

PRODUÇÃO DE MUDAS DE *Acacia mangium* Willd NODULADAS E MICORRIZADAS EM DIFERENTES SUBSTRATOSS. R. L. TAVARES^{1*}, A. A. FRANCO¹ e E. M. R. SILVA²¹Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA SOLOS)²Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA AGROBIOLOGIA)

silvio.tavares@embrapa.br*

Artigo submetido em dezembro/2015 e aceito em abril/2016

DOI: 10.15628/holos.2016.3931

RESUMO

Com o objetivo de desenvolver estratégias baseadas em princípios de baixas aplicações de insumos e rápido crescimento vegetal que visem a revegetação de um solo de restinga degradado em Saquarema - RJ, desde a produção de mudas florestais e estabelecimento das mesmas em campo, foi realizado este experimento na Embrapa Agrobiologia. Para avaliar os efeitos da inoculação com *bradyrhizobium* e fungos micorrízicos arbusculares em dois substratos usados para a formação de mudas de *Acacia mangium* Willd, no crescimento, nodulação, colonização micorrízica e teores e acúmulos de macro e micronutrientes, foi realizado um experimento em casa de vegetação na Embrapa Agrobiologia, utilizando um delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial completo 4 X 2 com 5 repetições. Os tratamentos foram:

Testemunha sem inoculação; inoculação com rizóbio; inoculação com micorriza; inoculação com rizóbio + micorriza e dois substratos com diferentes conteúdos de composto orgânico em sua composição. Avaliaram-se os parâmetros de crescimento, nutrição, nodulação e colonização das mudas aos 120 dias após o plantio. As mudas colonizadas apresentaram maior desenvolvimento e acumulação de nutrientes em relação as não colonizadas. Além disso, o substrato contendo menor percentagem de composto orgânico, na maioria dos parâmetros analisados, não obteve diferenças estatísticas em relação ao substrato com maior teor. Os resultados finais indicam que, em relação as variáveis estudadas, deve-se optar pelo substrato com menor teor de composto orgânico para a produção de mudas dessa espécie.

PALAVRAS-CHAVE: Mudas florestais, fixação biológica de nitrogênio, simbiose, recuperação de áreas degradadas.**PRODUCTION OF SEEDLINGS *Acacia mangium* Willd IN DIFFERENT SUBSTRATES WITH RHIZOBIUM AND MYCORRHIZA****ABSTRACT**

With the objective to develop strategies based on principles of low input and rapid plant growth to land reclamation of "restinga" degraded soils. This experiment was conducted at Embrapa Agrobiology. The effects of inoculation of bradyrhizobium and arbuscular mycorrhizal fungus and two substrates used to grow seedlings of mangium (*Acacia mangium* Willd.) were evaluated by measuring the growth, nodulation, colonization of mycorrhizal fungus, plant growth and accumulation of nutrients. The experiment were accomplished at Embrapa Agrobiologia, with a complete factorial (4 X 2, with 5 replications) in a complete randomized sampling model design. The treatments were: Control, inoculation with *rhizobium*; inoculation

with Mycorrhiza; inoculation with *rhizobium* + Mycorrhiza; and two substrates with different contents of organic material. Growth, nutrition, nodulation and colonization parameters in the seedlings were evaluated after 120 days for *Acacia Mangium* after planning. On the average, total seedlings and colonized with fungi showed significant increases measures in plant grown and nutrient accumulation, compared to the not inoculated controls. The substrate that containing less organic material was superior to the moisture containing more organic compost. The final results indicate that, for the variables, you should opt for the substrate with less organic compound content for the production of seedlings of this species.

KEYWORDS: Grow seedlings, biological nitrogen fixation, symbiosis, recovery of degraded area, plant nutrition.

1 INTRODUÇÃO

Inúmeros são os fatores a se considerar visando o sucesso de um processo de Recuperação de áreas Degradadas (RAD). A recuperação dessas áreas, através da atividade florestal, requer o uso de espécies de rápido crescimento que sejam capazes de melhorar o solo, depositando matéria orgânica e reciclando nutrientes (FRANCO *et al.*, 1992).

Geralmente, a revegetação e/ou a incorporação dessas áreas ao processo produtivo é feita com elevado custo financeiro e energético, marginalizando cada vez mais as extensas áreas degradadas e a grande maioria dos agricultores que compõem a esfera mais pobre da economia rural brasileira.

Para atingir um espectro maior dos objetivos nos trabalhos de RAD em extensas áreas do país, torna-se imperiosa uma consciência coletiva dos promotores desses programas (inclusive pesquisadores e extensionistas rurais) em consonância com a realidade econômica e social brasileira, visando buscar alternativas técnicas viáveis, tanto do ponto de vista econômico, como na implantação em campo dessas tecnologias propostas.

