

## Dupla inoculação $\beta$ -rizóbio e micorriza em sabiazeiro visando à recuperação de áreas degradadas

*Dual inoculation of  $\beta$ -Rhizobium and mycorrhiza at sabiazeiro seedlings for rehabilitation of degraded areas*

Marília Malta Cavalcante Mendes Pontes<sup>1\*</sup>, Tarcísio Pio Pontes Neto<sup>2</sup>,  
Lúcia de Fátima de Carvalho Chaves<sup>3</sup>, Sônia Formiga de Albuquerque<sup>1</sup>,  
José de Paula Oliveira<sup>1</sup>, Márcia do Vale Barreto Figueiredo<sup>1,4,5</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia do Solo, Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), Av. Gen. San Martin, 1371, Bongi, CEP 50761-000, Recife, PE, Brasil

<sup>2</sup>Instituto de Terras e Reforma Agrária de Pernambuco (ITERPE), Recife, PE, Brasil

<sup>3</sup>Departamento de Ciência Florestal, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, PE, Brasil

<sup>4</sup>Secretaria de Agricultura e Desenvolvimento Agrário de Alagoas (SEAGRI), Maceió, AL, Brasil

<sup>5</sup>Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 2

\*autor correspondente

✉ mariliampc@hotmail.com

**RESUMO:** A sabiazeiro (*Mimosa caesalpinifolia* Benth.) é uma espécie indicada para programas de recuperação de áreas degradadas, por apresentar característica de associação com rizóbio e fungo micorrízico arbuscular, o que beneficia seu desenvolvimento e proporciona melhoria na qualidade do solo. O presente trabalho foi desenvolvido visando avaliar o desenvolvimento da Sabiazeiro inoculada com  $\beta$ -rizóbio (*Burkholderia sabiae* - BR3405) e com fungo micorrízico arbuscular (FMA- *Glomus etunicatum*). As sementes foram inoculadas com a estirpe BR3405 e com *Glomus etunicatum*. Os tratamentos utilizados foram: BR3405 + FMA = *Burkholderia sabiae* + *G. etunicatum*; FMA = *G. etunicatum*; BR3405 = *Burkholderia sabiae*; TN + FMA = testemunha nitrogenada + *G. etunicatum*; TN = testemunha nitrogenada (sem inoculação e com 30 kg N/ha); TA = testemunha absoluta (sem inoculação e sem nitrogênio). Foram realizadas colheitas aos 80 e 110 dias de cultivo e as plantas foram avaliadas quanto à matéria seca da parte aérea, matéria seca da raiz, matéria seca de nódulos, altura de planta, diâmetro do colo, número de glomerosporos, percentual de colonização radicular e nitrogênio acumulado na matéria seca da parte aérea. A dupla inoculação BR3405 + FMA mostrou-se eficiente para a maximização da produção de plantas dessa espécie, além de induzir maior nodulação e eficiência simbiótica.

**PALAVRAS-CHAVE:** Nodulação, *Mimosa caesalpinifolia* Benth., simbiose, *Burkholderia sabiae*, *Glomus etunicatum*.

**ABSTRACT:** Sabiazeiro (*Mimosa caesalpinifolia* Benth.) is a species indicated to programs for the restoration of degraded areas due to its characteristic of association with rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi, which benefits its development and promotes enhanced soil quality. This work was carried out in order to evaluate sabiazeiro development inoculated with  $\beta$ -rhizobia (*Burkholderia sabiae* BR-3405) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF, *Glomus etunicatum*). Sabiazeiro seeds were inoculated with BR3405 and *Glomus etunicatum*. Treatments used included: BR3405 + AMF = *Burkholderia sabiae* + *G. etunicatum*; AMF = *G. etunicatum*; BR3405 = *Burkholderia sabiae*; TN + AMF = nitrogen control + *G. etunicatum*; TN = nitrogen control (without inoculation and with 30 kg N/ha), TA = absolute control (without inoculation and without nitrogen). Harvests were performed at 80 and 110 days and plants were evaluated for shoot dry matter, root dry matter, nodule dry matter, plant height, stem diameter, number of glomerospores, percentage of root colonization and nitrogen. The dual inoculation BR3405 + AMF was efficient for maximizing the production of the sabiazeiro plant, in addition to inducing a higher nodulation and symbiotic efficiency.

**KEYWORDS:** Nodulation, *Mimosa caesalpinifolia* Benth., symbiosis, *Burkholderia sabiae*, *Glomus etunicatum*.

## Introdução

Alterações inadequadas de sistemas naturais provocadas pelo homem, com consequente perda da capacidade produtiva, podem gerar áreas degradadas, ocasionando prejuízos socioambientais para as gerações atuais e futuras. A perda de nutrientes em solos degradados é especialmente crítica para o elemento fósforo que, em geral, se encontra em baixas reservas nos solos, sendo, contudo, um elemento essencial para o desenvolvimento das plantas (WADT et al., 2003).

O uso de fertilizantes químicos na recuperação de áreas degradadas apresenta altos custos financeiros (SILVA et al., 2007), podendo, em alguns casos, inviabilizar o processo, além de considerar-se que o excesso de produtos químicos tem resultado em águas de rios, lagos e lençóis subterrâneos contaminadas por meio da lixiviação (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2001).

Os solos degradados, geralmente, são fisicamente inadequados para o crescimento da maioria das plantas e pobres em minerais. Desse modo, as espécies escolhidas deverão ser adequadas às limitações locais (REIS; ZAMBONIN; NAKAZONO, 1999).

As leguminosas têm sido indicadas para programas de recuperação de áreas degradadas, em grande parte, pela capacidade de se associarem simbioticamente a bactérias fixadoras de nitrogênio e a fungos micorrízicos (RESENDE; CAMPELLO; FRANCO, 2003).

