulação nas mudas. O substrato Lodo foi o mais indicado para a produção de mudas de *S. saman* pois aumentou todas as características de crescimento da muda. Nesse substrato, o tratamento adubado aumentou a área foliar e a inoculação com BFN e FMAs aumentou a parte aérea e reduziu o enraizamento e o diâmetro de colo. O maior efeito da inoculação com BFN e FMAs ocorreu no substrato Terra de subsolo argiloso acrescida de 33% de esterco bovino, no qual as simbioses aumentaram a biomassa da parte aérea e total, área foliar e diâmetro de colo. Porém, neste substrato foram produzidas as menores mudas.

Palavras chave: Biossólido, lodo de esgoto, produção de mudas e viveiro florestal.

ABSTRACT

Organic substrates for the forest seedlings production can be selected to favor the establishment of seedlings with the symbioses of nitrogen-fixing bacteria (NFB) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). Thus, this work analyzed the formation of *Samanea saman* seedlings on substrates previously selected as favorable in the symbioses with nitrogen-fixing bacteria and mycorrhizal fungi. Three substrates (clayey subsoil with the addition of 33% bovine manure, Carolina Soil 0.7 and sewage sludge) and three treatments with and without microorganisms and fertilization (absolute control, positive control (fertilizer) and NFB + AMF). After 113 days the height, diameter, leaf area, root colonization, spore density and the dry matter of root, shoot, total and nodule were evaluated. The sewage sludge substrate favors symbiosis with AMF because it increased the spore density and the substrate Carolina Soil is favorable to NFB symbiosis because it increased the nodulation in the seedlings. The substrate sewage sludge was the most suitable for the production of *S. saman* seedlings because it increased all the growth characteristics of the seedlings. In this substrate, the fertilized treatment increased the leaf area and the inoculation with NFB and AMF increased the shoot and reduced the rooting and the lap diameter. The NFB and FMAs inoculation greatest effect occurred in the substrate of clayey subsoil plus 33% of bovine manure, which the symbioses increased the shoot and total biomass, leaf area and lap diameter. However, in this substrate the smallest seedlings were produced.

Keywords: Biosolids, sewage sludge, seedlings production and forest nursery.

7.3 INTRODUÇÃO

Mudas de espécies florestais são produzidas para atender à demanda de projetos de reflorestamento, seja para recuperação de áreas degradadas, produção madeireira, barreira vegetal, paisagismo ou restauração da cobertura florestal (DELARMELINA et al., 2014). O sucesso desses projetos depende da qualidade das mudas produzidas (OLIVEIRA et al., 2018), pois interfere diretamente no estabelecimento, crescimento e sobrevivência das mudas em campo (GONÇALVES et al., 2014).

Um fator de grande influência sobre a qualidade das mudas é o substrato utilizado, existindo atualmente uma ampla variedade de substratos comerciais, e à base de resíduos agrícolas, florestais e urbanos reaproveitados. Os substratos devem ser avaliados quanto ao favorecimento às simbioses benéficas aos vegetais como a simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) e com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). No capítulo I, nove substratos foram avaliados quanto a sua capacidade de favorecer estas simbioses, e os substratos que se destacaram foram a base de turfa de sphagno, a qual é importada (GABIRA, 2018) e foi condutora às BFN e o Lodo de esgoto, proveniente de estações de tratamento de esgoto (ABREU et al., 2017), que foi condutor aos FMAs.

Entretanto existem poucas informações para indicar que esses substratos sejam condutores às simbioses e sobre a influência que os mesmos exercem sobre elas. Posto isso, o objetivo desse trabalho foi analisar a formação de mudas de *Samanea saman* utilizando substratos previamente selecionados como favoráveis às simbioses com BFN e FMAs.

7.4 MATERIAL E MÉTODOS:

O experimento foi conduzido, entre dezembro de 2017 e abril de 2018 (por 130 dias), dentro da casa de vegetação da Embrapa Agrobiologia, Seropédica / RJ (22°45'33,29"S ; 43°40'48,90"W), sendo o clima da região do tipo Aw segundo a classificação de Köppen. A temperatura máxima na casa de vegetação foi mantida em 35°C através do acionamento de painel de umedecimento e ventilação de exaustão. Cada muda foi irrigada com 7,5 ml/dia de água destilada (3,8mm de lâmina d'água) em aplicação única com uso de pulverizador costal.

Os tratamentos de inoculação foram: a) dupla inoculação com BFN+FMA; b) mudas produzidas sem inoculantes e adubadas com 111mg de N, 16mg de P₂O₅ e 51mg de K₂O por muda, parcelado em 10 fertirrigações semanais entre 31º e o 93º dias após a

semeadura (Controle positivo) e c) testemunha não inoculada nem adubada (Testemunha absoluta). As BFN utilizadas foram *Bradyrhizobium elkanii* estirpes BR 6205 e BR 6212, recomendadas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011). O inoculante turfoso contendo as BFN foi misturado às sementes no ato do plantio. A inoculação com FMAs, foi feita através da aplicação de inoculante contendo aproximadamente cinco esporos de cada uma das nove espécies descritas a seguir: *Acaulospora colombiana*, *Acaulospora morrowiae*, *Acaulospora scrobiculata*, *Dentiscutata heterogama*, *Gigaspora candida*, *Glomus formosanum*, *Rhizophagus clarus*, *Scutellospora calospora*, *Scutellospora gilmorei*.

Os substratos utilizados foram: a) Padrão: terra de subsolo argiloso acrescida de 33% de esterco bovino (V:V) representando a mistura mais utilizada em viveiros florestais de pequeno porte; b) Comercial: Carolina Soil Padrão 0,7, composto por turfa de sphagno acrescida de vermiculita e casca de arroz carbonizada, representando um dos substratos mais utilizados nos viveiros florestais de grande porte e que no capítulo I mostrou-se conducente à simbiose com BFN e c) Lodo: Lodo de esgoto fornecido pela Companhia Estadual de Águas e Esgoto do Rio de Janeiro (CEDAE), que no capítulo I mostrou-se conducente à simbiose com FMAs.

Como recipiente de produção das mudas foram utilizados tubetes de 280 cm³ (modelo Mecprec T54P). Os tubetes foram apoiados em bandejas de 54 células das quais foram utilizados 33% das células disponíveis (18 tubetes por bandeja). Antes da semeadura, as sementes de *Samanea saman* foram submetidas a escarificação química com ácido sulfúrico durante 10 minutos para quebra de dormência (Nascimento e Oliveira, 1999). Três sementes foram inoculadas e semeadas em cada tubete e após duas semanas foi realizado o desbaste deixando apenas a plântula de maior vigor.

Os substratos utilizados foram autoclavados, os materiais utilizados no experimento foram esterilizados e utilizou-se água destilada na irrigação do experimento para evitar a contaminação de microorganismos nos tratamentos em que não foi feita a inoculação de BFN+FMAs.

O delineamento estatístico aplicado foi de blocos casualizados em esquema fatorial (3 x 3), correspondendo a três tipos de substratos e três tratamentos de inoculação, com seis repetições (blocos). A unidade experimental (parcela) foi composta de nove mudas de cada tratamento.

A altura das mudas foi mensurada aos 31, 61 e 113 dias após o início do experimento, sendo que nesta última ocasião também foi mensurado o diâmetro a altura ao nível do colo. O incremento em altura foi calculado subtraindo o valor atual pelo valor da medição anterior. Ao término do experimento, a parte aérea foi separada da parte radicular e os nódulos foram retirados das raízes. Essas três frações foram secas em estufa de circulação forçada (65-70 °C) até alcançar a estabilidade de sua massa. Os dados de massa da raiz seca, massa da parte aérea seca e massa dos nódulos secos foram obtidos através de pesagem em balança de precisão com quatro casas decimais. A massa total seca foi obtida através da soma da massa aérea seca com a massa raiz seca. A área foliar das mudas foi mensurada utilizando o medidor de área foliar LICOR LI-3100C.

O percentual de colonização radicular com FMAs foi avaliado após a clarificação das raízes (KOSKE e GEMMA, 1989) e de sua coloração (GRACE e STRIBLEY, 1991). O percentual de colonização foi obtido através da metodologia proposta por McGonigle (1990). A densidade de esporos no substrato, foi quantificada após sua extração do substrato por meio de peneiramento úmido (GERDEMANN e NICOLSON, 1963) e centrifugação em água e solução de sacarose (JENKINS, 1964). Os esporos foram contados em microscópio estereoscópico. O percentual de colonização e a densidade de esporos no substrato foram avaliados em três das nove mudas que compunham cada unidade experimental.

As análises de nutrientes dos substratos foram realizadas no Laboratório de Química Agrícola da Embrapa Agrobiologia aonde foram quantificados os teores de N, P, K, Ca e Mg totais submetendo os substratos às metodologias de análise de tecido de plantas, extraíndo os nutrientes por digestão nítrico-perclórica e determinando por espectrofotometria de absorção atômica (Tabela 5). A acidez potencial ($H^+ + Al^{+3}$) e os teores de N potencialmente disponível (nitrato + amônio + nitrito + formas orgânicas lábeis) e de P, K, Ca, Mg e Al^{+3} disponíveis, foram determinadas nos substratos seguindo a metodologia de análise da fertilidade do solo, de acordo com os procedimentos descritos por Nogueira e Souza (2005).

Tabela 5: Teores de nutrientes nos substratos através da metodologia de análise de fertilidade do solo (nutrientes disponíveis) e análise de tecidos de plantas (nutrientes totais) de acordo com os procedimentos descritos por Nogueira e Souza, (2005)

Substrato	pH	----- Nutrientes Disponíveis -----							----- Nutrientes Totais -----				
		N _{pot.}	P	K	H+Al	Al	Ca	Mg	N	P	K	Ca	Mg
		----- mg L ⁻¹ -----				----- cmol _c dm ⁻³ -----			----- g kg ⁻¹ -----				
Padrão	7,4	98	81*	729*	1,3*	0 *	3,2	1,8	1,5	0,31	3,91	0,74	2,12
Comercial	5,4	141	193	313	5,5	0,33	3,5	15,0	4,3	0,86	3,38	5,96	62,07
Lodo	5,1	409	388	189	10,2	0,10	3,6	1,3	14,2	4,40	1,30	12,85	2,13

Metodologia de extração utilizada nas análises de fertilidade do solo: N_{pot.} (extração em KCl do substrato seguida pela digestão ácida - Kjeldahl); P (método colorimétrico - extrator Mehlich I); K (fotometria de chama - extrator Mehlich I); H+Al e Al (titulação – Extrator KCl 1M); Ca e Mg (espectrometria de absorção atômica). N_{pot.} = nitrogênio potencialmente disponível para as plantas (nitrato + amônio + nitrito + formas orgânicas lábeis). Metodologia de extração utilizada nas análise de tecido de plantas: Digestão nítrico-perclórica e determinação por espectrofotometria de absorção atômica. * Elevado pH resulta na não detecção de Al⁺³, H⁺ e H⁺ + Al⁺³, tornando inadequada a metodologia do extrator ácido de Mehlich I.

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro–Wilk) e homogeneidade de variância (Bartlett) com o auxílio do software R e em seguida foi utilizado o software SISVAR 5.6 para fazer a análise de variância. Nos casos em que houve diferença estatística pelo teste F foi aplicado o teste de médias de Scott-Knott, a 5% de probabilidade para separar as médias.

7.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No gráfico de incremento em altura das mudas (Figura 2) é mostrado que até os 61 o substrato Lodo promoveu maior crescimento nas muda e que as mudas do substrato Comercial tiveram crescimento igual às do substrato Padrão até os 31 dias mas no período seguinte, de 31 à 61 dias, tiveram crescimento superior. No último período avaliado (de 61 até 113 dias) o substrato não influenciou no crescimento das mudas em altura. Nos tratamentos em que as mudas receberam inoculação com BFN e FMAs o crescimento em altura foi menor até os 31 dias e maior entre 31 e 61 dias. A adubação não influenciou o crescimento das mudas até os 61 dias mas entre 61 e 113 promoveu aumento no crescimento em altura. As mudas tiveram maior crescimento no período entre a semeadura e os 31 dias de produção.

A análise de variância identificou interação não significativa entre as fontes de variação (inoculantes x substratos) para a variável incremento em altura aos 31 e 61 dias após a semeadura. Todas as demais variáveis apresentaram interação significativa.

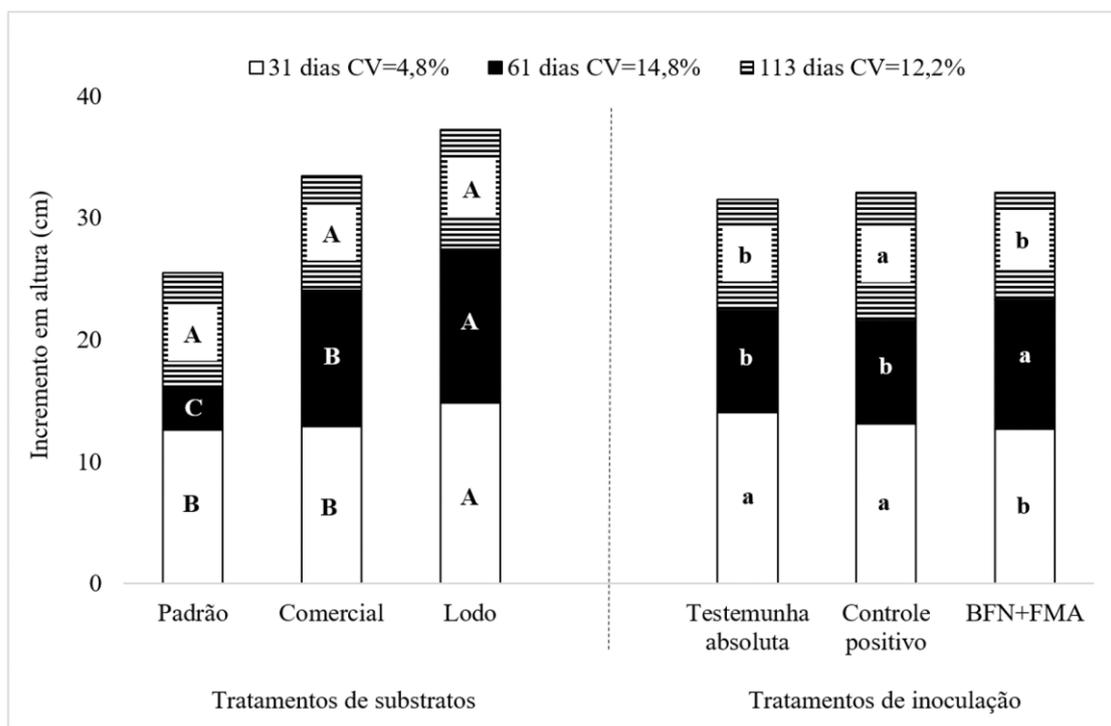


Figura 2: Incremento em altura de mudas de *Samanea saman* aos 31, 61 e 113 dias após a semeadura produzidas em três substratos: Padrão (terra de subsolo argiloso acrescida de 33% de esterco bovino (V:V)); Comercial (Carolina Soil Padrão 0,7) e Lodo (Lodo de esgoto fornecido pela Companhia Estadual de Águas e Esgoto do Rio de Janeiro (CEDAE)) e em três tratamentos de inoculação a) BFN+FMA: Inoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares; b) Testemunha absoluta e c) Controle positivo: sem inoculantes e adubadas com 111mg de N, 16mg de P₂O₅ e 51mg de K₂O por muda. Letras iguais (maiúsculas para os tratamentos de substrato, minúsculas para os tratamentos de inoculação) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. CV (Coeficiente de variação).

