

# INFLUÊNCIA DE DIFERENTES NÍVEIS DE NITROGÊNIO E FÓSFORO EM LEUCENA INOCULADA COM *Rhizobium* E FUNGO MICORRÍZICO ARBUSCULAR

A. S. F. ARAÚJO<sup>1</sup>; H. A. BURITY<sup>2</sup> & M. do C. C. P. LYRA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Eng. Agr. Mestrando em Microbiologia Agrícola, ESALQ/USP – Lab. de Ecotoxicologia, CENA/USP - Av. Centenário, 303 - Caixa Postal 96, CEP 13400-970 - Piracicaba/SP

<sup>2</sup> Eng. Agr., PhD. Pesquisador do IPA, Av. Gal San Martin, 2003, Bongi CEP 50 000-000 – Recife/PE

<sup>3</sup> Eng. Agr., MsC – Pesquisadora do IPA.

Aceito para publicação em: 12/10/2001.

## RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da adubação de N e P na formação de mudas de leucena inoculada com *Rhizobium* sp. e Fungo Micorrízico Arbuscular (FMA). Utilizando-se sacos de plásticos com solo fertilizados nos níveis de N (0, 20) e P (0, 20, 40). Foram usados *Rhizobium* sp. e uma mistura de FMA (*Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Scutellospora nigra*). Os resultados demonstraram que, a adubação com nitrogênio inibiu a atuação da bactéria na fixação do nitrogênio em relação à altura de plantas, peso seco da parte aérea e raiz. Ainda em relação ao peso seco da parte aérea e raiz o nível de 20 Kg de N e P foi quem apresentou um melhor desempenho. Em relação ao número de nódulos, a presença do FMA contribuiu para uma maior nodulação pela bactéria introduzida, incrementando a fixação de nitrogênio. Concluímos que a dupla inoculação da bactéria e FMA contribuiu de forma direta na fixação e nodulação podendo ser uma alternativa para diminuir a adubação de Nitrogênio e Fósforo.

Palavras-Chave: Adubação, Fixação de Nitrogênio, Nodulação.

## ABSTRACT

### INFLUENCE OF DIFFERENT LEVELS OF NITROGEN AND PHOSPHORUS IN INOCULATED LEUCENA WITH *Rhizobium* AND ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI

The objective of this research evaluate the effects of the fertilization of N and P in the leucena seedlings persons formation inoculated with *Rhizobium* sp. and Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF). It was used polyethylene containers with fertilized soil on level polyethylene containers with soil fertilized on levels of N (0, 20) and P (0, 20, 40). It was used *Rhizobium* sp. and a blend of AMF (*Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* and *Scutellospora nigra*). The results pointed out that fertilization with nitrogen inhibited the performance of the bacteria in the fixation of the nitrogen in relation of the plants height, dry weight of the aerial part and root. Still in relation to the dry weight of the aerial part and root the level of 20 Kg of N and P were who presented a better acting. About the number of nodules, the presence of AMF get increasing nodulation for the introduced bacteria, increasing the fixation of nitrogen. We concluded that the double inoculation bacteria and AMF contributed directly on the fixation and nodulation would be an alternative to decrease the fertilization of Nitrogen and Phosphorus.

Key-Word: Fertilization, Nitrogen Fixation, Nodulation

## INTRODUÇÃO

A utilização de leguminosas arbóreas como forragem em épocas secas tem trazido benefícios para a alimentação animal como fonte de proteína, vitaminas e sais minerais, sendo a leucena uma das principais leguminosas, com grande potencial forrageiro e tolerância à seca, por manter-se verde o ano inteiro. A leucena é uma das principais leguminosas arbóreas possuindo capacidade de fornecer entre 27 e 34% de proteína com alto valor nutritivo, sendo rica em vitaminas e caroteno (Kluthcouski, 1982), além de produzir proteína bruta em torno de 2.042 Kg/ha.ano (Seiffert, 1984) e matéria seca na ordem de 7,5 t/ha.ano na fração forragem, com cortes efetuados a cada 4 meses (Galvão, 1984).

