

Influência do fósforo, micorriza e nitrogênio nos parâmetros microbiológicos do *Brachiaria brizantha* e *Arachis pintoii* consorciados

I. P. Almeida dos Santos*, J. Cardoso Pinto**, J. Oswaldo Siqueira***, A. Ramalho de Moraes* e C. Leal dos Santos*

Introdução

Dentre os fatores que atuam sobre a simbiose micorrízica destaca-se a disponibilidade de fósforo (P) no solo que afeta a colonização das raízes e determina a natureza da relação fungo-planta (Siqueira et al., 1994). Os efeitos adversos relatados do P têm sido a inibição do desenvolvimento dos arbúsculos, vesículas e hifas, germinação e produção de esporos e a colonização das raízes. Tanto as baixas quanto as altas concentrações de P na solução do solo acarretam uma redução na taxa de colonização das raízes, podendo reduzir os efeitos benéficos que as micorrizas proporcionam à nutrição mineral das plantas.

Os efeitos positivos relatados para o nitrogênio (N) sobre o fungo micorrízico são o aumento da colonização das raízes e a produção de esporos. Entretanto, os efeitos do N sobre o fungo micorrízico estão relacionados à disponibilidade de P. Embora a adição de P possa aumentar sua disponibilidade no solo e inibir a colonização micorrízica, ela pode aumentar a fixação biológica de N₂ pela leguminosa.

Este trabalho objetivou avaliar o efeito do P, micorriza e N nos parâmetros microbiológicos do braquiarião (*Brachiaria brizantha* cv. MG-4) e do amendoim forrageiro (*Arachis pintoii* cv. Amarillo) consorciados.

Material e métodos

Local, preparo do solo e tratamentos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Minas Gerais, Brasil, utilizando-se um Latossolo Vermelho-Escuro, epidistrófico, textura muito argilosa, fase cerrado, coletado a uma profundidade de 0-20 cm, que após seco e destorroado foi passado em peneira com malha de 2 mm. O solo apresentou as seguintes características: pH = 5.1; P = 1.0 e K = 28 mg/dm³; Ca = 4.0, Mg = 2.0 e Al = 0 cmol/dm³; e V = 14%. A calagem foi aplicada para elevar o valor V para 60%. Decorridos 15 dias de incubação, o solo foi seco e fumigado com brometo de metila na dosagem de 1 dm³/m³ de solo durante 72 h, em seguida acondicionado em vasos sem furos com capacidade para 4 kg de solo. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 2 x 2, sendo 5 doses de P (25, 50, 75, 100 e 200 mg/dm³ de solo), dois tratamentos de inoculação do solo com o FMA *Glomus etunicatum* (inoculado e não com FMA's) e dois tratamentos de N (com e sem N em cobertura), com cinco repetições. A adubação de plantio constou da mistura dos fertilizantes superfosfato simples, cloreto de potássio e FTE BR 12, como fontes de P, K (172 mg de K/dm³ de solo) e micronutrientes (30 mg/dm³ de solo), respectivamente, juntamente com o inóculo do fungo (7 ml/vaso). As sementes do amendoim forrageiro foram inoculadas com *Bradyrhizobium*, estirpe BR-1405. Doze dias após a emergência das plântulas efetuou-se o desbaste, deixando-se 2 plantas/vaso. O N (NH₄NO₃) foi aplicado 15 dias depois do desbaste e após cada corte nos vasos pré-estabelecidos, na dose de 50 mg/kg de solo. A umidade do solo foi mantida a 60% do volume total de poros (VTP) com o uso de água destilada. Foram realizados três cortes a 5 cm do solo, sendo o primeiro efetuado aos 60 dias após a germinação (março/98), o segundo e o terceiro aos 45 (maio/98) e 160 (outubro/98) dias

* Eng. Agr., M.Sc. Zootecnia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Caixa Postal 37, 37.200-000, Lavras, MG, Brasil. E-mail: ipsantos@bol.com.br

** Eng. Agr., DS, Prof. do Departamento de Zootecnia, UFLA, Brasil. E-mail: josecard@ufla.br

*** Eng. Agr., Ph.D., Prof. do Departamento de Ciência do Solo, UFLA, Brasil.

φ Eng. Agr., DS, Prof. do Departamento de Ciências Exatas, UFLA, Brasil.

após o primeiro e o segundo, respectivamente. Os cortes só foram executados após observar-se uma produção de MS capaz de permitir a realização das análises pré-estabelecidas.