Diante deste duro realismo, a tecnologia proposta pela Embrapa Agrobiologia para a recuperação dessas áreas utilizando espécies leguminosas noduladas e micorrizadas, associadas a adubação com gesso, fosfato de rocha e, quando disponível, composto orgânico (FRANCO *et al.*, 1991), é sem dúvida, juntamente com outras tecnologias propostas por outros grupos de trabalhos no Brasil, agregadora da filosofia acima descrita.

O princípio da tecnologia consiste em produzir mudas bem noduladas e micorrizadas para que sejam transplantadas para o campo com o máximo vigor, com uma relação parte aérea/raiz em torno de 2:1 e que apresentem plantas entre 20 a 30 cm de altura (FRANCO, *et al.*, 1992).

Neste contexto, o Comunicado Técnico nº 9 sobre revegetação de solos degradados da Embrapa Agrobiologia, indicava a utilização de um substrato que consistia de uma mistura contendo, em volume: 10% de fosfato de rocha, 30% de areia, 30% de solo argiloso e 30% de composto orgânico ou esterco curtido. Essa composição era formulada na produção de todas as mudas de espécies arbóreas, produzidas no campo experimental da Embrapa Agrobiologia. Com o passar do tempo, devido a alguns resultados satisfatórios do uso de composto orgânico em outras atividades paralelas de pesquisas no campo experimental, houve uma certa empolgação subjetiva em aumentar a composição volumétrica do teor do composto que chegou a casa dos 70%. Visualmente esse incremento não correspondeu, para as mudas de leguminosas fixadoras de nitrogênio, a um aumento de qualidade das mesmas e, em algumas espécies, foi observado exatamente o oposto.

Diante de tal fato e pela necessidade de sair da esfera especulativa e entrar na experimentação científica, objetivando dar subsídios à manutenção das recomendações contidas no comunicado técnico e na produção de mudas do centro, foi realizado um ensaio em casa-de-vegetação, com os substratos em questão, utilizando a acácia mangium que é uma das espécies arbóreas mais usadas no Programa de Recuperação de Áreas Degradadas da Embrapa Agrobiologia.

2 METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação na Embrapa Agrobiologia, no município de Seropédica, RJ, em bandejas de isopor comercial de células para a produção de mudas com 11,5 cm de altura e volume de cada célula de 100 mL. Foram utilizados dois substratos para a produção das mudas. O substrato 1 (70-10-10-10) foi constituído de uma mistura contendo: 700 g dm^{-3} de composto orgânico; 100 g dm^{-3} de solo argiloso; 100 g dm^{-3} de areia e 100 g dm^{-3} de fosfato de rocha. O substrato 2 (30-30-30-10) foi constituído de uma mistura contendo: 300 g dm^{-3} de composto orgânico; 300 g dm^{-3} de solo argiloso; 300 g dm^{-3} de areia e 100 g dm^{-3} de fosfato de rocha. A fonte de fósforo adicionada nesses substratos foi o fosfato natural de Araxá (24% de P_2O_5 solúvel em ácido cítrico 2% - indicação do fabricante). As determinações químicas dos substratos foram realizadas segundo metodologias da EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - Embrapa (2011), e revelaram pH em água (1:2,5) = 6,8 e 6,4; P disponível (resina) = 874 e 192 mg dm^{-3} ; K = 25,5 e 12,0 mmol_c dm^{-3} ; Ca = 477 e 277 mmol_c dm^{-3} ; Mg = 135 e 44 mmol_c dm^{-3} ; H + Al⁺⁺⁺ = 160 e 150 mmol_c dm^{-3} ; CTC = 653 e 348 mmol_c dm^{-3} ; Matéria Orgânica = 94 e 68 g dm^{-3} , respectivamente para os substratos 1 e 2. Os substratos foram fumigados separadamente em caixas de alvenaria vedadas, com aplicação de 80 cm³ de bromex (Brometo de metila 98% + cloropicrina 2% em peso) por m³ de substrato, durante 96 horas (indicação do fabricante).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com os tratamentos dispostos em esquema fatorial completo 4 X 2 com 5 repetições. Os tratamentos foram: Testemunha sem inoculação (Test.), Inoculado com *bradyrhizobium* (R); Inoculado com fungo micorrízico arbuscular (M); Inoculado com *bradyrhizobium* e fungo micorrízico arbuscular (R+M) e os dois substratos para a produção de mudas descritos anteriormente.

Os fungos micorrízicos utilizados como inóculos foram *Glomus clarum* e *Gigaspora margarita* Becher & Hall, oriundos da Universidade Federal de Lavras - UFLA e mantidos na coleção da Embrapa Agrobiologia e as bactérias foram as estirpes de *bradyrhizobium* selecionadas BR 3609 e BR 3617 oriundas também das coleções da Embrapa Agrobiologia.