A associação micorrízica apresenta um grande potencial de exploração na agricultura, tanto em relação ao aumento da capacidade de absorção de fósforo, como de outros nutrientes. A micorrização, através de seu efeito físico na extensão do sistema de absorção das plantas e dos efeitos fisiológicos de utilização de fósforo, representa um importante mecanismo para a maximização da eficiência de fertilizantes fosfatados (Siqueira et al, 1994). Mudas de leucena inoculadas com *Glomus fasciculatus* tiveram seu crescimento vertical dobrado em relação às mudas não micorrizadas, mesmo com adubação fosfatada. (Felker, 1984). Bonetti (1984), verificando o efeito de diferentes espécies de fungos Micorrízicos Arbusculares no crescimento e nodulação do siratro em solo de baixa fertilidade, demonstrou que a simbiose leguminosa - *Rhizobium* - FMA é uma alternativa importante para o bom desenvolvimento das plantas leguminosas nesses solos. Outros trabalhos evidenciam a importância do FMA na simbiose *Rhizobium* - leguminosa por fornecer o fósforo utilizado na fixação de Nitrogênio pelas leguminosas (Silveira & Cardoso, 1987; Paula et al, 1988).

Resultados encontrados por Paulino et al (1986), reforçam a importância da micorriza em auxiliar a planta nos requerimentos energéticos para a fixação biológica do nitrogênio sobretudo porque as plantas micorrizadas absorvem fosfato do solo que é imediatamente utilizado no processo de fixação. O potencial de fixação de nitrogênio em leucena é de cerca de 598 kg de N/há.ano, valor mais alto encontrado para leguminosas tropicais, sendo portanto importante para a leucena a inoculação com *Rhizobium* visando o fornecimento de nitrogênio para esta cultura. (Dobereiner, 1984 ; Franco & Souto, 1986). O objetivo deste trabalho foi de avaliar os efeitos da adubação com Nitrogênio e Fósforo na formação de mudas de leucena quando inoculadas com FMA e *Rhizobium* sp.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, sob condições de casa-de-vegetação. Foram utilizadas a estirpe de *Rhizobium sp.* SEMIA 6070 e os fungos micorrízicos arbusculares *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Scutellospora nigra*. Utilizou-se sacos plásticos contendo 6 Kg de solo. Foram feitas as adubações de acordo com os tratamentos (20 Kg de N; 20 Kg de P; 40 Kg de P) utilizando-se como fonte de Nitrogênio e Fósforo, a Uréia e o Superfosfato Simples, respectivamente. A estirpe de *Rhizobium sp.* SEMIA 6070 foi crescida, inicialmente em placas de Petri contendo meio de cultura YM com ágar (pH 6,8) por cerca de 2 dias em estufa a temperatura de 28°C, sendo em seguida, transferidas para crescimento em meio YM líquido nas mesmas condições por 2 dias sob agitação constante. As sementes de leucena foram oriundas do Banco de Sementes do IPA, sendo desinfestadas com álcool e hipoclorito de sódio e em seguida submetidas a temperatura de 100°C por 10 minutos para quebrar a dormência. O plantio foi feito utilizando-se 5 sementes/saco, as sementes foram inoculadas com *Rhizobium sp.* (concentração de 10<sup>8</sup> cél/ml) e em seguida o solo foi colonizado com uma suspensão de 200 esporos/vaso de fungos MA. Após 10 dias de emergência foi realizado o desbaste deixando-se apenas 2 plantas/saco. Aos 90 dias após o plantio foi realizada a colheita das plantas, separando-se a parte aérea do sistema radicular.

O delineamento experimental foi o de Blocos ao acaso em arranjo fatorial de 2x3x2x2 (Níveis de N, Níveis de P, presença e ausência de bactéria e presença e ausência de FMA) em 4 repetições. Para a comparação de médias obtidas

foi utilizada o teste de Tukey, considerando-se o nível de 5% de probabilidade, além de utilizar regressão linear e correlação para os níveis de adubação.