O maior crescimento em altura para todos os tratamentos de zero até 31 dias se deve ao fato das plântulas receberem grande parte dos nutrientes necessários para o seu crescimento inicial de seus cotilédones (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

O substrato Lodo tem pH levemente ácido e maior teor de N e P (Tabela 5) suprindo as necessidades nutricionais das mudas (GOMES et al., 2007) possibilitando maior crescimento em altura até os 61 dias de cultivo. Ao contrário do Lodo, o substrato Padrão teve pH alcalino e menor disponibilidade de N e P, o que reduziu a velocidade de crescimento das mudas entre 31 e 61 dias.

As mudas produzidas no tratamento inoculado tiveram o menor crescimento até o 31º dia, provavelmente, porque a planta gastou energia para formação da simbiose (FAGAN et al., 2007), e aumentou entre o 31º e 61º dias, provavelmente, devido à maior eficiência das hifas dos FMAs em explorar o substrato absorvendo água e nutrientes

(DINIZ, 2007) e pela fixação biológica de nitrogênio realizada pelas BFN (REIS et al., 2006).

As mudas do Controle positivo não cresceram mais que as mudas da Testemunha absoluta até o 61º dia porque até esse momento apenas metade da adubação havia sido realizada ou talvez porque a quantidade de nutrientes disponíveis nos substratos tenha sido suficiente para suprir a demanda das mudas até esse momento. Com o acréscimo da outra metade da adubação, e com a redução dos nutrientes disponíveis devido ao consumo das mudas, os tratamentos com adubação proporcionaram maior crescimento em altura no último período de avaliação, superando inclusive as mudas inoculadas. É importante mencionar que houve presença de nódulos (contaminação de BFN) em todos os tratamentos e que na fase final da produção das mudas essa contaminação pode ter prejudicado a diferenciação do efeito Lda inoculação nas mudas.

Os resultados do experimento referente às variáveis altura, diâmetro do colo, área foliar, massa seca radicular, aérea, total e dos nódulos, percentual de colonização radicular e densidade de esporos aos 113 dias após semeadura estão na tabela 6.

Diferentemente do resultado encontrado no capítulo I, o substrato Lodo não favoreceu a colonização radicular nas mudas mais que os outros tratamentos, não havendo portanto diferenças entre os substratos. Por outro lado, no Lodo foi verificada a maior densidade de esporos, comprovando que esse substrato favorece a simbiose com FMAs. O substrato Comercial foi novamente conducente à simbiose com BFN, promovendo maior nodulação que os demais e corroborando com os resultados obtidos no capítulo I.

Verificou-se nodulação nas mudas dos tratamentos não inoculados (Testemunha absoluta e controle positivo), evidenciando a contaminação com BFN. Para os substratos Lodo e Padrão, a nodulação foi maior nos tratamentos inoculados. Para o substrato Comercial, as mudas que não receberam adubação nem inoculação (Testemunha absoluta) tiveram nodulação equivalente às das mudas que foram inoculadas. Em todos os substratos, a presença de adubação reduziu a nodulação.

As mudas produzidas no substrato Padrão tiveram resultado de crescimento inferior às produzidas nos demais substratos. Nele, a adubação aumentou a biomassa e a área foliar das mudas e a inoculação aumentou o diâmetro de colo, a área foliar, a altura e a biomassa aérea e total, tendo superado o efeito da adubação para as três últimas variáveis.

As mudas de maior biomassa foram produzidas no substrato Lodo, no qual a produção em conjunto com os inoculantes aumentou a massa da parte aérea e a área foliar

mas reduziu o enraizamento, o diâmetro do colo e a altura das mudas. Nesse substrato a adubação aumentou a altura e a área foliar.

O substrato comercial possibilitou a formação de mudas com biomassas maiores que as do Padrão, porém menores que as do Lodo, com exceção da área foliar para a qual os resultados foram equivalentes. Este resultado é o inverso do obtido no capítulo I onde no substrato Comercial (Turfa 1) foram produzidas mudas maiores que no Lodo (Tabela 3). No substrato comercial, os microorganismos simbiotes promoveram aumento na altura e no diâmetro de colo das mudas enquanto a adubação aumentou o enraizamento e reduziu a altura nas mudas.

Não houve efeito negativo da adubação no crescimento das mudas quando comparado com a Testemunha absoluta (sem inoculação, nem adubação). Por outro lado, combinado com o substrato Lodo a inoculação reduziu a massa de raízes, o diâmetro de caule e a altura das mudas.

Tabela 6: Simbioses e crescimento de mudas de *Samanea saman* produzidas em diferentes tratamentos de substrato e inoculação aos 113 dias após a semeadura

Tratamento de substrato	Tratamento de inoculação								
	Testemunha absoluta	Controle positivo	BFN+FMA	Testemunha absoluta	Controle positivo	BFN+FMA	Testemunha absoluta	Controle positivo	BFN+FMA
	Massa dos nódulos secos (mg) CV(%) = 21,9			Altura (cm) CV(%) = 4,0			Massa radicular seca (g) CV(%) = 10,2		
Padrão	170 B b	64 B c	380 B a	23,4 C b	24,8 C b	28,2 B a	0,63 C b	0,89 C a	0,70 C b
Comercial	584 A a	243 A b	656 A a	33,8 B a	32,3 B a	34,2 A a	1,40 B b	1,73 B a	1,41 B b
Lodo	150 B b	25 B c	372 B a	37,4 A b	39,1 A a	35,2 A c	1,98 A a	1,95 A a	1,65 A b
	Colonização radicular (%) CV(%) = 130,0			Diâmetro de colo (mm) CV(%) = 3,8			Massa aérea seca (g) CV(%) = 7,2		
Padrão	0 A b	0 A b	13 A a	3,7 C b	3,7 C b	4,1 B a	1,68 C c	2,04 C b	2,83 C a
Comercial	0 A b	0 A b	13 A a	4,9 B a	5,1 B a	5,0 A a	4,70 B a	4,84 B a	5,05 B a
Lodo	0 A b	0 A b	10 A a	5,7 A a	5,5 A a	5,1 A b	5,26 A b	5,31 A b	5,73 A a
	Densidade de esporos CV(%) = 142,0			Área foliar (cm ²) CV(%) = 14,2			Massa total seca (g) CV(%) = 7,1		
Padrão	0 A b	0 A b	33 B a	129 B b	192 B a	252 B a	2,30 C c	2,93 C b	3,53 C a
Comercial	0 A b	0 A b	22 B a	417 A a	438 A a	444 A a	6,10 B a	6,57 B a	6,47 B a
Lodo	0 A b	0 A b	411 A a	375 A b	452 A a	503 A a	7,24 A a	7,25 A a	7,38 A a

Padrão: substrato composto por terra de subsolo argiloso acrescida de 33% de esterco bovino (V:V); Comercial: substrato Carolina Soil Padrão 0,7; Lodo: Lodo de esgoto fornecido pela Companhia Estadual de Águas e Esgoto do Rio de Janeiro (CEDAE); Controle positivo: mudas produzidas sem inoculantes e adubadas com 111mg de N, 16mg de P₂O₅ e 51mg de K₂O por muda, parcelado em 10 fertirrigações semanais entre o 31 e o 93 dias após a semeadura; BFN+FMA: Mudas inoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares; CV; Coeficiente de variação. A densidade de esporos foi medida em 50ml de substrato. Letras iguais (maiúsculas na coluna e minúsculas na linha) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

No experimento do capítulo I, a correlação entre o percentual de colonização e a água tamponante (retida no substrato à pressões entre 50 e 100 hPa) talvez tenha ocorrido porque o experimento foi irrigado com baixa lâmina d'água (3,6 mL / muda / dia) e isso tenha favorecido a simbiose devido a maior eficiência das hifas em explorar o solo e absorver água em condição mais restritiva (CABRAL et al. 2010, DINIZ, 2007). Nesse experimento a irrigação foi quase duas vezes maior (7,5 mL / muda / dia) não causando limitação hídrica a ponto de aumentar o percentual de colonização (MEHROTRA, 2005) nos tratamentos em que o Lodo foi utilizado.

Segundo a classificação de colonização radicular para espécies arbóreas proposto por Carneiro et al, (1998), em todos os tratamentos houve baixa colonização (< 20%). Por outro lado, o maior crescimento radicular (sítio de colonização) e biomassa aérea (produção de fotoassimilados) fizeram com que as mudas produzidas no substrato Lodo tivessem maior esporulação (DANIELS-HETRICK; BLOOM, 1986) indicando que mesmo sem aumentar a colonização radicular, o substrato Lodo foi favorável à simbiose com FMAs.

A adubação reduziu a nodulação nas mudas em todos os substratos (Tabela 6) por que o acréscimo de N inibe a simbiose com BFN (GONÇALVES et al., 1999, NOGUEIRA et al., 2010). Nos substratos Lodo e Padrão (menos favoráveis à simbiose com BFN), a menor nodulação nas mudas da Testemunha absoluta em comparação com as mudas que foram inoculadas no início do experimento, sugere que a contaminação do experimento com BFN tenha ocorrido com estirpes menos eficientes do que as inoculadas na promoção da nodulação.

O substrato Comercial foi o único que promoveu a nodulação nas mudas do tratamento Testemunha absoluta de forma equivalente às mudas que foram inoculadas, comprovando a condutância desse substrato à formação da simbiose com BFN, possivelmente devido ao alto teor de Mg (conforme discutido no capítulo I), nutriente esse essencial para a nutrição do rizóbio (RUSCHEL et al., 1966) e para aumento do desempenho fotossintético da planta (TATAGIBA et al., 2017).

No substrato Padrão, o menor teor de N e P em relação aos demais substratos (Tabela 5) pode ter ocasionado mudas com menor biomassa (GUTIÉRREZ-BOEM; THOMAS, 1998, RODRIGUEZ et al., 1998). Além disso, intensificando a situação restritiva deste substrato, a alcalinidade dele pode ter encoberto a real disponibilidade de P (KÄMPF, 2005) e de micronutrientes (BAILEY et al., 2000), os quais precipitam na

forma de sais de Ca e Mg e hidróxidos em pH maior que 7, ficando indisponíveis para absorção pelas plantas e FMAs, mas sendo eles solubilizados utilizando o extrator ácido (Mehlich I) utilizado na análise dos teores de nutrientes dos substratos (Tabela 5). Adicionalmente, o barro, principal componente do substrato Padrão (66%), é um solo mineral argiloso que reduz a porosidade, dificulta as trocas gasosas no substrato (KÄMPF, 2005) prejudicando a respiração e gerando distúrbios bioquímicos e fisiológicos nas mudas (DE OLIVEIRA et al., 2017).

O substrato padrão não foi favorável às simbioses, pois as mudas produzidas tiveram pouca esporulação, pouca nodulação e baixa colonização micorrízica, tal como ocorreu com o substrato equivalente utilizado no capítulo I (Barro 2:1), indicando que independentemente da fonte de matéria orgânica (cama de frango ou esterco de curral) os substratos compostos a partir de mistura de solo argiloso e matéria orgânica em ambos os experimentos apresentaram-se alcalinos e de muito baixo desempenho para o crescimento das mudas de *S. saman*.

Mesmo não sendo favorável às simbioses, o efeito da inoculação no substrato Padrão foi maior do que nos outros (Tabela 6). Nele, o crescimento em altura e biomassa aérea e total das mudas inoculadas superou o crescimento obtido com a adubação, indicando claramente que, mesmo com baixos níveis de colonização, esporulação e nodulação, em condições de baixa fertilidade, as simbioses trazem benefícios à planta hospedeira de forma mais evidente (NOGUEIRA et al., 2010, BRECHELT, 1987).

O substrato Lodo aumentou o crescimento das mudas em todas as variáveis mensuradas pois o maior teor de N e P nesse substrato (Tabela 5) supre a demanda do vegetal (GOMES et al., 2007). Delarmelina et al. (2014) estudando *Ateleia glazioviana* e Gonçalves et al. (2014) estudando *Sesbania virgata* concluíram que o acúmulo de biomassa nas mudas era maior conforme o lodo de esgoto era acrescentado ao substrato. Esses estudos mostram que o lodo de esgoto é um substrato indicado para a produção de mudas de leguminosas arbóreas.

No Lodo, a inoculação promoveu o crescimento da biomassa aérea e da área foliar e a redução no enraizamento, na altura e no diâmetro de colo (Tabela 6). Isto pode ter ocorrido devido ao favorecimento da simbiose micorrízica neste substrato. Na situação onde a simbiose micorrízica funciona eficientemente, há um aumento na absorção de água e nutrientes (HOFFMANN; LUCENA, 2006, PELEGRIN et al., 2009). Dessa forma as mudas podem ter investido em crescimento de parte aérea e foliar (aumentando o

desempenho fotossintético e a disponibilidade de fotoassimilados para a manutenção das simbioses) sem precisar gastar energia em enraizamento. Por outro lado, o efeito de redução no diâmetro do colo causado pela inoculação nas mudas produzidas no substrato Lodo reduz a qualidade das mesmas, pois essa característica morfológica tem sido relacionada à sobrevivência das mudas após o plantio (DANIEL et al., 1997).

