

SEÇÃO III - BIOLOGIA DO SOLO

USO DE MICORRIZAS E RIZÓBIO EM CULTIVO CONSORCIADO DE EUCALIPTO E SESBÂNIA. I – CRESCIMENTO, ABSORÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE NITROGÊNIO ENTRE PLANTAS⁽¹⁾

L. A. RODRIGUES⁽²⁾, M. A. MARTINS⁽³⁾, M. S. M. B. SALOMÃO⁽⁴⁾

RESUMO

Realizou-se um experimento em casa de vegetação para avaliar os efeitos de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e rizóbio na produção de matéria seca, na absorção e na eficiência de utilização de N por plantas de *Eucalyptus grandis* e *Sesbania virgata*, cultivadas em consorciação. Avaliou-se, também, a transferência de N da sesbânia para o eucalipto, utilizando-se o isótopo ¹⁵N. Os tratamentos constaram da inoculação, ou não, com FMAs em ambas as espécies de plantas e da inoculação, ou não, com rizóbio na sesbânia. Utilizaram-se vasos plásticos subdivididos em três compartimentos (A, B e C), cada um com 2 L de capacidade. Os compartimentos A e B foram separados por uma parede plástica e entre os compartimentos B e C foi colocada uma tela com poros de 40 µm que permitiu somente a passagem de hifas, mas não de raízes. A sesbânia foi cultivada com suas raízes subdivididas entre o compartimento A e B e o eucalipto foi cultivado no compartimento C. No compartimento A, foram adicionados 7 mg kg⁻¹ de ¹⁵N-(NH₄)₂SO₄ com 99 % de ¹⁵N. As plantas foram avaliadas aos 100 dias. Nos tratamentos com inoculação com o rizóbio, com FMAs ou com FMAs + rizóbio, foram observados, nas plantas de eucalipto, aumentos na produção de matéria seca total de 119, 223 e 209 %, respectivamente, e aumentos no conteúdo de N de 125, 247 e 310 %, respectivamente, quando comparados aos resultados do tratamento-controle. Nas plantas de sesbânia, foram observados aumentos no conteúdo de N e decréscimo na relação C/N em todos os tratamentos inoculados com os microrganismos. A eficiência de utilização de N foi maior nas plantas de eucalipto quando inoculadas com FMAs e não variou com os tratamentos nas plantas de sesbânia. Foi observada a transferência de ¹⁵N das plantas de sesbânia para o eucalipto em todos os tratamentos.

Termos de indexação: micorrizas arbusculares, ¹⁵N, associação simbiótica, leguminosa, fixação biológica do nitrogênio.

⁽¹⁾ Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor, apresentada à Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF. Recebido para publicação em dezembro de 2001 e aprovado em maio de 2003.

⁽²⁾ Pesquisadora da Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF/CCTA. Av. Alberto Lamego 2000, Campos dos Goytacazes (R.J). CEP 28013-600. Bolsista da CAPES. E-mail: lua@uenf.br

⁽³⁾ Professor Associado, UENF/CCTA. Bolsista do CNPq. E-mail: marco@uenf.br

⁽⁴⁾ Aluno do Curso de Agronomia, UENF. Bolsista de Iniciação Científica.

SUMMARY: *USE OF MYCORRHIZAS AND RHIZOBIUM IN INTERCROPPING SYSTEM OF EUCALYPTUS AND SESBANIA. I - GROWTH, UPTAKE AND TRANSFER OF NITROGEN BETWEEN PLANTS*

This greenhouse experiment was carried out to evaluate the effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and Rhizobium on dry matter production, N uptake and efficiency of use in Eucalyptus grandis and Sesbania virgata plants grown in intercropping systems. The transfer of N from Sesbania virgata to Eucalyptus was also evaluated, using the isotope ^{15}N . The treatments were: with or without inoculation of both plant species with AMF and with or without inoculation of S. virgata with Rhizobium. Plastic pots divided in three compartments (A, B, and C), with a volume of 2 L were used. A and B compartments were separated by a plastic division, while between the B and C compartments a nylon mesh screen (40 μm) allowed the penetration of hyphae only, not of plant roots. Root systems of the S. virgata plants were divided between the compartments A and B at planting, and Eucalyptus plants were cultivated in the compartment C. Seven mg kg^{-1} of $^{15}\text{N}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ with 99% of ^{15}N were applied in compartment A. The plants were grown for 100 days and then harvested. In Eucalyptus plants, the Rhizobium, AMF and AMF + Rhizobium treatments increased the dry matter production by 119, 223, and 209%, respectively, and the N content by 125, 247, and 310%, respectively, in relation to control plants. In S. virgata plants, all treatments inoculated with microorganisms increased the N content and decreased the C/N rate. The efficiency of N use was greater in Eucalyptus plants inoculated with AMF and did not vary with the treatments in sesbania. A transfer of ^{15}N from S. virgata to Eucalyptus plants was observed in all treatments.

Index terms: arbuscular mycorrhiza, ^{15}N , symbiotic association, legume, biological nitrogen fixation.