As observações efetuadas foram: Número de nódulos, Altura da planta, Peso seco da parte aérea e raiz, P total e N total da parte aérea. O número de nódulos foi avaliado através de contagem após a retirada dos mesmos do sistema radicular. A matéria seca foi avaliada mediante o peso seco da parte aérea e raiz após a secagem em estufa a 60°C - 70°C até atingir peso constante. A matéria seca foi submetida à análise de fósforo e nitrogênio. Este foi determinado pelo método Micro-Kjeldahl direto e o fósforo, através do método colorimétrico.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados em relação a altura de plantas (tabela 1) demonstraram que a adubação nitrogenada prejudicou a bactéria na fixação de nitrogênio, constatando que o fornecimento de N mineral para a planta desfavoreceu a simbiose e conseqüentemente, resultou numa menor altura de plantas em tratamentos inoculados com *Rhizobium sp.* e adubados com 20 Kg/ha de N, resultados semelhantes aos encontrados na testemunha com adubação na mesma dosagem. Os resultados obtidos referentes ao peso seco da parte aérea e raiz (Tabela 1), mostraram que a produção de matéria seca foi mantida com a inoculação e sem a adubação nitrogenada, obtendo-se resultados semelhantes ao tratamento na dosagem de 20 Kg/ha na ausência da inoculação, respostas semelhantes foram encontradas por Bede et al (1985); Almeida et al (1973).

**Tabela 1.** Efeito da inoculação com *Rhizobium sp.* e de diferentes níveis de nitrogênio na altura de plantas (AP), Peso seco da raiz (PSR) e peso seco da parte aérea (PSPA) da leucena. Aos 90 dias do plantio.

Nível de N (Kg/ha)	AP (cm)		PSR (g)		PSPA (g)	
	C/ BR	S/ BR	C/ BR	S/ BR	C/ BR	S/ BR
0	53,68 Aa	45,08 Ab	2,42 Aa	1,95 Ba	4,80 Aa	4,85 Aa
20	44,88 Bb	53,08 Aa	1,99 Ab	2,70 Aa	3,95 Aa	3,83 Ba
CV(%)	22,24		44,08		34,89	

1-Médias de 4 repetições. Os valores seguidos pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

2-C/ BR significa presença de *Rhizobium*; S/ BR significa ausência de *Rhizobium*.

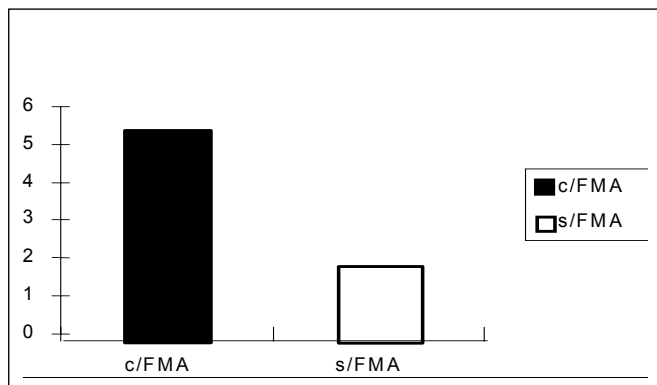
Em relação ao número de nódulos presença do Fungo micorrízico favoreceu a nodulação pela bactéria inoculada, resultado diferente estatisticamente ao tratamento sem a presença da micorríza (Figura 1), resultado também verificado por Bonetti (1984). Alguns trabalhos verificaram que a colonização por fungos micorrízicos favorece a inoculação bacteriana, uma vez que a planta utiliza o Fósforo formando ATP utilizado na nodulação e Fixação de Nitrogênio (Lopes et al, 1984; Silveira & Cardoso, 1987; Paula et al, 1988; Cardoso, 1985).