Visando a quebra de suas dormências, as sementes da *Acacia mangium* Willd foram tratadas com água quente (90° C) durante 30 segundos o que promoveu um bom índice de germinação. As sementes foram provenientes do campo experimental da Embrapa Agrobiologia e foram coletadas no mesmo ano do plantio do experimento.

Foram colocadas 3 sementes por célula nas bandejas de produção de mudas e, nos tratamentos que receberam inoculações com rizóbios, foram utilizadas as estirpes previamente selecionadas, crescidas em meio semissólido descrito por Vincent (1970), tendo como veículo turfa esterilizada. Nos tratamentos que receberam inoculações com fungos micorrízicos, foi colocada uma mistura em solução contendo 20 esporos de cada espécie por célula (OLIVEIRA, 1993). Os inóculos foram produzidos em cultura estoque de *Brachiaria decumbens* por ser uma gramínea de fácil cultivo e manejo, por produzir grande quantidade de radículas em vasos e por este motivo ser a espécie predominante para produção de micorrizas na Embrapa Agrobiologia. Os inóculos tanto dos rizóbios como dos fungos foram colocados em cavidades a 2 cm de profundidade, abertas nos substratos para posterior colocação e cobertura das sementes de acácia. Quando as plântulas apresentavam um par de folhas definitivas, foi realizado o desbaste, deixando uma planta por célula.

A *Acacia mangium* foi colhida aos 120 dias após o plantio. Os parâmetros avaliados foram altura, massa seca da parte aérea e das raízes, diâmetro à altura do colo, número e peso dos nódulos secos, porcentagem de colonização pelas MVAs e concentração de N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Mn, Fe e Zn.

O material da parte aérea foi seco a 65° C, em estufa de circulação forçada de ar e pesado, após secagem, até o atingimento de peso constante. Foi então moído e realizado uma digestão ácida para análises de nitrogênio que foi feita empregando-se a destilação por arraste de vapor (método Kjeldahl). Também no material da parte aérea seca e moída foi feita uma digestão nitroperclórica para a extração simultânea dos demais elementos analisados. A determinação do fósforo foi feita por colorimetria; o potássio por fotometria de chama; e o cálcio, magnésio, cobre, manganês, ferro e zinco por espectrofotometria de absorção atômica, segundo as metodologias descritas por Bataglia *et al.* (1983).

Para a verificação da colonização micorrízica, o sistema radicular foi lavado em água destilada e em seguida colocado em papel absorvente para ser retirado o excesso de umidade. Foi retirado 0,5 g de raízes finas (<1 mm de diâmetro) localizado junto ao substrato onde as mudas foram produzidas e conservados em álcool 70%. O clareamento com KOH 10% e a coloração das raízes com azul de tripano, seguiram a metodologia descrita por Phillips e Hayman (1970), adaptados por Abbot & Robson (1981).

Os segmentos de raízes frescas (0,5g), foram lavados inicialmente em água destilada visando retirar o excesso de álcool no qual estavam conservadas as amostras. Em seguida, as raízes foram aquecidas em KOH 10% a 90° C por uma hora em banho-maria, a fim de remover o conteúdo citoplasmático. As raízes após este procedimento, foram novamente lavadas com água destilada e colocadas em água oxigenada a 3% por 15 minutos. Depois as raízes foram colocadas em HCL a 2% por 5 minutos, a fim de retirar os resíduos do KOH. Novamente foram lavadas com água destilada e colocadas em solução de lactoglicerol com 0,05% de azul de tripano sendo novamente submetidas a banho-maria por 30 minutos. Após estes procedimentos, as raízes foram observadas em microscópio estereoscópico usando uma lente de aumento 40X (Embrapa-CNPAF. Documentos, 46).

A porcentagem do comprimento das raízes colonizadas foi avaliada pelo método de intersecção em placa, descrito no trabalho de Giovanetti e Mosse (1980), adaptado a partir do método de medida de comprimento de raízes de Newman (1966).

Os parâmetros estudados foram submetidos às análises de variância e teste de médias, utilizando-se o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG), desenvolvido pelo setor de processamento de dados da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Todos os parâmetros estudados foram submetidos, antes das análises estatísticas paramétricas usuais, ao teste de Lilliefors (que é uma derivação do teste de Kolmogorov-Smirnov), para verificar se os valores de dados de uma determinada variável seguem ou não uma distribuição de médias e desvios-padrão calculados na mesma amostra (se eles têm distribuições normais). Os dados também foram submetidos ao teste de Cochran que é usado para a verificação da homogeneidade de variâncias. Estes testes visam viabilizar a aplicação das análises de variância, que só poderá ser aplicada a um conjunto de observações se estiverem satisfeitas as pressuposições de independência, normalidade e variância constante (VIEIRA e HOFFMANN, 1989).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os efeitos dos substratos utilizados para a produção de mudas, submetidas a diferentes inoculações com rizóbios e fungos micorrízicos arbusculares nos parâmetros de crescimento, nodulação, colonização micorrízica e parâmetros nutricionais (teores e acúmulos de macro e micronutrientes na parte aérea) encontram-se nas tabelas de 1 a 3.