O substrato Lodo tem menor teor de K (Tabela 5) devido a solubilidade desse elemento em água fazendo com que ele seja perdida no processo de tratamento do esgoto (TSUTIYA, 2000) por essa razão, esse material deve receber adubação com K em seu uso como substrato para plantas (PEREIRA et al., 2014, GOMES et al., 2013). A adubação realizada (Controle positivo) acrescentou 51mg de K₂O/muda ao longo do experimento, corrigindo o baixo teor desse elemento no substrato Lodo e fazendo com que as mudas tivessem maior altura e a área foliar.

A contaminação das mudas não inoculadas com BFN prejudicou a mensuração dos efeitos da inoculação sobre as mudas produzidas no substrato Comercial (favorável à simbiose com BFN). Porém, no substrato Comercial a inoculação fez com que as mudas tivessem altura, diâmetro de colo e área foliar equivalentes aos das mudas produzidas no Lodo acrescido de adubação, mesmo tendo menor teor de N e P (Tabela 5). Isso pode ter ocorrido devido ao aumento na fixação do nitrogênio atmosférico (PELEGRIN et al., 2009).

É importante mencionar que o diâmetro de colo e a altura, são indicadores da sobrevivência das mudas após o plantio (DANIEL et al., 1997). No substrato Comercial, a adubação aumentou levemente a massa das raízes sugerindo que esse substrato tem fertilidade suficiente para bom crescimento das mudas sem a necessidade de adubação.

7.6 CONCLUSÕES

O substrato Lodo é favorável à simbiose com FMAs pois aumentou a densidade de esporos e o substrato Comercial é favorável à simbiose com BFN pois aumentou a nodulação nas mudas de *S. saman*.

O substrato Lodo é o mais indicado para a produção de mudas de *S. saman* promovendo maior crescimento em condições de maior irrigação (3,8mm de lâmina d'água). Nesse substrato a adubação aumentou a altura e a área foliar e a inoculação com BFN e FMAs aumenta a área foliar e a massa da parte aérea mas reduz o enraizamento e o diâmetro de colo.

O maior efeito da inoculação das mudas de *S. saman* com BFN e FMAs ocorreu no substrato Padrão, no qual as menores mudas foram produzidas e no qual a inoculação aumentou consistentemente o crescimento das mudas mesmo não apresentando elevada nodulação, esporulação ou colonização radicular.

7.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAILEY, D. A.; NELSON, P. V.; FONTENO, W. C. **Substrates pH and water quality**. Raleigh, NC: North Carolina State University, 2000
- ABREU, A. H. M. D.; LELES, P. S. D. S.; MELO, L. A. D.; OLIVEIRA, R. R. D.; FERREIRA, D. H. A. A.. Characterization and potential of formulated substrate with biosolids in *Schinus terebinthifolius* Raddi. and *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos seedling production. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 4, p. 1179-1190, 2017.
- BANDEIRA, S. B.; FERNANDES, H. E.; DE MEDEIROS, G. H.; DOTTO, M. C.; GONÇALVES, F. B.; DA SILVA RAMOS, N.; ERASMO, E. A. L. Qualidade de mudas de *Jacaranda cuspidifolia* produzidas em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 8, n. 1, p. 79-84, 2018.
- BARWICK, M.; VANDER SCHANS, A.; CLAUDY, J. B. **Tropical & subtropical trees: a worldwide encyclopaedic guide**. London: Thames & Hudson, 2004
- BERTA, G.; FUSCONI, A.; TROTTA, A.; SCANNERINI, S. Morphogenetic modifications induced by the mycorrhizal fungus *Glomus* strain E3 in the root system of *Allium porrum* L. **New Phytologist**, v. 114, n. 2, p. 207-215, 1990.
- BRANDELERO, E. M.; PEREIRA PEIXOTO, C.; RALISCH, R. Nodulação de cultivares de soja e seus efeitos no rendimento de grãos. Semina: **Ciências Agrárias**, v. 30, n. 3, p. 581-587. 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA Nº 13, de 24 de março de 2011. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 25 mar. 2011. Seção 1, p. 3.
- BRECHTEL, A. Effect of different organic manures on the efficiency of VA-mycorrhiza. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 158, n. 4, p. 280-286, 1987.
- CABRAL, L.; SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S.; PINTO, J. E. B. P. Retenção de metais pesados em micélio de fungos micorrízicos arbusculares. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 25-29, 2010.

CALDEIRA, M. V. W.; DA SILVA, E. M. R.; FRANCO, A. A.; ZANON, M. L. B. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de duas leguminosas arbóreas. **Ciência florestal**, V. 9, n. 1, p. 63-70, 1999.

CAMARA, R.; JÚNIOR, A. M. F.; SOUSA, A. C. O.; PEREIRA, M. G. G.; JÚNIOR, J. Q. O Influência do substrato e inoculação micorrízica na produção de mudas de *Colubrina glandulosa* Perkins. **FLORESTA**, v. 47, n. 4, p. 449-458, 2017.

CARNEIRO, M. A. C., SIQUEIRA, J. O., CURI, N., & MOREIRA, F. M. S. Efeitos da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e da aplicação de fósforo no estabelecimento de forrageiras em solo degradado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 9, p. 1669-1677, 1999.

CARNEIRO, M. A.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M.; CARVALHO, D. D.; BOTELHO, S. A.; SAGGIN-JUNIOR, O. J. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas nativas de ocorrência no sudeste do Brasil. **Cerne**, v. 4, n. 1, p. 129-145, 1998.

CARVALHO, N. D.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: Funep, 2000.

CAVALCANTE, U. M. T.; GOTO, B. T.; MAIA, L. C. Aspectos da simbiose micorrízica arbuscular. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 5, p. 180-208, 2013.

COSTA, C. M. C.; MAIA, L. C.; CAVALCANTE, U. M. T.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de dois genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* DC). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 6, p. 893-901, 2001.

CUNHA, A. M.; CUNHA, G. M.; SARMENTO, R. A.; CUNHA, G. M.; AMARAL, J. F. T. Efeito de diferentes substratos sobre o desenvolvimento de mudas de *Acacia sp.* **Revista árvore**, v. 30, n. 2, p. 207-214, 2006.

DAFT, M. J.; NICOLSON, T. H. Effect of Endogone mycorrhiza on plant growth. **New Phytologist**, v. 65, n. 3, p. 343-350, 1966.

DANIEL, O. A. C. T.; VITORINO, A. C. T.; ALOVISI, A. A.; MAZZOCHIN, L.; TOKURA, A. M.; PINHEIRO, E. R.; SOUZA, E. D. Aplicação de fósforo em mudas de *Acacia mangium* Willd. **Revista árvore**, v. 21, n. 2, p. 163-168, 1997.

DANIELS-HETRICK, B. A.; BLOOM, J. The influence of host plant on production and colonization ability of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores. **Mycologia**, v. 78, n. 1, p. 32-36. 1986

DE OLIVEIRA, A. K. M; GUALTIERI, S. C. J. Trocas gasosas e grau de tolerância ao estresse hídrico induzido em plantas jovens de *Tabebuia aurea* (paratudo) submetidas a alagamento. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 1, p. 35-41. 2017

DELARMELINA, W. M.; CALDEIRA, M. V. W.; FARIA, J. C. T.; GONÇALVES, E. O.; ROCHA, R. L. F. Diferentes substratos para a produção de mudas de *Sesbania virgata*. **Floresta e Ambiente**, v. 21, n. 2, p. 224-233, 2014.

DINIZ, P. F. A. **Influência do fungo micorrízico arbuscular (*Glomus clarum*) sobre características biofísicas, nutricionais, metabólicas e anatômicas em plantas jovens de seringueira**. 2007. 125 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

FAGAN, E. B.; MEDEIROS, S. L.; MANFRON, P. A.; CASAROLI, D.; SIMON, J.; NETO, D. D.; MÜLLER, L. Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja - Revisão. **Revista da FZVA**, v.14, n.1, p. 89-106. 2007.

FREIRE, J. M.; DA CONCEIÇÃO JESUS, E.; ROUWS, J. R. C.; DE FARIA, S. M.; ZILLI, J. E. Efeito do substrato sobre o crescimento de mudas de *Mimosa bimucronata* inoculadas com estirpes de rizóbio. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 37, n. 90, p. 131-138, 2017.

GABIRA, M. M. **Crescimento e qualidade de mudas florestais produzidas com substratos a base de lodo de esgoto compostado**, 2018. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo.

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological society**, v. 46, n. 2, p. 235-244, 1963.

GOMES, J. M.; COUTO, L.; LEITE GARCIA, H.; XAVIER, A.; GARCIA LAGES RIBEIRO, S. Parâmetros morfológicos na avaliação da qualidade de mudas de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 26, n. 6, p. 655-664, 2002.

GOMES, S. B.; NASCIMENTO, C. W.; BIONDI, C. M. Produtividade e composição mineral de plantas de milho em solo adubado com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 5, p. 459-465, 2007.

GONÇALVES, C. A.; GOI, S. R.; JACOB, N. Crescimento e nodulação de *Inga marginata* em resposta à adição de nitrogênio, fósforo e inoculação com rizóbio. **Floresta e Ambiente**, v. 6, n. 1, p. 118-126, 1999.

GONÇALVES, E. O.; PETRI, G. M.; CALDEIRA, M. V. W.; DALMASO, T. T.; SILVA, A. G. Crescimento de mudas de *Ateleia glazioviana* em substratos contendo diferentes materiais orgânicos. **Floresta e Ambiente**, v. 21, n. 3, p. 339-348, 2014.

GRACE, C.; STRIBLEY, D. P. A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Mycological Research**, v. 95, n. 10, p. 1160-1162, 1991.

GUTIÉRREZ-BOEM, F. H.; THOMAS, G. W. Phosphorus nutrition affects wheat response to water deficit. **Agronomy Journal**, v. 90, n. 2, p. 166-171, 1998.

HOFFMANN, L. V.; LUCENA, V. **Para entender Micorrizas Arbusculares**. Campina Grande: *Embrapa Algodão-Documentos (INFOTECA-E)*.2006

HOLANDA, F. J. M.; VASCONCELOS, I.; DE OLIVEIRA, M. S. Fatores nutricionais limitantes da fixação do nitrogênio atmosférico em cunha (*Clitoria ternatea* L.). **Ciencia agronomica**, v. 13, n. 1, p. 29-33, 1982.

JENKINS WR. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**. v. 48, n. 9. p. 692, 1964.

KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guaíba: Agrolivros, 2005.

KOSKE, R. E.; GEMMA J. N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycological Research**. v. 92, n. 4, p. 486–488, 1989.

MCGONIGLE, T. P.; MILLER, M. H.; EVANS, D. G.; FAIRCHILD, G. L.; SWAN, J. A.; A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v. 115, n. 3, p. 495-501, 1990.

MEHROTRA, V. S. **Mycorrhiza: Role and Applications**. Mumbai: Allied Publishers, 2005.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Editora UFLA. 2002.

MOREIRA, F. M. **Substratos orgânicos na produção de mudas arbóreas**. Dissertação (Mestrado em Solos e Qualidade de Ecossistemas) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas. 64 p., 2016.

NASCIMENTO, M. P. S. C. B.; OLIVEIRA, M. E. A. Quebra de dormência de sementes de quatro leguminosas arbóreas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 13, n. 2, p. 129-137, 1999.

NOGUEIRA, A. R. A.; DE SOUZA, G. B. **Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste. 2005.

NOGUEIRA, P. D. M.; JÚNIOR, D. G. S.; RAGAGNIN, V. A. Clorofila foliar e nodulação em soja adubada com nitrogênio em cobertura. **Global science and technology**, v. 3, n. 2, p. 117–124, 2010.

OLIVEIRA, G. K. V. D.; BARBOSA, L. D. S.; BEZERRA, A. C.; NASCIMENTO, K. L. D.; BEZERRA, C. V. D. C.; BEZERRA, A. B. Produção de mudas florestais nativas e frutíferas. **Cadernos de Agroecologia**, v. 13, n. 1, 2018.

PELEGRIN, R.; MERCANTE, F.M.; OTSUBO, I.M.N.; OTSUBO, A.A. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, n. 1, p. 219-226, 2009.

PEREIRA, R. D.; TAKENAKA, E. M. M.; FLUMINHAN JR, A. Reciclagem agrícola de biossólidos: aspectos ambientais e aceitação pública. **Colloquium Humanarum**. v. 10, n. 2, p. 90-101, 2014.

REIS, V. M.; OLIVEIRA, A. D. M.; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 153-174.

ROCHA, D. R.; HOLANDA, F. J. M. Efeitos da nutrição mineral e da inoculação na fixação simbiótica do nitrogênio atmosférico em *Stylosanthes humata* (L.) Taub. cv. Verano. **Revista Ciência Agronômica**, v. 14, n. 1, p. 97-105, 1983.

GOMES, D. R.; WINCKLER CALDEIRA, M. V.; MACEDO DELARMELINA, W.; DE OLIVEIRA GONÇALVES, E.; TRAZZI, P. A. Lodo de esgoto como substrato para produção de mudas de *Tectona grandis* L. **Cerne**, v. 19, n. 1, p. 123-131, 2013.

RODRÍGUEZ, D.; ZUBILLAGA, M. M.; PLOCHUK, E. L.; KELTJENS, W. G.; GOUDRIAAN, J.; LAVADO, R. S. Leaf area expansion and assimilate production in sunflower (*Helianthus annuus* L.) growing under low phosphorus conditions. **Plant and Soil**, v. 202, n. 1, p. 133-147, 1998.

RUSCHEL, A. P.; DA COSTA, W. F. Fixação simbiótica de nitrogênio atmosférico em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). III. Influência de alguns inseticidas e fungicidas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 1, n. 1, p. 147-149, 1966.

SANTOS, T. A. C.; MENEZES, G. S.; SANTOS, J. S.; GOIS, L. S.; NASCIMENTO, S. L. M.; MARINO, R. H. Interação microbiana no desenvolvimento da biomassa de gliricídia. **Revista Caatinga**, v. 31, n. 3, p. 612-621, 2018.

SIQUEIRA, J. O.; COLOZZI-FILHO, A. Micorrizas vesículo-arbusculares em mudas de cafeeiro. Efeito do fósforo no estabelecimento e funcionamento da simbiose. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 10, n. 3, p. 207-211, 1986.

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal Symbiosis**, Elaine Ingham: Academic press, 1997.

SMITH, S. E.; SMITH, F. A.; JAKOBSEN, I. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. **Plant physiology**, v. 133, n. 1, p. 16-20, 2003.