Em relação ao Peso seco da Raiz (PSR) e Peso Seco da Parte Aérea (PSPA) de acordo com a análise de regressão

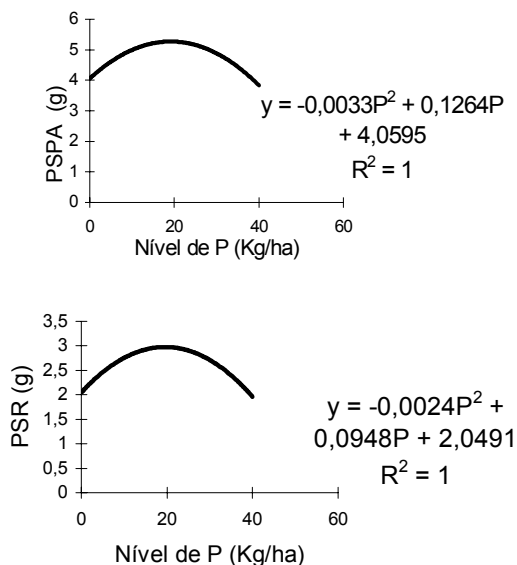
observou-se respostas significativas para o componente quadrático, obtendo-se pontos de máxima produção, nos níveis de 19,2 e 19,8 Kg/ha de Fósforo aplicados, para o Peso seco da Parte aérea e Peso seco da raiz, respectivamente (Figura2), nesse caso recomenda-se o nível máximo de 20 Kg/ha de Fósforo. Ainda em relação à matéria seca, o aumento do nível de adubação não obteve incremento significativo da planta evidenciando que o aumento da dosagem de fósforo desfavorece a simbiose da micorríza ocorrendo efeito antagônico a produção da planta. Alguns trabalhos também encontraram resultados semelhantes de dosagens máximas de fósforo em algumas culturas com

relação a inoculação com micorrizas (Silveira & Cardoso, 1987; Fernandes et al, 1987; Antunes & Cardoso, 1990).

Em relação ao nível de P na parte aérea, à medida que aumentam os níveis de Fósforo aplicados, existiu um incremento proporcional na ordem de 0,0011% para cada unidade de nível de P aplicado, obtendo-se coeficiente de determinação de 99% (Figura 3). Evidencia-se a importância da micorriza na absorção de fósforo, já que esse nutriente é muito problemático em relação a sua mobilidade e disponibilidade no solo, a presença da micorriza contribuiu para o aumento da absorção de fósforo, resultados semelhantes foram encontrados em outros trabalhos ( Silveira & Cardoso, 1987; Maluf et al, 1988; Paula et al, 1988).



**Figura 1:** Efeito da associação *Rhizobium* - Micorriza arbuscular em leucena sob diferentes níveis de nitrogênio e fósforo em relação ao número de nódulos (Nnod). Aos 90 dias após o plantio.

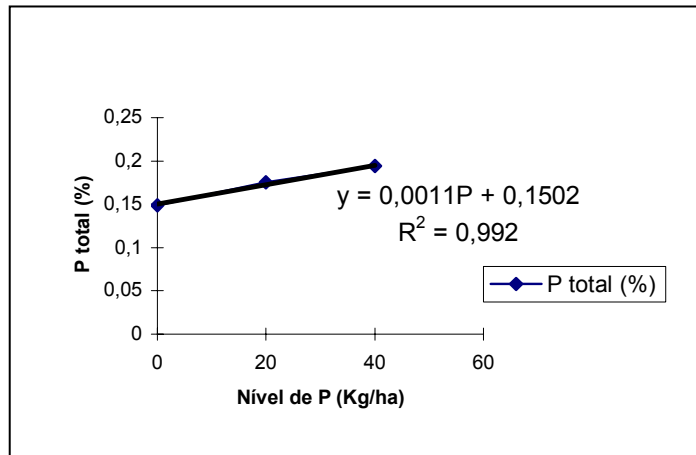


**Figura 2-** Relação do Peso Seco da Raiz (PSR) e Peso Seco da Parte Aérea (PSPA) com níveis de Fósforo, dentro do nível de 20 Kg/ha de Nitrogênio em leucena inoculada com FMA - *Rhizobium*

## CONCLUSÕES

O presente trabalho permitiu concluir que:

- 1- A dupla inoculação bactéria e FMA contribuiu de forma direta na nodulação e fixação de nitrogênio pela leucena contribuindo para o seu crescimento na formação de mudas.
- 2- A interação entre o *Rhizobium* e o fungo micorrizico pode ser uma alternativa para diminuir a adubação de N e P, e consequentemente os custos de produção.



**Figura 3 :** Relação do fósforo total da parte aérea (Ptotal) e do nível de fósforo aplicado ao solo em leucena inoculada com *Rhizobium* - FMA.