Os tratamentos microbiológicos (TM) isoladamente aumentaram significativamente todos os parâmetros estudados (Tabela 1), ao nível de 1% de significância do teste F. Em relação à testemunha, os incrementos médios (em percentual), apresentados na sequência (R, M e R+M) dos parâmetros de crescimento, foram respectivamente os seguintes: (83, 36 e 97%) para a altura (H); (30, 24 e 51%) para o diâmetro (D); (93, 60 e 147%) para a massa seca da parte aérea (MSPA) e (14, 22 e 21%) para a massa seca das raízes (MSR). Os substratos (S) isoladamente, tiveram efeitos significativos nos parâmetros: altura, diâmetro a altura do colo e massa dos nódulos secos, nos dois níveis de significância (1 e 5%) do teste F. Somente ocorreu interação significativa (TM X S) no parâmetro massa dos nódulos secos.

Tabela 1: Médias e testes de médias dos parâmetros de crescimento, nodulação e colonização micorrízica observadas em mudas de acácia (*Acacia mangium* Willd.), submetidas a inoculações com Rizóbio (R) e Fungos micorrízicos arbusculares (M), em diferentes substratos, aos 120 dias após o plantio (média de 5 repetições, sendo a unidade experimental composta de 3 plantas - Dados expressos por planta).

Parâmetro	S	Tratamentos microbiológicos ⁽¹⁾						Média		
		Test	R	M	R+M					
Altura - H (cm)	1	15,91	30,13	21,90	32,14	22,02	B			
	2	17,88	31,84	23,96	34,37	27,01	A			
	Média	16,89	c	30,98	a	22,93	b	33,25	a	cv
Diâmetro à Altura do Colo - D (mm)	1	1,64	2,03	1,97	2,42	2,02	B			
	2	1,71	2,32	2,21	2,67	2,22	A			
	Média	1,68	c	2,17	b	2,09	b	2,54	a	cv
Massa Seca da Parte Aérea- MSPA(g pl ⁻¹)	1	0,47	0,91	0,77	1,17	0,83				
	2	0,50	0,96	0,78	1,23	0,86				
	Média	0,48	c	0,93	b	0,77	b	1,20	a	cv
Massa Seca das Raízes - MSR (g pl ⁻¹)	1	0,31	0,37	0,39	0,38	0,36				
	2	0,31	0,34	0,37	0,37	0,35				
	Média	0,31	b	0,35	ab	0,38	a	0,37	a	cv
Massa dos Nódulos Secos-MNS (g pl ⁻¹) ⁽²⁾	1	0,00	Ab	0,06	Aa	0,00	Ab	0,06	Ba	0,03
	2	0,00	Ac	0,07	Ab	0,00	c	0,09	Aa	0,04
	Média	0,00		0,06		0,00		0,08		cv
Nº de Nódulos NN ⁽²⁾	1	0,00	21,86	0,00	42,40	16,06				
	2	0,00	22,53	0,00	44,80	16,83				
	Média	0,00	c	22,19	b	0,00	c	43,59	a	cv
MSR/MSPA	1	0,68	0,40	0,50	0,33	0,48				
	2	0,64	0,36	0,48	0,30	0,45				
	Média	0,66	a	0,38	c	0,49	b	0,32	c	cv
MMS/NN	1	0,00	0,001	0,00	0,001	0,001				
	2	0,00	0,001	0,00	0,001	0,001				
	Média	0,00	c	0,002	a	0,00	c	0,002	b	cv
Taxa de Colonização Micorrízica ⁽³⁾ (%)	1	0,00	0,00	17,14	19,00	9,03				
	2	0,00	0,00	21,53	23,74	11,31				
	Média	0,00	b	0,00	b	19,33	a	21,37	a	cv

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra (Maiúscula, compara substratos; Minúscula, compara tratamentos microbiológicos), não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

⁽²⁾ Dados originais, sendo a análises de variância feita com dados transformados em $\sqrt{x + 1}$.

⁽³⁾ Dados originais, sendo a análises de variância feita com dados transformados em arco seno $\sqrt{x} / 100$.

A altura das plantas (Tabela 1) foi maior nos tratamentos com dupla inoculação (R + M) e com rizóbio isoladamente (R), seguidos dos tratamentos micorriza isoladamente (M) e depois da testemunha (Test.), não havendo diferença em nenhum tratamento microbiológico entre substratos, ao passo que na média dos substratos, o substrato 2 foi superior em altura ao substrato 1. Isto se deve ao fato de que, com o reduzido volume das células de produção de mudas (100 mL), logo no segundo mês, foi verificada uma certa paralização no crescimento das mudas que não estavam inoculadas com as estirpes de rizóbios, em virtude do esgotamento do nitrogênio disponível às plantas no sistema.