Parâmetros avaliados

Após o último corte, com solo parcialmente seco, as raízes foram recuperadas separadamente através de peneiramento e coleta manual, seguida por lavagem em água corrente. A seguir foram retiradas amostras de radículas e colocadas no conservante F.A.A. (13 ml de formol + 5 ml de ácido acético + 200 ml de etanol 50%) para a avaliação da colonização micorrízica, de acordo com Phillips e Hayman (1970). A estimativa da porcentagem de colonização foi feita pelo método da placa riscada, segundo Giovanetti e Mosse (1980). Para a quantificação de esporos no solo foram retiradas amostras compostas de aproximadamente 50 cm³ de solo e submetidas ao método de decantação e peneiramento úmido, segundo Gerdemann e Nicolson (1963). Em seguida, realizou-se a centrifugação em água por 3 min e em sacarose 50% por 2 min. No material obtido foi feita a contagem de esporos com auxílio de microscópio em placas de anéis concêntricos. Das raízes do amendoim forrageiro foram destacados os nódulos para a determinação do peso de nódulos secos.

Resultados e discussão

O comportamento da taxa de colonização micorrízica das raízes do braquiarião (TCB) em função das doses de P pode ser visto na Figura 1; nota-se que houve um decréscimo da colonização com o aumento das doses de P, com um valor máximo da TCB de 56.6% na dose de 36 mg de P/kg de solo. Embora as raízes do braquiarião tenham apresentado uma maior porcentagem de colonização, este fato não refletiu nas variáveis estudadas. Powel (1977), citado por Lopes et al. (1983), também verificou que a magnitude de resposta do trevo-branco (*Trifolium repens*) à

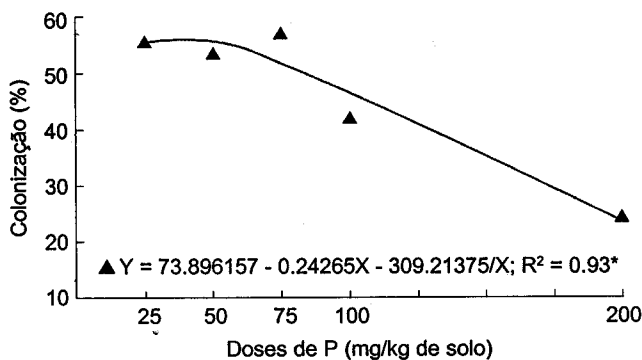


Figura 1. Taxa de colonização micorrízica das raízes do B. brizantha, em função das doses de P.

inoculação com fungos MVA, expressa em termos de produção de MS, não se correlacionou com a colonização.

Nem sempre a colonização micorrízica se correlaciona com a expressão fenológica do hospedeiro, quer na acumulação de MS e/ou na absorção de P. Isto provavelmente ocorre por não se considerar as trocas metabólicas fungo-hospedeiro (Smith e Gianinazzi-Pearson, 1988), o potencial de produção de hifas extramatriciais do fungo que aumentam a área de absorção de nutrientes das raízes das plantas (Mosse, 1972) e as próprias condições edáficas que dificultam ou facilitam o estabelecimento e o funcionamento da simbiose. Douds et al. (1998) afirmam que elevadas doses de P podem reduzir a colonização micorrízica. No entanto, é o teor do elemento no tecido das plantas e não na solução do solo que inibe a colonização micorrízica (Daniel e Trappe, 1980).