SOUZA, C. A. M.; OLIVEIRA, R. B.; MARTINS FILHO, S.; LIMA, J. S. S. Crescimento em campo de espécies florestais em diferentes condições de adubação. **Ciência Florestal**, v.16, n. 1, p. 243 – 249, 2006.

TATAGIBA, S. D.; PELOSO, A. F.; RODRIGUES, F. A. Ganho de desempenho fotossintético promovido pelo aumento na concentração foliar de magnésio em arroz. **Revista Univap**. v. 22, n. 40, p. 891-891, 2017.

TRINDADE, A.V.; SIQUEIRA, J.O.; ALMEIDA, F.P.; Dependência micorrízica de variedades comerciais de mamoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 12, p. 1485–1494, 2001.

TSUTIYA, M.T.; COMPARINI, J.B.; SOBRINHO, P.A.; HESPANHOL, I.; CARVALHO, P.C.T.; MELFI, A.J.; MELO, W.J.; MARQUES, M.O. **Biossólidos na Agricultura**. São Paulo, SP. p.468, 2002.

CAPÍTULO III

MUDAS DE *Samanea saman* (Jacq.) Merr. ASSOCIADAS ÀS BACTÉRIAS
FIXADORAS DE NITROGÊNIO E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES
TOLERAM MAIS O ESTRESSE HÍDRICO PÓS-PLANTIO?

RESUMO

Existem relatos na literatura que a simbiose do vegetal com bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) aumentam a tolerância ao estresse hídrico. Em mudas florestais, essa tolerância tem grande relevância em casos de veranico após o plantio em campo. Assim, o presente estudo avaliou se mudas de *Samanea saman* associadas às bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares produzidas em substratos favoráveis às simbioses, apresentam aumento na tolerância ao estresse hídrico após o plantio. Utilizou-se o delineamento experimental em blocos ao acaso, em esquema fatorial 3 x 3, testando mudas produzidas em três substratos (terra de subsolo argiloso acrescida de 33% de esterco bovino – “Padrão”, Carolina Soil Padrão 0,7 e Lodo de esgoto) e três inoculações (Testemunha absoluta, Controle positivo (adubada) e BFN+FMA). As mudas foram plantadas em vasos dentro de casa de vegetação e no momento do plantio foi realizada uma irrigação até que o solo alcançasse a capacidade de campo. Em seguida as mudas ficaram sem irrigação por 36 dias quando iniciou-se o ciclo de reidratação com irrigação semanal. Ao longo do experimento a altura e o potencial hídrico foliar (Ψ_f) foram mensurados. Aos 66 dias foram avaliados os parâmetros de massa seca aérea e radicular. A utilização BFN+FMAs combinada com o substrato Padrão, aumentou o crescimento em altura e em biomassa após o plantio. Para o substrato Lodo, as maiores alturas e biomassas ocorreram quando não foram utilizados inoculantes nem adubação na produção das mudas, sendo que para esse substrato a adubação reduziu a biomassa radicular e os microorganismos reduziram a biomassa radicular e aérea das plantas. Não é indicado o plantio de mudas de *Samanea saman* produzidas no substrato Comercial em condições de estresse hídrico.

Palavras chave: Potencial hídrico foliar, rizóbio, biossólido, recuperação de área degradada.

ABSTRACT

It has been reported in the literature that plant symbiosis with nitrogen-fixing bacteria (NFB) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) increase water stress tolerance. In forest seedlings, this tolerance has great relevance in summer cases after field planting. Thus, the present study evaluated whether *Samanea saman* seedlings associated with nitrogen-fixing bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi produced on symbiosis-favored substrates present an increased water stress tolerance after planting. A randomized complete block design was used in a 3 x 3 factorial scheme, testing seedlings produced in three substrates (clayey subsoil with the addition of 33% bovine manure - "Standard", Carolina Soil 0.7 and Sewage sludge) and three inoculations (Absolute Control, Positive control (fertilized) and NFB + AMF). The seedlings were planted in pots within a greenhouse and at the time of planting irrigation was performed until the soil reached the field capacity. Then the seedlings were left without irrigation for 36 days when the weekly irrigation rehydration cycle was started. Throughout the experiment height and leaf water potential (Ψ_f) were measured. At 66 days the shoot and root dry matter parameters were evaluated. The use of NFB + AMF combined with the Standard substrate increased the growth in height and biomass after planting. For the substrate Sewage Sludge, the highest heights and biomasses occurred when no inoculants were used nor fertilization in the seedlings production and for this substrate the fertilization reduced the root biomass and the microorganisms reduced the root and shoot biomass of the plants. The planting of *Samanea saman* seedlings produced in the commercial substrate under water stress conditions is not indicated.

Keywords: Foliar water potential, rhizobium, biosolid, the recovery of degraded area.

8.3 INTRODUÇÃO

O reaproveitamento de resíduos agrícolas, florestais e urbanos como substrato para produção de mudas tem aumentado, trazendo benefícios ambientais e econômicos (BANDEIRA et al., 2018, CORDEIRO et al., 2018). Dentre diversos substratos provenientes de resíduo testados no capítulo I, dois foram selecionados, sendo um conducente à simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) e outro à simbiose com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). É possível que os benefícios das simbioses sejam potencializados nas mudas produzidas nesses substratos e que os benefícios da simbiose auxiliem no crescimento das mudas após o plantio em situação de estresse hídrico pois os FMAs aumentam a eficiência na absorção de água do solo devido ao pequeno diâmetro das hifas (SHARMA et al., 2015, DINIZ, 2007) as BFN aumentam o crescimento vegetal (BRITO, 2016). Mesmo na época chuvosa, as mudas estão sujeitas ao estresse hídrico após o plantio devido a ocorrência de veranicos (CRUZ, et al., 2004). Nessas situações as mudas são plantadas com solo úmido e tem que resistir o período de restrição hídrica até a ocorrência de precipitação ou o manejo de irrigação. Posto isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar se mudas de *Samanea saman* associadas as BFN e FMA produzidas em substratos conducentes às simbioses, apresentam aumento na tolerância ao estresse hídrico após o plantio.

8.4 MATERIAL E MÉTODO:

O experimento foi conduzido entre abril e junho de 2018 (por 66 dias), na casa de vegetação da Embrapa Agrobiologia, Seropédica / RJ (22°45'35,83"S ; 43°40'47,92"O), em temperatura máxima de 35°C, mantida através do acionamento automático de um painel de umedecimento e ventilação de exaustão. A temperatura e a umidade relativa da estufa durante a condução do experimento foram aferidas a cada 30 minutos com auxílio de um termohidrografo da marca Datalogger SK-L200TH, sendo que as médias da temperatura máxima e mínima foram de 34,7 e 20,6°C respectivamente, ficando a temperatura média geral em 25,9°C. Em relação à umidade relativa, a média máxima e mínima foram de 25,9 e 21,7%, respectivamente, ficando a média geral em 22,7%. O clima da região, segundo a classificação de Köppen é do tipo Aw.

O experimento foi montado com mudas de *S. saman* com 113 dias de idade, produzidas em tubetes de 280cm³, sob o delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial (3 x 3), correspondendo a três substratos e três tipos de inoculação,

totalizando nove tratamentos, com quatro repetições (blocos). Os tratamentos utilizados foram os mesmos do capítulo II.

As mudas utilizadas no plantio foram produzidas com os seguintes tratamentos de inoculação: a) inoculação com ambos microorganismos simbiotes (BFN+FMA); b) mudas produzidas sem inoculantes e adubadas com 111mg de N, 16mg de P₂O₅ e 51mg de K₂O por muda, parcelados em 10 fertirrigações semanais entre 31° e o 93° dias após a semeadura (Controle positivo) e c) testemunha não inoculada nem adubada (Testemunha absoluta). As BFN utilizadas foram *Bradyrhizobium elkanii* estirpes BR 6205 e BR 6212, recomendadas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011). O inoculante turfoso contendo as BFN foi misturado às sementes no ato do plantio. A inoculação com FMAs foi feita através da aplicação de inoculante contendo aproximadamente cinco esporos de cada uma das nove espécies descritas a seguir: *Acaulospora colombiana*, *Acaulospora morrowiae*, *Acaulospora scrobiculata*, *Dentiscutata heterogama*, *Gigaspora candida*, *Glomus formosanum*, *Rhizophagus clarus*, *Scutellospora calospora*, *Scutellospora gilmorei*.

Os tratamentos de substratos foram: a) Padrão: terra de subsolo argiloso acrescida de 33% de esterco bovino (V:V) representando a mistura mais utilizada em viveiros florestais de pequeno porte; b) Comercial: Carolina Soil Padrão 0,7, composto por turfa de sphagno acrescida de vermiculita e casca de arroz carbonizada, representando um dos substratos mais utilizados nos viveiros florestais de grande porte e que no capítulo I mostrou-se conducente à simbiose com BFN e c) Lodo: Lodo de esgoto fornecido pela Companhia Estadual de Águas e Esgoto do Rio de Janeiro (CEDAE), que no capítulo I mostrou-se conducente à simbiose com FMAs.

Na Tabela 5 (capítulo II) são mostrados os resultados das análises de fertilidade dos substratos (nutrientes disponíveis) e da análise de tecidos de plantas (nutrientes totais) das amostras dos substratos de acordo com os procedimentos descritos por Nogueira e Souza (2005).

As informações morfológicas (altura, diâmetro de colo, área foliar, percentual de colonização radicular, densidade de esporos em 50mL de substrato e biomassa seca da parte radicular, aérea, total e de nódulos) das mudas de cada tratamento utilizadas nesse experimento estão na tabela 6 (capítulo II).

Para simular o plantio em campo, as mudas foram plantadas em vasos de 12 litros (25 cm de diâmetro e de altura), contendo argissolo amarelo de textura argilosa, extraído

de uma área de pasto degradado. Antes de ser colocado nos vasos o solo foi peneirado com peneira de malha de 1cm². O resultado das análises de fertilidade desse solo encontra-se na Tabela 7.

Após o plantio das mudas foi realizada uma irrigação até que o solo alcançasse a capacidade de campo simulando a situação ideal de plantio e em seguida passaram 35 dias sem receber água simulando um período de veranico posterior ao plantio. No 36º dia iniciou-se o período de reidratação, no qual as mudas foram irrigadas semanalmente de forma que o solo estivesse sempre na capacidade de campo.

A altura das plantas foi mensurada aos 3, 10, 20, 24, 31, 43, 52, 59 e 66 dias após o plantio. O cálculo de incremento médio diário em altura (IMDA) foi realizado através da subtração do valor da altura de cada planta pelo valor medido na ocasião anterior e dividido pelos dias de intervalo entre as medições

Tabela 7: Teores de nutrientes do argissolo amarelo (solo de plantio das mudas) através da metodologia de análise de fertilidade do solo (nutrientes disponíveis) e análise de tecidos de plantas (nutrientes totais) de acordo com os procedimentos descritos por Nogueira e Souza, (2005)

pH	----- Nutrientes disponíveis -----							----- Nutrientes totais -----				
	N _{pot.}	P	K	H+Al	Al	Ca	Mg	N	P	K	Ca	Mg
	----- mg L ⁻¹ -----			----- cmol _c dm ⁻³ -----				%	----- g kg ⁻¹ -----			
5,2	69	13,1	64,1	3,8	0,04	1,6	0,8	0,09	0,46	0,26	0,34	0,36

Metodologia de extração utilizada nas análises de fertilidade do solo: N_{pot.} (extração em KCl do substrato seguida pela digestão ácida - Kjeldahl); P (método colorimétrico - extrator Mehlich I); K (fotometria de chama - extrator Mehlich I); H+Al e Al (titulação – Extrator KCl 1M); Ca e Mg (espectrometria de absorção atômica). N_{pot.} = nitrogênio potencialmente disponível para as plantas (nitrato + amônio + nitrato + formas orgânicas lábeis). Metodologia de extração utilizada nas análise de tecido de plantas: Digestão nítrico-perclórica e determinação por espectrofotometria de absorção atômica. * Elevado pH resulta na não detecção de Al³⁺, H⁺ e H⁺ + Al³⁺, tornando inadequada a metodologia do extrator ácido de Mehlich I.

No final do experimento, aos 66 dias, a parte aérea foi separada da parte radicular e esses materiais foram secos em estufa de circulação forçada (65-70 °C) até alcançar a estabilidade de sua massa. Os dados de massa da parte radicular seca e massa da parte aérea seca foram obtidos através de pesagem em balança de precisão com duas casas decimais. A massa total seca foi obtida através da soma da massa radicular e aérea. O

cálculo de incremento em massa seca de raiz, parte aérea e total foi realizado através da subtração do valor obtido aos 66 dias após o plantio pelo valor médio das mudas de cada tratamento na ocasião do plantio.

O potencial hídrico foliar foi medido nos dias 0, 7, 16, 22, 28 e 37 após o plantio, sendo as cinco primeiras medições realizadas no período de desidratação e a última realizada um dia após o início da fase de reidratação. O potencial hídrico foliar foi aferido entre 04:30h e 05:30h da manhã (antes do amanhecer) com o auxílio da Câmara de Scholander.

O dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro–Wilk) e homogeneidade de variância (Bartlett) com o auxílio do software R. Em seguida foi utilizado o software SISVAR 5.6 para fazer a análise de variância e nos casos em que houve diferença estatística pelo teste F foi aplicado o teste de médias de Scott-Knott, a 5% de probabilidade para separar as médias. A unidade experimental foi composta por cinco plantas para todas as variáveis, com exceção do potencial hídrico foliar, que teve unidade experimental de apenas uma planta.

Por fim, utilizou-se o software Microsoft Excel 2010 para calcular o coeficiente de correlação linear de Pearson (ρ de Pearson) entre as características das mudas plantadas (Figura 2 e tabela 6 do capítulo II) e as variáveis mensuradas após o plantio. A significância das correlações foram verificadas através do software R utilizando-se o teste t de Student ao nível de 5% de probabilidade de erro.

8.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 3 tem-se o crescimento em altura das plantas de *Samanea saman* após o plantio e os momentos em que os vasos foram irrigados. Percebe-se que as plantas cresceram, aproximadamente até o 20º dia após o plantio e que entre o 20º e o 31º dia, a restrição hídrica comprometeu a continuidade do crescimento. Percebe-se também que entre a segunda e a terceira irrigação as plantas retomaram seu crescimento em altura.