Em relação ao diâmetro à altura do colo, houve diferença entre os dois substratos em estudo. Novamente, em média, o substrato 2 foi superior em relação ao substrato 1. O tratamento microbiológico R+M foi significativamente superior aos demais, seguido pelo R, M e finalmente pela testemunha. Vários trabalhos citados na literatura têm demonstrado que existe uma forte correlação entre a porcentagem de sobrevivência da muda em campo e o diâmetro do colo das mesmas, medido na ocasião do plantio.

A massa seca da parte aérea, em relação a comparação entre tratamentos microbiológicos, foi similar ao parâmetro diâmetro à altura do colo. Neste parâmetro e em todos os subseqüentes apresentados na tabela 1, os substratos não diferiram entre si. Portanto, tiveram o mesmo comportamento qualquer que fosse a sua contribuição.

Na massa seca das raízes, os tratamentos microbiológicos inoculados foram similares ao tratamento testemunha. Também a relação entre a massa seca das raízes e a massa seca da parte aérea (MSR/MSPA), não apresentou diferenças estatísticas. Estes fatos também podem estarem relacionados ao pequeno volume das células de produção das mudas, que proporciona uma limitação ao desenvolvimento do sistema radicular, limitando o alongamento e estimulando o desenvolvimento das raízes laterais e conseqüentemente uma maior ocupação volumétrica no recipiente em questão, igualando os tratamentos por limitação volumétrica na célula de produção.

Segundo a experiência prática de vários centros de pesquisas agropecuárias da Embrapa ao longo dos anos, pode-se inferir que as espécies arbóreas indicadas para seus programas de Recuperação de Áreas Degradadas, consideram que as espécies que apresentam maior relação raiz/parte aérea não seriam mais adequadas para a fase inicial de recuperação de áreas degradadas, uma vez que necessitam de maiores investimentos de energia para a produção de raízes, retardando a cobertura inicial do solo, já que é esse um dos principais objetivos a serem alcançados num programa de reabilitação de áreas degradadas. É interessante que se faça uma cobertura total do solo, no período mais curto possível, favorecendo a deposição de folhas e outros materiais vegetais. Entretanto, numa fase posterior é importante o crescimento do sistema radicular para estabilizar o solo e aumentar a atividade biológica do mesmo, criando condições propícias para o estabelecimento de outras espécies mais exigentes. Em áreas de declividades acentuadas (encostas), onde o objetivo da recuperação destas áreas passa prioritariamente pela estabilização física do solo, o maior crescimento radicular em relação a parte aérea passa a ser prioritário.

Tabela 2: Médias e testes de médias dos parâmetros nutricionais (teores e acúmulos de macronutrientes na parte aérea), observadas em mudas de acácia (*Acacia mangium* Willd.), submetidas a inoculações com Rizóbio (R) e Fungos micorrízicos arbusculares (M), em diferentes substratos, aos 120 dias após o plantio (média de 5 repetições, sendo a unidade experimental composta de 3 plantas - Dados expressos por planta).

Parâmetro	S	Test	Tratamentos microbiológicos ⁽¹⁾				Média	cv	
			R	M	R+M				
N (g Kg ⁻¹)	1	17,96	22,67	18,14	22,99	20,44			
	2	18,01	22,94	18,08	23,02	20,53			
	Média	18,01	b	22,80	a	18,11	b	23,01	a
N Total (mg planta ⁻¹)	1	8,32	20,60	13,92	27,22	17,51			
	2	8,86	22,01	14,15	28,25	18,31			
	Média	8,59	d	21,30	b	14,03	c	27,74	a
P (g Kg ⁻¹)	1	2,58	1,88	2,64	1,70	2,20			
	2	2,51	1,86	2,60	1,78	2,19			
	Média	2,55	a	1,87	b	2,62	a	1,74	b
P Total (mg planta ⁻¹)	1	1,21	1,71	2,03	2,01	1,74			
	2	1,25	1,80	2,01	2,18	1,81			
	Média	1,23	b	1,75	a	2,02	a	2,09	a
K (g Kg ⁻¹)	1	14,92	14,02	13,86	13,46	14,06			
	2	14,03	14,52	13,58	14,04	14,04			
	Média	14,48		14,30		13,72		13,75	
K Total (mg planta ⁻¹)	1	6,99	12,71	10,66	15,52	11,47			
	2	6,90	13,97	10,55	17,06	12,12			
	Média	6,94	d	13,34	b	10,61	c	16,29	a
Ca (g Kg ⁻¹)	1	18,16	15,70	15,06	13,24	15,54			
	2	18,56	15,50	15,50	13,90	15,87			
	Média	18,36	a	15,60	b	15,28	b	13,57	b
Ca Total (mg planta ⁻¹)	1	8,32	14,25	11,54	15,27	12,34			
	2	9,18	14,85	12,04	17,27	13,33			
	Média	8,75	c	14,55	ab	11,79	b	16,27	a
Mg (g Kg ⁻¹)	1	3,12	1,70	2,68	1,62	2,28			
	2	3,06	1,86	2,71	1,37	2,25			
	Média	3,09	a	1,78	c	2,69	b	1,49	d
Mg Total (mg planta ⁻¹)	1	1,45	1,54	2,06	1,91	1,74			
	2	1,51	1,78	2,10	1,67	1,77			
	Média	1,48	b	1,66	b	2,08	a	1,79	ab