Braquiarião apresentou uma maior colonização das raízes que o amendoim forrageiro, proporcionando valores médios de 39.86% (Tabela 1) e 34.2% (Figura 2), respectivamente. Verifica-se que não houve diferença significativa entre presença e ausência de N, nas plantas inoculadas (Tabela 1). Resultados

Tabela 1. Taxa de colonização micorrízica das raízes (TCB) do *Brachiaria brizantha* cv. MG-4 e densidade de esporos no solo (DES) em função da inoculação com *Glomus etunicatum* e da aplicação de N em cobertura.

Tratamento	TCB (%)	DES (esporos/50 ml de solo)
Inoculado + N	43.38 a*	169.76 b
Inoculado sem N	36.35 a	262.22 a
Média	39.86	215.99

* Médias seguidas por letras iguais da mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0.05).

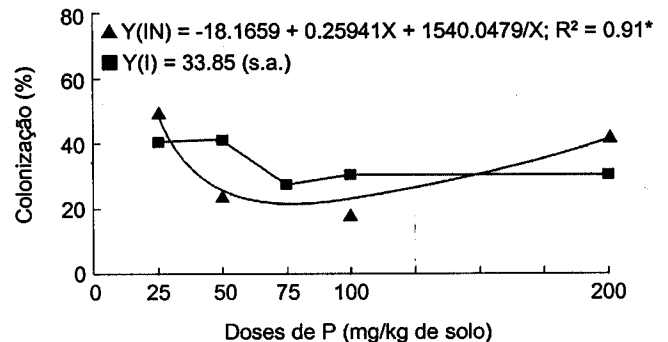


Figura 2. Taxa de colonização micorrízica das raízes do A. pintoi, em função das doses de P. IN = inoculado + N; I = inoculado, sem N; s.a. = sem ajuste.

semelhantes foram encontrados por Bressan (1996) trabalhando com sorgo e soja. Contrastando com os resultados do presente trabalho, Fernandes et al. (1987) mostraram que a soja apresentou maior colonização micorrízica que o milho. Esta heterogeneidade de resultados sugere a existência de uma diferenciação entre as espécies de uma mesma família quanto a utilização do P e a sua influência na colonização das raízes por fungos micorrízicos.

Segundo Ratnayke et al. (1978) pequenos aumentos de P nos tecidos da planta podem levar a grandes decréscimos na exsudação de açúcares redutores e aminoácidos solúveis, causando uma redução da colonização das raízes por fungos micorrízicos. Siqueira et al. (1994), avaliando o efeito do P na formação da associação micorrízica em soja, verificaram que a adição de P reduziu significativamente a percentagem de colonização, a quantidade de raiz colonizada e também a produção de esporos. Assim, estes autores concluíram que a colonização de raízes por fungos micorrízicos arbusculares (FMA's) nessa planta seria controlada pelo metabolismo de carboidratos do hospedeiro, que, por sua vez, seria influenciado pela nutrição fosfatada.

Observou-se que a densidade de esporos no solo (DES) apresentou um comportamento quadrático em função das doses de P. O número máximo estimado de esporos recuperados neste solo foi de 242 esporos/50 ml de solo, obtidos com a dose de 91.5 mg de P/kg de solo, o que representa menos da metade da dose de P máxima aplicada. Após esta dose ocorreu um declínio substancial na DES (Figura 3). Menge et al. (1978) também verificaram um decréscimo no número de esporos no solo e do grau de infecção das raízes com o aumento do conteúdo de P no tecido vegetal.

