



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

ANDRÉ RIEDI BARAZETTI

**EFEITO DE DIFERENTES SUBSTRATOS NA INOCULAÇÃO
MICORRÍZICA, MATÉRIA SECA, TEORES FOLIARES DE
NITROGÊNIO E FÓSFORO E NA PRODUTIVIDADE DE
SOJA E MILHO**

Londrina
2016

ANDRÉ RIEDI BARAZETTI

**EFEITO DE DIFERENTES SUBSTRATOS NA INOCULAÇÃO
MICORRÍZICA, MATÉRIA SECA, TEORES FOLIARES DE
NITROGÊNIO E FÓSFORO E NA PRODUTIVIDADE DE
SOJA E MILHO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientador: Prof. Dr. Galdino Andrade Filho.

Londrina
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Barazetti, André Riedi .

Efeito de diferentes substratos na inoculação micorrízica, matéria seca, teores foliares de nitrogênio e fósforo e na produtividade de soja e milho / André Riedi Barazetti. - Londrina, 2016.
82 f.

Orientador: Galdino Andrade.

Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, 2016.
Inclui bibliografia.

1. Inoculante - Teses. 2. Rhizophagus clarus - Teses. 3. Soja - Teses. 4. Milho - Teses. I. Andrade, Galdino. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia. III. Título.

ANDRÉ RIEDI BARAZETTI

**EFEITO DE DIFERENTES SUBSTRATOS NA INOCULAÇÃO
MICORRÍZICA, MATÉRIA SECA, TEORES FOLIARES DE
NITROGÊNIO E FÓSFORO E NA PRODUTIVIDADE DE SOJA E
MILHO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Profº. Dr. Galdino Andrade Filho
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profº. Dr. Admilton G. de Oliveira Junior
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profº. Dr. Claudemir Zucareli
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 8 de abril de 2016.

“Novos horizontes. Se não for isso, o que será?”

(Engenheiros do Hawaii)

Dedico este trabalho a minha mãe Silvani,
por me incentivar nesta incrível jornada.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Galdino Andrade, por me permitir fazer parte de sua equipe, pela sua orientação, incentivo a ser um melhor profissional e uma pessoa mais dedicada e responsável.

Ao Prof. Dr. Admilton Gonçalves de Oliveira Júnior, por todas as conversas, elogios, críticas, correções, pela amizade, e acima de tudo, pelo brilho nos olhos a cada palavra sobre ciências, palavras que inspiram em mim o desejo de ser pesquisador, e reiteram a minha escolha de vida.

Ao Prof. Dr. Claudemir Zucareli, pela disponibilidade de participar da banca examinadora, por todas as correções e sugestões, que contribuíram para o enriquecimento do trabalho.

As minhas mestres no dia a dia, Vivi e Vanessa, por todos os ensinamentos, pela dedicação e amor a pesquisa, pela paciência, e pelos momentos de trabalho e lazer compartilhados.

Aos meus colegas de laboratório Ane, Glenda e Igor, amigos para toda a vida, por inúmeros momentos de alegria, de aprendizado, de superação, de ideias e pensamentos compartilhados, por sempre estarem presentes, ajudando com sorrisos nos rostos, por serem essas pessoas incríveis, que eu adoro, admiro e respeito.

A todos os membros do Laboratório de Ecologia Microbiana, em especial, Miguel, Carol Polano, Carol Santos, Bárbara, João, Renata, Marta, Allan, Marcelo, Tati, Manu e Erika.

Ao Departamento de Microbiologia e a Universidade Estadual de Londrina pela formação.

A CAPES, pelo apoio financeiro que permitiu o desenvolvimento desse trabalho.

BARAZETTI, André Riedi. **Efeito de diferentes substratos na inoculação micorrízica, matéria seca, teores foliares de nitrogênio e fósforo e na produtividade de soja e milho.** 2016. 82 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

RESUMO

O fósforo é um dos nutrientes essenciais mais exigidos durante o ciclo de vida vegetal, considerado um dos mais limitantes na produção agrícola. O desenvolvimento de tecnologias que contribuam para um melhor aproveitamento do P do solo, gerando menor demanda por fertilizantes químicos é indispensável uma vez que se trata de um nutriente esgotável e não-renovável. Fungos Micorrízico Arbusculares (FMA) são conhecidos por estabelecerem associações simbióticas com raízes de plantas, auxiliando na absorção de nutrientes, principalmente do P. Neste contexto, a formulação de um inoculante a base de um FMA, que possa ser utilizado em larga escala, é uma alternativa para auxiliar na redução das quantidades de fertilizantes fosfatados utilizados. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da vermiculita, da turfa e do fosfato de rocha, como veículos na inoculação de sementes de soja (*Glycine max*) e milho (*Zea mays*) para o FMA *Rhizophagus clarus* produzido *in vitro*. O experimento foi conduzido em área experimental da Universidade Estadual de Londrina, Brasil. Foram elaborados sete tratamentos, distribuídos em cinco blocos casualizados, sendo: Tratamento Agrônômico (TA); MA + Turfa + P (MAT+P); MA + Vermiculita + P (MAV+P); MA + Fosfato de Rocha + P (MAFR+P); MA + Turfa - P (MAT-P); MA + Vermiculita - P (MAV-P); MA + Fosfato de Rocha - P (MAFR-P). As plantas foram avaliadas quanto a: Colonização micorrízica; matéria seca; P e N da parte aérea e produtividade de grãos. Para soja, foi observado incremento na produtividade de até 16,3% em relação a TA, com a utilização de vermiculita como veículo para o inóculo, sem adubação fosfatada. Já as plantas de milho, utilizando turfa como veículo e adubação fosfatada, obtiveram ganhos de até 20% em produtividade.

Palavras-chave: Inoculante. Turfa. Vermiculita. Fosfato de rocha. *Glycine max*. *Zea mays*. *Rhizophagus clarus*.

BARAZETTI, André Riedi. **Effect of different substrates on mycorrhizal fungi, dry matter, foliar nitrogen and phosphorus and the yield of soybean and corn.** 2016. 82 p. Dissertation (Master's degree in Microbiology) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

ABSTRACT

Phosphorus is one of the most essential nutrients required during the cycle of plant life, considered one of the most limiting agricultural production. The development of technologies that contribute to a better use of soil P, generating less demand for chemical fertilizers is essential, since it is an exhaustible nutrient and non-renewable. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are known for establishing symbiotic associations with roots of plants, aiding in the absorption of nutrients, particularly P. In this context, the formulation of an AMF inoculant, which can be used in large scale, is an alternative to help reduce the quantities of phosphate fertilizers used. The objective of this study was to evaluate the efficiency of vermiculite, peat and rock phosphate, as vehicles in soybean seed inoculation (*Glycine max*) and corn (*Zea mays*) to the AMF *Rhizophagus clarus* produced *in vitro*. The experiment was carried in experimental area of the State University of Londrina, Brazil. Seven treatments were developed, distributed in five randomized blocks being: Agronomic Treatment (AT); MA + Peat + P (MAT+P); MA + Vermiculite + P (MAV+P); MA + Rock Phosphate + P (MAFR+P); MA + Peat - P (MAT-P); MA + Vermiculite - P (MAV-P); MA + Rock Phosphate - P (MAFR-P). The plants were evaluated for; Mycorrhizal colonization; dry matter; P and N shoot and grain yield. For soybean was observed to increase the productivity of 16.3% compared to AT with the use of vermiculite as the carrier for the inoculum, no phosphorus fertilization. As for the corn plants using peat as a vehicle and phosphate fertilizer, made gains of up to 20% in productivity.

Keywords: Inoculant. Peat. Vermiculite. Rock phosphate. *Glycine max*. *Zea mays*. *Rhizophagus clarus*. Productivity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Consumo de Fertilizantes no Mundo	19
Figura 2 - Reservas Provadas de Gás Natural (Trilhões de m ³).....	20
Figura 3 - Reservas Mundiais de Rocha Fosfática (Bilhões de Toneladas)	21
Figura 4 - Desenvolvimento <i>in vitro</i> de <i>Rizophagus clarus</i> : formação de vesículas na fase pré-simbótica (A); contato da hifa com a raiz e formação da estrutura de infecção (B); produção de esporos (C, D); arquitetura do micélio extra-radicular “runner hyphae” (RH) e “branched hyphae” (BH) (E); produção de esporos no interior da raiz (F)	38

ARTIGO

Figura 1 - Temperatura média, e precipitação acumulada em três decêndios de cada mês, registrados no ano agrícola de 2014/15 para o município de Londrina – PR	58
Figura 2 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre a Colonização Micorrízica de plantas de soja colhidas em estágio R1.....	59
Figura 3 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre a matéria seca de plantas de soja colhidas em estágio R1	60
Figura 4 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre a produtividade de grãos de plantas de soja.....	61
Figura 5 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre os teores foliares de Fósforo de plantas de soja colhidas em estágio R1	62
Figura 6 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre os teores foliares de Nitrogênio de plantas de soja colhidas em estágio R1	63

Figura 7 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre a Colonização Micorrízica de plantas de milho (<i>Zea mays</i> L.) colhidas em estágio R1.....	64
Figura 8 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre a matéria seca de plantas de milho (<i>Zea Mays</i> L.) colhidas em estágio R1	65
Figura 9 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre a produtividade de grãos de plantas de milho (<i>Zea Mays</i> L.).....	66
Figura 10 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre teores foliares de Fósforo de plantas de milho (<i>Zea mays</i> L.) colhidas em estágio R1.....	67
Figura 11 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre teores foliares de Nitrogênio de plantas de milho (<i>Zea mays</i> L.) colhidas em estágio R1.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Quantidade absorvida e exportação de nutrientes pela cultura da soja.....	22
Tabela 2 - Quantidade absorvida e exportação de nutrientes pela cultura do milho.....	23

ARTIGO

Tabela 1 - Tratamentos avaliados para cultura da soja e do milho sob diferentes adubações	48
--	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1. AGRICULTURA NO BRASIL.....	15
2.1.1. Cultura da Soja.....	15
2.1.2. Cultura do Milho	16
2.2. PANORAMA GLOBAL DO CONSUMO DE FERTILIZANTES.....	18
2.3. PRINCIPAIS RESERVAS DE GÁS NATURAL E FOSFATO DE ROCHA.....	19
2.4. EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DA SOJA E DO MILHO.....	21
2.4.1. Cultura da Soja.....	21
2.4.2. Cultura do Milho	22
2.5. DISPONIBILIDADE E ABSORÇÃO DO NITROGÊNIO.....	23
2.6. DISPONIBILIDADE E ABSORÇÃO DE FÓSFORO	25
2.7. AMBIENTE RIZOSFÉRICO E SEUS PRINCIPAIS COMPONENTES	26
2.8. HISTÓRIA DA MICORRIZOLOGIA NO BRASIL	28
2.9. FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES.....	28
2.10. INTERAÇÃO DE FMA COM OUTROS MICROORGANISMOS DO SOLO.....	32
2.11. UTILIZAÇÃO DE INOCULANTES AGRÍCOLAS.....	34
2.12. PROPRIEDADES DOS VEÍCULOS PARA O INÓCULO	39
2.12.1. Turfa	39
2.12.2. Vermiculita	39
2.12.3. Rochas Fosfáticas	40
3. OBJETIVOS	42
3.1. OBJETIVO GERAL.....	42
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
4. ARTIGO.....	43
Efeito de diferentes substratos na inoculação micorrízica, produtividade, biomassa e teores foliares de p e n em plantas de soja e milho	44
5. CONCLUSÕES	68
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69

1. INTRODUÇÃO

Com a finalidade de elevar a produtividade de grandes culturas, quantidades consideráveis de fertilizantes são utilizadas todo ano na agricultura. Segundo levantamento da *International Fertilizer Industry Association* (IFA), no ano de 2011, 172,2 milhões de toneladas em formulações NPK foram utilizados em todo o mundo. O Brasil é responsável pelo consumo de 65,9% de todo fertilizante produzido, destinando a maior parte a culturas como a da soja e do milho.

Como resultado, o Brasil é o segundo maior produtor de soja no mundo, com produção estimada em 98,9 milhões de toneladas, e produtividade média de 2,9 ton ha⁻¹, para safra 2015/16. Quanto a cultura do milho, aparece como terceiro maior produtor mundial, com estimativa para safra 2015/16 de 84,7 milhões de toneladas e produtividade média de 6,9 ton ha⁻¹ (CONAB, 2016).

Apesar de ser um grande consumidor de fertilizantes, o Brasil não produz grandes quantidades do mesmo, devido principalmente ao fato de não possuir grandes reservas naturais de matéria-prima, importando a maior parte de países produtores, encarecendo os custos na agricultura nacional.

Entre os macronutrientes, o fósforo (P) é considerado um dos mais limitantes ao desenvolvimento vegetal. Em solos intemperizados como os Latossolos, que predominam no Brasil, fosfatos são encontrados predominantemente em formas não-lábeis (NOVAIS; SMYTH, 1999).

Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA) são simbioses obrigatórios que colonizam as raízes da maior parte das plantas, e podem auxiliar em sua nutrição, principalmente pela absorção desses fosfatos não-lábeis, através de uma associação denominada “micorríza”.

Atualmente a produção de inoculantes micorrízicos é realizada por propagação do FMA em vasos armadilha, onde são mantidos em associação com plantas hospedeiras. Esse caráter biotrófico obrigatório inviabiliza a produção de inoculantes a base de FMA em larga escala.

A utilização de culturas de FMA produzidos *in vitro* é uma alternativa a produção convencional proporcionando a obtenção de inóculo livre de contaminantes e com grande número de propágulos infectivos.

O primeiro pré-requisito para estabelecer uma cultura de fungos micorrízicos é a capacidade destes, em completar seu ciclo de vida produzindo quantidade considerável de esporos e estruturas intraradiculares. O segundo pré-requisito é a capacidade do material fúngico produzido em cultura monoxênica ser subcultivado continuamente, favorecendo a multiplicação do material necessário para a distribuição e durabilidade da cepa. Seguindo essas regras, apenas dez espécies foram publicadas, como sendo referências para subcultivo, sendo a maioria espécies de *Glomus*, dentre os quais encontra-se o FMA *Rhizophagus clarus* (DECLERCK *et al.*, 2005).

Esse material fúngico pode ser utilizado no tratamento de sementes, com o auxílio de materiais que propiciem a adesão do inóculo, denominados veículos. Para que um material possa ser considerado um bom veículo, ele deve apresentar alta retenção de umidade, facilidade de processamento, ausência de toxidez, facilidade de esterilização, disponibilidade em grande quantidade, baixo custo e boa adesão às sementes (BURTON 1981; RONCHI E BALATTI 1991; SMITH 1992).

Nesse contexto, a turfa apresenta-se como um dos mais promissores veículos, sendo amplamente utilizado como suporte para inóculos bacterianos, uma vez que possui elevada capacidade de adsorção para metais de transição e moléculas orgânicas polares, dado que é rica em grupos funcionais com cargas negativas.

Outros materiais como a vermiculita e o fosfato de rocha, possuem propriedades que propiciam sua utilização como veículos para inóculo.

Diante da necessidade crescente por novas tecnologias, com enfoque sustentável, que tenha como objetivo a redução da utilização de fertilizantes químicos, a formulação de um inoculante a base de um FMA, que possa ser utilizado em larga escala é uma alternativa para auxiliar na redução das quantidades de fertilizantes fosfatados utilizados.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. AGRICULTURA NO BRASIL

Durante os últimos cem anos a agricultura brasileira, notadamente evoluiu, obtendo ganhos significativos na produtividade de um grande número de culturas, principalmente devido as inovações tecnológicas e sua difusão entre os produtores. Diante das estimativas de crescimento populacional, surge um dos maiores desafios da humanidade, que é atender as exigências por produção de alimentos para essa população (LOPES; GUILHERME, 2007).

O Brasil apresenta-se como um dos poucos países capazes de contribuir significativamente para o aumento da produção de alimentos. Atualmente é o quinto maior do mundo em extensão territorial, ocupando uma área de 851,1 milhões de hectares. Segundo dados da Conab (2016), são estimados que 58,5 milhões de hectares corresponderão a áreas cultivadas, com uma produção que deverá chegar a 210,3 milhões de toneladas para a safra 2015/16. Esse aumento equivale a 1,3% ou 2,6 milhões de toneladas em relação à safra 2014/15, quando foram produzidos 207,7 milhões de toneladas.

Entre as principais culturas produtoras de grãos, as estimativas são de que a soja venha a ocupar a maior área cultivada no Brasil, com um total de até 33,1 milhões de hectares cultivados, com produção de 98,9 milhões de toneladas, seguida pela cultura do milho com até 15,5 milhões de hectares e produção de 84,6 milhões de toneladas, feijão com 3,0 milhões de hectares, com produção de 3,3 milhões de toneladas, arroz com 2,0 milhões de hectares, com produção de 11,2 milhões de toneladas e o algodão que pode chegar a 952,1 mil hectares com produção de 2,2 milhões de toneladas para caroço e 1,5 milhões de toneladas para pluma.

2.1.1. Cultura da Soja

A soja (*Glycine max* L.) é uma dicotiledônea herbácea, pertencente à família Fabaceae, gênero *Glycine* L., espécie *Glycine max*, e forma cultivada *Glycine max* (L.) Merrill. (SEDIYAMA, 2013). É uma planta anual, herbácea, autógama, que apresenta variabilidade em suas características morfológicas, podendo variar de acordo com o ambiente. A altura pode variar de 30 a 200 cm, apresentando mais ou menos ramificações. O ciclo pode levar de 75 dias para as mais precoces e 200 dias para as mais tardias (SEDIYAMA, 2009).

Atualmente o Brasil ocupa o segundo lugar como produtor mundial de soja, perdendo apenas para os Estados Unidos. A produção brasileira de soja na safra de 2015/16 é estimada em 98,9 milhões de toneladas, com produtividade média de 2,9 ton ha⁻¹, enquanto a média para o estado do Paraná é estimada em 3,2 ton ha⁻¹ (CONAB, 2016).

Quando comparada as demais leguminosas, a soja é a espécie de maior importância no mercado internacional, devido ao alto teor protéico e lipídico, sendo utilizada na alimentação humana e animal há milênios, além de ser a principal fonte para produção de óleo vegetal e alternativa para produção de combustível. A sua semente é composta por aproximadamente 40% de massa protéica, 20% de óleo e possui todos os nove aminoácidos essenciais (histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina) (LOPES *et al.*, 2002; COSTA *et al.*, 2005).

O óleo da soja é também a matéria prima principal para a produção de biodiesel, com participação de aproximadamente 75% de um total de 305 milhões de litros de biodiesel produzidos no Brasil em setembro de 2014 (ANP, 2015).

2.1.2. Cultura do Milho

O milho (*Zea mays* L.) pertence a ordem Gramineae, é um membro da família das Poaceae, gênero *Zea*, e espécie *Zea mays* L. originada do teosinto, cultivada a mais de oito mil anos em muitas partes do mundo. Devido a sua

grande adaptabilidade, a planta é cultivada desde o Equador até o limite das terras temperadas, e desde o nível do mar até altitudes superiores a 3600 metros, distribuída entre climas tropicais, subtropicais e temperados. É utilizada na alimentação humana e animal devido as suas elevadas taxas nutricionais, contendo quase todos os aminoácidos, com exceção da lisina e do triptofano (BARROS; CALADO; 2014).

Os grãos podem ser encontrados na cor amarela, branca ou variando de preto a vermelho, com peso variado de 250 mg a 300 mg, composto de aproximadamente 72% de amido, 9,5% de proteínas, 9% fibras e 4% óleo. Seus derivados são utilizados na composição de vários produtos alimentícios, como margarinas, molhos de salada, óleos comestíveis, pães, etc., além de ser utilizado na indústria química, farmacêutica, de papéis, têxtil, entre outras (EMBRAPA, 2006).

A semente do milho é classificada botanicamente como cariopse, e apresenta três partes, sendo, pericarpo, endosperma e embrião. O pericarpo é uma camada fina e resistente, constituindo a parte mais externa da semente. O endosperma é a parte da semente que está envolvida pelo pericarpo e a que apresenta maior volume, sendo constituída por amido e outros carboidratos. O embrião, por fim, se encontra ao lado do endosperma, possui primórdios de todos os órgãos da planta desenvolvida (BARROS; CALADO; 2014).