A associação de plantas leguminosas com bactérias fixadoras de nitrogênio, genericamente conhecidas como rizóbio, é o mecanismo biológico capaz de substituir, parcialmente, a adubação nitrogenada (SANTOS et al., 2008).

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) pelas leguminosas é o processo biológico de quebra da tripla ligação do  $N_2$  através da nitrogenase, na qual o  $N_2$  atmosférico é convertido em amônia, que é incorporada em diversas formas de N-orgânico para a utilização por plantas (ARAÚJO; CARVALHO, 2006). De acordo com Marcondes et al. (2010), a fixação biológica do nitrogênio é a principal fonte natural de entrada desse elemento nos solos.

Em associação com fungos micorrízicos arbusculares, as hifas do fungo contribuem para aumentar a eficiência da absorção de nutrientes minerais importantes para o crescimento das plantas, principalmente os de baixa mobilidade no solo, como P, Zn e Cu, translocando-os para as raízes, para serem utilizados pelas plantas nos seus processos fisiológicos (MIRANDA; SAGGIN JÚNIOR; SILVA, 2008; STÜRMER et al., 2009).

Desse modo, o uso de plantas em associação com rizóbio e fungos micorrízicos possibilita maior capacidade de convivência com os estresses ambientais, possibilitando melhor resposta em seu estabelecimento e desenvolvimento no campo (UCHÔAS; FARIA, 2006). Assim, têm sido indicadas para serem incorporadas em áreas com problemas edáficos de ordem física, química e biológica (RODRIGUES et al., 2006).

A sabiazeiro é uma leguminosa que vem sendo utilizada em programas de recuperação de áreas degradadas, devido a suas características fisiológicas de rápido crescimento (RIZZINI, 1978), produção elevada de biomassa e aporte de serrapilheira

(SOUZA; SILVA, 1996). Dessa forma, pode proporcionar melhoria na estrutura do solo, como fonte de matéria orgânica e como cobertura vegetal (SILVA et al., 2009), além de possuir importante capacidade de associação simbiótica com bactérias fixadoras de nitrogênio e com fungos micorrízicos arbusculares.

Com base nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento da sabiazeiro inoculada com  $\beta$ -rizóbio (*Burkholderia sabiae*- BR 3405) e fungo micorrízico arbuscular- FMA (*Glomus etunicatum*), visando a sua utilização em áreas degradadas e minimizando o uso de insumos químicos.

## Material e Métodos

O solo utilizado para condução do experimento foi classificado como Argissolo amarelo (SILVA et al., 2001) e coletado a uma profundidade de 0 cm a 20 cm, proveniente da Estação Experimental “José Nilson de Melo”, do Instituto Agrônomo de Pernambuco-IPA, localizada na cidade de Caruaru, Agreste do Estado, que, de acordo com Encarnação (s.d.), possui latitude  $08^{\circ} 14' 18''$  S e longitude  $35^{\circ} 55' 20''$  W Gr. e altitude de 537 m.

O solo foi seco ao ar e peneirado (5 mm), sendo submetido às análises física e química, (Tabela 1) no Laboratório de Fertilidade e Física de Solo do IPA. O pH foi corrigido para 6,5 pela adição do óxido de cálcio e de óxido de magnésio, na proporção 3:1.

O solo foi autoclavado por 1 hora, a uma temperatura de  $120^{\circ}C$  e a uma pressão de 101 Kpa, com intervalos de 24 horas, por três dias consecutivos.

A leguminosa utilizada foi sabiazeiro (*Mimosa caesalpiniiifolia* Benth.). As sementes foram provenientes do IPEF – Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais. Essas foram submetidas à quebra de dormência a uma temperatura de  $80^{\circ}C$  por imersão em água, por 1 minuto. As sementes foram desinfestadas por meio de imersão em álcool a 70% por 30 segundos e por 1 minuto, em hipoclorito de sódio a 2%, sendo, posteriormente, lavadas sete vezes com água destilada autoclavada.

A estirpe de  $\beta$ -rizóbio utilizada foi a BR3405 (*Burkholderia sabiae*), proveniente do Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia - CNPAB, Km 47, Seropédica, RJ, bactéria recomendada pela Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola - RELARE. A bactéria foi purificada no meio YEMA (ágar, manitol e extrato de levedura), utilizando o indicador vermelho congo (VINCENT, 1970). A seguir, a estirpe foi repicada em duplicata, para frascos Erlenmeyers de 250 mL com meio YEM (manitol – extrato de levedura), usando-se agitador rotativo em temperatura de  $28^{\circ}C$ , por um período de três dias.

O teste para verificação de bactérias foi realizado em meio YEMA, em pH 6,8, utilizando-se azul de bromotimol como indicador, e se constatou que a bactéria possui excreção ácida.

O fungo micorrízico arbuscular-FMA, *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann, foi proveniente do CNPAB. Foi

**Tabela 1.** Caracterização física e química do solo (Argissolo amarelo) utilizado para produção de mudas de sabiazeiro (*Mimosa caesalpinifolia* Benth.), coletado na Estação Experimental “José Nilson de Melo”, do Instituto Agronômico de Pernambuco–IPA, localizada na cidade de Caruaru, PE.