No estudo da inoculação e nitrogênio (I x N) foi observado que a inoculação foi um fator preponderante na densidade de esporos no solo utilizado no consórcio, o que era de se esperar. No entanto, a aplicação de N reduziu a esporulação em cerca de 35% em relação ao

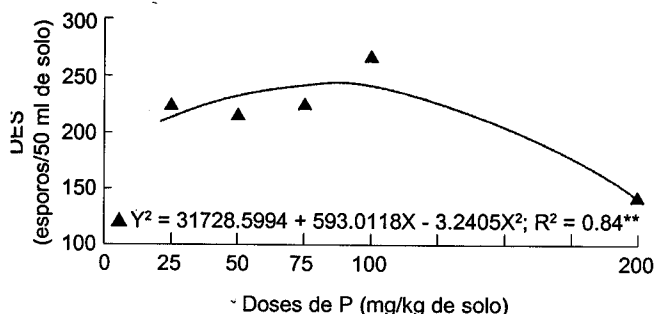


Figura 3. Densidade de esporos no solo (DES), em função das doses de P e da inoculação com *Glomus etunicatum*.

solo sem N (Tabela 1). Estes resultados são diferentes dos obtidos por Bressan (1996) que, ao estudar esta variável para o consórcio de sorgo e soja, concluiu que a aplicação de N aumentou a produção de esporos no solo em todos os níveis de P, para ambas as espécies.

A adubação nitrogenada e fosfatada e o tratamento de inoculação, bem como suas interações, influenciaram significativamente o peso de nódulos secos (PNS). As plantas de amendoim forrageiro micorrizadas, tanto na presença como na ausência de N, apresentaram um maior PNS, porém aquelas que não receberam N tiveram nódulos mais pesados ou em maior número, indicando que o elevado teor de N inibiu ou então reduziu a nodulação (Figura 4). Através destes resultados pôde-se verificar, também, uma evidente interação entre a micorriza e o rizóbio. Observou-se que o tratamento com inoculação e sem N apresentou um comportamento diferente dos demais, com uma tendência de aumento no PNS com o incremento das doses de P. Já para a inoculado e com N apresentou um comportamento quadrático, com o máximo de PNS (0.059 g/2 plantas) na dose de 62 mg de P/kg de solo. Ying et al. (1992), em estudos sobre a influência do N na nodulação, também encontraram que o N pode inibir a nodulação ou, dependendo da dose de N aplicada, apenas reduzir o PNS.

A adição de P e a inoculação com *G. etunicatum* facilitaram a produção de massa nodular, evidenciando o efeito sinérgico de P na simbiose amendoim forrageiro-*Bradyrhizobium-G. etunicatum*, principalmente em condições de solo com baixa disponibilidade de P e N, como ocorre nos solos sob vegetação de cerrado. Como afirmam Smith e Gianinazzi-Pearson (1988) os efeitos da inoculação são mais pronunciados em solos com baixa disponibilidade

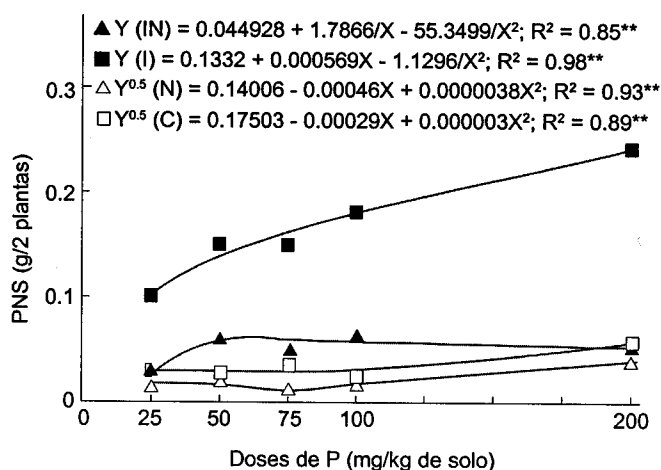


Figura 4. Peso de nódulos secos (PNS), em função das doses de P. IN = inoculado + N; I = inoculado, sem N; N = com N, sem inoculo; C = control.