Na atualidade, a cultura do milho ocupa o segundo lugar no mundo em área semeada, e o primeiro em termos de produção e produtividade. O Brasil ocupa a terceira posição entre os maiores produtores, atrás de Estados Unidos e China, com estimativa de área cultivada na safra de 2015/16 para milho de primeira e segunda safra de 15,5 milhões de hectares, com uma produção total de 84,7 milhões de toneladas. O estado do Paraná contribui com cerca de 15,9 milhões de toneladas de grãos de milho, cultivados em uma área total de aproximadamente 2,4 milhões de hectares, com média de produtividade de 6,9 ton ha⁻¹, enquanto a média nacional é estimada em 5,5 ton ha⁻¹ (CONAB, 2016).

2.2. PANORAMA GLOBAL DO CONSUMO DE FERTILIZANTES

Um dos principais fatores que contribuíram para o desenvolvimento da agricultura brasileira, foram as pesquisas a respeito da fertilidade do solo, que permitiram o uso eficiente de corretivos e fertilizantes agrícolas, possibilitando ganho de produtividade até 4 vezes maior para cada tonelada de fertilizante mineral aplicado em um hectare (LOPES; GUILHERME, 2007).

Segundo o último levantamento da *International Fertilizer Industry Association* (IFA), no ano de 2011, foram consumidos 172,2 milhões de toneladas de fertilizantes em todo o mundo, dos quais 104,3 correspondem a nitrogênio (N), 40,5 na forma de fertilizantes fosfatados (P_2O_5) e 27,4 na forma de fertilizantes a base de potássio (K_2O). Deste total, 87,5 milhões de toneladas foram aplicados para cereais, representando pouco mais da metade (50,8%) dos fertilizantes utilizados em todo o mundo.

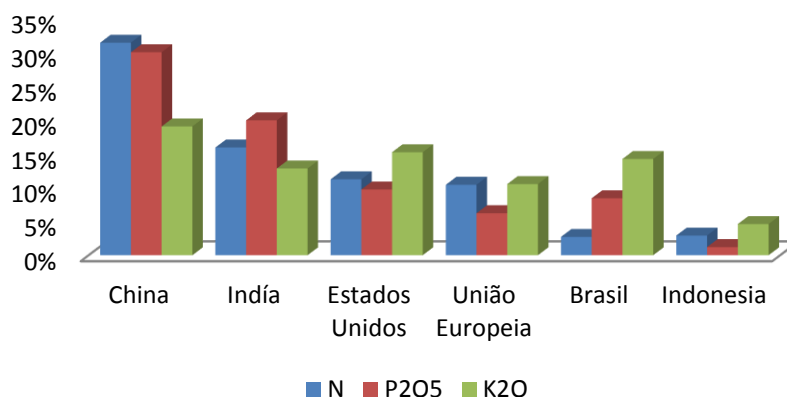
Para a cultura do milho foram destinados 16,1%, seguido pelo trigo com 15,8%, o arroz com 14,3% e 4,6% foram destinados para outros cereais. As aplicações de fertilizantes para culturas oleaginosas foram estimadas em 19,0 milhões de toneladas, representando 11,0% do consumo mundial, dos quais 3,9% destinados a cultura da soja, 2,0% para o óleo de palma e 5,2% para as outras oleaginosas. As culturas utilizadas na produção de fibras consumiram 4,1%, e as destinadas à produção de açúcar 4,2%. As raízes e tubérculos 3%. Frutas e vegetais juntos representaram 15,1%, e as demais culturas, incluindo pastagens, representaram os 11,7% do consumo de fertilizantes em todo o mundo (IFA, 2011).

Segundo dados da Associação Nacional Para Difusão de Adubos (ANDA), no ano de 2015 foram entregues ao consumidor final aproximadamente 30,2 milhões de toneladas de fertilizantes, dos quais cerca de 21,1 milhões (70%) foram importados, e apenas 9,1 milhões (30%) produzidos em nosso país.

O Brasil figura entre os países que mais consomem fertilizantes no mundo (Figura 1), representando 5,9% do mercado mundial, que equivalem a 10,1 milhões de toneladas, das quais 2,9 sob a forma de N, 3,4 sob a forma de P_2O_5 e 3,9 sob a forma de K_2O . Entre as principais culturas, a soja é a que mais

movimenta o mercado de fertilizantes no Brasil, correspondendo a 32,5% do total consumido, em seguida aparece o milho com 19,9%, arroz com 2,9% e trigo 2,8%. As culturas destinadas à produção de fibras, como o algodão, representam 2,7% do consumo nacional de fertilizantes (IFA, 2011).

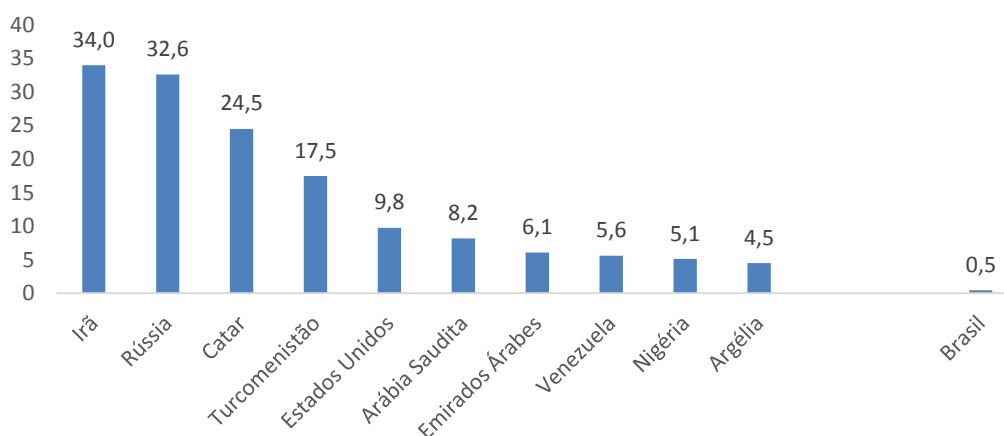
Figura 1 - Consumo de Fertilizantes no Mundo.



Fonte: *International Fertilizer Industry Association* – IFA (2011).

2.3. PRINCIPAIS RESERVAS DE GÁS NATURAL E FOSFATO DE ROCHA

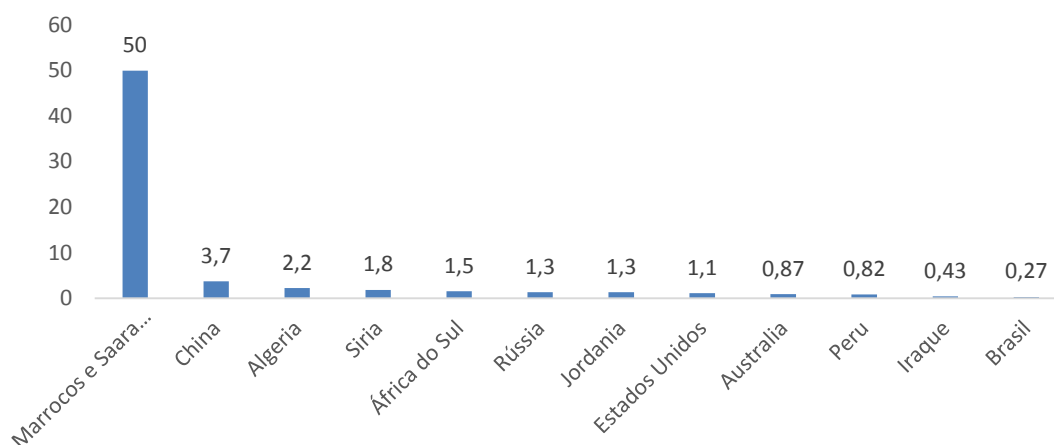
A amônia (NH_3) produzida a partir de gás natural é a base para produção de fertilizantes nitrogenados. O Brasil possui uma reserva de 0,5 trilhões de m^3 de gás natural, concentrados principalmente no estado do Rio de Janeiro. As principais reservas de gás natural do mundo (Figura 2) se encontram no Irã, seguido por Rússia e Catar com reservas de 34,0, 32,6 e 24,5 trilhões de m^3 , respectivamente (ANP, 2015).

Figura 2 - Reservas Provadas de Gás Natural em 2014 (Trilhões de m³).

Fonte: Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – ANP (2015).

Quanto aos fertilizantes fosfatados, a principal matéria prima utilizada na produção é a rocha fosfática (RF), que em geral, pode ser classificada como ígnea ou sedimentar. As RFs ígneas geralmente possuem apatita como forma de fósforo, porém em baixa quantidade, atingindo de 36% a 40% de P₂O₅. Aproximadamente 80% da RF existente em todo o mundo é oriunda dos depósitos sedimentares, os quais, possuem características físicas e químicas distintas, variando desde materiais soltos e não-consolidados, até rochas endurecidas, desde fluoropatitas, quase sem substituição de carbonatos, até de 6% a 7% de carbonatos substituindo fosfato (STEWART; HAMMOND; Van KAUWENBERGH, 2005).

Atualmente, Marrocos e Saara ocidental são os países que possuem as maiores reservas de RF no mundo (Figura 3), totalizando 50 bilhões de toneladas (74,6%), seguidos pela China com 3,7 bilhões de toneladas (5,5%). O Brasil possui uma reserva total de 270 milhões de toneladas (0,4%) (USGS, 2015).

Figura 3 - Reservas Mundias de Rocha Fosfática (Bilhões de Toneladas).

Fonte: *United States Geological Survey – USGS (2015)*.

2.4. EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DA SOJA E DO MILHO

2.4.1. Cultura da Soja

A Soja é uma cultura com elevada demanda nutricional (Tabela 1). Entre os macronutrientes o nitrogênio é o requerido e exportado em maior quantidade, com valores próximos a 51 e 32 kg ha⁻¹ de N por tonelada de grãos respectivamente. A fixação biológica do nitrogênio realizada por bactérias do gênero *Bradyrhizobium* é a principal fonte de N para a cultura da soja. Assim como o nitrogênio, o potássio também é exigido em grandes quantidades, cerca de 28 kg ha⁻¹ de K₂O são necessários por tonelada de grãos produzidos, exportando 18 kg ha⁻¹. Outro importante nutriente, exigido em grandes quantidades é o fósforo, com valores próximos a 10 kg ha⁻¹ de P₂O₅ para cada tonelada de grão produzido, em seguida aparece o enxofre (S) com exigências em torno de 5,4 kg ha⁻¹ seguido de cálcio (Ca) com valores próximos a 3,0 kg ha⁻¹ e magnésio (Mg) com 2,0 ha⁻¹ (EMBRAPA, 2013).

Micronutrientes como Boro (B), Cloro (Cl), Molibdênio (Mo), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Zinco (Zn) e Cobre (Cu) são indispensáveis para o desenvolvimento da cultura, porém são exigidos em menores quantidades.

Tabela 1 - Quantidade absorvida e exportação de nutrientes pela cultura da soja.

Parte da planta	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Ca	Mg	S	B	Cl	Cu	Fe	Mn	Mo	Zn
	kg (1000 kg) ⁻¹ ou g kg ⁻¹						g (1000 kg) ⁻¹ ou mg kg ⁻¹						
Grãos	51	10,0	20	3,0	2,0	5,4	20	237	10	70	30	5	40
Restos culturais	32	5,4	18	9,2	4,7	10,0	57	278	16	390	100	2	21
Total	83	15,4	38	12,2	6,7	15,4	77	515	26	460	130	7	61
% Exportada	61	65	53	25	30	35	26	46	38	15	23	71	66

Fonte: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA (2013).

2.4.2. Cultura do Milho

Na cultura do milho, o nitrogênio o potássio e o fósforo, são extraídos e exportados em grandes quantidades nos seus grãos (Tabela 2). A taxa de absorção de N, na maioria das cultivares é maior no período que precede a floração (60 a 70%). Em cultivares modernas, com genótipo melhorado, podem ocorrer dois picos de absorção de N, um antes da floração, e outro durante o enchimento dos grãos. O potássio é acumulado mais precocemente em relação a N e P, antes da floração (CANTARELLA; DUARTE, 2004).

De acordo com Coelho (2006) as recomendações para a adubação nitrogenada em cobertura são realizadas com base em curvas de resposta, histórico da área e produtividade esperada. A recomendação da adubação nitrogenada para a cultura do milho, de modo geral, varia de 70 a 220 kg ha⁻¹, de acordo com a meta de produtividade (EMBRAPA, 2015).

Esta meta deve ser estabelecida considerando fatores como: o histórico da área, a fertilidade do solo na camada superficial (0-20 cm) e subsuperficial (20-40 cm), potencial produtivo do híbrido a ser utilizado, a altitude da área, risco de ocorrência de estiagem, entre outros. Normalmente, doses de N acima de 150 kg ha⁻¹ apenas se viabilizam com a semeadura de híbridos de alto potencial produtivo em solos férteis, sem alumínio na camada de 0-40 cm, em regiões de maior altitude e com menor risco de estiagem (BROCH; RANNO, 2012).

Após o nitrogênio, o potássio é o nutriente absorvido em maiores quantidades pela cultura do milho, sendo em média, 30% exportado nos grãos. Para produtividades inferiores a 6,0 toneladas de grãos ha⁻¹, cerca 4 kg de K₂O por tonelada de grãos são exportadas. Já para produtividades acima de 8,0 toneladas de grãos ha⁻¹ cerca 6 kg de K₂O por tonelada de grãos são exportadas. Para o milho destinado à produção de forragem, a extração média é de 13 kg de K₂O por tonelada de matéria seca produzida (CANTARELLA; DUARTE, 2005).

Em relação ao fósforo, as doses recomendadas são normalmente altas, devido à baixa eficiência de absorção (20 a 30%) do nutriente pela cultura. Uma vez que o solo apresentar teores de P acima do qual não se espera resposta do milho, a manutenção desse valor deve ser realizada através da reposição anual. Para cada tonelada de grãos produzida são exportados 10 Kg de P₂O₅. Quanto aos micronutrientes, as plantas de milho exigem para uma produtividade de 9 toneladas ha⁻¹: 2.100 g de ferro, 340 g de manganês, 400 g de zinco, 170 g de boro, 110 g de cobre e, 9 g de molibdênio (COELHO, 2006).

Tabela 2 - Quantidade absorvida e exportação de nutrientes pela cultura do milho.

Parte da planta	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
	kg (1000 kg) ⁻¹ ou g kg ⁻¹		
Grãos	20,0	6,9	20,4
Restos Culturais	15,0	5,5	8,4
Total	35,0	12,4	28,8
% Exportada	75	79,7	41,2

Fonte: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA (2015).

2.5. DISPONIBILIDADE E ABSORÇÃO DO NITROGÊNIO

O nitrogênio presente no solo é encontrado predominantemente em forma orgânica (95%), enquanto o N, na forma mineral assimilável é encontrado

na forma de nitrato (NO_3^-) ou amônio (NH_4^+). A transformação de N da forma orgânica para a mineral, ocorre por meio da mineralização, fenômeno que compreende os processos de aminização, amonificação e nitrificação, mediados pela atividade microbiana presente no solo (PRADO, 2008).

O N_2 representa 78% dos gases da atmosfera, no entanto, há escassez do nutriente em formas passíveis de absorção pelas plantas, uma vez que o nutriente é encontrado fortemente estabilizado. É um dos nutrientes exigidos em maiores quantidades pelas plantas, sendo o mais limitante ao crescimento por ser componente de proteínas, ácidos nucleicos, membranas e diversos hormônios vegetais. A deficiência neste nutriente ocasiona clorose gradual das folhas mais velhas e redução de crescimento da planta (FERNANDES, 2006).

A transformação do N_2 gasoso para formas assimiláveis ocorre predominantemente via fixação biológica do nitrogênio (FBN), através da interação com microrganismos de vida livre ou simbióticos, em uma relação onde ambos os organismos são beneficiados, uma vez que a planta cede carboidratos provenientes da fotossíntese ao microrganismo, que em troca, realiza a quebra da tripla ligação do N_2 por meio da ação da enzima nitrogenase, fornecendo NH_3 à planta (PRADO, 2008).

Dentre os microrganismos capazes de estabelecer relações associativas, destacam-se os gêneros *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Herbaspirillum*, capazes de colonizar as raízes das plantas e seus tecidos internos. Enquanto a simbiose entre *Bradyrhizobium* e a soja, destaca-se como o caso de maior sucesso no Brasil, onde a FBN é capaz de suprir totalmente a exigência de N da cultura. A FBN com outras leguminosas, como o feijão e o amendoim, não supri totalmente a demanda de N pelas culturas, porém permite reduzir a aplicação de fertilizantes químicos (CANTARELLA, 2007).

São estimados que a FBN em áreas cultivadas contribua com até 32 teragrama (tg) ano^{-1} em todo o mundo, valor que corresponde a 30% da produção mundial de N na forma de fertilizantes. No Brasil, a FBN gera até 7,3 tg ano^{-1} em áreas cultivadas, cerca de 3 vezes a quantidade de N de origem industrial. Só a cultura da soja é responsável por 3,2 tg ano^{-1} de N via FBN (NOVAIS *et al.*, 2007).

Para que a absorção do N pela planta ocorra, primeiramente deve haver o contato do nutriente com as raízes da planta. O movimento do nutriente no solo é regido pelo fenômeno de fluxo de massa (movimento de íons “junto com” água). Após o contato entre N e a raiz, tem-se a absorção do nutriente nas formas de N_2 (FBN), aminoácidos, ureia, NH_4^+ e predominante via NO_3^- , devido a sua alta disponibilidade no solo, quando comparado aos demais. (PRADO, 2008).

2.6. DISPONIBILIDADE E ABSORÇÃO DE FÓSFORO

O fósforo é um nutriente essencial para o desenvolvimento de plantas, considerado limitante para a produção de biomassa em solos tropicais (NOVAIS; SMYTH, 1999), uma vez que desempenha funções estruturais na planta, sendo componente de ésteres de carboidratos, fosfolipídios, coenzimas, ácidos nucleicos e nucleotídeos, além de atuar em processos de transferência e armazenamento de energia, na fotossíntese, sínteses proteicas, multiplicação e divisão celular, e na fixação biológica do nitrogênio (PRADO, 2008).

A disponibilidade do fósforo é regulada pela ação de microrganismos, que imobilizam ou liberam os íons ortofosfatos, e também pelas propriedades físico-químicas e mineralógicas do solo. Nos solos jovens, e nos moderadamente intemperizados, como os Vertissolos, Chernossolos e os Neossolos, é encontrado fósforo em minerais primários, porém a maior parte se encontra na forma orgânica, ou na forma mineral, adsorvida fracamente aos minerais secundários. Já em solos mais intemperizados, como os Latossolos, o fósforo é encontrado predominantemente nas formas inorgânicas associadas à fração mineral com alta energia, e as formas orgânicas estabilizadas física e quimicamente. Dependendo do grau de estabilidade destes compostos, são classificados como fosfatos lábeis os que possuem a capacidade de repor rapidamente a solução do solo quando o fósforo é absorvido pelas plantas e não-lábeis os que não possuem essa capacidade (WALKER; SYERS, 1976; BARBER, 1995; CROSS; SCHLESINGER, 1995).

O fósforo inorgânico do solo é encontrado principalmente adsorvido a oxihidroxidos de ferro e alumínio, mas também pode estar ligado ao ferro, alumínio, cálcio e adsorvido a matéria orgânica do solo através de pontes de cátions (NOVAIS *et al.*, 2007). Já o fósforo orgânico do solo, em células vegetais, pode ser constituinte de nucleotídeos, material genético, pode estar presente nos fosfolípidos das membranas celulares, nos fosfatos de adenosina, como ATP e ADP, e em ésteres de carboidratos, enquanto nas sementes, o P é acumulado preferencialmente na forma de fosfatos de inositol (FERNANDES, 2006). Tanto os ácidos nucléicos quanto os fosfolipídios são facilmente mineralizáveis devido a sua fácil decomposição, já os fosfatos inositol apresentam alta energia na ligação com a estrutura química da molécula e alta carga residual, o que favorece o seu acúmulo no solo, prejudicando a absorção pelas plantas (DALAL, 1977; TATE, 1984; STEWART; TIESSSEN, 1987).