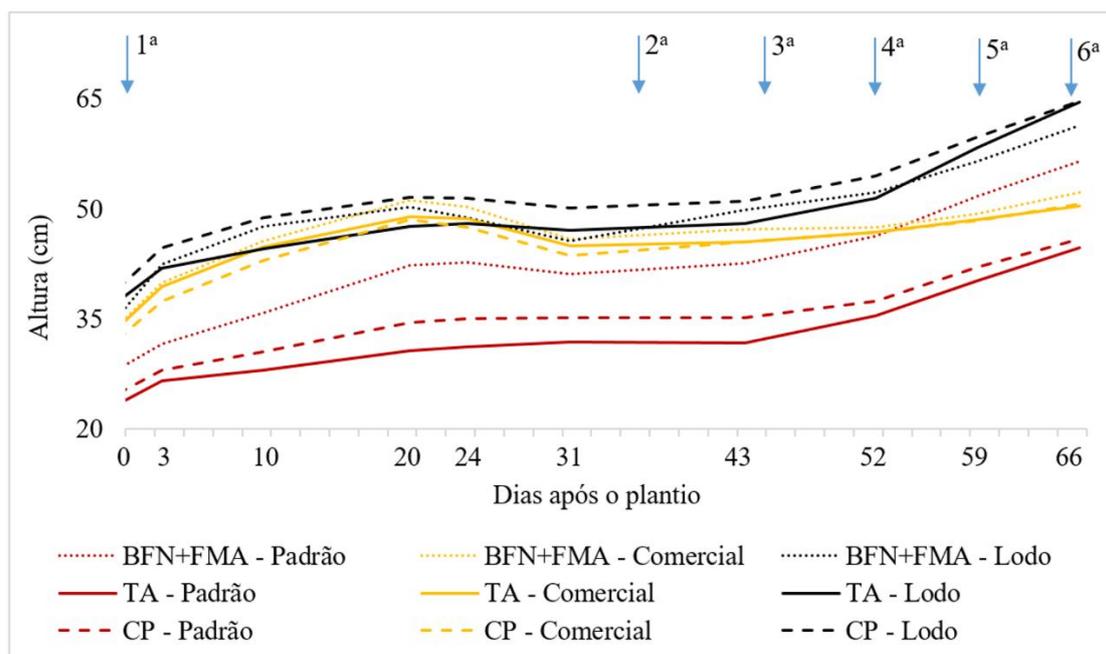


Figura 3: Linha do tempo mostrando o crescimento em altura (cm) no pós-plantio de *Samanea saman* produzidas em três substratos: Padrão (terra de subsolo argiloso acrescida de 33% de esterco bovino (V:V)); Comercial (Carolina Soil Padrão 0,7) e Lodo (Lodo de esgoto fornecido pela Companhia Estadual de Águas e Esgoto do Rio de Janeiro (CEDAE)) e sob o efeito de três tratamentos de inoculação a) BFN+FMA: Inoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares; b) TA: Testemunha absoluta e c) CP: Controle positivo sem inoculantes e adubadas com 111mg de N, 16mg de P₂O₅ e 51mg de K₂O por muda. Setas indicam os momentos em que as plantas receberam irrigação.

Considerando que o estresse hídrico influencia mais na altura do que no diâmetro em espécies florestais (DUARTE et al., 2016, 2017), e que em condições de falta d'água, a planta reduz a turgescência celular e consequentemente inibe o alongamento e a expansão da célula, reduzindo o crescimento em altura (TAIZ; ZEIGER, 2013), a altura pode ser uma variável morfológica, não destrutiva, de fácil medição e indicadora do estresse hídrico.

Na Tabela 8 são mostrados os dados de altura e de incremento médio diário em altura nas seguintes fases do experimento: a) logo após o plantio e irrigação (0-3 dias); b) no período em que o estresse hídrico se instala, diminuindo o crescimento das plantas (3-20 dias); c) no período de intenso estresse hídrico com restrição do crescimento em altura (20-31 dias); d) no período final da seca, reidratação e retomada do crescimento após a reidratação (31-52 dias); e e) no período de crescimento final hidratado (52-66 dias). Na Tabela 9 são mostrados os coeficientes de correlação de Pearson entre as características

das mudas utilizadas no momento do plantio (Tabela 6 – Capítulo II) e as variáveis de altura, biomassa e Ψ_f aferidos nesse experimento

Logo após o plantio (0-3 dias), o solo estava bem úmido possibilitando que as plantas tivessem maior incremento em altura. As plantas dos tratamentos Lodo e Comercial, que foram plantadas com mudas de maior área foliar (Tabela 6 – Capítulo II) e estavam em substratos com maior teor de nutrientes (Tabela 5 – Capítulo II) tiveram maior crescimento que as plantas do substrato Padrão. Nessa fase do experimento ocorreu correlação positiva entre a área foliar das mudas com o crescimento em altura das plantas (Tabela 9). Os tratamentos de inoculação não tiveram influência.

No início do ciclo de estresse hídrico (3-20 dias) o incremento em altura reduziu em todos os tratamentos para menos de 1/3 do crescimento aferido no período anterior, evidenciando a influência do estresse hídrico na redução do crescimento das plantas. Nessa etapa do experimento, o incremento em altura teve forte correlação positiva com a massa dos nódulos secos das mudas (Tabela 9). As plantas do substrato Comercial (favorável à nodulação) tiveram o maior incremento em altura em relação aos demais substratos, porém, nesse substrato não houve efeito da inoculação e nem da adubação. As plantas cujas mudas foram formadas no substrato Lodo apresentaram incremento em altura praticamente igual às mudas do substrato Padrão, exceto quando o Padrão foi inoculado e apresentou incremento maior que o Lodo. O substrato Lodo, tal qual o Comercial, também não promoveu efeito da adubação e da inoculação no incremento em altura na fase 3-20 dias. Para as plantas do substrato Padrão, a inoculação aumentou o incremento em altura, superando o crescimento das mudas que foram adubadas, mostrando que mesmo não sendo um substrato conducente às simbioses (capítulo II) o efeito benéfico da inoculação continua perceptível após o plantio.

No final do ciclo de estresse hídrico, (20-31 dias) os efeitos da restrição hídrica foram muito drásticos sobre o incremento em altura, de forma que sete dos nove tratamentos tiveram valores negativos para essa variável devido ao murchamento ou, em alguns casos, morte apical. Nessa fase, o incremento em altura se correlacionou negativamente com a área foliar e com a massa seca da parte aérea das mudas utilizadas no plantio (Tabela 9), indicando que mudas maiores sentiram mais os efeitos de um veranico pós-plantio em campo. Assim, as plantas não inoculadas do substrato Padrão, que possuíam menor crescimento (Capítulo II, Tabela 6) foram os únicos tratamentos com incremento em altura positivo neste período. Inclusive a presença da inoculação que

favoreceu o crescimento das mudas no substrato Padrão e Lodo (Tabela 6 – Capítulo II), causou a redução do crescimento das plantas quando o estresse hídrico chegou a limites extremos próximos ao ponto de murcha permanente.

No período de reidratação (31-52 dias), as plantas voltaram a crescer em altura evidenciando a recuperação após a irrigação, porém com incrementos baixos e sem evidências do efeito dos tratamentos de substrato, adubação e inoculação. Na fase final de crescimento hidratado (52-66 dias) o incremento em altura das plantas alcançou valores próximos aos encontrados no período de início do estresse hídrico (entre o 3º e o 20º dia). Nessa fase, as plantas dos substratos Lodo e Padrão tiveram maior incremento em altura que as plantas do substrato comercial, sugerindo que as mudas formadas no substrato Comercial sentiram mais a simulação de veranico e não conseguiram recuperar o pleno crescimento após o restabelecimento da hidratação normal. Nesta fase de crescimento (52-66 dias) os tratamentos de inoculação e adubação não tiveram influência no incremento em altura das plantas.

Por fim, é válido destacar que aos 66 dias após o plantio as plantas do substrato Lodo que promoveu as maiores mudas (Capítulo II, Tabela 6) e as plantas do substrato Padrão que promoveu as menores mudas (Capítulo II, Tabela 6) apresentavam crescimento médio diário equivalente após um período de veranico simulado, sugerindo que muitas vezes os parâmetro de crescimento utilizados para indicar a boa qualidade das mudas, podem não refletir claramente a capacidade de tolerância destas aos estresse que tem de enfrentar em campo, entre eles o estresse hídrico.

Tabela 8: Altura, e incremento médio diário em altura, aos 3, 20, 31, 52 e 66 dias após o plantio de mudas de *Samanea saman* produzidas com diferentes tratamentos de inoculação e substratos sob efeito de estresse hídrico simulando um veranico (até o 36º dia) e reidratação (após o 36º dia)

Tratamentos de substrato	Tratamentos de inoculação					
	Altura (cm)			Incremento médio diário em altura (mm)		
	Testemunha absoluta	Controle positivo	BFN+FMA	Testemunha absoluta	Controle positivo	BFN+FMA
	3 dias após o plantio. CV(%) = 4,84			entre 0 e 3 dias após o plantio. CV(%) = 36,88		
Padrão	26,6 B b	28,0 C b	31,6 B a	10,7 B a	10,6 B a	11,4 B a
Comercial	39,5 A a	37,4 B a	40,0 A a	18,9 A a	16,9 A a	19,2 A a
Lodo	41,9 A a	44,7 A a	42,5 A a	15,1 A a	18,5 A a	24,2 A a
	20 dias após o plantio. CV(%) = 4,06			entre 3 e 20 dias após o plantio. CV(%) = 17,53		
Padrão	30,6 B c	34,5 C b	42,4 B a	2,3 B c	3,8 B b	6,3 A a
Comercial	49,0 A a	48,6 B a	51,1 A a	5,6 A a	6,6 A a	6,6 A a
Lodo	47,6 A b	51,6 A a	50,3 A a	3,3 B a	4,1 B a	4,6 B a
	31 dias após o plantio. CV(%) = 4,93			entre 20 e 31 dias após o plantio. CV(%) = -52,19		
Padrão	31,9 B c	35,1 C b	41,1 B a	1,2 A a	0,6 A a	-1,1 A b
Comercial	45,0 A a	43,6 B a	46,0 A a	-3,6 C a	-4,5 C a	-4,7 B a
Lodo	47,1 A b	50,1 A a	45,7 A b	-0,4 B a	-1,4 B a	-4,2 B b
	52 dias após o plantio. CV(%) = 5,44			entre 31 e 52 dias após o plantio. CV(%) = 51,85		
Padrão	35,4 C b	37,5 C b	46,2 B a	1,7 A a	1,1 A a	2,4 A a
Comercial	46,8 B a	46,8 B a	47,5 B a	0,8 A a	1,5 A a	0,7 A a
Lodo	51,4 A a	54,5 A a	52,2 A a	2,1 A a	2,1 A a	3,1 A a
	66 dias após o plantio. CV(%) = 6,62			entre 52 e 66 dias após o plantio. CV(%) = 21,27		
Padrão	44,8 C b	45,9 B b	56,4 B a	6,7 A a	6,1 A a	7,3 A a
Comercial	50,4 B a	50,7 B a	52,3 B a	2,6 B a	2,8 B a	3,4 B a
Lodo	64,6 A a	64,7 A a	61,4 A a	9,4 A a	7,3 A a	6,6 A a

Padrão: substrato composto por terra de subsolo argiloso acrescida de 33% de esterco bovino (V:V); Comercial: substrato Carolina Soil Padrão 0,7; Lodo: Lodo de esgoto fornecido pela Companhia Estadual de Águas e Esgoto do Rio de Janeiro (CEDAE); Testemunha absoluta: mudas produzidas sem adubo e sem inoculantes; Controle positivo: mudas produzidas sem inoculantes e adubadas com 111mg de N, 16mg de P₂O₅ e 51mg de K₂O por muda, parcelado em 10 fertirrigações semanais entre o 31 e o 93 dias após a semeadura; BFN+FMA: Mudas inoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares; CV; Coeficiente de variação. Letras iguais (maiúsculas na coluna e minúsculas na linha) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 9: Coeficientes de correlação linear de Pearson entre as características morfológicas das mudas de *Samanea saman* produzidas com diferentes tratamentos de substratos e de inoculantes (Tabela 6 – capítulo II) e as características das plantas em estresse hídrico

Características das mudas	Características das plantas em estresse hídrico												
	----- Altura -----					---- Incremento em altura ----			----- Massa seca -----			----- Ψ_f -----	
	3 dias	20 dias	31 dias	52 dias	66 dias	0-3 dias	3-20 dias	20-31 dias	Raiz	Aérea	Total	16 dias	22 dias
Altura	0,99	0,92	0,98	0,95	0,82	0,76			0,93	0,92	0,95	-0,84	-0,69
DC	0,96	0,89	0,93	0,90	0,77	0,71			0,95	0,88	0,92	-0,75	-0,72
AF	0,93	0,97	0,90	0,87		0,93		-0,84	0,72	0,79	0,78	-0,80	-0,79
MAS	0,98	0,96	0,94	0,91	0,71	0,88		-0,73	0,85	0,87	0,88	-0,79	-0,74
MTS	0,98	0,94	0,93	0,91	0,72	0,85			0,87	0,87	0,89	-0,79	-0,76
MRS									0,79				-0,77
MNS							0,7						

Correlações significativas pelo teste t de Student a 5% de probabilidade de erro. DC (diâmetro ao nível do colo); MRS (massa das raízes secas); MAS (massa da parte aérea seca); MTS (massa total seco); MNS (massa dos nódulos secos); Ψ_f (potencial hídrico foliar).

Logo após o plantio (3 dias) ainda se mantinham as características medidas na fase de mudas (capítulo II, Tabela 6), com o Lodo apresentando a maior altura e o substrato Padrão a menor, mas o substrato Comercial se igualava ao Lodo no tratamento inoculado e na testemunha absoluta. Foi observado efeito benéfico da inoculação somente no substrato Padrão. Praticamente a mesma situação de resposta foi verificada durante o início do ciclo de estresse hídrico (20 dias), final do ciclo de estresse hídrico (31 dias) e no período de reidratação (52 dias), pois o crescimento em altura foi diminuído, conservando as diferenças existentes no início do experimento.

No entanto, na fase final de crescimento hidratado (66 dias) a altura das plantas cujas mudas foram formadas no substrato Padrão já era a mesma que as formadas no substrato Comercial acrescido de adubação ou inoculação. Como as mudas do substrato Padrão apresentavam incremento em altura superior ao do substrato Comercial, é provável que em curto espaço de tempo ultrapassassem as plantas desse tratamento, chegando próximo a altura das plantas do Lodo.