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra (Maiúscula, compara substratos; Minúscula, compara tratamentos microbiológicos), não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Não houve nodulação nos tratamentos sem inoculação com rizóbio. A inoculação conjunta R + M proporcionou o aparecimento de um número maior de nódulos e uma maior massa seca dos mesmos em ambos os substratos. Faria (1995) não observou diferença estatística com relação ao número de nódulos em *Acacia mangium* em tratamento com dupla inoculação (R + M), quando comparada à testemunha não inoculada, aos 95 dias após o transplantio das mudas para vasos de 1 dm³ de solo sem fumigação. Por outro lado, Costa et al., (1991), observaram uma maior nodulação em leucena quando da realização da inoculação conjunta (R + M) em solo fumigado. Estes trabalhos mostram que a inoculação conjunta (R + M) parece depender mais das interações microbianas entre as espécies vegetais simbiotes do que da interação única entre os microrganismos inoculados nestas espécies em relação aos parâmetros nodulação e número de nódulos.

A *Acacia mangium* é considerada quanto à dependência micorrízica como altamente dependente (COLOONNA et al., 1991). Contudo, neste trabalho, ela apresentou uma taxa de

colonização micorrízica relativamente baixa, em torno de 20% (Tabela 1), resultados também observados em vários trabalhos (FARIA, 1995; OLIVEIRA, 1995; ANDREOLA et al., 1988). Dela Cruz et al. (1988), conseguiram uma taxa de infecção micorrízica relativamente alta para a espécie em questão (63%) trabalhando com *Glomus fasciculatus* + rizóbio. Esta combinação inclusive proporcionou os melhores resultados em relação a todos os parâmetros estudados: altura das plantas, diâmetro à altura do colo, concentração e conteúdo total de N e P, peso dos nódulos secos, atividade de redução do acetileno, e logicamente na taxa de infecção micorrízica. Na Embrapa Agrobiologia, taxas de colonização micorrízica para *Acacia mangium* acima de 50% para mudas a serem transplantadas para o campo são consideradas como altas taxas.

Os tratamentos exerceram menores efeitos nos teores e conteúdos de nutrientes do que nas variáveis de crescimento (Tabelas 2 e 3). Em relação aos aspectos nutricionais, os tratamentos microbiológicos isoladamente, com exceção dos parâmetros K, Cu, Mn, Fe e Zn total foram significativos ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F. Os incrementos médios (em percentual), apresentados na sequência (R, M e R+M) no total acumulado dos macros e micronutrientes, foram respectivamente o seguinte: (148, 63 e 222%) para o N; (42, 64 e 69%) para o P; (92, 52 e 134%) para o K; (66, 35 e 85%) para o Ca; (12, 40 e 22%) para o Mg; (53, 46 e 93%) para o Cu; (133, 35 e 198%) para o Mn; (98, 82 e 53%) para o Fe e (20, 54 e 53) para o Zn. Os substratos isoladamente não foram significativos em nenhum parâmetro avaliado e não ocorreu interação significativa.

As micorrizas, embora não sejam capazes de fixar o N₂ do ar, favorecem a sua aquisição através de efeitos indiretos na simbiose fixadora deste nutriente e no aumento da absorção de N no solo (BAREA e AZCON-AGUILAR, 1983). Tanto as hifas como raízes micorrizadas são capazes de absorver N como nitrato ou amônio e transferi-lo para a planta, desempenhando papel de grande importância na aquisição de N em ecossistemas naturais e evitando perdas de NO₃⁻ por lixiviação (SIQUEIRA et al., 1994). Esse preceito foi observado no referido estudo, onde o tratamento microbiológico somente com a inoculação dos fungos, apesar de não diferir na concentração de N com a testemunha, foi 63% maior no acúmulo total do elemento na parte aérea da *Acacia mangium*. Os tratamentos com as estirpes de rizóbios isolados ou em associação com os fungos, foram superiores ao restante dos tratamentos (tanto em teores, como em acúmulo de N), e esta superioridade na aquisição do nitrogênio atmosférico nestes tratamentos, foi o fator de maior importância no desenvolvimento vegetal, já que a absorção de N teoricamente, era o maior fator limitante no sistema de produção das mudas.