Análise Física do Solo						
Composição granulométrica (%)						
Areia	Argila	Silte	Silte/argila	Arg. nat.	Classe textural (*)	
72,2	13,8	14,0	1,0	7,8	FA	
Densidade (g/cm <sup>3</sup> )		Umidade (%)			Cond. hidrául.	Umidade residual
Global	Partícula	1/3 atm	15 atm	água útil	(cm/h)	(%)
1,57	2,63	7,41	4,17	3,24	6,17	1,05
Análise Química do Solo						
P		pH		cmolc/dm <sup>3</sup>		
mg/dm <sup>3</sup>		(H <sub>2</sub> O)		K	Al	Ca
4,0		5,30		0,34	0,20	2,00
						Mg
						1,2

\*FA = Franco arenosa.

multiplicado em vasos, contendo vermiculita + solo (autoclavado por 1 hora a 120 °C a uma pressão de 101 Kpa, com intervalos de 24 horas, por três dias consecutivos, na proporção 1:1), utilizando-se painço (*Panicum miliaceum*) como planta teste.

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Biologia do Solo e conduzido em casa de vegetação da sede do IPA. No plantio, foram utilizadas cinco sementes por vaso, com capacidade de 6 kg de solo. Na semeadura, cada semente foi inoculada com 2 mL do meio YEM, contendo 10<sup>8</sup> ufc mL<sup>-1</sup> da bactéria (BANGEL; MEYER; SILVA, 2001). Na inoculação com o FMA, foram utilizados 50 g vaso<sup>-1</sup> (10 g/semente), em forma de propágulo, contendo cerca de 150 glomerosporos. Depois do desbaste, foi utilizada uma planta por vaso e, semanalmente, foi aplicada solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), sem N, utilizando-se 2 mL kg solo<sup>-1</sup>.

O experimento foi realizado, utilizando-se o delineamento em blocos ao acaso, distribuído em 4 blocos, 6 tratamentos e 2 épocas de colheita. Os tratamentos utilizados foram: BR3405 + FMA =  $\beta$ -rizóbio (*Burkholderia sabiae*) + *G. etunicatum*; FMA = *G. etunicatum*; BR3405 = *Burkholderia sabiae*; TN + FMA = testemunha nitrogenada + *G. etunicatum*; TN = testemunha nitrogenada (sem inoculação e com 30 kg de sulfato de amônio (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> N/ha); TA = testemunha absoluta (sem inoculação e sem nitrogênio).

As colheitas foram realizadas aos 80 e 110 dias após semeadura. A secagem do material vegetal de *M. caesalpinifolia* foi efetuada em estufa a 60 °C, por 72 horas, e foram analisadas as seguintes variáveis: matéria seca da parte aérea – MSPA; matéria seca da raiz – MSR; matéria seca de nódulos – MSN; altura de planta; diâmetro do colo – DC; número de glomerosporos (Nº de glomerosporos); percentual de colonização radicular (CR); e nitrogênio acumulado na MSPA (N<sub>ac</sub>).

A parte aérea foi moída (moinho MR340) para análise de nitrogênio acumulado. A contagem do número de

glomerosporos no solo foi realizada pela técnica da decantação e peneiramento úmido (GERDEMANN; NICOLSON, 1963) e complementada pela técnica da centrifugação e flutuação em sacarose (JENKINS, 1964). O clareamento e a coloração das raízes para avaliação da colonização micorrízica foram realizados pelo método de Phillips e Hayman (1970), submetendo-as às soluções de KOH 10% a 90 °C por 25 minutos, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10% por 3 minutos e HCl 1% por 5 minutos. Em seguida, as raízes foram coradas com Azul de Trypan 0,05% a 90 °C, por 10 minutos e armazenadas em solução de lactoglicerol. O percentual de colonização foi calculado pelo método da contagem em lâmina (GIOVANNETTI; MOSSE, 1980), no qual segmentos de 1 cm de raízes coradas foram montados paralelamente em lâminas, em grupos de dez (com cinco repetições/planta) e avaliados em microscópio, quanto à presença/ausência de hifas, arbúsculos, vesículas e esporos em cada segmento e o resultado expresso em porcentagem.

Os resultados obtidos foram analisados no programa estatístico ASSISTAT, utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação entre médias de tratamentos.

## Resultados e Discussão

### Primeira colheita - 80 dias de cultivo

Aos 80 dias de cultivo, foram analisadas as produções de matéria seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR), altura e diâmetro do colo (DC) das plantas de sabiazeiro, sendo detectadas diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos utilizados no experimento, conforme o teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

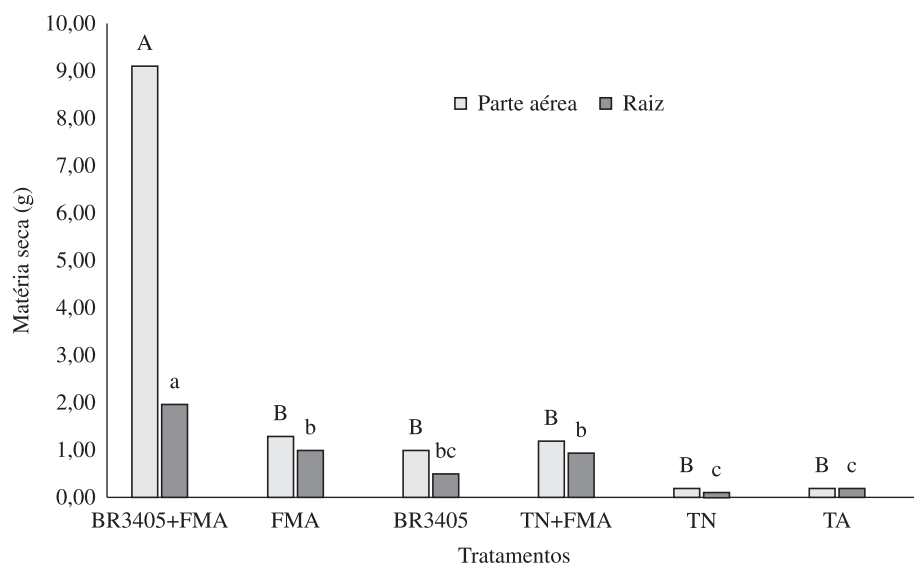
A análise dos parâmetros MSPA e MSR demonstrou que a dupla inoculação (BR3405 + FMA) foi o tratamento que conferiu às plantas de sabiazeiro maior produção de matéria seca, tendo diferido estatisticamente dos demais resultados pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) (Figura 1).