Em resultado a adição de adubos fosfatados aos solos, a maior parte do acúmulo de fósforo se encontra em formas inorgânicas moderadamente lábeis (RHEINHEIMER; ANGHINONI; CONTE, 2003). O processo de absorção de fósforo pelas plantas, em áreas com acúmulo de fósforo devido à adubação fosfatada sem posterior reposição ocasiona um processo contínuo de depleção do nutriente, primeiramente das formas lábeis, seguida das formas moderadamente lábeis, e por fim das mais recalcitrantes (RHEINHEIMER; KAMINSKI; ANGHINONI, 2000). No entanto, a absorção do fósforo proveniente de formas mais recalcitrantes não ocorre em taxas satisfatórias para o crescimento das plantas (GATIBONI, 2003).

O fósforo pode ser absorvido da solução do solo na forma de H_2PO_4^- ou HPO_4^{2-} , predominando a absorção via H_2PO_4^- devido a maior disponibilidade no solo. A absorção de até 94% do fósforo ocorre por meio do contato do nutriente com a raiz, através do fenômeno de difusão (movimento de íons a favor de um gradiente de concentração), sendo favorecida pela aplicação localizada do nutriente em regiões próximas as raízes (PRADO, 2008).

2.7. AMBIENTE RIZOSFÉRICO E SEUS PRINCIPAIS COMPONENTES

A região do solo que sofre influência direta da presença das raízes é denominada rizosfera, e é onde ocorre a maior parte das interações entre microrganismos e plantas (REIS *et al.*, 2010). O ambiente rizosférico é de grande mutabilidade, sua composição e estrutura são determinadas pelos ciclos vegetativos e suas dimensões pelo tipo, composição e umidade do solo. As plantas modificam as características químicas do solo na rizosfera por meio da liberação de fragmentos durante a expansão radicular, e também, por meio dos exsudatos radiculares solúveis, causando enriquecimento do solo com uma variedade de compostos orgânicos, além da promoção do consumo de oxigênio e liberação de dióxido de carbono, da modificação da atmosfera radicular, da absorção seletiva de íons nutritivos, da regulação da concentração de sais, do consumo de água, da umidade, etc. (PEREIRA, 2007).

A rizosfera é dividida por alguns autores, em “ectorrizosfera”, área externa das raízes, tendo em torno de 20 μm desde a superfície radicular, “endorrizosfera”, região que compreende desde os tecidos corticais até o rizoplano, tendo cerca de 10 μm , e o “rizoplano”, superfície limítrofe entre a raiz e o solo, contendo aproximadamente 1 μm de espessura (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Os principais microrganismos encontrados no ambiente rizosférico são: FMA que se destacam por serem simbiontes obrigatórios que colonizam a maior parte das plantas terrestres, formando uma associação denominada “micorríza”, auxiliando em sua nutrição, crescimento e tolerância a doenças (SMITH; READ, 2008; ELSEN *et al.*, 2008), e bactérias fixadoras de nitrogênio, especialmente rizóbios, que se relacionam com raízes de plantas leguminosas fornecendo nitrogênio a partir da atmosfera para planta (ALLEN, 1989; ROLDÁN; ALBALADEJO, 1994).

Estima-se que microrganismos colonizem de 4 a 10% da superfície radicular, onde formam pequenas colônias dispersas em junções das células epidérmicas ou em orifícios gerados por lesões ou ainda em áreas de células descamadas e na mucilagem nas pontas das raízes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

2.8. HISTÓRIA DA MICORRIZOLOGIA NO BRASIL

A história da micorrizologia no Brasil começa no início do século 19, entre 1906 e 1937, com J. Rick, ao encontrar em florestas de Pinus, no estado do Rio Grande do Sul, fungos ectomicorrízicos do gênero *Amanita*. Já, nas décadas de 60 e 70, Went e Stark (1968a, 1968b), começam a discutir a função das micorrizas em ecossistemas tropicais, e Stark (1969, 1970a, 1970b, 1971) estuda a colonização de plantas por fungos micorrízicos na floresta amazônica.

No ano de 1978, pela primeira vez, foram publicados resultados acerca da ocorrência de micorrizas vesículo arbusculares em mudas de cafeeiro no Brasil (CARDOSO, 1978).

Já em 1986, é realizada a I Reunião Brasileira de Micorrizas (REBRAM), em Lavras, MG, organizada por José Oswaldo Siqueira e Elisabeth Oliveira, consolidando os estudos com micorriza no Brasil. Nos anos seguintes foram realizadas a segunda, terceira e quarta REBRAM, ampliando a visibilidade da pesquisa micorrízica.

Este grande interesse na micorrizologia no Brasil, surge da necessidade da evolução e expansão da agricultura, uma vez que, o país ocupava posição de destaque como um dos maiores produtores e exportadores do mundo.

2.9. FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES

Quanto a origem dos FMA, duas hipóteses são consideradas como possíveis explicações (STÜRMER, 1999). A primeira hipótese pressupõe que a evolução e posterior diversificação das plantas só foi possível devido ao estabelecimento de uma simbiose entre uma alga semiaquática e um microbionte ancestral aquático pertencente aos Oomicetos, atualmente

classificado como Chromistas. A segunda hipótese é a de que o ancestral dos FMA teria afinidades com um zigomiceto saprofítico com um hábito mais terrestre, o que seria mais plausível, uma vez que os FMA são habitantes comuns da biota do solo na maioria dos ecossistemas terrestres.

Dentre os vários tipos de micorrizas, as ectomicorrizas e as endomicorrizas do tipo arbuscular, são consideradas as de maior importância (SIQUEIRA, 1994). As ectomicorrizas são caracterizadas pelo crescimento intercelular, enquanto as endomicorrizas apresentam tanto crescimento inter quanto intracelular no córtex da raiz (BERTOLAZI *et al.*, 2010).

As endomicorrizas arbusculares pertencem ao Filo *Glomeromycota*, classe *Glomeromycetes* (glomeromicetos), sendo classificados em quatro ordens, treze famílias e dezenove gêneros, com pouco mais de 215 espécies descritas. São considerados organismos biotróficos obrigatórios, e formam associações com as raízes de plantas vasculares terrestres epífitas, aquáticas e também com rizoides e talos de briófitas e outros vegetais basais, formando a relação mutualística denominada de micorriza arbuscular (MA) e micotalia, para vegetais com e sem raízes, respectivamente (SOUZA *et al.*, 2010).

Possuem micélio cenocítico, quitina como principal componente estrutural da parede celular. São assexuados e o modo de formação dos esporos é o que determina a qual família e gênero eles pertencem. Os glomerosporos são formados de três modos principais que diferem basicamente pela esporogênese: glomoide, gigasporoide e acaulosporoide. No morfotipo glomóide, desenvolvem-se terminalmente (ou, às vezes, intercaladamente) numa hifa suspensora cilíndrica, sendo os esporos formados individualmente ou em agregados e esporocarpos. No morfotipo acaulosporoide, ocorre a formação de um sáculo esporífero prioritariamente ao desenvolvimento dos esporos na lateral (em *Acaulospora*, *Archaeospora*, *Ambispora*, *Ortospora*) ou dentro (em *Entrophospora*, *Intraspora*, *Kuklospora*) da hifa suspensora. No morfotipo gigasporoide, são formados individualmente a partir de uma célula bulbo por brotação. Os padrões de desenvolvimento dos esporos também determinam as propriedades de suas paredes externas e internas e com origem independente (MORTON; REDECKER, 2001; SOUZA *et al.*, 2010).

Os esporos são as estruturas de reprodução e proteção dos FMA, permitindo que o fungo se mantenha no solo por longos períodos. Em condições favoráveis de temperatura, pH e umidade os esporos germinam por meio do crescimento de tubos germinativos e em seguida é formado o micélio. Podem ser globosos, subglobosos e até irregulares, unicelulares hialinos, amarelos, marrons a negros, e variam de 22 a 1,059 μm , apresentando parede espessa lisa ou ornamentada. Uma vez que possuem natureza assexuada, são distintos de zigosporos, azigosporos e clamidósporos, todos os esporos de FMA são atualmente denominados glomerosporos (MAIA; SILVA; GOTO, 2010). Sua diferenciação, ocorre tanto apicalmente quanto intercalarmemente ao longo das hifas, muitas vezes em associação com arbúsculos. O exterior de sua parede é originado da parede das hifas. O esporo em posição apical, permanece atrelado a hifa durante a maior parte do processo de maturação (DALPÉ; SOUZA; DECLERCK, 2005).

Esporos são os propágulos mais importantes para disseminação e infecção dos FMA. A identificação dos gêneros de FMA é realizada de acordo com suas características e modo de formação, como: cor, tamanho, estrutura da parede e da hifa de sustentação, presença ou ausência de esporocarpos (GERDEMANN, 1968; HARLEY; SMITH, 1983; ZAMBOLIM; SIQUEIRA, 1985; SILVEIRA, 1992; INVAM, 2003).

Os FMA apresentam uma fase denominada assimbiótica (ou pré-simbiótica), que precede a associação micorrízica, que consiste da germinação, formação de tubo germinativo e produção limitada de micélio assimbiótico. Este processo germinativo pode ocorrer na ausência de hospedeiro, a partir das reservas energéticas contidas no glomerosporo (SIQUEIRA *et al.*, 1985; MAIA; KIMBROUGHT; BENNY, 1994). No entanto, estudos apontam que a presença de certos compostos, denominados de fatores de ramificação (estrigolactonas) (AKIYAMA; HAYASHI, 2006), aumenta em plantas deficientes em P, induzindo uma maior ramificação das hifas e colonização micorrízica (NAGAHASHI; DOUDS; FERHATOGLU, 2010).

A associação micorrízica, inicia-se antes do contato físico entre fungo e raiz, por meio da troca de sinais entre os simbiontes, principalmente pela

exsudação de compostos capazes de estimular a ramificação das hifas. Uma vez que ocorre o contato entre hifas e a superfície das raízes, as hifas se diferenciam em estruturas chamadas de apressórios, e penetram a epiderme. No interior da raiz, o fungo pode crescer tanto inter quanto intracelularmente no tecido cortical, não invadindo a região meristemática e o tecido vascular. Em alguns casos, hifas intracelulares podem diferenciar-se em arbúsculos, que são estruturas circundadas por uma membrana plasmática diferenciada de origem vegetal chamada de membrana periarbuscular (LAMBAIS; RAMOS, 2010).

A presença do arbúsculo altera as células do córtex hospedeiras, o amido desaparece e os núcleos aumentam de tamanho (GERDEMANN, 1968; COX; SANDERS, 1974; COX; TINKER, 1976; BONFANTE-FASOLO, 1984; ZAMBOLIM; SIQUEIRA, 1985; INVAM, 2003).

Na troca de nutrientes, as H^+ ATPase de membrana plasmática do fungo e da planta são responsáveis pela extrusão unidirecional de íons H^+ aos custos da quebra da molécula de ATP, gerando um gradiente eletroquímico que impulsiona o transporte de fosfatos inorgânicos (P_i), sacarose, glicose, frutose e outros nutrientes, como nitrato e aminoácidos, via transportadores de membrana. Os P_i absorvidos do solo pelas hifas extrarradiculares são convertidos em grânulos de polifosfato e são transportados para perto da membrana do arbúsculo, onde são novamente convertidos em P_i e transportados para a interface arbuscular, onde se ligam aos íons H^+ para serem transportados para as células corticais da planta hospedeira. O gradiente de H^+ ativa a abertura de canais de K^+ em ambas as membranas e impulsiona a atividade dos transportadores de P_i . Em troca, a planta repassa sacarose, proveniente da fotossíntese à interface arbuscular, que é convertida em glicose e frutose pela atividade de invertases, sendo então transportadas para as células do FMA, onde são utilizadas na síntese de lipídeos ou glicogênio (RAMOS; MARTINS, 2010).

Além dos arbúsculos, alguns FMA desenvolvem vesículas, que são estruturas resultantes de dilatações nas porções terminal ou intercalar das hifas corticais, ocorrendo inter ou intracelularmente. As vesículas servem de estrutura de reserva, armazenando grânulos de lipídios e grânulos de polifosfato, e ainda

como estruturas de propagação e repouso. São produzidas posteriormente aos arbúsculos tornando-se mais numerosas com o envelhecimento da raiz. De acordo com a espécie do FMA, tanto o número quanto a morfologia da vesícula podem variar (GERDEMANN, 1968; COX; SANDERS, 1974; BONFANTE-FASOLO, 1984; ZAMBOLIM; SIQUEIRA, 1985; SILVEIRA, 1992; INVAM, 2003).

Vesículas são estruturas pequenas, hialinas, que se assemelham a pequenos esporos. Essas estruturas diferenciam-se ao longo da fase pré-simbiótica em várias culturas monoxênicas de *Glomus*. Na fase simbiótica, as vesículas intrarradiculares variam de globosas a elipsoides, diferenciando-se intercaladamente ou apicalmente ao longo das hifas, conectadas constantemente com o micélio intrarradicular. Geralmente circundadas por uma parede dupla, de 1,0 a 2,5 µm de espessura, preenchidas por material lipídico e organelas requeridas para o crescimento autônomo. Vesículas, são propágulos infectivos capazes de gerar colônias fúngicas funcionais, podendo ser observadas de 5 dias a 5 meses após o estabelecimento da simbiose (DALPÉ; de SOUZA; DECLERCK, 2005).

2.10. INTERAÇÃO DE FMA COM OUTROS MICRORGANISMOS DO SOLO

Os microrganismos habitantes da rizosfera são fundamentais para os sistemas agrícolas e naturais, uma vez que participam ativamente dos ciclos biogeoquímicos e da ciclagem da matéria orgânica, além de influenciar o enraizamento, produzir substâncias promotoras de crescimento, facilitar a absorção de nutrientes e proteger a planta contra patógenos (REIS *et al.*, 2010).

FMA tem pouca ou nenhuma capacidade saprofítica, e não competem diretamente com outros microrganismos da rizosfera por nutrientes no início da colonização. Porém, a partir do estabelecimento da associação, pode ocorrer imobilização de carboidratos pelo micélio interno, diminuindo sua disponibilidade (ANDRADE; SILVEIRA, 2004).

Microrganismos da rizosfera, ocasionalmente podem ter efeito negativo sobre os FMA, através da predação do micélio ou dos esporos ou pela excreção de compostos inibitórios ao FMA. Por outro lado, microrganismos da rizosfera, podem também influenciar positivamente o crescimento do micélio dos FMA, através da imobilização de inibidores de crescimento, como os metais pesados manganês e zinco, que inibem a germinação, pela degradação de compostos inibidores produzidos pelo fungo durante seu crescimento, e produção de compostos estimuladores, como aminoácidos, fitormônios, vitaminas, dentre outros compostos (REIS *et al.*, 2010).

Em raízes de leguminosas, a colonização micorrízica ocorre naturalmente e, quando noduladas pela ação das bactérias fixadoras de nitrogênio, ocorre a formação de uma simbiose denominada tripartite BFNNL-Leguminosas-FMA (CARVALHO; MOREIRA, 2010).

Os custos da manutenção da simbiose para a planta são elevados, uma vez que tanto a micorríza, quanto as BFNNL, dependem das fontes de carbono provindas da planta. No entanto, tal efeito pode ser compensando uma vez que os simbioses estimulam a fotossíntese, o crescimento radicular, reduzem o custo de produção de biomassa e o consumo de O₂ pela raiz (MORTIMER; PEREZ-FERNANDEZ; VALENTINE, 2008).

A FBN é um processo que demanda energia, sendo influenciada pela nutrição da planta com relação ao P, uma vez que os nódulos são fontes de dreno do nutriente, demandando cerca de três vezes mais P do que os outros órgãos. As micorrizas aumentam a absorção desse elemento pelas plantas, assim como de outros macro e micronutrientes, beneficiando indiretamente a FBN, principalmente em condições de baixa disponibilidade de P no solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 1995; SILVA-JÚNIOR; SIQUEIRA, 1998; MOREIRA, 2008). Já o suprimento de N, provindo da FBN, aumenta o vigor da planta hospedeira, beneficiando a micorríza pela maior oferta de fotoassimilados (CARVALHO; MOREIRA, 2010).

Alguns trabalhos, propõem que em estágios iniciais, o estabelecimento da simbiose tripartite é condicionado por fatores simbióticos, que incluem o aumento da produção de flavonoides na planta devido a substâncias liberadas pelo fungo (“fatores Myc”) e pela bactéria (“fatores Nod”), gerando um estímulo

entre FMA e BNNFL desde o estágio pré-simbiótico (XIE *et al.*, 1995; GOSS; de VARENNE, 2002; ANTUNES *et al.*, 2006).

2.11. UTILIZAÇÃO DE INOCULANTES AGRÍCOLAS

A crescente preocupação da sociedade com a preservação e a conservação do meio ambiente, tem estimulado o setor produtivo na busca por tecnologias com enfoques mais ecológicos, rentáveis e socialmente justos. Este enfoque agroecológico se baseia na utilização responsável dos recursos naturais (solo, água, fauna, flora, energia e minerais) (REIS, 2007).

Diante desta necessidade, a utilização de inoculantes agrícolas, à base de microrganismos previamente selecionadas, surge como uma possível solução para mitigar os impactos negativos da utilização massiva de fertilizantes químicos.

Walter e Paau (1992) indicam que um inoculante, para fins comerciais, deve estar disponível em grandes quantidades, apresentar preços econômicos e uma formulação efetiva, deve ser uniforme e de fácil aplicação por parte do consumidor.

A FBN é um processo bem estabelecido e conhecido, tanto que, as primeiras referências sobre a simbiose entre rizóbios e leguminosas no Brasil, datam de 1930 em relatórios do Instituto Agrônomo de Campinas, sobre a execução de experimentos de inoculação e distribuição de culturas de bactérias. Em 1950, na Seção de Microbiologia Agrícola (SEMIA), da Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul, hoje Centro de Fixação Biológica do Nitrogênio, da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO), foi iniciada a pesquisa para a seleção de estirpes e a produção de inoculantes, principalmente para soja, para atender à demanda motivada pelo início da expansão da cultura, estimulada por indústrias do setor agrícola, que visavam incentivar a indústria de produção de óleo (FREIRE; VERNETTI, 1999).

Por outro lado, o cultivo de fungos micorrízicos arbusculares *in vitro* ainda não é rotina, principalmente devido a sua condição de biotrófico obrigatório e pela falta de conhecimento sobre a relação entre fungo e planta. Desde a metade da década de 70 um grande avanço vem ocorrendo no campo do cultivo *in vitro* de fungos micorrízicos. Mosse e Hepper (1975) realizaram o primeiro cultivo *in vitro* de forma monoxênica. Strullu e Romand (1986) foram os responsáveis pelo primeiro subcultivo de FMA obtidos a partir de raízes colonizadas e re-inoculados em vários sistemas de raízes. Em 1988, Bécard e Fortin estabeleceram o cultivo de FMA *in vitro*, com raízes transformadas a partir da *Agrobacterium rhizogenes* propiciando o crescimento e o desenvolvimento micorrízico.

O primeiro pré-requisito para estabelecer uma cultura de fungos micorrízicos é a capacidade do fungo em completar seu ciclo de vida produzindo quantidade considerável de esporos e estruturas intraradiculares, característicos do gênero a que pertencem. Considerando essas regras, apenas 15 espécies são consideradas bem estabelecidas em culturas monoxênicas, com a produção de esporos maduros. O segundo pré-requisito é a capacidade do material fúngico produzido em cultura monoxênica ser subcultivado continuamente nas mesmas condições, favorecendo a multiplicação do material necessário para a distribuição e durabilidade da cepa. Seguindo essas regras, apenas dez espécies foram publicadas, como sendo referências para subcultivo, sendo a maioria espécies de *Glomus* (DECLERCK; SÉGUIN; DALPÉ, 2005).

Uma dessas espécies é o FMA *Rhizophagus clarus*, caracterizado por produzir esporos de tamanho entre 100 e 260 μm , coloração variada, de branca a amarela, de estrutura globosa, ou subglobosa, as vezes elíptica, ou ainda irregular, com possibilidade de formação de esporos dentro das raízes, e hifas normalmente cilíndricas, de 18 a 24 μm de largura, os arbúsculos normalmente são formados em células isoladas, de modo que sua distribuição parece dispersa ou desigual (INVAM, 2014).

Atualmente, existem basicamente duas formas de se produzir inoculantes à base de FMA. O cultivo convencional é realizado em vasos armadilha, que favorecem a esporulação para a produção, fornecendo esporos

jovens e saudáveis (BAGYARAJ; STÜRMER, 2010). Desta forma, diversos fatores, tanto de natureza biótica quanto abiótica são responsáveis por regular a ocorrência dos FMA, interferindo na sobrevivência e na germinação dos propágulos infectivos, como por exemplo, a quantidade e a composição do fungo, a presença de outros microrganismos do solo, a fisiologia do hospedeiro e as condições climáticas (CARDOSO *et al.*, 2010).