## LITERATURA CITADA

- ALMEIDA, D.L.; PESSANHA, G.G.; PENTEADO, A.F. Efeito da calagem e da adubação fosfatada e nitrogenada na nodulação e produção do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.8,n.1, p.127-130, 1973.
- ANTUNES, V.; CARDOSO, E.J.B.N. O fósforo e a micorriza vesículo arbuscular no crescimento de porta-enxerto de citros cultivados em solo natural. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Campinas, v.14,n.3, p.277-282, 1990.
- BEDE, S.N.P.; FROTA, J.N.E.; VASCONCELOS, I; ALVES J.F. Identificação de fatores nutricionais limitantes da produção simbiótica do nitrogênio atmosférico em leucena. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Campinas, v.09,n.01, p5-7, 1985.
- BONETTI, R. Efeito de micorrizas vesiculares arbusculares na nodulação, crescimento e absorção de fósforo e nitrogênio em Siratro., **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Campinas, v.8,n.2, p. 189-192, 1984.
- CARDOSO, E.J.B.N. Efeito de micorriza vesículo arbuscular e fosfato de rocha na simbiose soja - *Rhizobium*. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Campinas, v.9,n.1, p.125-130, 1985.
- DOBEREINER, J. Nodulação e fixação de nitrogênio em leguminosas florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19,n.2, p.83-90, 1984.
- FELKER, P. Legumes trees in semi-arid and arid areas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19,s/n, p.47-54, 1984.
- FERNANDES, A.B.; SIQUEIRA, J.O.; MENEZES, M.A.L.; GUEDES, G.A.A. Efeito diferenciado do fósforo sobre o

- estabelecimento e efetividade da simbiose endomicorrízica em milho e soja. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Campinas, v.11, n.2, p.101-108, 1987.
- FRANCO, A. A. ; SOUTO, S.M. *Leucaena leucocephala* - Uma leguminosa com múltiplas utilidades para os trópicos. **Comunicado técnico**, Rio de Janeiro, EMBRAPA-UAPNBS, n.02, p.1-7, 1986.
- GALVÃO, A P.M. Árvores fixadoras de nitrogênio no programa nacional de pesquisa florestal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19,s/n, p.13-20, 1984.
- KLUTHCOUSKI, J. Leucena: Alternativa para a pequena e média agricultura. **Circular Técnica**, Goiânia, EMBRAPA-CNPAP, n.06, 12p., 1982.
- LOPES, E.S.; OLIVEIRA, E.; NEPTUNE, A. M.L. Efeito de espécies de micorrizas vesiculares arbusculares no siratro (*Macroptilium atropurpureum*). **Bragantia**, Campinas, v.39, p.241-245, 1980.
- MALUF, A.M. ; SILVEIRA, A.P.D. ; MELO, I.S. Influência da calagem e da micorriza vesiculo arbuscular no desenvolvimento de cultivares de leucena tolerante e intolerante ao alumínio. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Campinas, v.12,n.01, p.17-23, 1988
- PAULA, M.A.; SIQUEIRA, J.O.; OLIVEIRA, L.H.; OLIVEIRA, E. Efetividade simbiótica relativa em soja de populações de fungos endomicorrizicos nativos e de isolados de *Glomus macrocarpum* e *Gigaspora margarita*. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Campinas, v.12, n.01, p.25-31, 1988.
- PAULINO, V.T.; PICCINI, D.F.; BAREA, J.M. Influência de fungos micorrizicos vesículo-arbusculares e fosfato em leguminosas forrageiras tropicais. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Campinas, v. 10,n.01, p.103-108, 1986.
- SEIFFERT, N.F. Produção biológica de nitrogênio e a proteína bruta de acessos de *Leucaena* spp. Cultivados para emprego na suplementação proteica de ruminantes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19,s/n, p.245-249, 1984.
- SILVEIRA, A.P.D.; CARDOSO, E.J.B.N. Efeito do fósforo e da micorriza vesiculo arbuscular na simbiose *Rhizobium* - feijoeiro. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Campinas, v.11, n.01, p31-36, 1987.
-