Em relação à altura e ao diâmetro do colo, as plantas de sabiazeiro que se desenvolveram sob efeito dos tratamentos de dupla inoculação (BR3405 + FMA), *G. etunicatum* (FMA) e sua interação com o sulfato de amônio (TN + FMA) apresentaram as melhores respostas de crescimento, sendo estatisticamente semelhantes entre si e diferindo significativamente das demais plantas ( $p \leq 0,05$ ) (Figura 2).

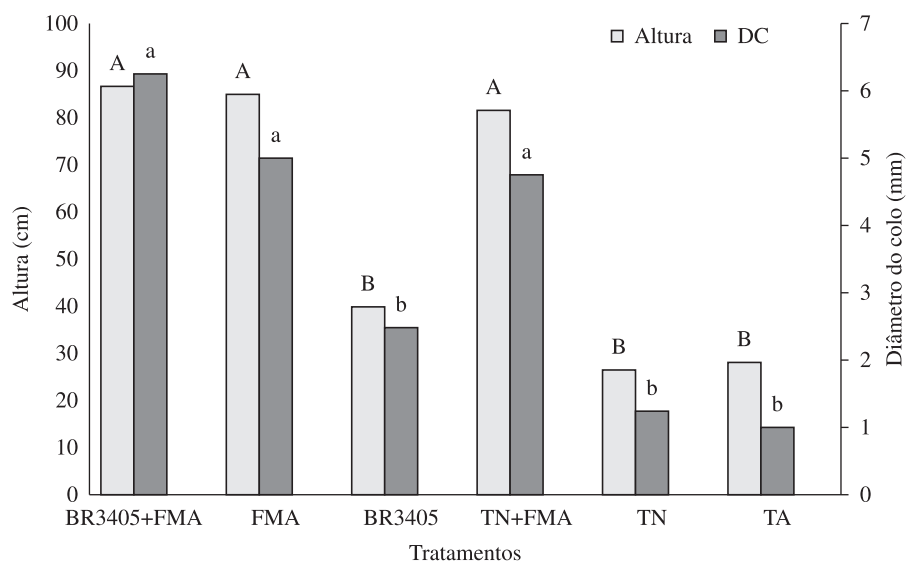
De maneira geral, os melhores valores de crescimento da sabiazeiro foram obtidos nas plantas que receberam a dupla inoculação de *Burkholderia sabiae* + *G. etunicatum*. Esse fato pode estar associado ao efeito sinérgico que existe na

interação entre bactérias fixadoras de nitrogênio e FMA, uma vez que um maior fornecimento de P proporcionado pelo FMA beneficia o funcionamento da enzima nitrogenase e o processo de fixação biológica de nitrogênio (MENDES FILHO, 2004; JESUS; SCHIAVO; FARIA, 2005), melhorando a captação de nutrientes e crescimento para as plantas.

Foi observado que as plantas que receberam a adubação nitrogenada sob a forma de sulfato de amônio ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  - (TN) não apresentaram a resposta esperada no seu desenvolvimento. Esse fato pode estar associado às altas temperaturas registradas



**Figura 1.** Matéria seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR) de plantas de sabiazeiro (*M. caesalpinifolia*) a diferentes tratamentos (80 dias de cultivo): BR3405 + FMA = *Burkholderia sabiae* + *G. etunicatum*; FMA = *G. etunicatum*; BR3405 = *Burkholderia sabiae*; TN + FMA = testemunha nitrogenada + *G. etunicatum*; TN = testemunha nitrogenada (sem inoculação e com 30 kg N/ha); TA = testemunha absoluta (sem inoculação e sem nitrogênio). Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Parte aérea CV (%) = 34,71; Raiz CV (%) = 35,80.



**Figura 2.** Altura e diâmetro do colo (DC) de plantas de sabiazeiro (*M. caesalpinifolia*) a diferentes tratamentos (80 dias de cultivo): BR3405 + FMA = *Burkholderia sabiae* + *G. etunicatum*; FMA = *G. etunicatum*; BR3405 = *Burkholderia sabiae*; TN + FMA = testemunha nitrogenada + *G. etunicatum*; TN = testemunha nitrogenada (sem inoculação e com 30 kg N/ha); TA = testemunha absoluta (sem inoculação e sem nitrogênio). Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Altura CV (%) = 15,82; Diâmetro do colo CV (%) = 18,97.

na casa de vegetação, com média de 36 °C, favorecendo, dessa forma, a volatilização do sulfato de amônio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

### Segunda colheita - 110 dias de cultivo

Aos 110 dias de cultivo (Figura 3), foram analisadas as produções de matéria seca da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR), e de nódulos (MSN), diâmetro do colo (DC), altura de planta, além do número de glomerosporos (NG) de FMA, percentagem de colonização do sistema radicular (CR) e nitrogênio acumulado ( $\text{N}_{\text{ac}}$ ) na matéria seca da parte aérea em plantas de sabiazeiro, tendo a análise dos dados detectado diferença estatística significativa entre os tratamentos, sendo tais diferenças apontadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).