A alternativa ao cultivo convencional é a utilização de culturas de FMA produzidas *in vitro*, proporcionando a obtenção de inóculo livre de contaminantes, e com alto número de propágulos infectivos (Figura 4). Esses propágulos podem ser utilizados no tratamento de sementes, com o auxílio de materiais que propiciem a adesão do inóculo, denominados veículos.

A pesquisa acerca de veículos para inóculo de FMA carece de dados na literatura. Em contraponto, veículos para inóculos bacterianos, foram amplamente estudados. Existem muitas opções na produção e formulação de inoculantes, variando do mais sofisticado à forma rotineira, mais simples. A turfa se apresenta como um dos melhores suportes para a elaboração de inoculantes em pó comerciais, por atender às especificações de um bom veículo, ou seja, alta retenção de umidade, facilidade de processamento, ausência de toxidez, facilidade de esterilização, disponibilidade em grande quantidade, baixo custo e boa adesão às sementes (BURTON, 1981; RONCHI; BALATTI, 1991; SMITH, 1992).

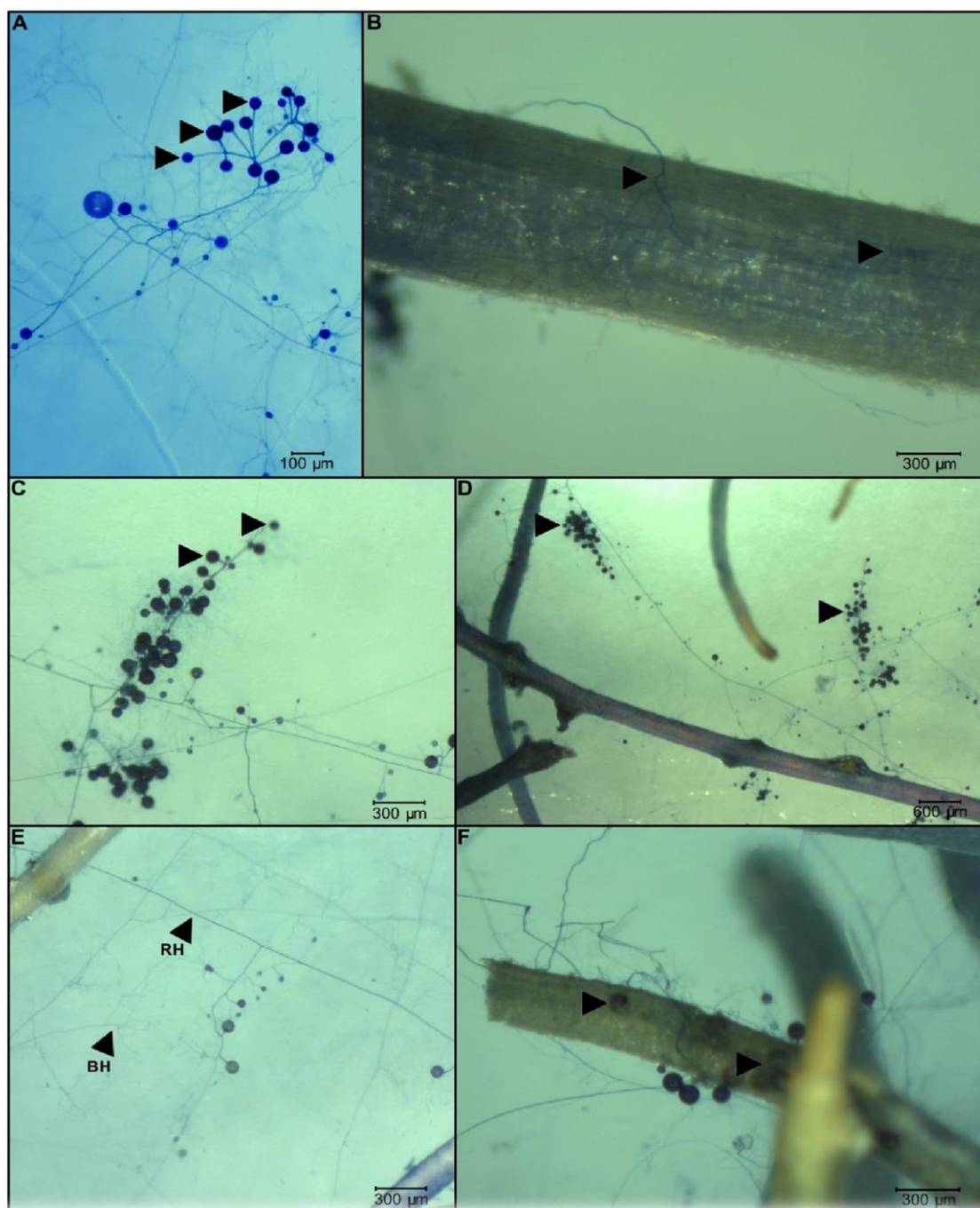
Além da turfa, outros materiais vêm sendo estudados quanto a capacidade de manter células viáveis a partir do encapsulamento, caso de biopolímeros como a carboximetilcelulose (CMC) e do amido (FERNANDES *et al.*, 2009), além de outros biopolímeros, como a goma xantana, que age na redução de transferências de calor, além de possuir propriedades reológicas e alta atividade de água (MUGNIER; JUNG, 1985) e a goma arábica, por agir na redução dos efeitos tóxicos de alguns exsudatos liberados pelas sementes sobre o inóculo (VINCENT; THOMPSON; DONOVAN, 1962).

A polivinilpirrolidona (PVP), um polímero sintético, é outro material utilizado como veículo bacteriano, patenteado como agente protetor para células de rizóbio na Nova Zelândia, em 1981 (ROUGHLEY, 1988).

Estudos apontam que a capacidade de proteção relacionada ao uso do PVP, é devida a absorção de compostos poli-fenólicos dos exsudatos das sementes, e da formação de um filme protetor, impedindo a perda de água (BUSHBY; MARSHALL, 1977).

Outros materiais podem ser considerados na elaboração de um inoculante agrícola, com base em suas características, desde que atendam aos pré-requisitos de um bom veículo.

Figura 4 - Desenvolvimento *in vitro* de *Rizophagus clarus*: formação de vesículas na fase pré-simbótica (A); contato da hifa com a raiz e formação da estrutura de infecção (B); produção de esporos (C, D); arquitetura do micélio extra-radicular “runner hyphae” (RH) e “branched hyphae” (BH) (E); produção de esporos no interior da raiz (F).



Fonte: Cely (2014)

2.12. PROPRIEDADES DOS VEÍCULOS PARA O INÓCULO

2.12.1. Turfa

A turfa é um organo-mineral, proveniente da decomposição de restos vegetais, encontrada em áreas alagadas como várzeas de rios, planícies costeiras e lagoas (FRANCHI, 2000). É composta por até 90% de água, e quando seca ao ar, esse teor pode ser reduzido para valores próximos a 40% (SUFERT, 1998). É parte do estágio incipiente da formação do carvão mineral, sendo considerado um mineral formado nos últimos dez mil anos, resultante do atrofiamento e da decomposição incompleta de material lenhoso e de arbustos, musgos, líquens em condições de umidade excessiva (AGUIAR, 1987).

É um material poroso, altamente polar, e com elevada capacidade de adsorção para metais de transição e moléculas orgânicas polares, devido principalmente ao elevado teor de substâncias húmicas (ácidos húmicos e fúlvico) na sua matéria orgânica (ROSA; ROCHA; FURLAN, 2000; FRANCHI, 2004), rica em grupos funcionais com cargas negativas, como, ácidos carboxílicos e hidroxilas fenólicas e alcoólicas, que são justamente os sítios de adsorção dos metais em solução (PETRONI; PIRES, 2000).

A maior parte das reservas de turfa do mundo são encontradas em regiões de clima temperado, no hemisfério norte, principalmente em território finlandês e bielorrusso, o restante é encontrado em regiões tropicais e subtropicais, em ambientes florestais. Estima-se que o total do recurso no mundo esteja entre 5 e 6 trilhões de toneladas, cobrindo uma superfície de até 400 milhões de hectares da superfície terrestre (USGS, 2015).

2.12.2. Vermiculita

A vermiculita é classificada como um aluminossilicato hidratado de magnésio, ferro e alumínio, possui formato lamelar e clivagem basal (UGARTE; SAMPAIO; FRANÇA, 2005). É um mineral de baixa densidade, formado por lâminas sobrepostas, constituído de tetraedros e octaedros de ferro e magnésio (GRIM, 1968). Os grupos tetraédricos e octaédricos são constituídos por íons de oxigênio e íons hidroxila, ao redor de cátions de Si^{4+} e Al^{3+} nos grupos tetraédricos, e Al^{3+} ou Mg^{2+} nos grupos octaédricos (SOUZA-SANTOS, 1975).

Podem prepara-se vermiculitas contendo Mg, Ca, Na, K, Rb, Cs, Ba, Li, H^+ e NH_4^+ como cátions interlamelares. Nas posições octaédricas, embora comumente ocupadas por Mg, Fe^{2+} e quantidades de Al e Fe^{3+} também podem ser encontradas. Vermiculitas possuem a propriedade de absorção de líquidos orgânicos entre suas camadas, e quando aquecidas a temperaturas superiores a 300°C , ocorre o fenômeno de exfoliação, que origina uma expansão que pode atingir até 30 vezes o tamanho inicial da partícula (DEER; HOWIE; ZUSSMAN, 2000).

A vermiculita é um material não abrasivo, inodoro, possui pH neutro, inerte, possui propriedade de isolante térmico devido a sua alta temperatura de sinterização, características de isolante acústico, é também utilizada na agricultura hidropônica, como condicionador de solos, na composição de fertilizantes, absorve óleos, graxas e metais pesados (REIS, 2001).

Quanto a sua granulometria, as vermiculitas podem ser encontradas em quatro diferentes formatos para comercialização: micron (90 a 100% das partículas entre 0,15 e 0,50 mm), superfina (95 a 100% das partículas entre 0,21 e 0,30 mm), fina (90 a 100% das partículas entre 0,30 e 0,50 mm) e média (90 a 100% das partículas entre 0,50 e 1,19 mm) (MARTINS *et al.*, 2012).

2.12.3. Rochas Fosfáticas

Os minerais apatíticos são formados sob diferentes regimes geológicos-igneos, metamórficos ou sedimentares, sofrendo transformações por

intemperismo, lixiviação, reprecipitação. Os depósitos de fosfatos de origem ígnea, ou magmática, geralmente são deficitários em sílica, com textura simples e rochas associadas do tipo carbonatitos e ultrabásicas, em que a fluorapatita é o principal mineral fosfático, como em Jacupiranga e Catalão no Brasil e Tenesse nos EUA (HAMMOND, 1977; KAMINSKI, 1990).

Os fosfatos de origem sedimentar podem ser detríticos, precipitados químicos ou conter quantidades significativas de apatita fóssil (orgânica). Sua textura é subdividida em rochas consolidadas, que apresentam cimentação por sílica, carbonatos ou óxido de ferro e/ou de alumínio, rochas não consolidadas originárias de processos secundários, como reordenação, lixiviação, intemperização e processos de enriquecimento natural; e os minerais predominantes são apatitas com alto grau de substituições isomórficas de fosfato por carbonato, sendo encontradas em áreas desérticas ou de clima seco. São muitas vezes identificados como francolitas ou fosforitas. São oferecidos no mercado de fertilizantes como fosfatos naturais reativos que permitem sua utilização diretamente na agricultura, como os fosfatos naturais da Carolina do Norte-EUA, de Gafsa- Tunísia, de Sechura- Peru e de Arad-Israel (HAMMOND, 1977).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficiência de diferentes materiais que serviram como veículo na inoculação de sementes de soja (*Glycine max*) e milho (*Zea mays*) para o fungo micorrízico arbuscular *Rhizophagus clarus* produzido *in vitro* no Laboratório de Ecologia Microbiana, na Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil, visando a formulação de um inoculante agrícola.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar o potencial de colonização do inóculo;
2. Avaliar a produtividade de grãos para soja e milho;
3. Avaliar a matéria seca das plantas de soja e milho;
4. Determinar o acúmulo de fósforo e nitrogênio da parte aérea das plantas de soja e milho.

4. ARTIGO

**EFEITO DE DIFERENTES SUBSTRATOS NA INOCULAÇÃO MICORRÍZICA,
PRODUTIVIDADE, BIOMASSA E TEORES FOLIARES DE P E N EM PLANTAS DE SOJA E
MILHO**

André Riedi Barazetti¹, Galdino Andrade^{1*}.

¹ Departamento de Microbiologia, CCB, Laboratório de Ecologia Microbiana, Universidade Estadual de Londrina, CEP 86051-990, Brasil.

* Autor correspondente: Galdino Andrade, Departamento de Microbiologia, Laboratório de Ecologia Microbiana, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Caixa Postal 6001, CEP 86051-990, Brasil. Telefone/Fax: +554333714791; E-mail: andraged@uel.br

Resumo

O Fósforo (P) é um dos nutrientes mais importantes e limitantes no desenvolvimento vegetal, no entanto, é um recurso esgotável e não renovável. Fungos micorrízicos são conhecidos por auxiliarem as plantas na absorção de P, através da formação de uma associação denominada micorriza arbuscular (MA). O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da vermiculita, da turfa e do fosfato de rocha, como veículos na inoculação de sementes de soja (*Glycine max*) e milho (*Zea mays*) para o fungo micorrízico arbuscular *Rhizophagus clarus* produzido *in vitro*. O experimento foi conduzido em área experimental da Universidade Estadual de Londrina, no município de Londrina, PR, Brasil. Foram elaborados sete tratamentos, distribuídos em cinco blocos casualizados, sendo: Tratamento Agronômico (TA); MA + Turfa + P (MAT+P); MA + Vermiculita + P (MAV+P); MA + Fosfato de Rocha + P (MAFR+P); MA + Turfa - P (MAT-P); MA + Vermiculita - P (MAV-P); MA + Fosfato de Rocha - P (MAFR-P). As plantas foram avaliadas, quanto a: Colonização micorrízica, matéria seca, P e N da parte aérea e produtividade de grãos. Para soja, foi observado incremento na produtividade de até 16,3% em relação a TA, com a utilização de vermiculita como veículo para o inóculo, sem adubação fosfatada. Já as plantas de milho, utilizando turfa como veículo e adubação fosfatada, obtiveram ganhos de até 20% em produtividade.

Palavras - chave: *Rhizophagus clarus*, inoculação, produtividade, turfa, vermiculita, fosfato de rocha.

1. Introdução

Grande parte das interações que ocorrem entre microrganismos e plantas acontecem na região sob influência da presença das raízes, denominada rizosfera (Reis *et al.* 2010). Entre os microrganismos

habitantes da rizosfera, os fungos micorrízicos destacam-se por serem simbioses obrigatórios que colonizam a maior parte das plantas terrestres, formando uma associação denominada “micorríza”, auxiliando em sua nutrição, crescimento e tolerância a doenças (Smith e Read, 2008; Elsen *et al.* 2008).

Dentre os vários tipos de micorrizas, as ectomicorrizas e as endomicorrizas do tipo arbuscular (MA), são as de maior ocorrência no ambiente, estabelecendo relações com várias espécies de plantas (Bundrett 2002). As ectomicorrizas são caracterizadas pelo crescimento intercelular, enquanto as endomicorrizas apresentam tanto crescimento inter quanto intracelular (Bertolazi *et al.* 2010).

Os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA) colonizam o córtex de raízes micotróficas e formam estruturas chamadas de arbúsculos, em seguida desenvolvem o micélio extraradicular, expandindo a área de adsorção de nutrientes do solo, principalmente fósforo, translocando-os para o interior celular (Moreira e Siqueira 2006; Smith e Read 2008). FMA atuam ainda na estabilização de agregados no solo (Rilling 2004), aumentam a resistência a stress hídrico (Garg e Chandel 2009) e a proteção contra patógenos (Jung *et al.* 2002).

Por dependerem da associação com raízes hospedeiras, a propagação e distribuição em larga escala dos FMA é dificultada (Cavalcante *et al.* 2009). Atualmente, a produção de inoculantes a base de FMA é realizada por propagação em vasos armadilhas, por favorecerem a esporulação (Bagyaraj e Sturmer 2010). No entanto, diversos fatores interferem na sobrevivência e na germinação de propágulos infectivos, como por exemplo, a quantidade e a composição do fungo, a presença de outros microrganismos no solo, a fisiologia do hospedeiro e as condições climáticas (Cardoso *et al.* 2010). A utilização de culturas de FMA produzidas *in vitro* é uma alternativa a produção em vasos armadilha, proporcionando a obtenção de inóculo livre de contaminantes, e com alto número de propágulos infectivos.

O primeiro pré-requisito para estabelecer uma cultura de fungos micorrízicos é a capacidade destes, em completar seu ciclo de vida produzindo quantidade considerável de esporos e estruturas intraradiculares. O segundo pré-requisito é a capacidade do material fúngico produzido em cultura monoxênica ser subcultivado continuamente, favorecendo a multiplicação do material necessário para a distribuição e durabilidade da cepa. Seguindo essas regras, apenas dez espécies foram publicadas, como sendo referências para subcultivo, sendo a maioria espécies de *Glomus* (Declerck *et al.* 2005).

Esse material fúngico pode ser utilizado no tratamento de sementes, com o auxílio de suportes que propiciem a adesão do inóculo, denominados veículos. Para que um material possa ser considerado um bom veículo, ele deve apresentar alta retenção de umidade, facilidade de processamento, ausência de toxidez, facilidade de esterilização, disponibilidade em grande quantidade, baixo custo e boa adesão às sementes (Burton 1981; Ronchi e Balatti 1991; Smith 1992).

Neste contexto, a turfa apresenta-se como um material poroso, altamente polar, e com elevada capacidade de adsorção para metais de transição e moléculas orgânicas polares, devido principalmente ao elevado teor de substâncias húmicas (ácidos húmicos e fúlvico) na sua matéria orgânica (Rosa, Rocha, Furlan 2000; Franchi 2004), rica em grupos funcionais com cargas negativas, como, ácidos carboxílicos e hidroxilas fenólicas e alcoólicas, que são justamente os sítios de adsorção dos metais em solução (Petroni Pires 2000).

Outro material interessante é a vermiculita, uma vez que não é abrasivo, inodoro, possui pH neutro, inerte, é também utilizado na agricultura hidropônica, como condicionador de solos, na composição de fertilizantes, absorve óleos, graxas e metais pesados (Reis 2001). Vermiculitas possuem a propriedade de absorção de líquidos orgânicos entre suas camadas, e quando aquecidas a temperaturas superiores a 300°C, ocorre o fenômeno de exfoliação, que origina uma expansão que pode atingir até 30 vezes o tamanho inicial da partícula (Deer, Howie, Zussman 2000).

Fosfatos de rocha, por sua vez, são materiais com textura subdividida em rochas consolidadas, que apresentam cimentação por sílica, carbonatos ou óxido de ferro e/ou de alumínio, e rochas não consolidadas originárias de processos secundários, como reordenação, lixiviação, intemperização e processos de enriquecimento natural. São oferecidos no mercado de fertilizantes como fosfatos naturais reativos que permitem sua utilização diretamente na agricultura (Hammond 1977).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência destes três diferentes materiais, selecionados com base em suas características, na colonização micorrízica, desempenho produtivo, biomassa e teores foliares de N e P, através da inoculação com o fungo micorrízico *R. clarus* produzido *in vitro*, em plantas de soja (*Glycine max*) e milho (*Zea mays*), cultivadas em tratamentos com adubação completa e tratamentos sem adubação fosfatada.

2. Materiais e métodos

2.1. Experimento em Campo

Os experimentos foram desenvolvidos no município de Londrina - PR, Brasil em área experimental da Universidade Estadual de Londrina (23°34'16'' S, 51°20'77'' W), em sucessão a um cultivo de trigo. O solo da área é classificado como Latossolo Vermelho Distroférico (Embrapa 1999).