Até os 52 dias após o plantio, a altura apresentou forte correlação com as medidas morfológicas das mudas utilizadas antes do plantio (Tabela 9). Isso mostrou que as características morfológicas da muda foram mantidas durante a simulação do veranico e período inicial de reidratação, devido ao baixo crescimento das plantas em situação de estresse hídrico. Porém, essa correlação reduziu com o tempo após a reidratação e aos 66 dias havia apenas uma correlação positiva fraca ($r \leq 0,8$) (Tabela 9) mostrando que as características morfológicas das mudas não determinaram o crescimento em altura da planta após o plantio (MELO et al., 2018).

O crescimento em altura após o plantio é importante pois permite que a planta tenha maior competitividade contra plantas invasoras infestantes de rápido crescimento, no que se refere a obtenção de luz solar (ROSSA et al., 2015). Por essa razão, atualmente, a altura dos indivíduos arbóreos no campo é um dos indicadores de sucesso dos projetos de restauração florestal (RIO DE JANEIRO, 2017).

Nesse experimento as mudas plantadas com menor e maior altura (produzidas nos substratos Padrão e Lodo respectivamente) tiveram o mesmo incremento total em altura ao longo do experimento (pouco mais de 20 cm) enquanto as mudas produzidas no substrato comercial, cresceram pouco mais que 12 cm. Melo et al., (2018) também verificaram que mudas de menor altura (produzidas em recipientes menores) de *Mimosa caesalpiinifolia* tiveram maior crescimento após o plantio e, com 120 dias contados a

partir da data da implantação do experimento no campo, não existia mais diferença de altura entre os tratamentos.

O torrão das mudas dos substratos Lodo e Comercial tinham maior teor de nutrientes (Tabela 5 – capítulo II) e isso ajudou a nutrir as plantas após o plantio enquanto ainda não havia estresse hídrico. As plantas dos substratos Lodo e Comercial tiveram maior crescimento nas fases iniciais do experimento, respondendo à maior disponibilidade de nutrientes e a maior área foliar das mudas desses tratamentos, possivelmente, devido ao aumento da assimilação de CO₂ (RODRIGUES et al., 2017), melhor aproveitamento da energia solar para fotossíntese (NAVROSKI et al., 2016), maior produção de fotoassimilados e maior fluxo transpiracional possibilitando maior assimilação de água com nutrientes (MARCHI et al., 2000).

Entre o 3º e o 20º dia as plantas do substrato Comercial, tiveram crescimento em altura maior do que o do substrato Lodo. Um maior crescimento das plantas noduladas frente à condições de estresse hídrico inicial também foi verificado no trabalho de Brito (2016), no qual a quantidade de nódulos em plantas de amendoim favoreceram o crescimento da mesma em situação de estresse hídrico. Entretanto, Pimentel e Perez (2000) discutindo a influência da restrição hídrica em diferentes genótipos de feijoeiro verificaram que a massa seca dos nódulos não reduziu o estresse hídrico das plantas.

O maior incremento em altura das plantas produzidas no substrato Padrão combinado com a inoculação no período de restrição hídrica (3-20 dias), possivelmente se deve ao papel benéfico das BFN e FMAs, pois além da nodulação aumentar o crescimento vegetal mediante situação de estresse hídrico, os FMAs, por inúmeros relatos, reduzem o efeito do estresse hídrico pela eficiência das hifas em absorver água de microporos do solo (DINIZ, 2007, CAVALCANTE et al, 2001, MORATELLI et al, 2007).

Quando a restrição hídrica no solo aumenta ao extremo (20-31 dias) os danos ao crescimento das plantas também aumentam. Rodrigues et al. (2017) discutem que plantas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) submetidas ao estresse hídrico após o plantio, apresentam redução de 86% no seu incremento em altura quando comparados ao tratamento sem restrição hídrica e que em algumas progêneses o crescimento em altura teve valores negativos devido a seca dos ponteiros ou murcha. Martins (2008) estudando nim indiano (*Azadirachta indica*) após o plantio, também verificou que o estresse hídrico intenso reduziu o incremento em altura das plantas. Portanto, nas condições do presente

experimento, quando a restrição hídrica foi intensa (20-31 dias), a área foliar e a biomassa aérea das mudas apresentaram correlação negativa com o incremento em altura das plantas (Tabela 9), indicando que as plantas que investiram em maior área foliar, não estavam preparadas para o estresse hídrico, pois a redução da área foliar é uma resposta morfológica das plantas para se adaptar a restrição hídrica (PEREIRA et al., 2008) assim como a redução da massa seca da parte aérea (FIGUEIRÔA et al., 2004).

O substrato Comercial, tem comportamento higrofóbico (difícil reidratação) quando atinge baixa umidade (SCHINDLER et al., 2017). Essa característica física conhecida em substratos a base de turfa de sphagnum prejudicou a absorção de água pelas raízes e intensificando os danos do estresse hídrico nos indivíduos plantados com esse substrato.

Espécies florestais são rápidas para retomar seu crescimento quando após um período de estresse hídrico são submetidas a reidratação. Albuquerque et al., (2013) discutem que plantas de mogno (*Khaya ivorensis*) conseguem recuperar seu crescimento após um período de estresse hídrico em apenas 3 dias após a retomada da irrigação. Resultados semelhantes foram verificados para cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*) (OLIVEIRA-NETO et al., 2005).

Na Figura 4 são mostrados os dados da massa seca da parte radicular (MRS) e aérea (MAS) das mudas no momento do plantio (barras pretas) e do incremento da massa seca da parte radicular e aérea (barras brancas) das plantas ao final dos 66 dias do experimento. O substrato Padrão foi o único que manteve o efeito benéfico da inoculação sobre a produção de biomassa aérea e de raízes, antes e após o estresse hídrico. O menor crescimento em biomassa aérea durante o experimento ocorreu nas plantas do substrato Comercial, porém, quando inoculadas, as mudas desse substrato tiveram maior crescimento radicular. A inoculação aumentou o enraizamento nas plantas dos substratos Padrão e Comercial e reduziu quando combinada com o substrato Lodo.

Houve forte correlação positiva dos dados de biomassa, altura, diâmetro e área foliar das mudas utilizadas no experimento com a biomassa total das plantas após os 66 dias do experimento (Tabela 9), mas não houve nenhuma correlação com o incremento de biomassa durante os 66 dias do experimento, reforçando a discussão de que as características morfológicas das mudas não são determinantes para o crescimento das plantas em campo (MELO et al., 2018).

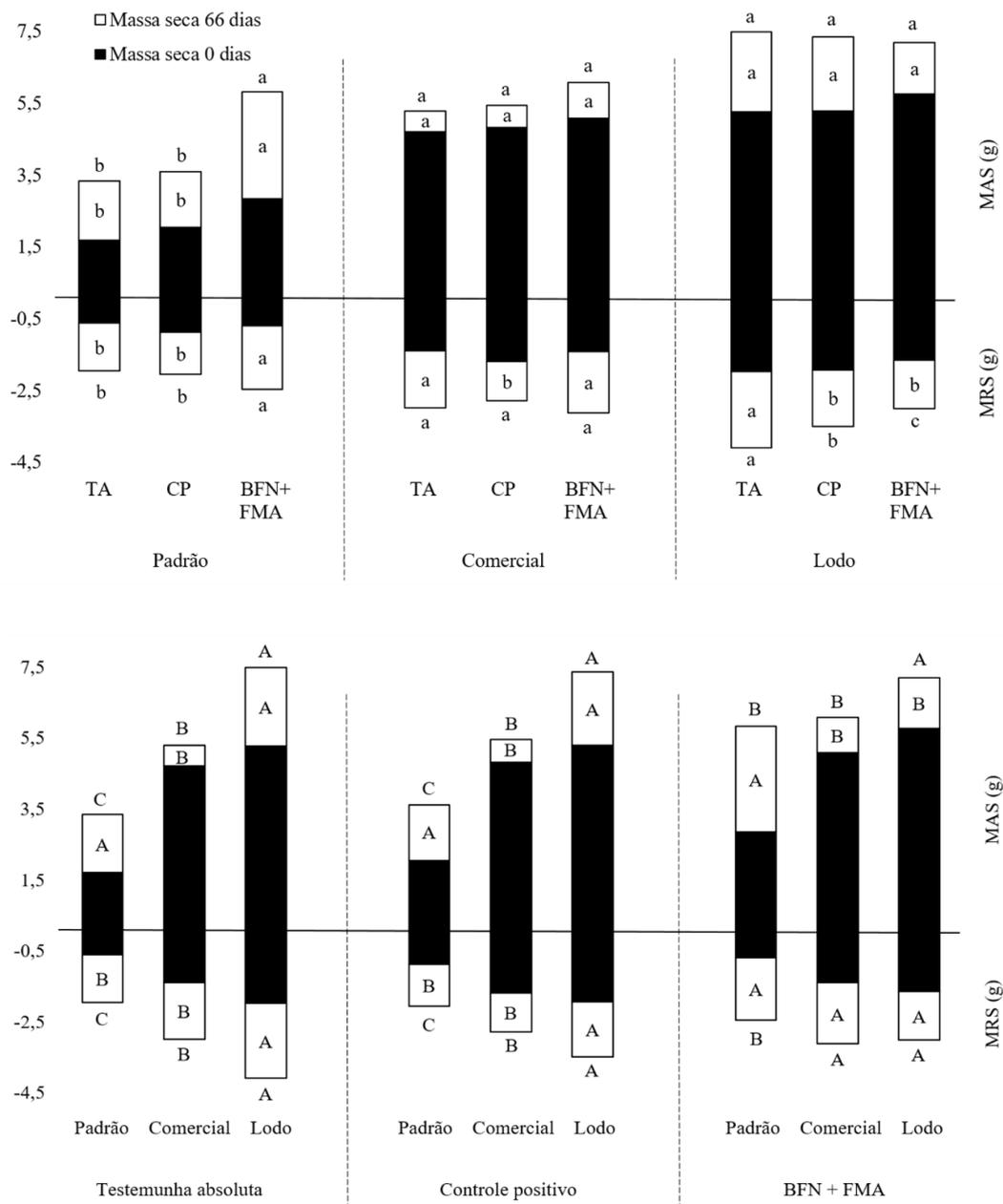


Figura 4: Massa da parte aérea seca (MAS), massa da raiz seca (MRS), em plantas de *Samanea saman* produzidas com diferentes tratamentos de inoculantes e de substratos. Padrão: substrato composto por terra de subsolo argiloso acrescida de 33% de esterco bovino (V:V); Comercial: substrato Carolina Soil Padrão 0,7; Lodo: Lodo de esgoto fornecido pela Companhia Estadual de Águas e Esgoto do Rio de Janeiro (CEDAE); Testemunha absoluta (TA): Mudas produzidas sem adubação e sem inoculantes; Controle positivo (CP): mudas produzidas sem inoculantes e adubadas com 111mg de N, 16mg de P₂O₅ e 51mg de K₂O por muda; BFN+FMA: Mudas inoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares. Letras iguais (maiúsculas para substrato e minúsculas para inoculante) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Teste de médias apresentado fora das barras se refere à massa seca e dentro das barras ao incremento em massa seca ao longo de 66 dias. Coeficiente de variação (%) MRS = 9,1; MAS = 12,1; incremento na massa de raiz seca = 17,2 e incremento na massa aérea seca = 44,1.

O substrato Lodo tinha maior teor de N e P do que os demais (Tabela 5 – capítulo II) contribuindo na nutrição das plantas ao longo do experimento e aumentando o crescimento em biomassa. Estudos mostram que a aplicação de Lodo de esgoto no solo pode substituir a adubação química em sistemas de produção agrícola devido ao seu alto teor de nutrientes (PEREIRA et al., 2014; TSUTIYA et al., 2002). Aliado a isso, o maior enraizamento nas plantas nesse substrato aumentou a absorção de água do solo reduzindo os danos causados pela restrição hídrica (SCALON et al., 2011). Nesse substrato, o maior teor de P e N restringiram os benefícios da simbiose com BFN e FMAs durante o experimento (GRANT et al., 2005) reduzindo a biomassa das plantas pois os microorganismos se comportaram apenas como um dreno de fotoassimilados (SMITH et al., 2003) quando as condições nutricionais são ótimas.

As mudas do substrato Padrão tinham menor área foliar e com isso houve menor evaporação (CALDEIRA et al., 2012) mantendo a água da primeira irrigação no solo por mais tempo, reduzindo o efeito do déficit hídrico (MENDONÇA et al., 2006) e possibilitando o maior crescimento em biomassa aérea. A maior biomassa de raízes nas plantas do substrato Padrão, combinado com inoculação, contribuiu para a maior retomada após a reidratação de crescimento da parte aérea neste substrato. Além disso, a presença de hifas dos FMAs promoveram maior eficiência na absorção da água do solo (DINIZ, 2007) e a presença do fungo potencializou o efeito das BFN (JESUS et al., 2005) na fixação biológica do nitrogênio. No estudo de Mendes et al. (2013) a biomassa de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) plantadas em campo, foi superior quando as mudas utilizadas estavam inoculadas com BFN e FMAs, em conjunto.

Carneiro et al. (2004) discutem que em substratos com pouco P, o efeito dos FMAs no crescimento e na sobrevivência das mudas em campo é maior, sendo esse resultado observado para as plantas do substrato Padrão combinadas com inoculação de BFN e FMAs. As mudas formadas nesse tratamento não possuíam as maiores características morfológicas (Tabela 6 – Capítulo II), mas após o plantio apresentaram maior crescimento, mesmo em condições adversas de estresse hídrico, e por essa razão devem ser consideradas mudas de boa qualidade (JOHNSON, J. D.; CLINE, M. L., 1991).

As plantas do substrato Comercial investiram mais em biomassa radicular do que em biomassa aérea na tentativa de aumentar a eficiência na absorção de água (SUASSUMA et al., 2012). Figueiroa et al. (2004) discutem que em condições de estresse hídrico as mudas alocam os fotoassimilados no sistema radicular ao invés da parte aérea

para aumentar a expansão radicular no intuito de potencializar a absorção de água no solo. O comportamento higrofóbico do substrato Comercial nas condições de baixa umidade (SCHINDLE et al., 2017), prejudicou a absorção de água pelas raízes e intensificou os danos do estresse hídrico nos indivíduos (PIMENTEL, 2004) reduzindo o crescimento da biomassa. Porém, quando combinado com inoculação as plantas produzidas no Comercial tiveram o maior crescimento da biomassa radicular (Figura 5), mostrando que, assim como para o substrato Padrão, a presença dos microorganismos simbiotes aumentou o enraizamento das plantas em situação de estresse hídrico.