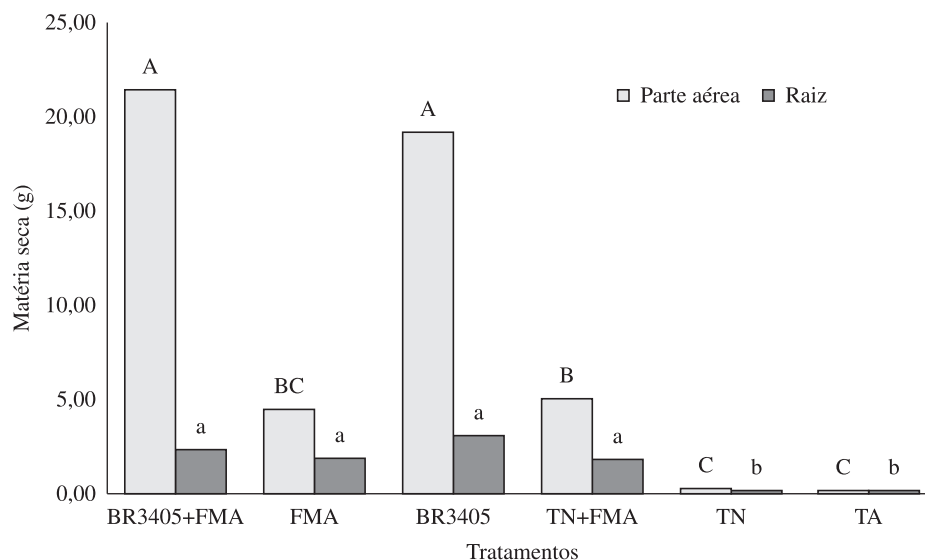
**Figura 3.** Visão geral do experimento com sabiazeiro (*M. caesalpiniaefolia*), inoculado com  $\beta$ -rizóbio e fungo micorrizico arbuscular, em casa de vegetação, aos 110 dias após o plantio.

Para a variável MSPA, as plantas de sabiazeiro cultivadas sob efeito da dupla inoculação *Burkholderia sabiae* + *G. etunicatum* (BR3405 + FMA) e as inoculadas apenas com  $\beta$ -rizóbio (BR3405) apresentaram maior produção de matéria seca, sendo estatisticamente semelhantes entre si ( $p \leq 0,05$ ). Em relação à variável MSR, as plantas inoculadas isoladamente com  $\beta$ -rizóbio (BR3405) apresentaram maior produção de matéria seca, seguida da dupla inoculação (BR3405 + FMA), *G. etunicatum* (FMA) e sua interação com sulfato de amônio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (TN + FMA), sendo estatisticamente semelhantes entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) (Figura 4).

A avaliação da variável altura demonstrou que as plantas de sabiazeiro que se desenvolveram sob efeito da dupla inoculação (BR3405 + FMA), as inoculadas com *G. etunicatum* (FMA) e sua interação com sulfato de amônio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (TN + FMA) apresentaram os melhores resultados de crescimento e estatisticamente não diferiram entre si, mas a interação com sulfato de amônio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (TN + FMA) também se mostrou semelhante às inoculadas apenas com  $\beta$ -rizóbio (BR3405), pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Resultado semelhante foi encontrado por Almeida e Raymundo-Júnior (2006) que, estudando o crescimento de mudas de angico-do-cerrado, inoculadas com rizóbio e micorrizas, observaram que a inoculação de bactéria fixadora de N + fungos micorrizicos proporcionou, entre outros fatores, maior crescimento em altura das mudas, apresentando diferenças estatísticas significativas em relação ao tratamento de inoculação apenas com rizóbio.

Para diâmetro do colo, conforme registrado pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), as plantas que receberam tratamento com a dupla inoculação (BR3405 + FMA) apresentaram os maiores valores de crescimento, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. As plantas inoculadas com *G. etunicatum* (FMA)



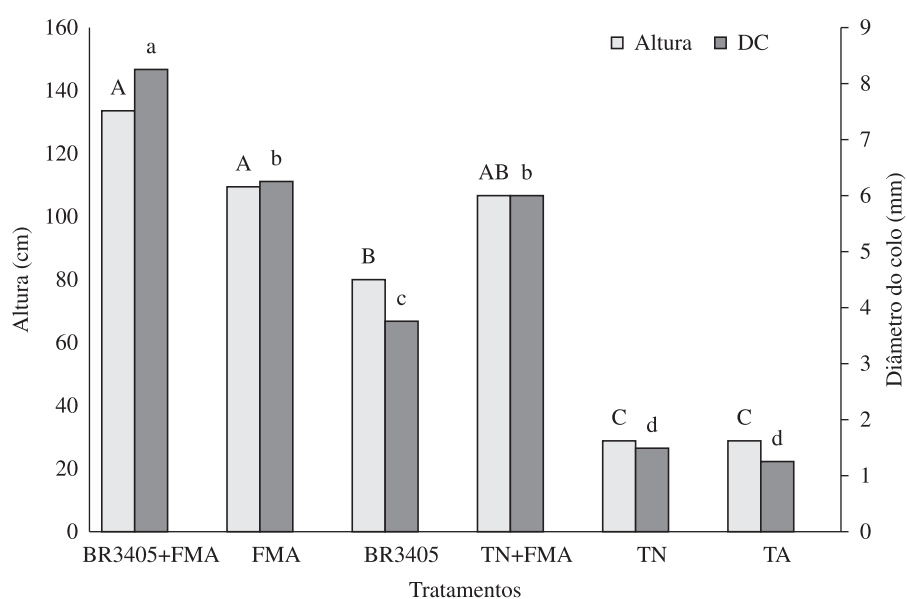
**Figura 4.** Produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR) de plantas de sabiazeiro (*M. caesalpiniaefolia*) a diferentes tratamentos (110 dias de cultivo): BR3405 + FMA = *Burkholderia sabiae* + *G. etunicatum*; FMA = *G. etunicatum*; BR3405 = *Burkholderia sabiae*; TN + FMA = testemunha nitrogenada + *G. etunicatum*; TN = testemunha nitrogenada (sem inoculação e com 30 kg N/ha); TA = testemunha absoluta (sem inoculação e sem nitrogênio). Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Parte aérea CV (%) = 24,75; raiz CV (%) = 34,75.

e sua interação com sulfato de amônio ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (TN + FMA) apresentaram o segundo melhor resultado de crescimento em diâmetro, não diferindo estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) (Figura 5).