2.2. Caracterização química do solo

A caracterização química apontou os seguintes valores: pH (CaCl₂) 5,0; H⁺Al 5,76 cmol_c dm⁻³; Al³⁺ 0,00 cmol_c dm⁻³; Ca²⁺ 5,60 cmol_c dm⁻³; Mg²⁺ 2,05 cmol_c dm⁻³; K⁺ 0,50 cmol_c dm⁻³; P 15,60 mg dm⁻³; C 20,02 g dm⁻³.

2.3. Tratos Culturais

A área utilizada foi previamente manejada a fim de evitar o aparecimento de ervas daninhas com a utilização do herbicida N-(fosfometil) glicina, que corresponde ao produto comercial *Roundup*®, na dose recomendada. O controle da ferrugem asiática da soja foi realizado com a utilização dos produtos: Pyraclostrobina + Epoxiconazol, que correspondem ao produto comercial *Opera*®, e Mancozebe, que equivale ao produto comercial *Unizeb Gold*; Trifloxistrobina + Ciproconazol, que correspondem ao produto comercial *Sphere Max*, + Mancozebe. O controle de pragas e insetos foi realizado por meio da utilização dos produtos: Clorpirifós, que equivale ao produto comercial *Lorsban*, + Imidacloprido, que corresponde ao produto comercial *Imida Gold*, obedecendo as doses recomendadas.

2.4. *Delineamento experimental*

2.4.1. Experimento com Soja

Para adubação da área foram utilizadas doses de 200 kg ha⁻¹ das formulações NPK 00-20-20, e NPK 00-00-20. O delineamento experimental utilizado foi o Delineamento em Blocos Casualizados (DBC), onde foram avaliados sete tratamentos distintos (Tabela 1) com cinco repetições cada. A semeadura foi realizada com o auxílio de uma semeadora manual. Foi adicionado grafite às sementes, afim de garantir que não houvesse atrito da semente para com os componentes da semeadora, propiciando um estande uniforme. O espaçamento utilizado foi de 0,1 m entre sementes de soja, com 6 linhas por parcela, separadas por 0,45 m. Cada parcela foi delimitada com 5,0 m de comprimento por 3,0 m de largura, com população estimada de 200 mil plantas ha⁻¹. Como área útil para coleta de dados foram considerados 12 m² referentes as quatro linhas centrais, desconsiderando as duas linhas externas, além de 1,0 m das extremidades, que serviram de bordadura. A semeadura da soja foi realizada no dia 03 de dezembro de 2014 e a colheita no dia 06 de abril de 2015.

2.4.2. Experimento com Milho

A adubação da área foi realizada utilizando doses de 200 kg ha⁻¹ das formulações NPK 00-20-20, e NPK 00-00-20. Foi utilizado como delineamento experimental o Delineamento em Blocos Casualizados (DBC), onde foram avaliados sete tratamentos distintos (Tabela 1) com cinco repetições cada. A semeadura foi realizada com o auxílio de uma semeadora manual com adição de grafite às sementes. O espaçamento utilizado foi de 0,3 m entre sementes de milho, com 6 linhas por parcela, separadas por 0,45 m. Cada parcela foi delimitada com 5,0 m de comprimento por 3,0 m de largura, com população de plantas estimada em 66,7 mil plantas ha⁻¹. Como área útil para coleta de dados foram considerados 12 m² referentes as quatro linhas centrais, desconsiderando as duas linhas externas, além de 1,0 m das extremidades, que

serviram de bordadura. A semeadura do milho foi realizada no dia 12 de dezembro de 2014 e colhido no dia 06 de maio de 2015.

Tabela 1. Tratamentos avaliados para cultura da soja e do milho sob diferentes adubações.

Soja		Milho	
Tratamento	Adubação	Tratamento	Adubação
TA: Tratamento Agronômico	NPK; 00-20-20	TA: Tratamento Agronômico	NPK; 10-10-10
MAT-P: MA + Turfa	NPK; 00-00-20	MAT-P: MA + Turfa	NPK; 10-00-10
MAFR-P: MA + Fosfato de Rocha	NPK; 00-00-20	MAFR-P: MA + Fosfato de Rocha	NPK; 10-00-10
MAV-P: MA + Vermiculita	NPK; 00-00-20	MAV-P: MA + Vermiculita	NPK; 10-00-10
MAT+P: MA + Turfa	NPK; 00-20-20	MAT+P: MA + Turfa	NPK; 10-10-10
MAFR+P: MA + Fosfato de Rocha	NPK; 00-20-20	MAFR+P: MA + Fosfato de Rocha	NPK; 10-10-10
MAV+P: MA + Vermiculita	NPK; 00-20-20	MAV+P: MA + Vermiculita	NPK; 10-10-10

2.5. Cultivares utilizadas

Para a semeadura da soja, foram utilizadas sementes BMX Potência RR (Brasmax), tratadas com produto Metalaxil-M + Fludioxonil na dose recomendada. A cultivar pertence ao grupo de maturação semi-precoce, com baixa exigência a fertilidade, hábito de crescimento indeterminado, de porte alto, resistente ao acamamento, resistente ao Cancro de Haste, a Podridão Radicular de *Phytophthora*, moderadamente resistente a Mancha Olho-de-Rã e susceptível a Pústula Bacteriana.

Para a semeadura do milho, foram utilizadas sementes DOW PowerCore 2B688HR (Dow AgroSciences), tratadas com produto Metalaxil-M + Fludioxonil na dose recomendada. A cultivar é caracterizada como híbrido triplo, pertencente ao grupo de maturação das superprecoce, de ciclo precoce, época de plantio C/N/T/S (cedo, normal, tardio, safrinha), textura semiduro, resistência alta ao acamamento, altura de planta de 2,10 m.

2.6. Condições climáticas

Os dados climáticos correspondentes ao período em que o experimento foi conduzido foram obtidos a partir das observações da estação meteorológica do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR). A temperatura média e a precipitação acumulada em três decêndios de cada mês, são apresentadas na Figura 1.

O experimento com soja apresentou temperatura média diária de 24 °C e precipitação acumulada, no período de 03/12/14 a 06/04/15 igual a 737,5 mm, valor 18,7% maior do que o observado no mesmo período da safra anterior quando foram registrados 621,1 mm. Enquanto o experimento com milho apresentou temperatura média diária de 23,5 °C, com precipitação acumulada no período de 12/12/14 a 06/05/14 igual a 811,1 mm, valor 13,9% maior do que o observado no mesmo período da safra anterior.

2.7. Inoculação com *Rhizophagus clarus*

O inóculo de *R. clarus*, foi obtido da coleção do Laboratório de Ecologia Microbiana – LEM, onde previamente foram realizados os procedimentos: cultivo de raízes hospedeiras; desinfecção de propágulos; germinação de esporos; indução da associação micorrízica *in vitro* e subcultivo do FMA *in vitro*.

O inóculo de *R. clarus* foi produzido em condições *in vitro*, em associação com raízes de cenoura (*Daucus carota* L.) transformadas (Ri T-DNA). A sobrevivência do inóculo foi garantida através do subcultivo contínuo de fragmentos jovens de raízes colonizadas, em meio mineral mínimo M (Bécard; Fortin 1988). Para inoculação do FMA *R. clarus* nas sementes de soja e milho foram utilizados três diferentes materiais, sendo: turfa, vermiculita e fosfato de rocha, como veículos para o inóculo, conforme patente BR 1020140173897 de 15/07/2014.

Tanto para as sementes de soja, quanto para as sementes de milho, foram preparados três recipientes, aos quais foram adicionados um material adjuvante, com a finalidade de promover a adesão de hifas, esporos e fragmentos de raízes, em seguida foi adicionado o inóculo do FMA *R. clarus*, e por fim foram adicionados separadamente, a vermiculita, a turfa e o fosfato de rocha. Todo o material foi homogeneizado e armazenado para posterior semeadura. A concentração do inóculo utilizada foi de aproximadamente 47,5 esporos do fungo para cada grama de semente.

Ao final do experimento as plantas de soja e milho foram avaliadas quanto a: matéria seca, teores de fósforo e nitrogênio da parte aérea, potencial de colonização pelo FMA *R. clarus* e produtividade de grãos.

2.8. Avaliações

Para determinação da matéria seca, foram coletadas cinco plantas de linhas adjacentes as três linhas centrais, por parcela de cada tratamento do experimento, após constatado o início do florescimento em fase de desenvolvimento R1. Em seguida, essas plantas foram secas a 50 °C até massa constante, e pesadas. A expressão dos resultados foi estimada em gramas por planta.

A determinação de Fósforo e Nitrogênio foi realizada através da colheita dos folíolos do terceiro trifólio, a partir do ápice, sem pecíolo, após constatado o início do florescimento, em fase de desenvolvimento R1. Para o milho, foram coletadas folhas opostas e abaixo da primeira espiga (superior), excluída a nervura central, após o surgimento da inflorescência feminina. Ambas foram secas em estufa a 52 °C até massa constante e em seguida moídas. O fósforo foi extraído por digestão nitroperclórica e quantificado de acordo com o Murphy e Riley (1962), enquanto o nitrogênio foi extraído por meio de digestão sulfúrica e quantificado de acordo com Sarruge e Haag (1974).

O sucesso da colonização pelo FMA, foi avaliado através da coleta das raízes de cinco plantas de soja e milho, após constatado o início do florescimento em fase de desenvolvimento R1, de linhas adjacentes as três linhas centrais, que posteriormente foram clarificadas e coradas segundo Phyllips e Hayman (1970). As estruturas fúngicas foram visualizadas e contabilizadas com o auxílio de um estereoscópio (40x) pelo método de grid-line (Giovanetti e Mosse 1980).

A determinação da produtividade de grãos foi realizada através da colheita de 3 m² das linhas centrais de cada parcela, de ambos os experimentos. Em seguida foi estimado o peso em ton ha⁻¹ para soja e milho.

2.9. Análise Estatística

Para verificar se os dados obtidos seguem distribuição normal, aplicou-se o teste Shapiro-Wilk com $\alpha= 5\%$. A homogeneidade das variâncias foi verificada através do teste de Bartlett com $\alpha= 5\%$. Uma vez que todos os resultados atenderam aos pressupostos, aplicou-se a análise de variância. As médias foram comparadas pelo teste de Duncan através do programa estatístico R, considerando $p<0,10$ (Nelson 1989).

3. Resultados e Discussões

O estudo de produção de inoculante agrícola a base de fungos micorrízicos arbusculares é recente, e são poucos os experimentos relatados na literatura que elucidem sobre os efeitos destes para com as grandes culturas, em termos de produtividade. Grande parte desses ensaios é realizado a partir da inoculação com fungos advindos diretamente do solo, mantidos em associação com plantas hospedeiras.

3.1. Condições Climáticas

A faixa de temperatura do ar para que a soja melhor se desenvolva é de 20 °C a 30 °C, sendo que a temperatura de 30 °C é considerada ideal para o seu crescimento e desenvolvimento. A disponibilidade de água é importante, principalmente em dois períodos de desenvolvimento da soja: germinação-emergência e floração-enchimento dos grãos. Nesses períodos, tanto o excesso quanto o déficit hídrico são prejudiciais a obtenção de uma boa uniformidade na população de plantas (Embrapa 2013).

Na cultura do milho, o ponto de crescimento, encontrado abaixo da superfície do solo, é bastante afetado pela temperatura do solo nos estádios iniciais do crescimento. Temperaturas baixas podem aumentar o tempo entre um estágio e outro, alongando o ciclo da cultura, podendo aumentar o número total de folhas, atrasar a formação do pendão e diminuir a disponibilidade de nutrientes para a planta. A disponibilidade de água nesse estágio é fundamental, por outro lado, o excesso de umidade ou encharcamento, quando o ponto de crescimento ainda se encontra abaixo da superfície do solo, pode matar a planta em poucos dias (Embrapa 2015).

Neste experimento foram verificados períodos de estresse hídrico tanto no início do ciclo de ambas as culturas, no mês de dezembro de 2014, possivelmente prejudicando a germinação e a emergência das plântulas, e a formação da população final de plantas, como no período que compreendeu a floração-enchimento dos grãos de soja e em que o milho se encontrava em estágio R1, em janeiro de 2015.

3.2. Soja

A partir dos resultados obtidos, foi possível verificar que o tratamento que recebeu inóculo do FMA, por meio da utilização de vermiculita como veículo, acrescida de adubação NPK: 00-20-20 (MAV+P) diferiu significativamente do tratamento que utilizou a turfa como veículo com adubação NPK: 00-20-20 (MAT+P), apresentando maior número de raízes colonizadas (63,5%) (Figura 3), fato que pode estar relacionado com o maior crescimento micelial e esporulação observados nos espaços interlamelares do veículo, possivelmente preservando os propágulos infectivos, e consequentemente incrementando a colonização micorrízica.

No entanto, ambos os tratamentos não diferiram significativamente do Tratamento Agrônomico, com adubação NPK: 00-20-20 (TA), resultado que pode ser justificado pelo alto teor de fósforo presente no solo da área utilizada. Vários estudos comprovam que o P, em doses elevadas, inibe a CM. De acordo com Paul e Clark (1996), na maioria das plantas, concentrações elevadas de P e N, inibem a colonização micorrízica. Fenômeno observado por Bressan *et al.* (2001), que ao avaliarem o efeito de diferentes doses de P na CM de três espécies de FMAs (*Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Rhizophagus clarus*) verificaram inibição para todas as espécies em doses elevadas de P.

Cely (2014) observou também, incremento em relação aos teores de N e P em até 24% para plantas inoculadas com FMA e com adubação NPK 00-20-20 quando comparadas a plantas que apenas receberam a adubação química, divergindo dos resultados obtidos neste experimento, uma vez que não se verificou diferença estatística dos tratamentos que receberam inoculação do FMA para com o tratamento agronômico, apenas adubado.

O tratamento com turfa como veículo, com adubação NPK: 0-20-20, foi o que apresentou maiores valores para matéria seca (Figura 4), diferindo significativamente de TA. Os demais tratamentos não apresentaram diferença entre si e nem para com TA. Bressan *et al.* (2001), verificaram que o P em altas doses inibiu a CM, porém sua maior disponibilidade no solo beneficiou o incremento da MS da parte aérea, possivelmente pela ação das MAs no aumento da nodulação e fixação biológica do nitrogênio (FBN).

Quanto a produtividade (Figura 5), o tratamento que utilizou vermiculita como veículo para o inóculo, acrescido de NPK 0-0-20 (MAV-P) foi o que demonstrou ser mais eficiente em proporcionar rendimento de grãos, apresentando valor médio de produtividade de 5,0 ton ha⁻¹, 23,9% a mais do que o tratamento que utilizou fosfato de rocha como veículo para o inóculo, acrescido de NPK 0-20-20 (MAFR-P) que apresentou valor médio de produtividade de 4,0 ton ha⁻¹, e 16% a mais sobre o valor apresentado pelo tratamento agronômico (TA), que alcançou 4,3 ton ha⁻¹. Fato que pode ser justificado pelas propriedades físicas do veículo, como elevação da aeração e o aumento da capacidade de retenção de água e nutrientes, contribuindo para a efetividade da associação micorrízica em absorver e translocar P do solo para a planta, conseqüentemente incrementando a produtividade.

A análise foliar para o fósforo da parte aérea (Figura 6), revelou que, assim como para produtividade, houve diferença significativa entre MAV-P e MAFR-P. MAV-P foi o que apresentou maiores teores do nutriente. Ambos não diferiram significativamente dos demais tratamentos. A análise foliar para nitrogênio (Figura 7), revelou que MAFR-P apresentou maiores teores do nutriente na parte aérea das plantas, diferindo significativamente de MAT+P, ambos não diferiram significativamente dos demais tratamentos.

3.3. Milho

As plantas de milho, ao serem avaliadas quanto ao potencial de colonização micorrízica (Figura 8), revelou que MAFR-P com 57,5% das raízes colonizadas diferiu significativamente de TA que apresentou 47,2%, diferindo também de MAV-P (43,3%) e MAV+P (42,4%). MAFR+P, também diferiu significativamente de MAV+P e MAV-P, com 55,9% de raízes colonizadas, porém não apresentou diferença significativa para TA. Possivelmente os baixos valores de P presentes no próprio veículo, somados ao P presente no solo tenham contribuído para o estabelecimento da MA. Bressan e Vasconcellos (2002), em estudo sobre a influência da CM na morfologia de raízes de milho, relata que o fósforo estimula a CM em doses de até 100 mg kg de solo, e acima deste valor, começa a inibir a associação.

A análise da matéria seca das plantas de milho (Figura 9), revelou que MAT+P, apresentou os valores mais elevados para matéria seca, apresentando diferença significativa de MAT-P, MAFR-P, MAV+P e MAV-P. MAFR+P foi diferente significativamente de MAV+P e MAV-P. O tratamento agrônomico apresentou diferença significativa para MAV-P, assim como MAT-P e MAFR-P, que também diferiram de MAV-P.

MAT+P, assim como para matéria seca, foi também o que apresentou maiores valores de produtividade (Figura 10), em torno de 11,6 ton ha⁻¹, 73% a mais do que MAV+P, além de proporcionar 20% a mais em termos de produtividade em relação a TA. MAFR-P proporcionou aumento de 56,7% em relação a MAV+P, e 9% em relação a TA.

A caracterização química da área utilizada para o cultivo do milho, apresentou resultado de pH de 5,0, valor em que o óxido de alumínio (Al₂O₃) presente na composição da vermiculita é facilmente solubilizado, e em doses tóxicas pode agir na redução da taxa de crescimento radicular de plantas sensíveis, afetando o alongamento e a divisão celular. Essa restrição diminui a capacidade da planta para obter água e nutrientes do subsolo, em virtude do enraizamento superficial, tornando-a, portanto, menos produtiva (Ferreira; Moreira; Rassini 2006). Essa toxidez do alumínio provindo da vermiculita pode estar relacionada aos baixos valores de matéria seca e produtividade apresentados nos tratamentos em que foi utilizado esse substrato como veículo para o inóculo.

Outra hipótese baseia-se no fato de que a vermiculita é um material que possui como uma de suas principais características a retenção de humidade, fator que aliado a alta precipitação apresentada no mês de dezembro de 2014, em época que precedeu a germinação das sementes, pode ter prejudicado a germinação e emergência das plântulas de milho, e conseqüentemente as outras variáveis analisadas.

A análise foliar das plantas de milho, quanto ao fósforo (Figura 11), indicou que o tratamento MAV+P demonstrou ser mais promissor quanto a absorção e translocação de fósforo, diferindo significativamente de TA. Ambos não diferiram dos demais tratamentos, possivelmente devido aos altos teores de P presentes no solo, aliados a adubação fosfatada, resultando em uma maior absorção e translocação no nutriente do solo para parte aérea, independentemente da CM. Em relação a análise de nitrogênio (Figura 12), a inoculação com FMA apresentou melhores resultados em MAFR+P, diferindo significativamente de MAFR-P. Ambos não diferiram para os demais tratamentos.

4. Conclusão

Os resultados obtidos indicam que a turfa e a vermiculita foram os materiais que apresentaram melhor funcionalidade como veículos para o inóculo no experimento com plantas de soja, proporcionando maiores valores para matéria seca e produtividade respectivamente.

Em relação ao experimento com plantas de milho, foi verificado que a turfa foi o melhor veículo avaliado quanto a produtividade, proporcionando rendimento 21% maior em comparação ao tratamento

agronômico. Enquanto a vermiculita, como veículo para o inóculo, apresentou os piores resultados quanto as variáveis matéria seca e produtividade.

5. Referências bibliográficas

Bagyaraj JD, Stürmer SL (2010) Amostragem e caracterização da biodiversidade. In: Siqueira JO, Souza FA, Cardoso JBN, Tsai SM (ed) **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA. p. 716.

Bécard, G, Fortin, JA (1988) Early events of vesicular–arbuscular mycorrhiza formation on Ri T-DNA transformed roots. **New Phytologist** 108 211-218

Bertolazi AA, Canton GC, Azevedo IG, Cruz ZMA, Soares DNES, Conceição JM, Santos WO, Ramos AC (2010) The role of ectomycorrhiza in heavy metals bioremediation in soil. **Natureza online** 1: 24-31

Bressan W, Siqueira JO, Vasconcellos CA, Purcino ACP (2001) Fungos micorrízicos e fósforo, no crescimento, nos teores de nutrientes e na produção do sorgo e soja consorciados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 36:315-323

Bressan W, Vasconcellos CA (2002) Alterações morfológicas no sistema radicular do milho induzidas por fungos micorrízicos e fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 37:509-517

Brundrett MC (2002) Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. **New Phytologist**. 154:275–304

Burton JC (1985) *Rhizobium* inoculants for developing countries. **Tropical Agriculture**, v. 58, p. 291-295.