Na Figura 5 é mostrado que o potencial hídrico foliar (Ψ_f) das plantas de *S. saman* aos 0, 7, 16, 22, 28 e 37 dias após o plantio em condição de estresse hídrico. Nessa figura, pode-se observar que até o 7º dia, o Ψ_f não sofreu alterações mantendo-se entre -2 e -4 bar para todos os tratamentos. No 16º dia o Ψ_f começa a reduzir e no 22º dia essa redução se acentua drasticamente alcançando valores entre -30 e -40 bar no 28º dia. No 37º dia, menos de 12 horas após o retorno da irrigação, o Ψ_f aumenta atingindo valores entre -20 e -30 bar.

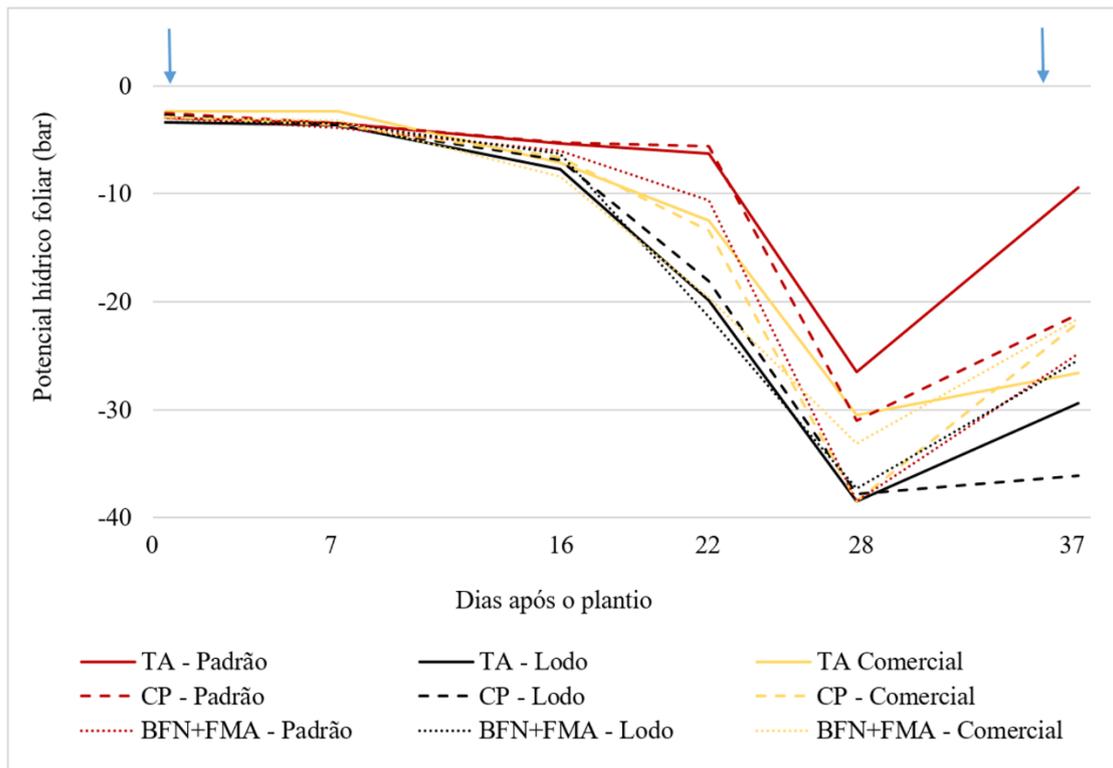


Figura 5: Linha do tempo mostrando o potencial hídrico foliar (bar), após o plantio, de *Samanea saman* produzidas em de três substratos: Padrão (terra de subsolo argiloso acrescida de 33% de esterco bovino (V:V)); Comercial (Carolina Soil Padrão 0,7) e Lodo (Lodo de esgoto fornecido pela Companhia Estadual de Águas e Esgoto do Rio de Janeiro (CEDAE)) e sob o efeito de três tratamentos de inoculação a) BFN+FMA: Inoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares; b) Testemunha absoluta (TA) e c) Controle positivo (CP): sem inoculantes e adubadas com 111mg de N, 16mg de P₂O₅ e 51mg de K₂O por muda. Setas azuis indicam os momentos em que as foram feitas irrigações.

As respostas das plantas às condições de estresse hídrico variam de acordo com a espécie, cultivar, tempo de exposição e fatores edáficos, entre outros (NASCIMENTO et al., 2011). O potencial hídrico foliar se correlaciona com a condutância estomática, trocas gasosas, transpiração e disponibilidade de água no solo (TONELLO; TEIXEIRA FILHO, 2012), tornando essa uma importante variável no estudo de estresse hídrico. Pimentel (2004) menciona que quando o solo atinge potencial hídrico inferior a -15 bar, as plantas atingem o ponto de murcha permanente por não conseguirem mais absorver água. Porém, esse mesmo autor menciona que algumas espécies conseguem sobreviver em solos com -60 bar de potencial hídrico. Nesse experimento, *S. saman* conseguiu absorver água do solo retida a pressões menores que -15 bar em todos os tratamentos sem atingir o ponto de murcha permanente mostrando que essa espécie é resistente ao estresse hídrico.

Na tabela 10 é apresentado o resultado do teste de médias dos dados de potencial hídrico foliar aferidos aos 0, 7, 16, 22, 28 e 37 dias após o plantio. Observa-se que para a maior parte do conjunto de dados de Ψ_f não houve diferença entre os tratamentos de inoculação e substratos. Por outro lado, verificou-se alta correlação negativa entre os dados de Ψ_f aos 16 e 22 dias após o plantio e os dados de altura, diâmetro de caule, área foliar e massa seca da parte aérea e radicular das mudas utilizadas no plantio (Tabela 9).

Tabela 10: Potencial hídrico foliar (bar) aos 0, 7, 16, 22, 28 e 37 dias após o plantio de *Samanea saman* produzidas com diferentes tratamentos de substratos e de inoculações em condição de estresse hídrico

Tratamentos de substratos	Tratamentos de inoculação					
	Testemunha absoluta	Controle positivo	BFN+FMA	Testemunha absoluta	Controle positivo	BFN+FMA
	Ψ_f (bar) aos 0 dias. CV(%) = 28,36			Ψ_f (bar) aos 22 dias. CV(%) = 56,78		
Padrão	-2,5 A a	-2,4 A a	-4,5 A b	-11,0 A a	-14,0 A a	-14,5 A a
Comercial	-2,9 A a	-2,9 A a	-3,8 A a	-13,3 A a	-17,5 A a	-12,0 A a
Lodo	-2,4 A a	-2,0 A a	-3,0 A a	-16,6 A a	-13,9 A a	-14,6 A a
	Ψ_f (bar) aos 7 dias. CV(%) = 22,81			Ψ_f (bar) aos 28 dias. CV(%) = 16,66		
Padrão	-3,4 A a	-4,4 A b	-3,0 A a	-34,8 A a	-36,6 A a	-35,6 A a
Comercial	-4,0 A a	-3,9 A a	-3,1 A a	-38,1 A a	-34,0 A a	-29,0 A a
Lodo	-3,4 A a	-3,1 A a	-2,8 A a	-30,6 A a	-34,5 A a	-38,5 A a
	Ψ_f (bar) aos 16 dias. CV(%) = 25,49			Ψ_f (bar) aos 37 dias. CV(%) = 38,37		
Padrão	-6,1 A a	-6,9 A a	-5,6 A a	-19,8 A a	-29,8 A a	-23,6 A a
Comercial	-5,4 A a	-7,5 A a	-7,1 A a	-27,8 A a	-21,1 A a	-27,5 A a
Lodo	-7,0 A a	-6,3 A a	-7,8 A a	-20,4 A a	-25,9 A a	-20,6 A a

Padrão: substrato composto por terra de subsolo argiloso acrescida de 33% de esterco bovino (V:V); Comercial: substrato Carolina Soil Padrão 0,7; Lodo: Lodo de esgoto fornecido pela Companhia Estadual de Águas e Esgoto do Rio de Janeiro (CEDAE); Testemunha absoluta: mudas produzidas sem adubo e sem inoculantes; Controle positivo: mudas produzidas sem inoculantes e adubadas com 111mg de N, 16mg de P₂O₅ e 51mg de K₂O por muda; BFN+FMA: Mudas inoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares; CV; Coeficiente de variação. Letras iguais (maiúsculas na coluna e minúsculas na linha) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. CV: Coeficiente de variação.

A correlação negativa entre as características morfológicas das mudas e os dados de Ψ_f aos 16 e 22 dias após o plantio ocorreu pelo fato da área foliar aumentar a transpiração e o consumo da água do solo (MARTINS et al., 2008), confirmando que as maiores mudas sofreram mais com o estresse hídrico pós-plantio, colocando em questionamento a utilização do tamanho das mudas como indicativo de qualidade.

A aumento do Ψ_f em menos de 12 horas após o retorno da irrigação corrobora com o estudo de Queiroz (2018) com plantas de Pajeú (*Triplaris gardneriana*) em diferentes tratamentos de estresse hídrico. Nesse estudo, em aproximadamente 7 dias após a reidratação as plantas apresentavam o mesmo Ψ_f que as plantas do tratamento sem estresse hídrico. A recuperação do Ψ_f após o retorno da irrigação, mostra que os danos causados durante o estresse hídrico não impediram as funções fisiológicas de absorção de água e de transporte para a parte aérea (ALBUQUERQUE et al., 2013), confirmando a tolerância da *Samanea saman* ao estresse hídrico intenso.

Considerando que até os 20º dias as plantas ainda não haviam parado de crescer em altura (tabela 8), pode-se afirmar que o Ψ_f alcançado antes desse período está dentro de uma faixa que permite o crescimento de *S. saman*, ou seja, nesse experimento o intervalo de Ψ_f entre -2 e -7,8 bar não impediu o crescimento em altura de *S. saman*.

Mesmo medindo o Ψ_f em quantidade de repetições (quatro) maior ou igual à praticada em outros trabalhos para a medição da mesma variável com a câmara de Scholander (NASCIMENTO et al., 2001, MAGALHÃES et al., 2016, VELLINI et al., 2008, MORAIS et al., 2015), no presente estudo os coeficientes de variação foram maiores. É válido destacar que *Samanea saman* é uma espécie selvagem que não passou por nenhum processo seletivo de domesticação da cultura e por isso a heterogeneidade genética das plantas aumenta a diferença nos resultados gerando maior coeficiente de variação. Na literatura, encontra-se estudos que usam o Ψ_f medido com a câmara de Scholander sem a realização de análise estatística dos dados, utilizando os valores obtidos apenas como referência para discutir outras variáveis mensuradas (TONELLO; TEIXEIRA FILHO, 2012; ROQUIM et al., 2013).

8.6 CONCLUSÕES

O substrato padrão, mesmo não sendo considerado o mais favorável as simbioses com BFN e FMAs, foi o que apresentou melhor resposta a inoculação desses microrganismos mantendo o crescimento das mudas após um período de estresse hídrico.

Mudas produzidas no substrato Lodo eram maiores e mantiveram a maior altura e biomassa após plantio em situação de estresse hídrico particularmente quando a muda não foi produzida com adubação nem inoculação com BFN + FMA, indicando que em substrato fértil, a utilização de insumos que promovam aumento no crescimento são desfavoráveis para que a planta tolere o estresse hídrico após o plantio.

Mudas produzidas no substrato comercial não são indicadas para o plantio em situações que haja risco de veranico pós-plantio.

8.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, M. P. F.; MORAES, F. K. C.; SANTOS, R. I. N.; DE CASTRO, G. L. S.; RAMOS, E. M. L. S.; PINHEIRO, H. A. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a deficit hídrico e reidratação. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 48, n. 1, p. 9-16, 2013

ANAYA, A.; LOURDES, M.; GÁLVEZ, R. J.; RAMOS, C. H; FIGUEIROA, M. S.; VARGAS, C. T. M. Biofertilización de café orgánico en etapa de vivero en Chiapas México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Texcoco, v. 2, n. 31, p. 417-431, 2011.

BALOTA, E. L.; MACHINESKI, O.; STENZEL, N. M. C. Resposta da acerola à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em solo com diferentes níveis de fósforo. **Bragantia**, v. 70, n. 1, p. 166-175, 2011.

BARWICK, M.; VAN DER SCHANS, A; CLAUDY, J. B. **Tropical & subtropical trees: a worldwide encyclopaedic guide**. London: Thames & Hudson, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA Nº 13, de 24 de março de 2011. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 25 mar. 2011. Seção 1, p. 3.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA Nº 13, de 24 de março de 2011. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 25 mar. 2011. Seção 1, p. 3.

BRITO, S. L. **Parâmetros fisiológicos e agronômicos de genótipos de amendoim inoculados com Bradyrhizobium sob déficit hídrico**. 2016. 33 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Paraíba.

BRITO, S.; BARBOSA, D.; FERNANDES JUNIOR, P. I. Atividade antioxidante em genótipos de amendoim inoculados com Bradyrhizobium e submetidos a estresse hídrico. In: Anais do encontro de Genética do Nordeste. 21., Ribeirão preto: SBG. anais... Recife: 2017, p. 113.