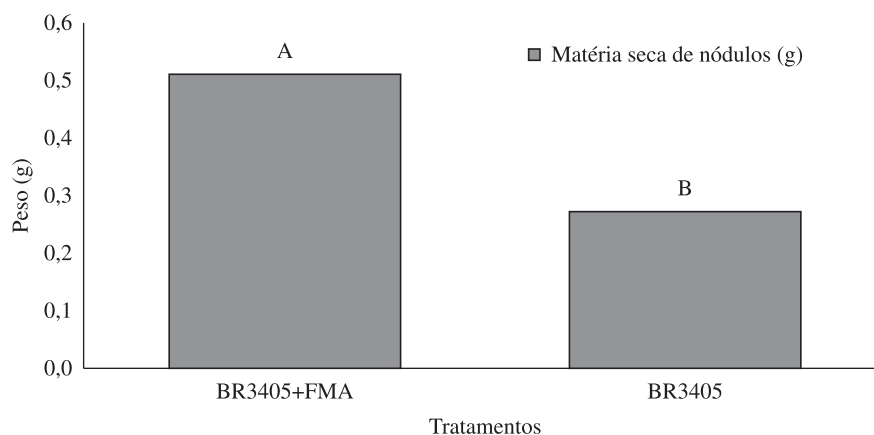
Em relação à matéria seca de nódulos (MSN), para os tratamentos passíveis de apresentar nodulação, uma vez que o solo foi esterilizado, as plantas inoculadas com *Burkholderia sabiae* + *G. etunicatum* (BR3405 + FMA) apresentaram melhor resultado, com diferença estatística significativa em relação às plantas que receberam apenas a inoculação isolada com  $\beta$ -rizóbio (BR3405), verificando-se que a MSN sob influência da dupla inoculação (BR3405 + FMA) foi 88,9% superior à das plantas inoculadas apenas com BR3405 (Figura 6); Mergulhão et al. (2001), ao trabalharem com mudas

de sabiazeiro, duplamente inoculadas com micorrizas mais rizóbio. Também se observou, entre outros parâmetros, que essa associação apresentou uma maior produção da MSPA, MSR e MSN, assim como uma maior altura de plantas.

Em relação ao número de glomerosporos no solo e percentual de colonização radicular, dentre os tratamentos avaliados, as plantas sob efeito da dupla inoculação (BR3405 + FMA), inoculação isolada com *G. etunicatum* (FMA) e sua interação com sulfato de amônio ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (TN + FMA) não diferiram estatisticamente entre si ( $p \leq 0,05$ ). Porém, constatou-se que o maior número de esporos e maior percentual de colonização radicular foi verificado sob o efeito da dupla inoculação (BR3405 + FMA) (Figura 7).



**Figura 5.** Altura e diâmetro do colo (DC) de plantas de sabiazeiro (*M. caesalpinifolia*) a diferentes tratamentos (110 dias de cultivo): BR3405 + FMA = *Burkholderia sabiae* + *G. etunicatum*; FMA = *G. etunicatum*; BR3405 = Rizóbio; TN + FMA = testemunha nitrogenada + *G. etunicatum*; TN = testemunha nitrogenada (sem inoculação e com 30 kg N/ha); TA = testemunha absoluta (sem inoculação e sem nitrogênio). Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Altura CV (%) = 14,71; Diâmetro do colo CV (%) = 15,18.

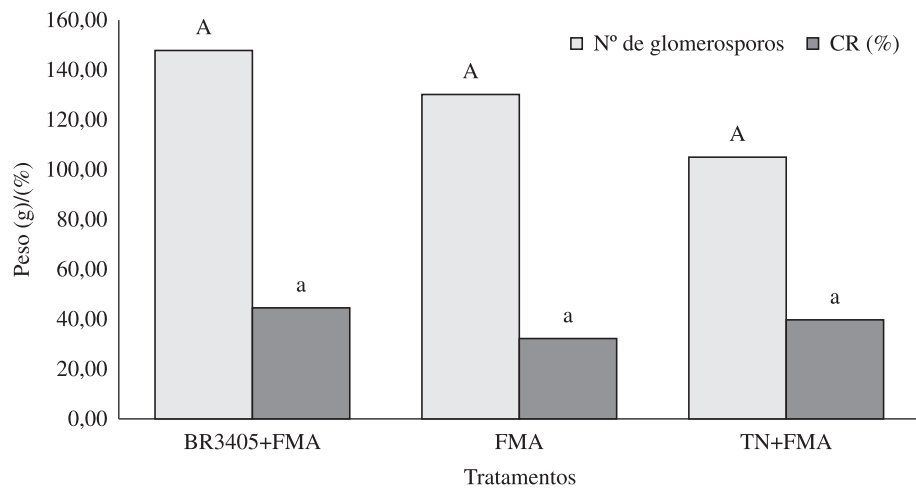


**Figura 6.** Produção de matéria seca de nódulos (MSN) de plantas de sabiazeiro (*M. caesalpinifolia*) inoculadas (110 dias de cultivo): BR3405 + FMA = *Burkholderia sabiae* + *G. etunicatum*; BR3405 = *Burkholderia sabiae*. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). CV (%) = 35,70.