Cardoso EJBN, Cardoso IM, Nogueira MA, Baretta CRDM, Paula MA (2010) Micorrizas arbusculares na aquisição de nutrientes pelas plantas. In: Siqueira JO, Souza FA, Cardoso EJBN, Tsai SM (ed) **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Editora UFLA: Lavras, 716.

Cavalcante UMT, Goto BT, Maia LC (2009) Aspectos da simbiose micorrízica arbuscular. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica** 5-6:180-208

Cely MVT (2014) **Produção de inóculo *in vitro* de *Rhizophagus clarus* e sua aplicação em sistemas agrícolas**. 2014. Tese, Univeridade Estadual de Londrina.

Deer WA, Howie, RA, Zussman Y (2000) **Minerais constituintes das rochas: Uma introdução**. 2. ed. Lisboa: Editora Fundação Calouste Gulbenkian, p. 391-396

Declerck S, Séguin S, Dalpé Y (2005) The monoxenic culture of arbuscular mycorrhizal fungi as a tool for germplasm collections. In: Declerck S, Strullu DG, Fortin JA (ed) ***In vitro* culture of mycorrhizas**. Berlin: Springer, p. 17-29

Elsen A, Gervacio D, Swennen R, de Waele D (2008) AMF-induced biocontrol against plant parasitic nematodes in *Musa* sp.: a systemic effect. ***Mycorrhiza*** 18:251-256. doi: 10.1007/s00572-008-0173-6

Embrapa (1999) **Sistema brasileiro de classificação de solos**. EMBRAPA, Brasília

Embrapa (2013) **Tecnologia de produção de soja** – Região central do Brasil 2014. EMBRAPA, Londrina

Embrapa (2015) **Cultivo do Milho**. EMBRAPA, Sete Lagoas. <<https://www.spo.cnptia.embrapa.br/temas-publicados>>. Acesso em 27 mar 2016

Ferreira RP, Moreira A, Rassini JB (2006). **Toxidez de alumínio em culturas anuais**. EMBRAPA, São Carlos

Franchi JG (2004) **A utilização de turfa como adsorvente de metais pesados**. 2004. Dissertação (Doutorado) - Instituto de geociências, Universidade de São Paulo

Garg, N., Chandel, S (2010) Arbuscular mycorrhizal networks: process and functions, a review. ***Agronomy for Sustainable Development*** 30:581-599

Giovanetti M, Mosse B (1980) Na Evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular micorrhizal infections in roots. ***New Phytologist*** 84:489-500. doi:10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x

Hammond LL (1977) **Research on direct application of phosphate rock in the Agro-Economic Division**. IFDC: Florence, Alabama. 15 p

Iapar (2015) **Dados Diários de Londrina**. <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=2085>>. Acesso em 15 mar 2016.

Jung, SC, Martinez-Medina, A, Lopez-Raez, JÁ, Pozo, MJ (2012) Mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses. ***Journal of Chemical Ecology*** 38:651-664

Moreira FS, Siqueira JO (2006) **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2nd edn. UFLA, Lavras

Murphy J, Riley JP (1962) A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. ***Analytica Chimica Acta*** 27:31-36. doi:10.1016/S0003-2670(00)88444-5

Nelson LA (1989) A statistical editor's viewpoint on statistical usage in horticultural science publications. **Mycological Research** 94:120-122.

Paul EA, Clark FE (1996) **Soil microbiology and biochemistry**. 2nd edn. Academic Press, California

Petroni SLG, Pires MAF (2000) Adsorção de Zinco e Cádmio em colunas de turfa. **Química Nova**, v. 23, p. 477-481

Phillips J, Hayman D (1970) Improved producers for clearing roots and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society** 55:158-160

Reis E (2001) **Vermiculita no Brasil: Situação Atual**. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, p. 2

Reis VM, Andrade G, Faria SM, Silveira APD (2010) Interações de fungos micorrízicos arbusculares com outros microrganismos do solo. In: Siqueira JO, Souza FA, Cardoso JBN, Tsai SM (ed) **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA, p. 361-413.

Rillig MC (2004) Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. **Canadian Journal of Soil Science** 84:355-363.

Ronchi AL, Balatti AP (1991). Selección de soportes para la producción de inoculantes para leguminosas. **Revista de la Facultad de Agronomía** v. 12, p. 209-217

Rosa AH, Rocha JC, Furlan M (2000). Substâncias húmicas de turfa: estudo dos parâmetros que influenciam no processo de extração alcalina. **Química Nova**, v. 23, p. 472-476

Sarruge JR, Haag HP (1974) **Análises químicas em plantas**. ESALQ – USP, Piracicaba

Smith RS (1992) Legume inoculant formulation and application. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 485-492

Smith SE, Read DJ (2008) **Mycorrhizal symbiosis**, 3rd edn. Academic Press, Boston

6. Figuras

Figura 1 / Temperatura média, e precipitação acumulada em três decêndios de cada mês, registrados no ano agrícola de 2014/15 para o município de Londrina – PR.

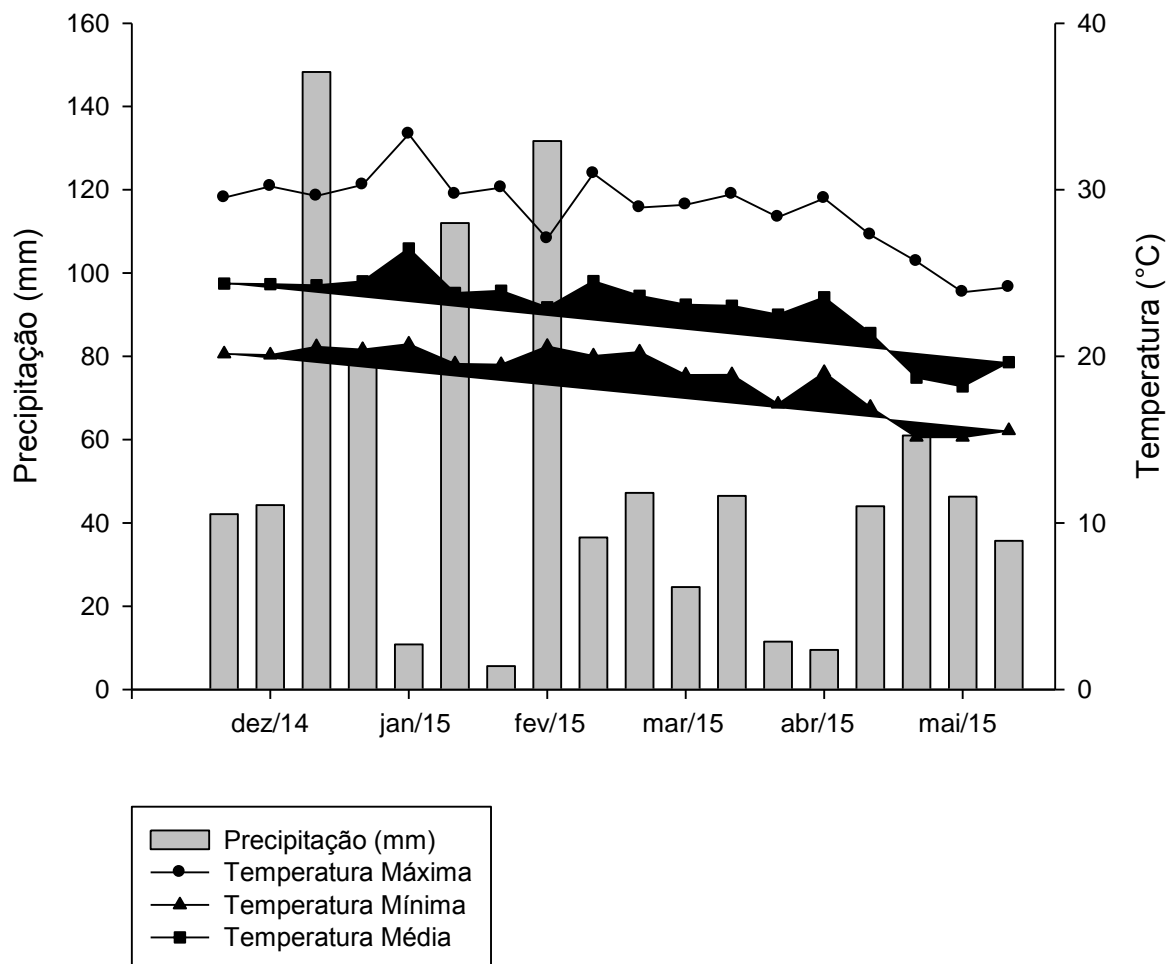
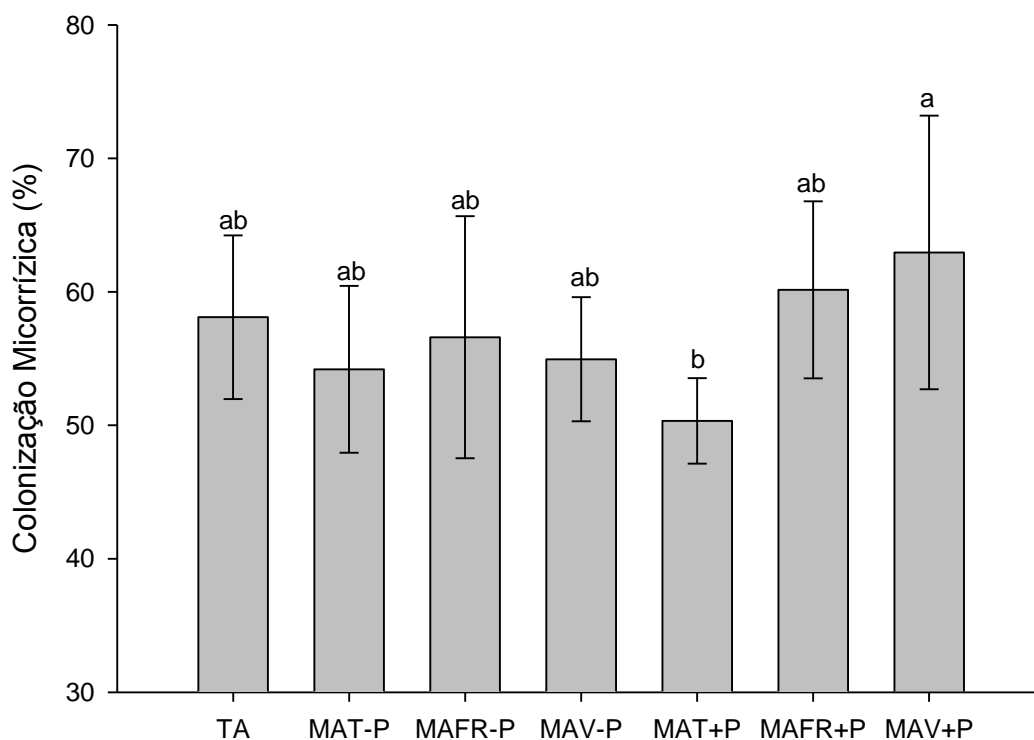
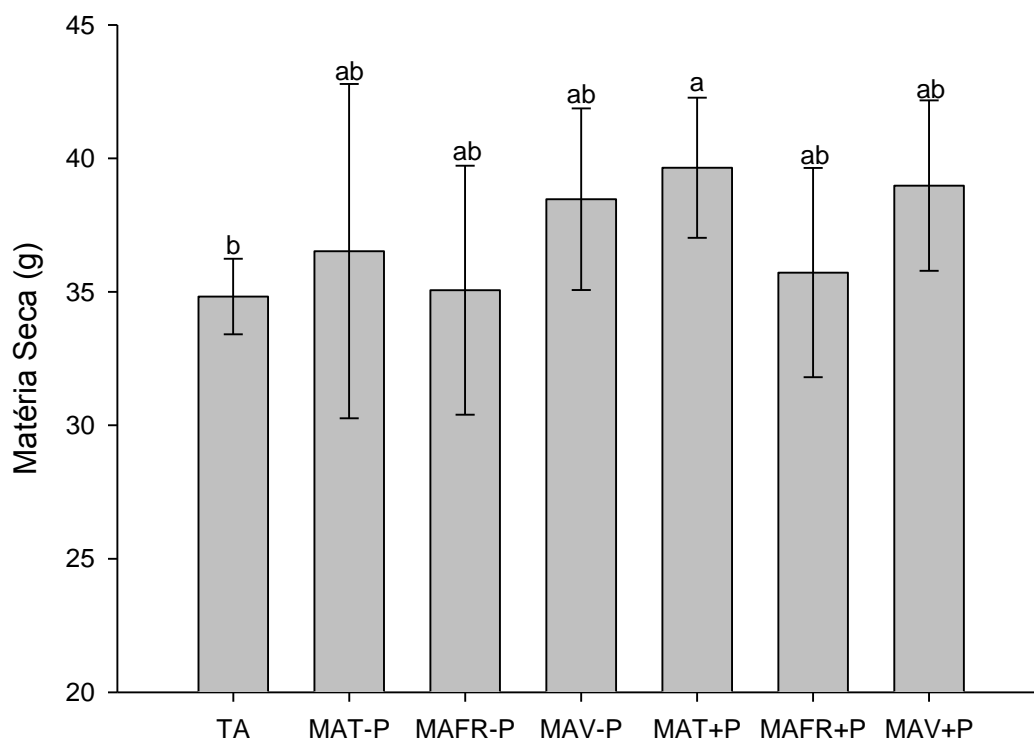


Figura 2 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre a Colonização Micorrízica de plantas de soja colhidas em estágio R1. Colunas seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa ($p < 0,10$) pelo teste de Duncan. Barras representam o desvio padrão de cada tratamento. Coeficiente de Variação = 12,5%.



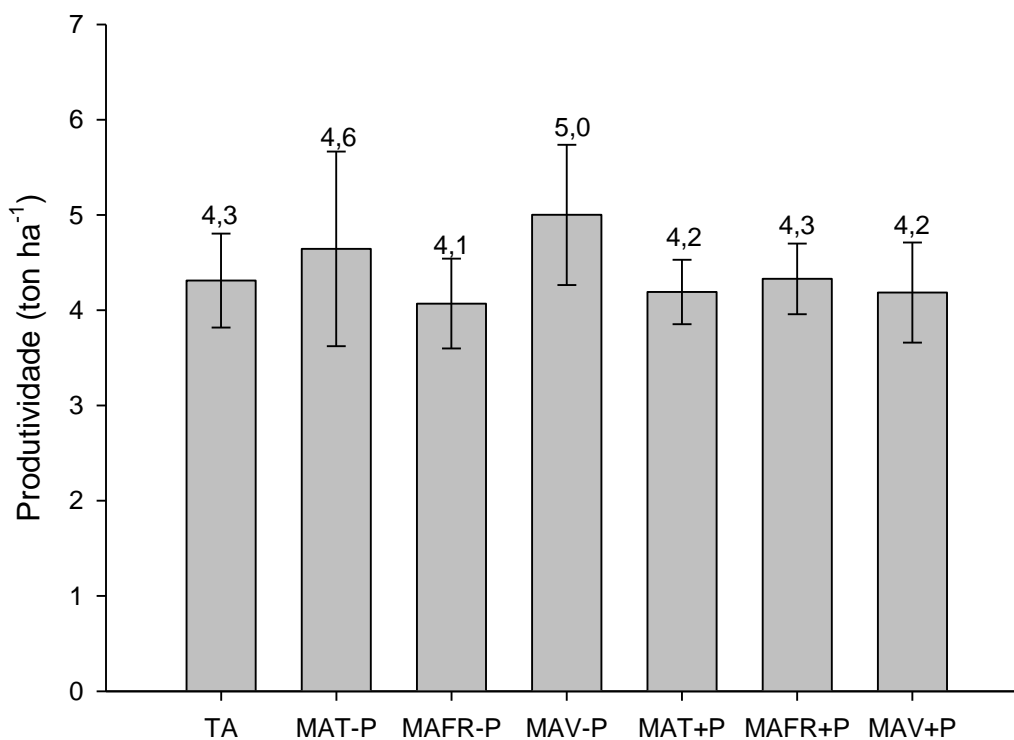
- TA: Tratamento agrônômico (NPK 00-20-20)
- MAT-P: MA 19 + Turfa (NPK 00-00-20)
- MAFR-P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 00-00-20)
- MAV- P: MA + Vermiculita (NPK 00-00-20)
- MAT+P: MA + Turfa (NPK 00-20-20)
- MAFR+P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 00-20-20)
- MAV+P: MA + Vermiculita (NPK 00-20-20)

Figura 3 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre a matéria seca de plantas de soja colhidas em estágio R1. Colunas seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa ($p < 0,10$) pelo teste de Duncan. Barras representam o desvio padrão de cada tratamento. Coeficiente de Variação = 10,7%.



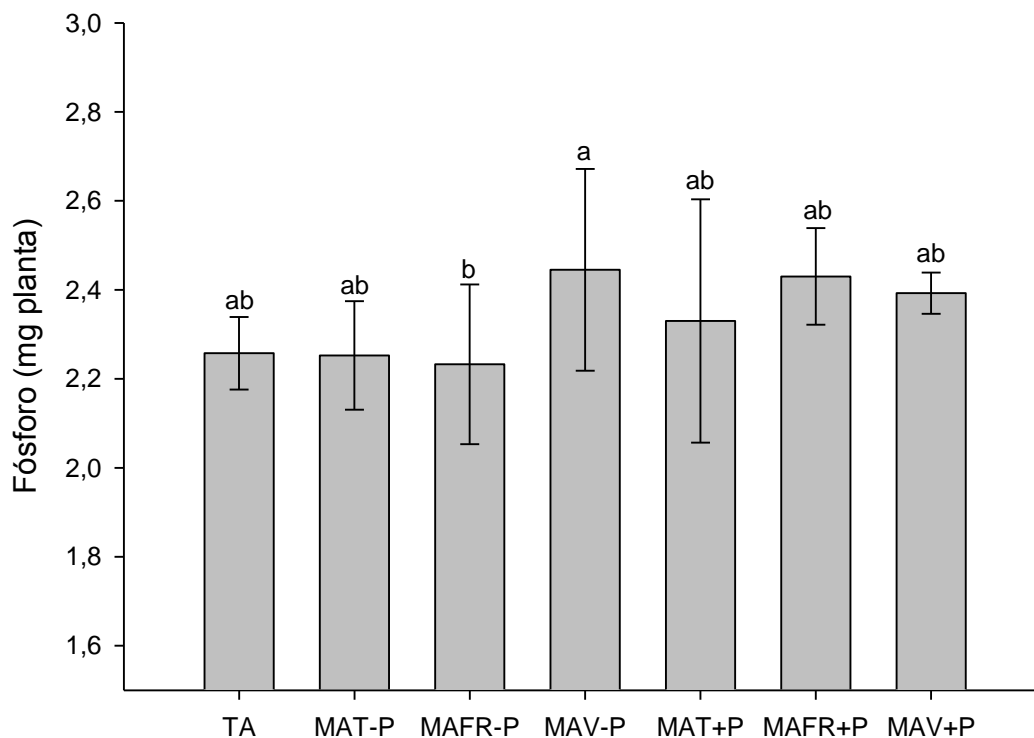
- TA: Tratamento agrônômico (NPK 00-20-20)
- MAT-P: MA 19 + Turfa (NPK 00-00-20)
- MAFR-P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 00-00-20)
- MAV-P: MA + Vermiculita (NPK 00-00-20)
- MAT+P: MA + Turfa (NPK 00-20-20)
- MAFR+P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 00-20-20)
- MAV+P: MA + Vermiculita (NPK 00-20-20)

Figura 4 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre a produtividade de grãos de plantas de soja. Colunas seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa ($p < 0,10$) pelo teste de Duncan. Barras representam o desvio padrão de cada tratamento. Coeficiente de Variação = 13,4%.