de nutrientes. Trabalhos realizados por Crush (1974) também demonstraram que a micorrização estimula a nodulação das leguminosas *Centrosema pubescens*, *Stylosanthes guianensis*, *Trifolium repens* e *Lotus pedunculatus* e que plantas não micorrizadas apresentavam taxas menores de fixação de N₂. Bonetti (1984), ao avaliar o efeito de MVA na nodulação, crescimento e absorção de P e N em siratro (*Macroptilium atropurpureum*) constatou que a micorriza favoreceu o peso e o número de nódulos. Também, Lopes e Oliveira (1980) e Mosse (1981) observaram que a colonização com fungo micorrízico é necessária para a nodulação de siratro em solos tropicais. Esse efeito benéfico na nodulação pode estar associado ao melhor estado nutricional apresentado pela planta infectada por fungos micorrízicos.

O P provavelmente é o nutriente de maior importância para o crescimento e efetiva nodulação da leguminosa hospedeira (Gibson, 1976), uma vez que a fixação de N₂ pelo rizobium específico é um processo que requer grande quantidade de energia na forma de ATP (Ljones, 1974, citado por Peres et al., 1984).

Conclusões

1. Adubações fosfatadas intensas reduzem os benefícios oriundos da associação micorrízica, pois reduzem a taxa de colonização de ambas as espécies e a densidade de esporos no solo.
2. A adubação fosfatada e a micorrização aumentam o peso de nódulo secos do amendoim forrageiro.
3. Altas doses de P reduziram a taxa de colonização de ambas as espécies e a densidade de esporos no solo.

Resumen

El experimento se llevó a cabo en la casa de malla del Departamento de Suelos de la Universidad de Lavras (UFLA), Minas Gerais, Brasil, utilizando un Latosol Vermelho-Escuro arcilloso, con el objeto de estudiar el efecto de la interacción fósforo (P), micorriza arbuscular y nitrógeno (N) en algunos parámetros microbiológicos de braquiaria (*Brachiaria brizantha* cv. MG-4) y arachis (*Arachis pintoi* cv. Amarillo) asociados. Se utilizó un diseño experimental de bloques totalmente al azar en factorial 5 x 2 x 2 con cinco dosis de P (25, 50, 75, 100 y 200 mg/dm³ suelo), dos tratamientos de inoculación de suelo (con y sin inoculación con *Glomus etunicatum*) y dos tratamientos de N (con y sin N). A la siembra se hizo una fertilización completa más elementos menores y se aplicaron en el suelo 7 ml/pote del inóculo. En total se hicieron tres cortes, el primero 60 días después de la siembra y los otros cada

45 días. La evaluación de la colonización de micorrizas se hizo en muestras de raíces tomadas en el último corte. Al aumentar la dosis de P, se observó una reducción en la densidad de esporas en el suelo (P < 0.01). Sin embargo, la aplicación de P, conjuntamente con la inoculación de micorrizas, aumentó el tamaño y el peso de los nódulos en *A. pintoi*. La aplicación de N afectó en forma negativa la densidad de esporas en el suelo, pero no la colonización.

Summary

The effect of the interaction of phosphorus (P), arbuscular mycorrhizal fungi, and nitrogen (N) on several microbiological parameters of *Brachiaria brizantha* cv. MG-4 and *Arachis pintoi* cv. Amarillo, intercropped in low-fertility soils, was studied under greenhouse conditions. A completely randomized block design, in a 5 x 2 x 2 factorial arrangement, was used. Treatments consisted of five doses of P (25, 50, 75, 100, and 200 mg/kg soil), two inoculation treatments (inoculated with *Glomus etunicatum* and non-inoculated), and two N treatments (with and without N). Complete fertilization with micronutrients was applied at planting and inoculum applied to the soil (7 ml/pot). Three cuttings were performed, the first 60 days after planting and the others at 45-day intervals. Mycorrhizal colonization was evaluated in root samples taken at the last cutting. Spore density decreased in the soil (P < 0.01) with increasing P doses. The application of P together with mycorrhiza inoculation, increased the node size and weight in *A. pintoi*. The application of N, however, adversely affected spore density in the soil, but not colonization.