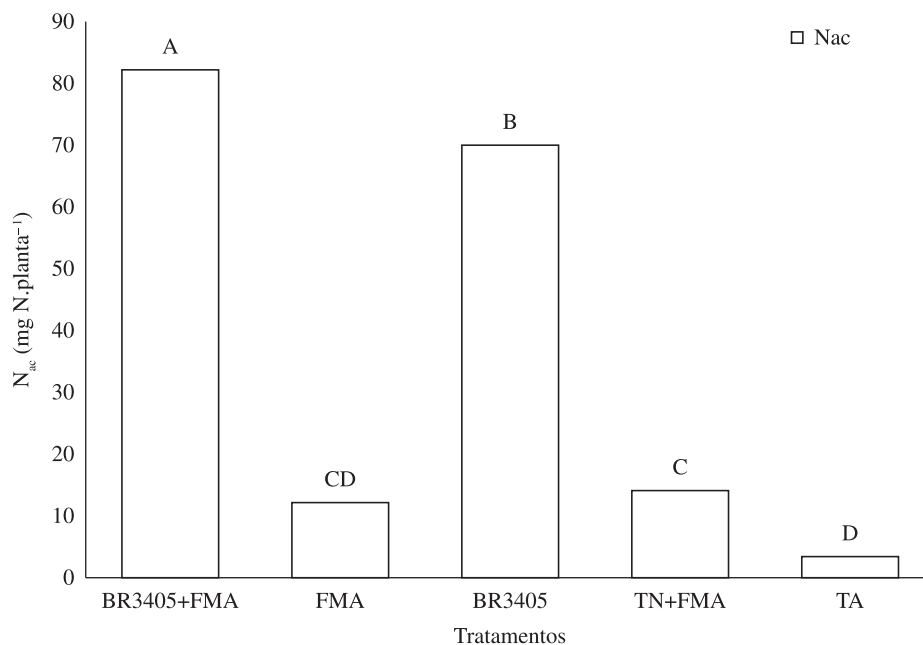
Burity et al. (2000), ao trabalharem com a sabiazeiro inoculada simultaneamente com rizóbio mais micorrizas, verificaram que a dupla inoculação apresentou melhor *performance* em diversos parâmetros avaliados, entre eles, a nodulação e a colonização radicular, em relação à inoculação apenas com rizóbio. Oliveira et al. (2011) observaram os efeitos da inoculação de fungos micorrízicos e rizóbio no crescimento inicial de *Acacia mangium* em diversas variáveis. Esses autores verificaram que a inoculação com rizóbio influenciou positivamente no peso seco do caule e de folhas, quando as plantas obtiveram maiores médias de produção, diferindo estatisticamente

das plantas do tratamento controle. Já a dupla inoculação (rizóbio + micorriza) mostrou-se mais eficiente na produção de matéria seca radicular, proporcionando maiores médias. No parâmetro peso seco de nódulos, os autores observaram que os melhores resultados foram obtidos nas plantas com rizóbio e FMA, inoculados isoladamente e, na avaliação do percentual de colonização radicular, que as plantas inoculadas com FMA obtiveram maior grau de colonização, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

A análise de nitrogênio acumulado ( $N_{ac}$ ) na matéria seca da parte aérea nas plantas de sabiazeiro apresentou



**Figura 7.** Número de glomerosporos e colonização radicular (CR) de plantas de sabiazeiro (*M. caesalpinifolia*). BR3405 + FMA = *Burkholderia sabiae* + *G. etunicatum*; FMA = *G. etunicatum*; TN + FMA = testemunha nitrogenada + *G. etunicatum*. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). N° esporos CV (%) = 42,94; Colonização Radicular CV (%) = 58,41.



**Figura 8.** Nitrogênio acumulado ( $N_{ac}$ ) na matéria seca da parte aérea em plantas de sabiazeiro (*M. caesalpinifolia*) sob diferentes tratamentos (110 dias de cultivo): BR3405 + FMA = *Burkholderia sabiae* + *G. etunicatum*; FMA = *G. etunicatum*; BR3405 = Rizóbio; TN + FMA = testemunha nitrogenada + *G. etunicatum*; TA = testemunha absoluta (sem inoculação e sem nitrogênio). Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). CV (%) = 19,33.

diferença estatística entre os demais tratamentos. As plantas sob efeito da dupla inoculação (BR3405 + FMA) foram superiores em relação aos demais tratamentos, apresentando diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (Figura 8).

## Conclusões

A dupla inoculação *Burkholderia sabiae* + *G. etunicatum* mostrou-se eficiente para a maximização da produção de plantas de sabiazeiro, podendo ser utilizada como alternativa aos adubos químicos nitrogenados e fosfatados na recuperação de áreas degradadas.

A dupla inoculação de *Burkholderia sabiae* + *G. etunicatum* em plantas de sabiazeiro apresentou maior nodulação e eficiência simbiótica.