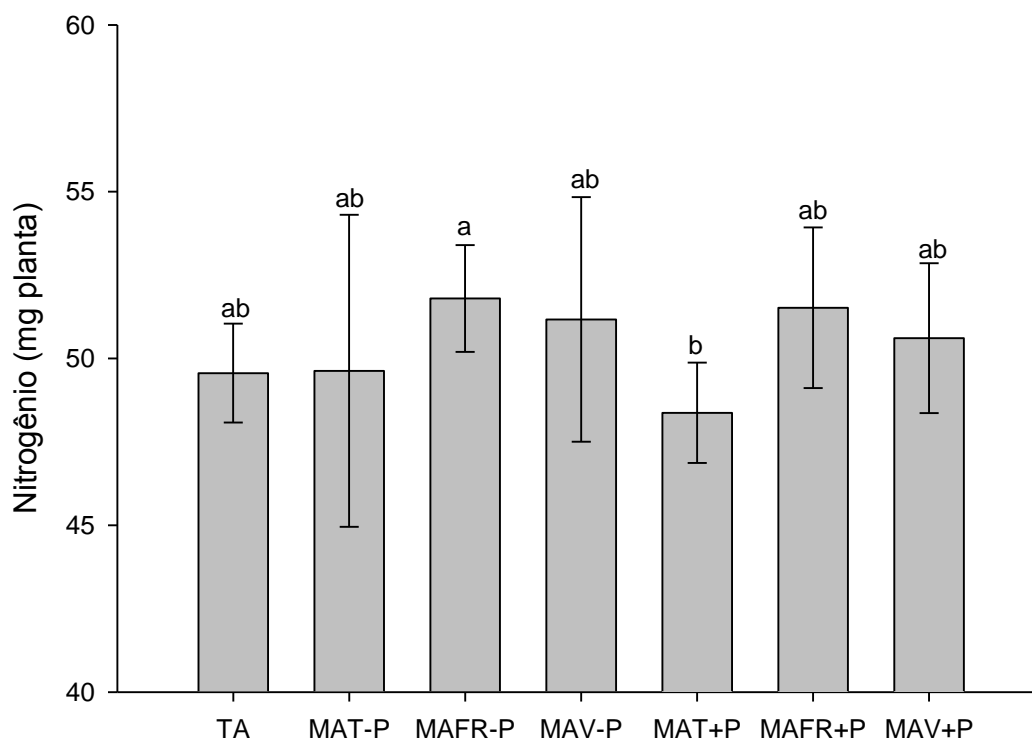
- TA: Tratamento agronômico (NPK 00-20-20)
- MAT-P: MA 19 + Turfa (NPK 00-00-20)
- MAFR-P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 00-00-20)
- MAV-P: MA + Vermiculita (NPK 00-00-20)
- MAT+P: MA + Turfa (NPK 00-20-20)
- MAFR+P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 00-20-20)
- MAV+P: MA + Vermiculita (NPK 00-20-20)

Figura 5 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre os teores foliares de Fósforo de plantas de soja colhidas em estágio R1. Colunas seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa ($p < 0,10$) pelo teste de Duncan. Barras representam o desvio padrão de cada tratamento. Coeficiente de Variação = 7,1%.



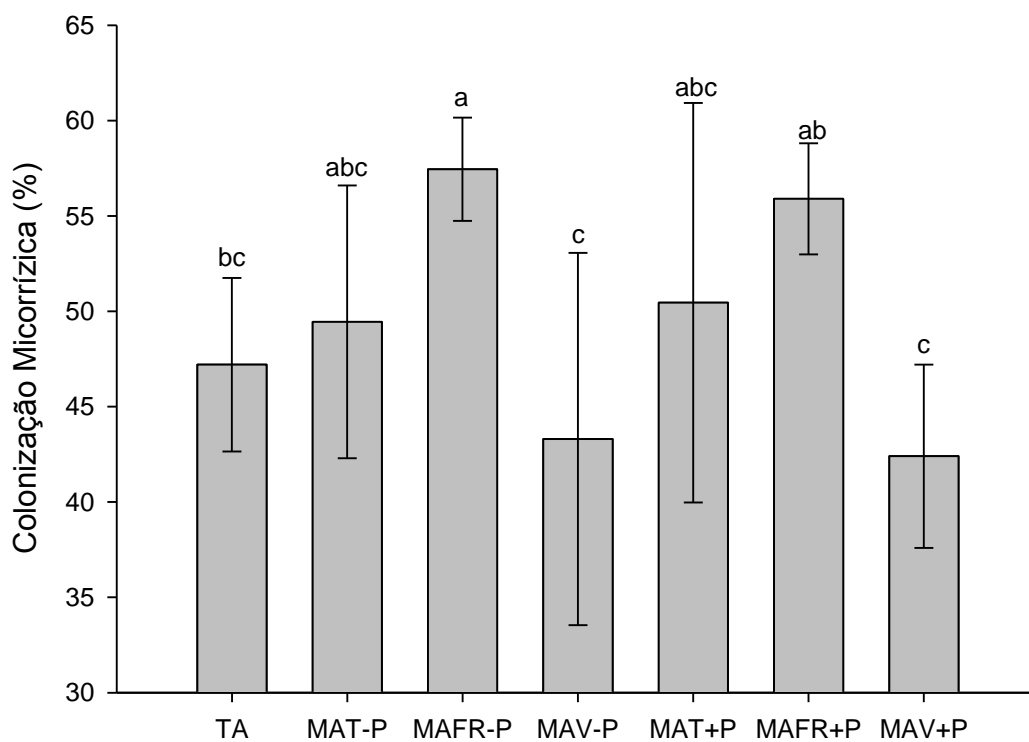
- TA: Tratamento agrônômico (NPK 00-20-20)
- MAT-P: MA 19 + Turfa (NPK 00-00-20)
- MAFR-P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 00-00-20)
- MAV-P: MA + Vermiculita (NPK 00-00-20)
- MAT+P: MA + Turfa (NPK 00-20-20)
- MAFR+P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 00-20-20)
- MAV+P: MA + Vermiculita (NPK 00-20-20)

Figura 6 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre os teores foliares de Nitrogênio de plantas de soja colhidas em estágio R1. Colunas seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa ($p < 0,10$) pelo teste de Duncan. Barras representam o desvio padrão de cada tratamento. Coeficiente de Variação = 5,6%.



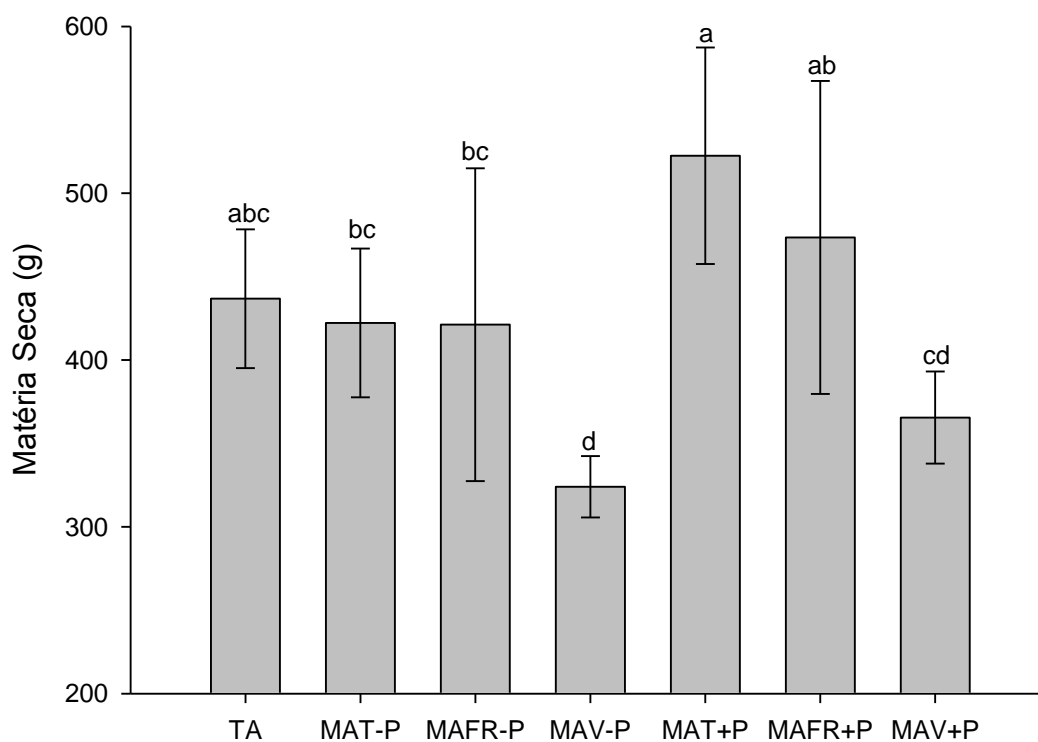
- TA: Tratamento agronômico (NPK 00-20-20)
- MAT-P: MA 19 + Turfa (NPK 00-00-20)
- MAFR-P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 00-00-20)
- MAV-P: MA + Vermiculita (NPK 00-00-20)
- MAT+P: MA + Turfa (NPK 00-20-20)
- MAFR+P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 00-20-20)
- MAV+P: MA + Vermiculita (NPK 00-20-20)

Figura 7 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre a Colonização Micorrízica de plantas de milho (*Zea mays* L.) colhidas em estágio R1. Colunas seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa ($p < 0,10$) pelo teste de Duncan. Barras representam o desvio padrão de cada tratamento. Coeficiente de Variação = 12,8%.



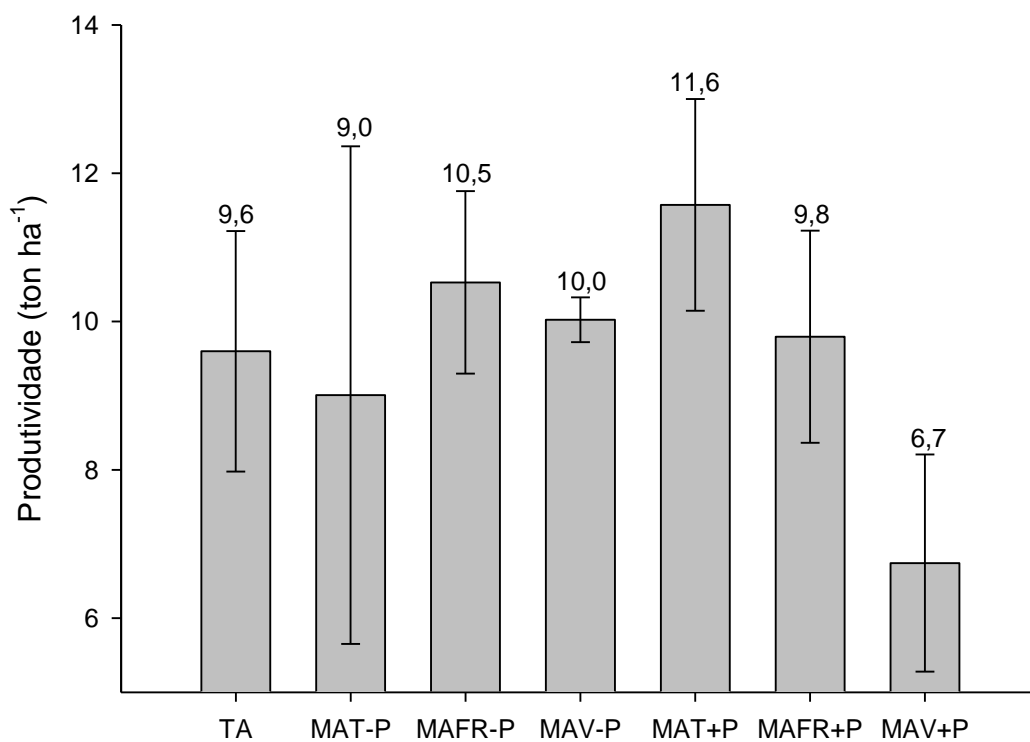
- TA: Tratamento agronômico (NPK 10-10-10)
- MAT-P: MA 19 + Turfa (NPK 10-00-10)
- MAFR-P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 10-00-10)
- MAV-P: MA + Vermiculita (NPK 10-00-10)
- MAT+P: MA + Turfa (NPK 10-10-10)
- MAFR+P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 10-10-10)
- MAV+P: MA + Vermiculita (NPK 10-10-10)

Figura 8 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre a matéria seca de plantas de milho (*Zea Mays* L.) colhidas em estágio R1. Colunas seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa ($p < 0,10$) pelo teste de Duncan. Barras representam o desvio padrão de cada tratamento. Coeficiente de Variação = 15,5%.



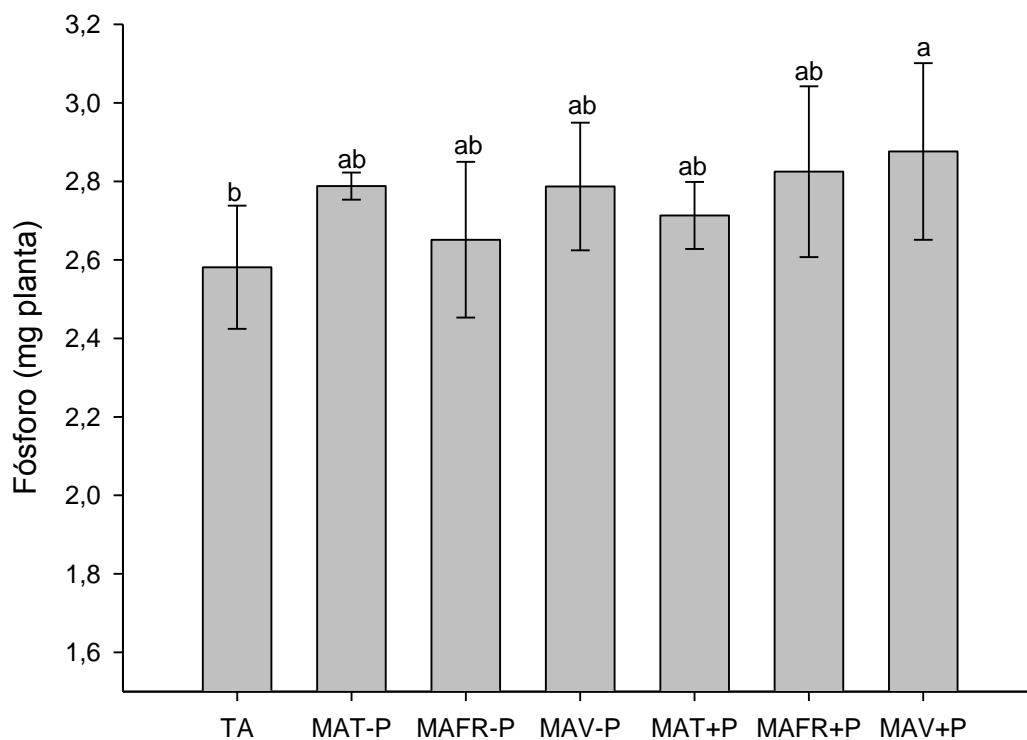
- TA: Tratamento agronômico (NPK 10-10-10)
- MAT-P: MA 19 + Turfa (NPK 10-00-10)
- MAFR-P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 10-00-10)
- MAV-P: MA + Vermiculita (NPK 10-00-10)
- MAT+P: MA + Turfa (NPK 10-10-10)
- MAFR+P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 10-10-10)
- MAV+P: MA + Vermiculita (NPK 10-10-10)

Figura 9 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre a produtividade de grãos de plantas de milho (*Zea Mays* L.). Colunas seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa ($p < 0,10$) pelo teste de Duncan. Barras representam o desvio padrão de cada tratamento. Coeficiente de Variação = 19,3%.



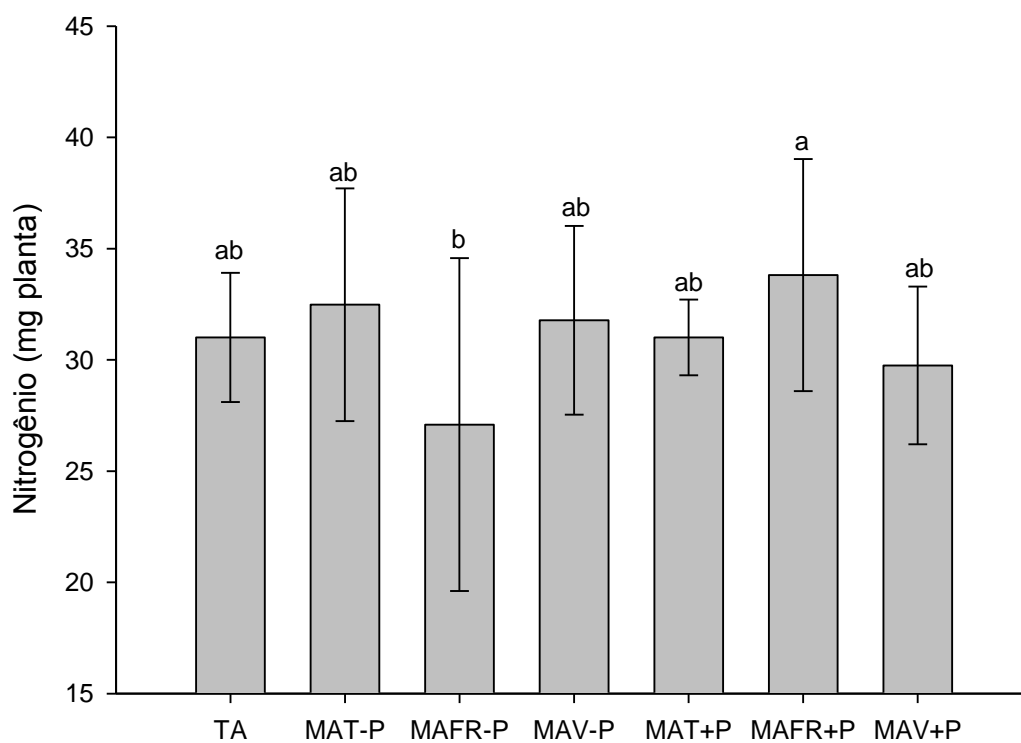
- TA: Tratamento agrônômico (NPK 10-10-10)
- MAT-P: MA 19 + Turfa (NPK 10-00-10)
- MAFR-P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 10-00-10)
- MAV-P: MA + Vermiculita (NPK 10-00-10)
- MAT+P: MA + Turfa (NPK 10-10-10)
- MAFR+P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 10-10-10)
- MAV+P: MA + Vermiculita (NPK 10-10-10)

Figura 10 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre teores foliares de Fósforo de plantas de milho (*Zea mays* L.) colhidas em estágio R1. Colunas seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa ($p < 0,10$) pelo teste de Duncan. Barras representam o desvio padrão de cada tratamento. Coeficiente de Variação = 6,1%.



- TA: Tratamento agrônômico (NPK 10-10-10)
- MAT-P: MA 19 + Turfa (NPK 10-00-10)
- MAFR-P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 10-00-10)
- MAV-P: MA + Vermiculita (NPK 10-00-10)
- MAT+P: MA + Turfa (NPK 10-10-10)
- MAFR+P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 10-10-10)
- MAV+P: MA + Vermiculita (NPK 10-10-10)

Figura 11 - Efeito da inoculação micorrízica através da utilização de diferentes veículos sobre teores foliares de Nitrogênio de plantas de milho (*Zea mays* L.) colhidas em estágio R1. Colunas seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa ($p < 0,10$) pelo teste de Duncan. Barras representam o desvio padrão de cada tratamento. Coeficiente de Variação = 15,3%.



- TA: Tratamento agronômico (NPK 10-10-10)
- MAT-P: MA 19 + Turfa (NPK 10-00-10)
- MAFR-P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 10-00-10)
- MAV-P: MA + Vermiculita (NPK 10-00-10)
- MAT+P: MA + Turfa (NPK 10-10-10)
- MAFR+P: MA + Fosfato de Rocha (NPK 10-10-10)
- MAV+P: MA + Vermiculita (NPK 10-10-10)

5. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos no experimento com plantas de soja, verificou-se que a turfa e a vermiculita, como veículos para o inóculo, foram os materiais que apresentaram melhor funcionalidade, incrementando os valores obtidos para matéria seca e produtividade respectivamente.

Quanto ao experimento com plantas de milho, foi verificado que a turfa foi o melhor veículo avaliado quanto a produtividade, proporcionando rendimento 21% maior em comparação ao tratamento agronômico. Enquanto a vermiculita, como veículo para o inóculo, apresentou os piores resultados quanto as variáveis matéria seca e produtividade.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, S. C. **Fontes energéticas brasileiras – inventário/tecnologia:** Turfa. CHESF, V. 1-2, Rio de Janeiro, 1987.

AKIYAMA, K.; HAYASHI, H. Strigolactones: Chemical signals for fungal symbionts and parasitic weeds in plant roots. **Annals of Botany**, v. 97, p. 925-931, 2006.