Referências

- Abbott, L. K.; Robson, A. D.; e Boer, G. de. 1984. The effect of phosphorus on the formation of hyphae in soil by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus etunicatum*. *New Phytol.* 97(3):437-446.
- Bonetti, R. 1984. Efeito de micorrizas arbusculares na nodulação, crescimento e absorção de fósforo e nitrogênio em siratro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 8:189-192.
- Bressan, W. 1996. Micorriza, fósforo e nitrogênio no sorgo e soja consorciados. Tese de Doutorado em Agronomia. Universidade Federal de Lavras (UFLA), Brasil. 160 p.
- Crush, J. R. 1974. Plant growth responses to vesicular arbuscular mycorrhizal. VII. Growth and nodulation of some herbage legumes. *New Phytol.* 73:743-749.
- Daniels, B. A. e Trappe, J. M. 1980. Factors affecting spore germination of the VA fungus, *Glomus epigaeus*. *Mycology* 72:456-471.

- Douds, D. D.; Galvez, L.; Bécard, G.; e Kopolnik, Y. 1998. Regulation of arbuscular mycorrhizal development by plant host and fungus species in alfalfa. *New Phytol.* 138:27-35.
- Fernandes, A. B.; Siqueira, J. O.; Menezes, M. A. L.; e Guedes, G. A. A. 1987. Efeitos diferenciados do fósforo sobre o estabelecimento e efetividade da simbiose endomicorrízica em milho e soja. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 11(1):101-108.
- Gerdemann, J. W. e Nicolson, T. H. 1963. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 46(1):235-246.
- Gibson, A. H. 1976. Limitation to nitrogen fixation in legumes. En: Newton, W. E. e Nyman, O. J. (eds.). *Proceedings of the International Symposium of Nitrogen Fixation.* Washington. University Press 2:400-428.
- Giovanetti, M. e Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84(3):489-500.
- Lopes, E. S. e Oliveira, E. 1980. Efeito de espécies de micorrizas vesicular-arbuscular em Siratro (*Macroptilium atropurpureum*). *Bragantia* 39(17):241-245.
- _____; Siqueira, J. O.; e Zambolim, L. 1983. Caracterização das micorrizas vesicular-arbusculares (MVA) e seus efeitos no crescimento das plantas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 7(1):1-19.
- Menge, J. A.; Steirle, D.; Bagyaraj, D. J.; Johnson, E. L.; e Leonard, R. T. 1978. Phosphorus concentration in plants responsible for inhibition of mycorrhizal infection. *New Phytol.* 80(3):575-578.
- Mosse, B. 1972. Effects of different endogone strains on the growth of *Paspalum notatum*. *Nature* 239:221-223.
- _____. 1981. Vesicular-arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture. Institute for Agriculture and Human Research, Hawaii. 82 p.
- Peres, J. R.; Várgas, M. A.; e Suhet, A. R. 1984. Variabilidade na eficiência em fixar nitrogênio entre isolados de uma mesma estirpe de *Rhizobium japonicum*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 8(1):193-196.
- Phillips, J. M. e Hayman, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55(1):158-161.
- Ratnayake, M.; Leonard, R. T.; e Menge, J. A. 1978. Root exudation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhiza formation. *New Phytol.* 81(3):543-552.
- Siqueira, J. O.; Moreira, F. M. Grisi, B. M.; Hungria, M.; e Araújo, R. S. 1994. *Microorganismos e processos biológicos do solo.* Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Brasília, Brasil. 142 p.
- Smith, S. E. e Gianinazzi-Pearson, V. 1988. Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 39:221-244.
- Ying, J.; Herrioge, D. F.; Peoples, M. B.; e Rerkasem, B. 1992. Effects of N fertilization on N₂ fixation and N balances of soybean grown after lowland rice. *Plant Soil* 147(2):235-242.