Os teores de P, Ca e Mg na parte aérea das plantas foram reduzidos nos tratamentos com rizóbio, o que sugere um efeito de diluição no tecido das plantas em função do maior desenvolvimento das mesmas.

O teor de K foi indiferente entre os tratamentos e o seu acúmulo foi maior nos tratamentos com rizóbios devido a maior massa seca da parte aérea acumulada. Dias et al. (1991), avaliaram o efeito da adubação potássica para a formação de mudas de *Acacia mangium* Willd, em casa-de-vegetação, utilizando-se uma amostra sub-superficial de um Latossolo Vermelho Amarelo (LVA) como substrato, em doses crescentes (0, 50, 100, 150 e 200 mg dm⁻³) e encontraram resposta negativa à adição de K nos parâmetros de crescimento das mudas. De maneira geral, a literatura tem mostrado que para algumas espécies florestais, nativas ou exóticas, o nível crítico de K para a produção de mudas tem sido inferior a 1,28 mmol_c dm⁻³. Nos substratos em estudo as análises de fertilidade mostraram a presença de 25,5 e 12,0 mmol_c dm⁻³ de K respectivamente para os substratos 1 e 2. Logo, muito maiores que o mínimo recomendado para esta espécie florestal.

Tabela 3: Médias e testes de médias dos parâmetros nutricionais (teores e acúmulos de micronutrientes na parte aérea), observadas em mudas de acácia (*Acacia mangium* Willd.), submetidas a inoculações com Rizóbio (R) e Fungos micorrízicos arbusculares (M), em diferentes substratos, aos 120 dias após o plantio (média de 5 repetições, sendo a unidade experimental composta de 3 plantas - Dados expressos por planta).

Parâmetro	S	Test	Tratamentos microbiológicos ⁽¹⁾			Média				
			R	M	R+M					
Cu (mg Kg ⁻¹)	1	13,00	10,20	11,80	9,80	11,20				
	2	13,20	10,60	12,00	10,60	11,60				
	Média	13,10	10,40	11,90	10,20	11,20	cv	23,50		
Cu Total (µg planta ⁻¹)	1	6,09	9,25	9,09	11,41	8,96				
	2	6,51	10,11	9,37	13,03	9,75				
	Média	6,30	b	9,68	a	9,23	ab	12,22	a	cv
Mn (mg Kg ⁻¹)	1	46,00	60,00	42,00	58,00	51,50				
	2	48,00	60,00	42,00	62,00	53,00				
	Média	47,00	60,00	42,00	60,00	51,50	cv	37,55		
Mn Total (µg planta ⁻¹)	1	21,78	54,64	32,36	68,44	44,30				
	2	26,78	57,50	32,52	75,86	48,16				
	Média	24,28	b	56,07	a	32,44	b	72,15	a	cv
Fe (mg Kg ⁻¹)	1	172,0	164,0	184,0	162,0	170,5				
	2	148,0	158,0	176,0	158,0	160,0				
	Média	160,0	161,0	180,0	160,0	170,5	cv	12,27		
Fe Total (µg planta ⁻¹)	1	80,12	149,2	141,3	187,1	139,4				
	2	72,32	152,3	137,1	194,6	139,1				
	Média	76,22	c	150,7	b	139,2	b	190,9	a	cv
Zn (mg Kg ⁻¹)	1	17,72	10,86	17,22	10,89	14,16				
	2	17,46	11,18	16,90	10,38	13,98				
	Média	17,59	11,02	17,06	10,62	14,16	cv	45,58		
Zn Total (µg planta ⁻¹)	1	8,43	9,84	13,22	14,11	11,41				
	2	8,69	10,90	13,14	12,00	11,17				
	Média	8,57	10,37	13,18	13,06	11,41	cv	62,47		

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra (Maiúscula, compara substratos; Minúscula, compara tratamentos microbiológicos), não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Os teores dos micronutrientes (Cu, Mn, Fe e Zn) não diferiram entre os tratamentos, ao passo que suas acumulações foram maiores no tratamento R+M.

A acumulação de Zn também não deferiu entre os tratamentos microbiológicos. Também não foram observadas diferenças de médias entre os substratos utilizados e não houve nenhuma interação significativa entre os tratamentos microbiológicos X substratos.

De uma maneira geral, na produção de mudas de *Acacia mangium*, verificou-se nas tabelas apresentadas que são poucos os parâmetros onde o substrato 1 apresenta superioridade em relação ao substrato 2. Logo, por questão de economia e pelos resultados obtidos nos parâmetros morfológicos e nutricionais das mudas, deve-se optar pelo substrato 2 que possui em composição: 30% de composto orgânico; 30% de solo argiloso; 30% de areia e 10% de fosfato de rocha.