ALLEN, E. B. The restoration of disturbed arid landscapes with special reference to mycorrhizal fungi. **Journal of Arid Environments**, v. 17, p. 279-286, 1989.

ANDA - Associação Nacional para Difusão de adubos. **Anuário Estatístico do setor de Fertilizantes – 2015**. Comitê de Estatística, São Paulo. Disponível em: <http://www.anda.org.br/estatistica/Principais_Indicadores_2016.pdf>. 2015. Acesso em: 27 mar. 2016.

ANDRADE, S. A. L.; SILVEIRA, A. P. D. Biomassa e atividade microbianas do solo sob influência de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 1191-1198, 2004.

ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Panorama internacional: gás natural. In: **Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis - 2015**. Rio de Janeiro: ANP, 39-45, 2015.

ANTUNES, P. M. A.; de VARENNES.; RAJCAN, I.; M. GOSS, M. J. Accumulation of specific flavonoids in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) as a function of the early tripartite symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi and *Bradyrhizobium japonicum* (Kirchner) Jordan. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, p. 1234-1242, 2006.

BAGYARAJ, J. D.; STÜRMER, S. L. Amostragem e caracterização da biodiversidade. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. (Eds.). **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA, p. 716. 2010.

BARBER, S. A. **Soil nutrient bioavailability: A mechanistic approach**. 2. ed. New York: John Wiley e Sons, p. 382-409. 1995.

BARROS, J. F. C.; CALADO, J. G. **A Cultura Do Milho**. Évora: Portugal, p. 52. 2014.

BÉCARD, G.; FORTIN, J. A. Early events of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation in Ri T-DNA transformed roots. **New Phytologist**, v. 108, p. 211-218, 1988.

BERTOLAZI, A. A.; CANTON, G. C.; AZEVEDO, I. G.; CRUZ, Z. M. A.; SOARES, D. N. E. S.; CONCEIÇÃO, J. M.; SANTOS, W. O.; RAMOS, A. C. The role of ectomycorrhiza in heavy metals bioremediation in soil. **Natureza Online**, v. 1, p. 24-31, 2010.

BONFANTE-FASOLO, P. Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. In: POWELL, C.L. & BAGYARAJ, D.J. **VA mycorrhiza**. Boca Raton, Florida: CRC Press, p. 05-33. 1984.

BROCH, D. L.; RANNO, S. K. Fertilidade do solo, adubação e nutrição da cultura da soja. In: **Tecnologia e Produção: Soja e Milho 2011/2012**. Maracaju: Fundação MS, p. 2-38. 2012.

BURTON, J.C. *Rhizobium* inoculants for developing countries. **Tropical Agriculture**, v. 58, p. 291-295. 1981.

BUSHBY, H. V. A.; MARSHALL, K. C. Some factors affecting the survival of root-nodule bacteria on dissection. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 9, p. 143-147. 1977.

CANTARELLA, H.; DUARTE, A. P. Manejo da fertilidade do solo para a cultura do milho. In: GALVÃO, J.C.C.; MIRANDA, G.V. **Tecnologias de produção de milho**. Viçosa: Editora UFV, p.139-182. 2004.

CANTARELLA, H.; DUARTE, A. P. Adubação nitrogenada de cobertura em milho safrinha no Médio Paranapanema em 2004 e 2005. In: SEMINÁRIO SOBRE A CULTURA DO MILHO SAFRINHA, 8., 2005, Assis,. **Anais...** Campinas: IAC, p. 353-360. 2005.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do Solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 551-594. 2007.

CARDOSO, E. J. B. N. Ocorrência de micorrizas em café. **Summa Phytopathologica**, v. 4, p. 136-1377. 1978.

CARDOSO, E. J. B. N.; CARDOSO, I. M.; NOGUEIRA, M. A.; BARETTA, C. R. D. M.; PAULA, M. A. Micorrizas arbusculares na aquisição de nutrientes pelas plantas. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: Editora UFLA, p 716. 2010.

de CARVALHO, T. S.; MOREIRA, F. M. S. Simbioses tripartites: leguminosas, fungos micorrízicos e bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas. In: SIQUEIRA, J.O.; DE SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. Lavras: Editora UFLA, p. 383-414. 2010.

CELY, M. V. T.; **Produção de inóculo *in vitro* de *Rhizophagus clarus* e sua aplicação em sistemas agrícolas**. 2014. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Univeridade Estadual de Londrina. 2014.

COELHO, A. M. **Nutrição e Adubação do Milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p. 1-10. 2006. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 78) (ISSN 1679-1150).

CONAB - Companhia Nacional de abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira**: grãos, quinto levantamento, fevereiro 2016. Brasília, 2016.

COSTA, N. P.; MESQUITA, C. M.; MAURINA, A. C.; FRANÇA-NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; OLIVEIRA, M. C. N; HENNING, A. A. Perfil dos aspectos físicos, fisiológicos e químicos de sementes de soja produzidas em seis regiões do Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, p. 1-6. 2005.

COX, G.; SANDERS, F. E. Ultrastructure of the host-fungus interface in a vesicular-arbuscular mycorrhiza. **New Phytologist**, Oxford, v. 73, p. 901-912, 1974.

COX, G.; TINKER, P. B. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. In: The arbuscule and phosphorus transfer: quantitative ultrastructural study. **New Phytologist**, Oxford, v. 77, p. 371-378, 1976.

CROSS, A. F.; SCHLESINGER, W. H. A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: Applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. **Geoderma**, v. 64, p. 197-214, 1995.

DALAL, R. C. Soil organic phosphorus. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 29, p. 83-117, 1977.

DALPÉ, Y.; de SOUZA, F. A.; DECLERCK, S.; Life cycle of *Glomus* species in monoxenic culture. In: DECLERCK, S.; STRULLU, D. -G.; FORTIN, J. A. **In vitro culture of mycorrhizas**. Berlin: Springer, p. 49-71. 2005.

DECLERCK, S.; SÉGUIN, S.; DALPÉ Y. The monoxenic culture of arbuscular mycorrhizal fungi as a tool for germplasm collections. In: DECLERCK, S.; STRULLU, D. -G.; FORTIN, J. A. **In vitro culture of mycorrhizas**. Berlin: Springer, p. 17-29. 2005.

DEER, W. A.; HOWIE; R. A.; ZUSSMAN, Y. **Minerais constituintes das rochas: Uma introdução**. 2. ed. Lisboa: Editora Fundação Calouste Gulbenkian, p. 391-396. 2000.

ELSEN, A.; GERVASIO, D.; SWENNEN, R.; DE WAELE, D. AMF-induced biocontrol against plant parasitic nematodes in *Musa* sp.: a systemic effect. **Mycorrhiza**, v. 18, p. 251-256. 2008.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho**. Sete Lagoas: MG, p. 75. 2006. (Circular Técnica Online, Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-1150).

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologia de produção de soja: Região central do Brasil 2014**. Londrina, PR: p. 266. 2013. (Sistemas de Produção 16. Embrapa Soja, ISSN 2176-2902).

Embrapa, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivo do Milho**. Sete Lagoas, MG. <<https://www.spo.cnptia.embrapa.br/temas-publicados>>. 2015. Acesso em 27 mar 2016.

FERNANDES, M. S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: SBCS, p. 432. 2006.

FERNANDES, I. V.; ROHR, T. G.; OLIVEIRA, P. J.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G. Polymers as carriers for rhizobial inoculant formulations. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 44, p. 1184-1190. 2009.

FRANCHI, J. G. **Aplicação de turfa na recuperação de solos degradados pela mineração de areia**. 2000. Dissertação (Mestrado). Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2000.

FRANCHI, J. G. **A utilização de turfa como adsorvente de metais pesados**. 2004. Dissertação (Doutorado) - Instituto de geociências, Universidade de São Paulo, 2004.

FREIRE, J. R. J.; VERNETTI, F. J. A pesquisa com soja, a seleção de rizóbio e a produção de inoculantes no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**. v. 5, p. 117-126. 1999.

GATIBONI, L. C. **Disponibilidade de formas de fósforo do solo às plantas**. 2003. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria. 2003.

GERDEMANN, J. W. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. **Annual Review of Phytopathology**. Palo Alto, v. 6, p. 397-418. 1968.

GOSS, M. J. A.; de VARENNES: Soil disturbance reduces the efficacy of mycorrhizal associations for early soybean growth and N₂ fixation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 34, p. 1167-1173. 2002.

GRIM, R. E. **Clay mineralogy**. New York: McGraw Hill, p. 596. 1968.

HAMMOND, L. L. **Research on direct application of phosphate rock in the Agro-Economic Division**. IFDC: Florence, Alabama. 15 p. 1977.

HARLEY, J. L.; SMITH, S. E. **Mycorrhizal symbiosis**. London: Academic Press, 483 p. 1983.

IFA - International Fertilizer Industry Association. **Assessment of fertilizer use by crop at the global level: 2010/11**. Disponível em: <<http://www.fertilizer.org/ItemDetail?iProductCode=9592PdfCategory=STATEWebsiteKey=411e9724-4bda-422f-abfc-8152ed74f306>>. 2011. Acesso em: 5 mar. 2016.

INVAM - **International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi**. Disponível em: <<http://invam.caf.wvu.edu>>. 2003. Acesso em: 03 mar. 2016.

INVAM - **International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi.** Disponível em:

<<http://invam.wvu.edu/thefungi/classification/glomaceae/rhizophagus/clarum>>.

2014. Acesso em: 27 mar. 2015.

KAMINSKI, J. **Avaliação agronômica em função da granulometria de termofosfato magnsiano fundido.** UFSM/CCR/Dep. Solos, Santa Maria, 44 p. 1990.

LAMBAIS, M. R.; RAMOS, A. C. Sinalização e transdução de sinais em micorrizas arbusculares. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A. de; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil.** Lavras: UFLA, p. 119-132. 2010.

LOPES, A. C. A.; VELLO, N. A.; PANDINI, F.; ROCHA, M. M.; TSUTSUMI, C. Y. Variabilidade e correlações entre caracteres em cruzamentos de soja. **Scientia Agrícola**, v. 59, p. 341-348, 2002.

LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G. Fertilidade do solo e produtividade agrícola. In: NOVAIS, R. F. *et al.* **Fertilidade do solo.** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 1-64. 2007.

MAIA, L. C.; KIMBROUGHT, J. W. E BENNY, J. L. Ultrastructure of spore germination in *Gigaspora albida* (Glomales). **Mycologia**, v. 3, p. 343-349.1994.

MAIA, L. C.; da SILVA, F. S. B; GOTO, B. T. E. Estrutura, ultraestrutura e germinação de glomerosporos. In: SIQUEIRA, J. O.; DE SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil.** Lavras: Editora UFLA, p. 75-118. 2010.

MARTINS, C. C.; MACHADO, C. G.; SANTANA, D. G.; ZUCARELI, C. Vermiculita como substrato para teste de germinação de sementes de ipê-amarelo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, p. 533-540. 2012.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Growth, nodulation and arbuscular mycorrhizal colonization of for woody legumes in a low fertility soil. In: International Symposium on Sustainable Agriculture for the Tropics: The Role of Nitrogen Fixation. **Anais...** Angra dos Reis, Embrapa – CNPAB/UFRRJ, v. 21, p. 164-165. 1995.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, p. 729. 2006.

MOREIRA, F. M. S. Bactérias fixadoras de nitrogênio. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. **Biodiversidade do Solo em Ecossistemas Brasileiros**. Lavras: Editora UFLA, p. 631-680. 2008.

MORTIMER, P. E.; PEREZ-FERNANDEZ, M. A.; VALENTINE, A. J. The role of arbuscular mycorrhizal colonization in the carbon and nutrient economy of the tripartite symbiosis with nodulated *Phaseolus vulgaris*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 5, p. 1019-1027, 2008.

MORTON, J. B.; REDCKER, D. Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. **Mycologia**, New York, v. 93, p. 181-195, 2001.

MOSSE, B.; HEPPEL, C. M. Vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in root organ culture. **Physiological Plant Pathology**, v. 5, p. 215-223. 1975.

MUGNIER, J.; JUNG, G. Survival of bacteria and fungi in relation to water activity and the solvent properties of water in biopolymer. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 50, p. 108-114. 1985.

NAGAHASHI, G.; DOUDS, D. D.; FERHATOGLU, Y. Functional categories of root exudate compounds and their relevance to AM fungal growth. In: KOLTAL, H.; KAPULNIK, Y. **Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function**. New York: Springer, p. 33-56. 2010.

NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. p. 276-374. 2007.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa, MG: UFV – Departamento de solos, p. 399. 1999.

PEREIRA, J. C. **Interações entre as Populações de Actinomicetos e outros Organismos na Rizosfera**. Documentos 205. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Cerrados. Planaltina, DF: p. 40. 2007. (Documentos / Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111: 118).

PETRONI, S. L. G.; PIRES, M. A. F. Adsorção de Zinco e Cádmio em colunas de turfa. **Química Nova**, v. 23, p. 477-481, 2000.

PRADO, R. M. **Nutrição de Plantas**. São Paulo: Editora UNESP, v. 1. p. 407. 2008.

RAMOS, A. C.; MARTINS, M. A. Fisiologia de micorrizas arbusculares In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A. de; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA, p. 133-152. 2010.

REIS, E. **Vermiculita no Brasil: Situação Atual**. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, p. 2. 2001.

REIS, V. M. **Uso de Bactérias Fixadoras de Nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007.

REIS, V. M.; ANDRADE, G.; FARIA, S. M.; SILVEIRA, A. P. D. Interações de fungos micorrízicos arbusculares com outros microrganismos do solo. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A. de; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA, p. 361-413. 2010.

RHEINHEIMER, D. S.; ANGHINONI, I.; CONTE, E. Sorção de fósforo em função do teor inicial e de sistemas de manejo de solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 41-49, 2003.

RHEINHEIMER, D. S.; KAMINSKI, J.; ANGHINONI, I. Depleção do fósforo inorgânico de diferentes frações provocadas pela extração sucessiva com resina de diferentes solos e manejos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, p. 345-354, 2000.

RICK J. Pilze aus. Rio Grande do Sul. **Brotéria Serie Botânica**, v. 5, p. 5-53, 1906.

RICK J. Agarici Riograndensis. **Lilloa**, v. 1, p. 307-346, 1937.

ROLDÁN, Á.; ALBALADEJO, J. The effect of mycorrhizal inoculation and soil restoration on the growth of *Pinus halepensis* in a semi-arid soil. **Biology & Fertility of Soils**, v. 18, p. 143-149, 1994.

RONCHI, A. L.; BALATTI, A. P. Selección de soportes para la producción de inoculantes para leguminosas. **Revista de la Facultad de Agronomía.**, v. 12, p. 209-217, 1991.

ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; FURLAN, M. Substâncias húmicas de turfa: estudo dos parâmetros que influenciam no processo de extração alcalina. **Química Nova**, v. 23, p. 472-476, 2000.

ROUGHLEY, R. J. Legume inoculants: their technology and application. In: BECK, D. P.; MATERON, L. A. **Nitrogen fixation by legumes in Mediterranean agriculture**. Dordrecht, v. 2, p. 259-268. 1988.

SEDIYAMA, T. **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina, PR: Mecenias, v. 1, p. 314. 2009.

SEDIYAMA, T. **Tecnologia de produção de sementes de soja**. Londrina: Mecenias, p. 352. 2013.

STRULLU, D. G.; ROMAND, C. Méthodes d`obtention d`endomycorhizes à vésicules et arbuscules en conditions axéniques. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, Paris, v. 303, p. 245-250. 1986.

SILVA-JÚNIOR, J. P.; SIQUEIRA, J. O. Colonização micorrízica e crescimento da soja com diferentes fungos e aplicação do isoflavonóide formononetina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, p. 953-959. 1998.

SILVEIRA, A. P. D. Micorrizas. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas, SP: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 257-282. 1992.

SIQUEIRA, J. O.; SYLVIA, D.; GIBSON, J.; HUBBEL, D. Spores, germination, and germ tubes of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 31, p. 997. 1985.

SIQUEIRA, J. O. Micorrizas Arbusculares. In: ARAUJO, R.S; HUNGRIA, M. **Microrganismos de importância agrícola**. EMBRAPA; SPI, p. 151-194. 1994.

SMITH, R. S. Legume inoculant formulation and application. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 485-492, 1992.

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. Ed. Boston: Academic Press, p. 787. 2008.

SOUZA-SANTOS, P. **Ciência e tecnologia de argilas**. Ed. Blucher Ltda., 1975.

de SOUZA, F. A.; STUMER, S. L.; CARRENHO, R.; TRUFEM, S. F. B. Classificação e taxonomia de fungos micorrízicos arbusculares e sua diversidade e ocorrência no Brasil. In: SIQUEIRA, J. O.; de SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J.

B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas**: 30 anos de pesquisas no Brasil. Lavras: Editora UFLA, p. 15-75. 2010.

STARK, N. Mycorrhizae and nutrient cycling in the tropics. Proc. **1st. North American Conference on Mycorrhizae**. Miscell. Publ. 1189, US Dept. Agriculture-Forest Service, p. 228-229. 1969.

STARK, N. The nutrient content of plants and soils from Brazil and Surinam. **Biotropica**, v. 2, p. 51-60. 1970a.

STARK, N. Direct nutrient cycling in the Amazon basin. In: J. M. IDROBO. **II Simpósio y Foro de Biología Tropical Amazónica**, Asociación pro Biología Tropical: 172-177. Editorial Pax, Bogotá. 1970b.

STARK, N. Nutrient cycling II. Nutrient distribution in Amazonian vegetation. **Journal of Tropical Ecology**, v. 12, p. 177-201. 1971.

STEWART, J. W. B.; TIESSEN, H. Dynamics of soil organic phosphorus. **Biogeochemistry**, Netherlands, v. 4, p. 41-60. 1987.

STEWART, W. M.; HAMMOND, L. L.; Van KAUWENBERGH, S. J. Phosphorus as a natural resource. In: **Phosphorus: agriculture and the environment**. Madison: ASA, CSA, SSSA, p. 3-22. 2005.

STÜRMER, S. L. Evolução, classificação e filogenia dos fungos micorrízicos arbusculares. In: SIQUEIRA, J. O., MOREIRA, F. M. S., LOPES, A. S., GUILHERME, L. R. G., FAQUIN, V., FURTINI NETO, A. E.; CARVALHO, J. G. **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Lavras, p. 797-817. 1999.

SUFERT, T. **Turfa de Águas Claras**. Estado do Rio Grande do Sul. Disponível em: <http://www.cprm.gov.br/opor/pdf/aguaclar.pdf>. 1998. Acesso em: 26 mar. 2016.

TATE, K. R. The biological transformation of P in soil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 76, p. 245-256. 1984.

UGARTE, J. F. O.; SAMPAIO, J. A.; FRANÇA, S. C. A. **Rochas & minerais industriais**: usos e especificações: Rio de Janeiro: CETEM/MCT, p. 677-698. 2005.

USGS, United States Geological Survey. **Mineral commodity summaries 2015**. Disponível em: <http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/mcs/2015/mcs2015.pdf>. 2015. Acesso em 25 jan. 2016.

VINCENT, J. M.; THOMPSON, J. A.; DONOVAN, K. O. Death of root nodule bacteria on drying. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 13, p. 258-270. 1962.

XIE, Z. P.; C. STAEHELIN, H.; VIERHEILIG, A.; WIEMKEN, S.; JABBOURI, W. J.; BROUGHTON, R.; VO"GELI-LANGE.; T. BOLLER. Rhizobial nodulation factors stimulate mycorrhizal colonization of nodulating and nonnodulating soybeans. **Plant Physiology**, v. 108, p. 1519-1525. 1995.

WALKER, T. W.; SYERS, J. K. The fate of phosphorus during pedogenesis. **Geoderma**, v. 15, p. 1-19. 1976.

WALTER, J. F.; PAAU, A. S. Microbial inoculant production and formulation. In: DEKKER, M., ed. **Soil microbial ecology**: applications in agricultural and environmental management. New York, p. 579-594. 1992.

WENT, F. W. & N. STARK. The biological and mechanical role of soil fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. USA, v. 60, p. 497-504. 1968a.

WENT, F. W. & N. STARK. Mycorrhize. **Bioscience**. v. 18, p. 1035-1039. 1968b.

ZAMBOLIM, L.; SIQUEIRA, J.O. **Importância e potencial das associações micorrízicas para a agricultura**. Belo Horizonte: EPAMIG, p. 36. 1985.