- BURITY, H. A.; DE LYRA, M. C. C. P.; DE SOUZA, E. S.; MERGULHÃO, A. C. E. S.; DA SILVA, M. L. R. B. Efetividade da inoculação com rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares em mudas de sabiá submetidas a diferentes níveis de fósforo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 35, n. 4, p. 801-807, 2000
- CALDEIRA, M. V. W.; DELARMELINA, W. M.; LÜBE, S. G.; GOMES, D. R.; DE OLIVEIRA, G. E.; ALVES, A. F. Biossólido na composição de substrato para a produção de mudas de *Tecton grandis*. **Floresta**, Curitiba, v. 42, n. 1, p. 77- 84, 2012.
- CARAVACA, F.; ALGUACIL, M.M.; BAREA, J.M.; ROLDÁN, A. Survival of inocula and native AM fungi species associated with shrubs in a antropized Mediterranean ecosystem. **Soil Biology and Biochemistry**, v.37, n. 1, p. 227-233, 2005.
- CARNEIRO, M. A. C., SIQUEIRA, J. O., CURI, N., & MOREIRA, F. M. S. Efeitos da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e da aplicação de fósforo no estabelecimento de forrageiras em solo degradado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 9, p. 1669-1677, 1999.
- CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; DAVIDE, A. C. Fósforo e inoculação com fungos micorrízicos arbusculares no estabelecimento de mudas de embaúba (*Cecropia pachystachya* Trec). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 34, n. 3, p. 119-125, 2004
- CARNEIRO, M. A.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M.; CARVALHO, D. D.; BOTELHO, S. A.; SAGGIN-JUNIOR, O. J. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas nativas de ocorrência no sudeste do Brasil. **Cerne**, v. 4, n. 1, p. 129-145, 1998
- CRUZ, E. S., CARVALHO, D. F., CEDDIA, M. B., ANTUNES, M. A., & AQUINO, R. M. Ocorrência de veranicos no estado do Rio de Janeiro Occurrence of droughts in Rio de Janeiro State, Brazil. **Engenharia Agrícola**, v. 24, n. 1, p. 68-79, 2004.
- CAVALCANTE, U. M. T., MAIA, L. C., NOGUEIRA, R. J. M. C., SANTOS, V. D. Respostas fisiológicas em mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. flavicarpa Deg.) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico. **Acta botânica brasílica**, v. 15, n. 3, p. 379-390, 2001.

DINIZ, P. F. A. **Influência do fungo micorrízico arbuscular (*Glomus clarum*) sobre características biofísicas, nutricionais, metabólicas e anatômicas em plantas jovens de seringueira.** 2007. 125 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

DUARTE, D. M.; ROCHA, G. T. F. B. L.; MATOS, F. S.; RODRIGUES, F. Responses of paricá seedlings to water stress. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 46, n. 3, p. 405-412, 2016.

DUARTE, D. M.; RODRIGUES, F.; MELO, B. S.; MELO, M. S.; DUARTE, L. M. Estresse Hídrico em Mudas de Guapuruvu (*Schizolobium parahyba* (Vell.)). In: Anais da Semana de Ciências Agrárias e Jornada de Pós-graduação em Produção Vegetal. 15., Ipameri. anais... Goiás: 2017, p. 96-99.

FELIPPE, D.; NAVROSKI, M. C.; SAMPIETRO, J. A.; FRIGOTTO, T.; ALBUQUERQUE, J. A.; MOTA, C. S.; PEREIRA, M. O. Efeito do hidrogel no crescimento de mudas de *Eucalyptus benthamii* submetidas a diferentes frequências de irrigação. **Floresta**, v. 46, n. 2, p. 215-225, 2016.

FERNANDES, E. T. **Fotossíntese e crescimento inicial de clones de eucalipto sob diferentes regimes hídricos.** 2012. 113 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Bahia.

FIGUEIRÔA, J. M. D.; BARBOSA, D. C. D. A.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 573-580, 2004

GONÇALVES, F.; DALLE LASTE, K. C.; FILHO, O. G. O.; FONSECA, E. D. S.; de FARIA, S. M. **Recomendação de estirpes para leguminosas florestais - ano 2009.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, p. 27, 2009.

GRACE, C.; STRIBLEY, D. P. A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Mycological Research**, v. 95, n. 10, p. 1160-1162, 1991.

GRANT, C.; BITTMAN, S.; MONTREAL, M.; PLENCHETTE, C.; MOREL, C. Soil and fertilizer phosphorus: Effects on plant P supply and mycorrhizal development. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 85, n. 1, p. 3-14, 2005.

GROSS, E.; CORDEIRO, L.; CAETANO, F.H. Nodulação e micorrização em *Anadenanthera peregrina* var. falcata em solo de cerrado autoclavado e não autoclavado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, n. 1, p. 95-101, 2004

JESUS, E.C.; SCHIAVO, J.A.; DE FARIA, S. M. Dependência de micorrizas para a nodulação de leguminosas arbóreas tropicais. **Revista Árvore**. v. 29, n. 4, p. 545–552, 2005.

JOHNSON, J. D.; CLINE, M. L. Seedling quality of southern pines. In: DUREYA, M. L.; DOUGHERTY, P. M. (Ed.). **Forest regeneration manual**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 143-162. 1991.

KOSKE, R. E.; GEMMA J. N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycological Research**. v. 92, n. 4, p. 486–488, 1989.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. Tradução: PRADO, C. H. B. A. São Carlos: Ed. Rima, 531 p, 2006.

LOPES, J. L. W.; SILVA, M. R.; SAAD, J. C. C.; ANGÉLICO, T. S. Uso de hidrogel na sobrevivência de mudas de *Eucalyptus urograndis* produzidas com diferentes substratos e manejos hídricos. **Ciência Florestal**, v. 20, n. 2, p. 217-224, 2010.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**. vol. 2. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda. P. 352, 1998.

MAGALHÃES, P. C., SIMEONE, M. L. F., CARNEIRO, N. P., GOMES JUNIOR, C. C., DE SOUZA, T. C., DE OLIVEIRA, A. C., DA FONSECA, T. M. Efeitos de diferentes níveis de estresse hídrico na caracterização ecofisiológica de genótipos de sorgo. In: Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 31., 2016, Bento Gonçalves. Milho e sorgo: inovações, mercados e segurança alimentar: anais. Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2016.

MARCHI, S. R.; PITELLI, R. A.; BEZUTTE, A. J.; CORRADINE, L.; ALVARENGA, S. F. Efeito de períodos de controle de plantas daninhas sobre o desenvolvimento inicial de plantas de eucalipto, **Planta Daninha**, v. 18, n. 3, p. 395-404, 2000.

MARTINS, F. B.; STRECK, N. A.; DA SILVA, J. C.; MORAIS, W. W.; SUSIN, F.; NAVROSKI, M. C.; VIVIAN, M. A. Deficiência hídrica no solo e seu efeito sobre transpiração, crescimento e desenvolvimento de mudas de duas espécies de eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 3, p. 1297-1306, 2008.

MARTINS, M. D. O. **Aspectos fisiológicos do nim indiano sob déficit hídrico em condições de casa de vegetação**. 2008. 84 F. Dissertação (Mestrado em Botânica) Universidade federal Rural de Pernambuco, Pernambuco.

MENDONÇA, J.C.; SOUSA, E.F.; ANDRE, R.G.B.; BERNARDO, S. Coeficientes do tanque Classe “A” para a estimativa da evapotranspiração de referência, em Campos dos Goytacazes, RJ. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v.14, n. 1, p. 123-128, 2006.

MCGONIGLE, T. P; MILLER, M. H.; EVANS, D. G.; FAIRCHILD, G. L.; SWAN, J. A. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v. 115, n. 3, p. 495-501, 1990.

MELO, L. A. D.; ABREU, A. H. M. D.; LELES, P. S. D. S.; OLIVEIRA, R. R. D.; SILVA, D. T. D. Quality and initial growth of seedlings *Mimosa caesalpinifolia* Benth. produced in different volumes of containers. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 1, p. 47-55, 2018.

MENDES, M. C.; VON PINHO, R. G.; VON PINHO, E. V. R.; FARIA, M. V. Comportamento de híbridos de milho inoculados com os fungos causadores do complexo grãos ardidos e associação com parâmetros químicos e bioquímicos. **Ambiência**, v. 8, n. 2, p. 275-292, 2012.

MORAIS, R. R., GONÇALVES, J. F. C.; COSTA, J. R.; DE OLIVEIRA RIBEIRO, G. Curso diário e sazonal do potencial hídrico foliar de mogno em sistema agroflorestal. **Revista Árvore**, v.39, n.6, p.1103-1110, 2015.

MORATELLI, E. M., DALLA COSTA, M., LOVATO, P. E., SANTOS, M., SILVEIRA PAULILO, M. T. Efeito da disponibilidade de água e de luz na colonização micorrízica e no crescimento de *Tabebuia avellaneda* Lorentz ex Griseb. (Bignoniaceae). **Revista Árvore**, v. 31, n. 3, 2007.

NASCIMENTO, S. P. D.; BASTOS, E. A.; ARAÚJO, E. C.; FREIRE FILHO, F. R.; SILVA, E. M. D. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 8, p. 853-860, 2011.

NAVROSKI, M. C.; NICOLETTI, M. F.; LOVATEL, Q. C.; DE OLIVEIRA PEREIRA, M.; TONETT, E. L.; MAZZO, M. V.; FELIPPE, D. Efeito do volume do tubete e doses de fertilizantes no crescimento inicial de mudas de *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Agrarian**, v. 9, n. 31, p. 26-33, 2016.

NOGUEIRA, A. R. A.; DE SOUZA, G. B. **Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste. 2005.

OLIVEIRA, F. C.; MATTIAZZO, M. E.; MARCIANO, C. R.; ROSSETTO, R. Efeitos de aplicações sucessivas de lodo de esgoto em um Latossolo Amarelo distrófico cultivado com cana-de-açúcar: carbono orgânico, condutividade elétrica, pH e CTC. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 26, n. 2, 505-519, 2002

OLIVEIRA-NETO, C. F.; de FREITAS, J. M. N.; BARIANE, A.; CARVALHO, C.; da COSTA, R. C. L. Estudos ecofisiológicos e bioquímicos do cupuaçuzeiro [*Theobroma grandiflorum* (Wild. Ex. Spreng.) Schum] submetido ao estresse hídrico e a reidratação. In: Seminário de iniciação científica da UFRA, 2.; seminário de iniciação científica da embrapa amazônia oriental. 2005, Belém. anais... Pará. 2005. p. 1-9.

PEREIR, R. D.; TAKENAKA, E. M. M.; FLUMINHAN JR, A. Reciclagem agrícola de biossólidos: aspectos ambientais e aceitação pública. **Colloquium Humanarum**. v. 10, n. 2, p. 90-101, 2014.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Seropédica: Edur, 2004.

PIMENTEL, C.; PEREZ, A. J. D. L. C. Estabelecimento de parâmetros para avaliação de tolerância à seca, em genótipos de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 1, p. 31-39, 2000.

QUEIROZ, J. C. P. **Respostas ecofisiológicas e bioquímicas do Pajeú (*Triplaris gardneriana* Wedd.) submetido ao déficit hídrico**. 2018. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) Universidade Federal de Sergipe, Sergipe.

RIO DE JANEIRO (2017) Resolução INEA nº 143, de 14 de junho de 2017. Institui o sistema estadual de monitoramento e avaliação da restauração florestal (semear) e estabelece as orientações, diretrizes e critérios sobre elaboração, execução e monitoramento de projetos de restauração florestal no estado do Rio de Janeiro. Diário Oficial do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 24 junho 2017.

RODRIGUES, J. D. B.; FERNANDES, J. R. Q.; ALVES, R. M.; DA CUNHA, R. L. M.; BASTOS, A. J. R.; TEIXEIRA, A. L. Comportamento morfológico no período de crescimento de progênies de cupuaçuzeiro em resposta a restrição hídrica. **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB**. v. 9, n. 1, p. 1-6, 2017.

RONQUIM, C. C.; PRADO, C. D. A.; SOUZA, J. P. Estabelecimento e crescimento de plantas jovens de *Vochysia tucanorum* Mart.(Vochysiaceae) em área aberta e sombreada sob dossel florestal. **Scientia Forestalis**. v. 41, n. 97, p. 121-130, 2013.

ROSSA, Ü. B.; ANGELO, A. C.; BOGNOLA, I. A.; WESTPHALEN, D. J.; MILANI, J. E. Fertilizante de liberação lenta no desenvolvimento de mudas de *Eucalyptus grandis*. **Floresta**, v. 45, n. 1, p. 85-96, 2014.

SCALON, S. D. P. Q.; MUSSURY, R. M.; DE MELLO EUZÉBIO, V. L.; KODAMA, F. M.; KISSMANN, C. Estresse hídrico no metabolismo e crescimento inicial de mudas de mutambo (*Guazuma ulmifolia* Lam.). **Ciência Florestal**, v. 21, n. 4, p. 655-662, 2011.

SCHINDLER, U.; MÜLLER, L.; EULENSTEIN, F. Hydraulic performance of horticultural substrates 1. Method for measuring the hydraulic quality indicators. **Horticulturae**, v. 3, n. 1, p. 5, 2017.

SILVA, S. R.; DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. D. A.; CASALI, V. W. D.; NASCIMENTO, E. A.; PINHEIRO, A. L. Efeito do estresse hídrico sobre características de crescimento e a produção de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 5, p. 1363- 1368, nov./dez. 2002

SMITH, S. E.; SMITH, F. A.; JAKOBSEN, I. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. **Plant physiology**, v. 133, n. 1, p. 16-20, 2003.

SHARMA, N., YADAV, K., CHEEMA, J., BADDA, N., & AGGARWAL, A. Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis and Water Stress: A Critical Review. **Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science**, v. 38, n. 4, p. 427-453. 2015.

SINCLAIR, T. R.; PURCELL, L. C.; KING, A.; SNELLER, C. H.; CHEN, P.; VADEZ, V. Drought tolerance and yield increase of soybean resulting from improved symbiotic N₂ fixation. **Field Crops Research**, v.101, n. 1, p.68–71, 2007.

SUASSUNA, J. F.; FERNANDES, P. D.; NASCIMENTO, R. D.; OLIVEIRA, A. D.; BRITO, K. D.; MELO, A. D. Produção de fitomassa em genótipos de citros submetidos a estresse hídrico na formação do porta-enxerto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 12, p. 1305-1313, 2012.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

TSUTIYA, M. T.; COMPARINI, J. P.; SOBRINHO, A. P.; HESPANHOL, I.; CARVALHO, P. C. T.; MELFI, A. J.; MELO, W. J.; MARQUES, M. O. **Biossólidos na agricultura**. São Paulo: Sabesp, 2001. p.289-363.

TONELLO, K. C.; TEIXEIRA FILHO, J. Ecofisiologia de três espécies arbóreas nativas da mata Atlântica do Brasil em diferentes regimes de água. **Irriga**, v.17, n. 1, p. 85-101, 2012.

VELLINI, A. L. T. T., PAULA, N. F. D., ALVES, P. L. D. C. A., PAVANI, L. C., BONINE, C. A. V., SCARPINATI, E. A., & PAULA, R. C. D. Respostas fisiológicas de diferentes clones de eucalipto sob diferentes regimes de irrigação. **Revista Árvore**, v.32, n.4, p.651-663, 2008