## Referências

- ALMEIDA, A. F.; RAYMUNDO-JÚNIOR, O. Crescimento de mudas de *Anadenanthera falcata*, em casa-de-vegetação, inoculadas com rizóbio e micorrizas. **Holos Environment**, v. 6, n. 1, p. 22-30, 2006.
- ARAÚJO, A. S. F.; CARVALHO, E. M. S. **Fixação biológica de nitrogênio em leguminosas**. Teresina: Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias, 2006. 4 p. (UFPI. Comunicado Técnico, n. 11).
- BANGEL, E. V.; MEYER, J. V.; SILVA, C. M. Coleção de culturas de rizóbio Semia (FEPAGRO – MIRCEN). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DO SOLO, 28., 2001, Londrina. **Anais...** Londrina: Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, 2001. p. 68.
- BURITY, H. A. et al. Efetividade da inoculação com rizóbios e fungos micorrízicos arbusculares em mudas de sabiazeiro submetidas a diferentes níveis de fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 4, p. 801-807, 2000. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2000000400018>
- ENCARNAÇÃO, C. R. F. **Observações meteorológicas e tipos climáticos das unidades e campos experimentais da Empresa IPA**. Recife: Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária-IPA, s.d. 1 v.
- 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, p. 235-244, 1963. [http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536\(63\)80079-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536(63)80079-0)
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, v. 84, p. 489-500, 1980. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x>
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water culture method of growing plants without soil**. Berkeley: University of California, 1950.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, J. R.; MENDES, L. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2001. 48 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, n. 35).
- JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, v. 48, p. 692, 1964.
- JESUS, E. C.; SCHIAVO, J. A.; FARIA, S. M. Dependência de micorrizas para a nodulação de leguminosas arbóreas tropicais. **Revista Árvore**, v. 29, n. 4, p. 545-552, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622005000400006>
- MARCONDES, J. et al. Efetividade na fixação biológica do nitrogênio de bactérias nativas isoladas de plantas de amendoim. **Ciência & Tecnologia**, v. 1, n. 1, p. 21-32, 2010.
- MENDES FILHO, P. F. **Potencial de reabilitação do solo de uma área degradada, através da revegetação e do manejo microbiano**. 2004. 89 f. Tese (Doutorado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.
- MERGULHÃO, A. C. E. S. et al. Influência da dupla inoculação rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares em plantas de sabiazeiro sob solos de diferentes texturas. **Revista Ecosistema**, v. 26, n. 1, p. 42-47, 2001.
- MIRANDA, E. M.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; SILVA, E. M. R. Seleção de fungos micorrízicos arbusculares para o amendoim forrageiro consorciado com braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 9, p. 1185-1191, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2008000900013>
- OLIVEIRA, D. E. C. et al. Resposta da inoculação de fungos micorrízicos e rizóbio no crescimento inicial de *Acacia mangium* em solo de mineração no estado de Goiás. **Engenharia na Agricultura**, v. 19, n. 3, p. 219-226, 2011.
- PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 55, p. 158-161, 1970. [http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)
- REIS, A.; ZAMBONIN, R. M.; NAKAZONO, E. M. **Recuperação de áreas florestais degradadas utilizando a sucessão e as interações planta-animal**. São Paulo: Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica, 1999. 42 p. (Cadernos da reserva da biosfera da Mata Atlântica, n. 14).
- RESENDE, A. S.; CAMPELLO, E. F. C.; FRANCO, A. A. Importância das leguminosas arbóreas na recuperação de áreas degradadas e na sustentabilidade de sistemas agroflorestais. In: SEMINÁRIO SISTEMAS AGROFLORESTAIS E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL, 2003, Campo Grande. **Palestras...** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte; Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003. 24 p. 1 CD-ROM.
- RIZZINI, C. T. **Plantas do Brasil, árvores e madeiras úteis do Brasil**: manual de dendrologia brasileira. 2. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1978. 296 p.
- RODRIGUES, L. A. et al. Revegetação de áreas degradadas pela extração de argila no Norte do estado do Rio de Janeiro. **Perspectivas**, v. 5, n. 10, p. 88-105, 2006.
- SANTOS, C. E. R. S. et al. Fixação simbiótica do N<sub>2</sub> em leguminosas tropicais. In: FIGUEIRÊDO, M. V. B. et al. **Microrganismos e agrobiodiversidade**: o novo desafio para agricultura. Guaíba: Agrolivros, 2008. p. 17-41.
- SILVA, A. H. et al. Aplicação de corretivos e fertilizantes para recuperação de áreas degradadas utilizando *Macrotyloma axillare* como cobertura vegetal no norte de Minas Gerais. **Caminhos de Geografia**, v. 8, n. 22, p. 105-115, 2007.



- SILVA, F. B. R. et al. **Zoneamento agroecológico do estado de Pernambuco**. Recife: Embrapa Solos - Unidade de Execução de Pesquisa e Desenvolvimento - UEP Recife, 2001. 1 CD-ROOM. (Embrapa Solos. DocumentoS, n. 35).
- SILVA, M. B. R. et al. Estresse salino em plantas da espécie florestal sabiazeiro. **Caminhos de Geografia**, v. 10, n. 30, p. 120-127, 2009.
- SOUZA, F. A.; SILVA, E. M. R. Micorrizas arbusculares na revegetação de áreas degradadas. In: SIQUEIRA, J. O. (Ed.). **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1996. p. 255-290.
- STÜRMER, S. L. et al. "Além das raízes": o papel dos fungos micorrízicos. **Boletim Informativo da SBCS**, p. 30-32, jan./abr. 2009.
- UCHÔAS, E. S.; FARIA, S. M. **Seleção de estirpes de rizóbio para sansão preto (*Mimosa sp*), dormideira comprida (*Mimosa quadrivalvis*) e dormideira gigante (*Mimosa sp*). Leguminosas florestais com potencial uso na recuperação de áreas degradadas**. Seropédica: Embrapa-Cnpab, 2006. 6 p. (Embrapa-Cnpab. Comunicado Técnico, n. 89).
- VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of the root-nodule bacteria**. London: International Biological Programme, 1970. 164 p. (IBP. Handbook, n. 15).
- WADT, P. G. S. et al. **Práticas de conservação do solo e recuperação de áreas degradadas**. Rio Branco: Embrapa Acre, 2003. 29 p. (Embrapa Acre. Documentos, n. 90).

---

Recebido: 25/07/2011  
Aprovado: 29/09/2011