4 CONCLUSÃO

Em relação aos substratos esterilizados, utilizados para a produção de mudas e inoculados com os tratamentos microbiológicos em que foi desenvolvido o experimento, os resultados finais indicam que, em relação as variáveis estudadas no presente trabalho e aos aspectos econômicos

e práticos, deve-se na produção de mudas dessas espécies, optar pelo substrato 2, que possui um menor teor de composto orgânico em sua composição.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

1. ABBOTT, L. K.; ROBSON, A. D. Infectivity and effectiveness of five endomycorrhizal fungi: competition with indigenous fungi in field soils. *Australian Journal of Agricultural Research*, Victoria, v. 32, p. 621-630, 1981.
2. ANDREOLA, F.; PACHECO, R. G.; DIAS, L. E. & BARROS, N. F. Efeito da interação *Bradyrhizobium* X micorriza vesicular-arbuscular X doses de fósforo na formação de mudas de *Acacia mangium*. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, XXV, Viçosa, MG, 1995. Resumos Expandidos, Viçosa, Soc. Bras. de Ciência do Solo, 1995. p. 381-383.
3. BAREA, J. M. & AZCON-AGUIAR, C. Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. *Advances in Agronomy.*, 36: 1-54, 1983.
4. BATAGLIA, O. C.; FURLANI, A. M. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R. & GALLO, J. R. Métodos de análise química das plantas. Instituto Agrônomo, Campinas, 1983. 48 p. (Boletim 78).
5. CARNEIRO, J. G. A. Produção e controle de qualidade de mudas florestais. UFPR/FUPEF/UENF, Viçosa, 1995. 451p.
6. COLONNA, J. P.; THOEN, D.; DUCOUSSO, M. & BRADJI, S. Comparative effects of *Glomus mosseae* and P fertilizer on foliar mineral composition of *Acacia Senegal* seedlings inoculated with *Bradyrhizobium*. *Mycorrhiza*, Springer-Verlag, 1 (1): 35-38, 1991.
7. COSTA, L. G. S.; PAULINO, V. T.; VEASEY, E. A. & LEONIDAS, F. C. Growth responses of *Leucaena* to vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation. *Leucaena Research Reports.*, 12: 12-13, 1991.
8. DELA CRUZ R. E.; MANALO, M. Q.; AGGANGAN, N. S. & TAMBALO, J. D. Growth of trees inoculated with VA mycorrhizal fungi and rhizobium. *Plant and Soil*, 108: 111-115, 1988.
9. DIAS, L. E.; ALVAREZ, V. H. & BRIENZA JÚNIOR. S. Formação de mudas de *Acacia mangium* Willd: Resposta a nitrogênio e potássio. *Rev. Árvore*, 15 (1): 11-22, 1991.
10. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Revegetação de solos degradados. Comunicado Técnico n.9. Itaguaí: Embrapa Agrobiologia, 1992. 9p.
11. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Editores: Mariângela Hungria e Ricardo S. Araújo. Série Documentos 46. Brasília: Embrapa - SPI, 1994. 542p.
12. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Manual de análises de solos. Série Documentos 132. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011. 2ª Ed. 230p.
13. FARIA, M. P. de. Resposta de mudas de leguminosas arbóreas ao fósforo e andomicorrizas em um latossolo da região de influência da represa de Camargos/Itutinga (MG). Lavras, ESAL, 1995. 120 p. (dissertação de mestrado).
14. FRANCO, A. A.; NETO, D. C.; CUNHA, C. O.; CAMPELO, E. F.; MONTEIRO, E. S.; SANTOS, C. F.; FONTES. A. M & FARIA, S. M. Revegetação de solos degradados. In: Workshop sobre recuperação de áreas degradadas. Anais, UFRRJ, Itaguaí, RJ, 1991. p. 133-139.
15. FRANCO, A. A. & DOBEREINER, J. Curso de agricultura tropical: Fixação biológica de nitrogênio

- módulo 2.2. Brasília, DF, ABEAS, 1995.
16. FONSECA, F. A. Produção de mudas de *Acacia mangium* e *Mimosa artemisiana* utilizando resíduos urbanos como substratos, associados a fungos micorrízicos arbusculares., Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2010. 24 p. (Embrapa Agrobiologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 67).
 17. GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, v. 84, p. 489-500, 1980.
 18. OLIVEIRA, E. Efeito do número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento inicial do sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) em solo ácido. Itaguaí, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1995. 173 p. (Dissertação de mestrado).
 19. SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; GRISI, B. M.; HUNGRIA, M & ARAÚJO, R. S. Microrganismos e processo biológico do solo. Perspectiva ambiental. Embrapa - SPI, Brasília, DF, 1994. 142 p.
 20. VICENT, J. M. A manual for the practical study of root nodule bacteria. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1970. 119 p. (IBH Handbook, 15).
 21. VIEIRA, S. & HOFFMANN, R. Estatística Experimental. Ed. Atlas, São Paulo, 1989. 179p.