INTRODUÇÃO

As leguminosas associadas a rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) têm sido utilizadas em programas de recuperação de áreas degradadas, em sistemas agroflorestais e agropastoris (Franco & Baliero, 1999). Algumas estirpes selecionadas de rizóbio, associadas a leguminosas, podem permitir à planta auto-suficiência em N, podendo apresentar resultados superiores à aplicação de N mineral (Campello, 1996).

As associações de plantas com fungos micorrízicos, dentre outros benefícios, aumentam a absorção de elementos de baixa mobilidade nos solos, graças ao aumento na superfície de absorção pelas hifas, que podem ser consideradas uma "extensão" da raiz, explorando maior volume de solo (Marschner & Dell, 1994; Barros & Novais, 1996; Wigand & Stevenson, 1997). A colonização simultânea de raízes de plantas de mesma ou de diferentes espécies promove a interconexão entre elas, via micélio fúngico (Newman 1988), permitindo a transferência de substâncias entre plantas por meio da passagem direta pela hifa do fungo (Kessel et al., 1985; Newman, 1988; Martins, 1992a,b; 1993; Martins & Read, 1996; Cruz, 1996; Cruz & Martins, 1997; Robinson & Fitter, 1999).

Em cultivos consorciados de leguminosas com plantas de diferentes espécies, o N fixado simbioticamente é, sob certas circunstâncias, translocado para a

cultura não-leguminosa, mediada pelos FMAs (Newman, 1988; Frey & Schuepp, 1992; Cruz & Martins, 1997; Martins & Cruz, 1998), sem entrar na solução do solo (Martensson et al., 1998). Essa transferência de nutrientes é bidirecional (Frey & Schuepp, 1992; Sen, 2000), podendo existir competição entre as plantas interconectadas pela rede micelial. Contudo, as respostas observadas nos cultivos consorciados de espécies vegetais associadas a leguminosas inoculadas com rizóbio e com fungos micorrízicos são contrastantes em diferentes trabalhos. Alguns autores observaram efeitos negativos para as culturas consorciadas (Ikram et al., 1994; Costa Junior, 1997), enquanto outros observaram efeitos positivos (Kessel et al., 1985; Newman, 1988; Martins, 1993; Martins & Read, 1996; Cruz, 1996).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento, a absorção e a eficiência de utilização de N por plantas de eucalipto (*E. grandis*), inoculadas ou não com FMAs, cultivadas em consorciação com plantas de sesbânia, inoculadas ou não com rizóbio e, ou, FMAs, bem como avaliar a transferência de N da sesbânia para as plantas de eucalipto.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação no "campus" da Universidade Estadual do Norte

Fluminense, em Campos dos Goytacazes, com cultivo em vasos de *Eucalyptus grandis* consorciado com *Sesbania virgata*. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos, sendo: inoculação ou não do eucalipto e da sesbânia com FMAs e inoculação ou não da sesbânia com rizóbio. Cada tratamento foi composto de quatro repetições.

As plantas foram cultivadas em vasos plásticos constituídos de três compartimentos com 2 dm³ de solo (Figura 1). Os compartimentos A e B foram separados por paredes de polietileno que impedem a passagem de raízes e hifas dos FMAs, enquanto os compartimentos B e C foram separados por uma tela de nylon, com abertura de malha de 40 µm, que permite somente a passagem das hifas e impede a passagem de raízes. Duas plantas de sesbânia foram cultivadas com as raízes subdivididas entre os compartimentos A e B e duas plantas de eucalipto foram cultivadas no compartimento C.

O substrato utilizado constou de uma mistura de solo (Argissolo) + areia (esterilizado com brometo de metila) na proporção 1:2 v/v, com as seguintes características: pH (água) = 5,17; N total = 0,06 mg dm⁻³; P = 9 mg kg⁻¹; K = 0,03 cmol_c dm⁻³; Ca²⁺ = 0,26 cmol_c dm⁻³; Mg²⁺ = 0,14 cmol_c dm⁻³ e Al³⁺ = 0,2 cmol_c dm⁻³ (P e K extração – Melich-1; Ca, Mg e Al extração - KCl 1 dm⁻³ L⁻¹). Realizou-se a calagem do substrato com 0,8 g dm⁻³ de CaCO₃, sendo o pH monitorado diariamente até estabilizar, resultando, ao final, em pH = 6,5 (± 0,5). Posteriormente, foi realizada a adubação. O compartimento A recebeu 25 mg dm⁻³ de N [18 mg L⁻¹ como NH₄NO₃ e 7 mg dm⁻³ como (¹⁵NH₄)₂SO₄ com 99 % de ¹⁵N]; 20 mg dm⁻³ de P (fosfato de Araxá); 33,7 mg dm⁻³ de Mg, 92 mg dm⁻³ de S e 100 mg dm⁻³ de K (adicionados como (¹⁵NH₄)₂SO₄, K₂SO₄ e MgSO₄) e os micronutrientes (mg dm⁻³): B = 0,81

(H₃BO₃); Cu = 1,33 (CuSO₄.5H₂O); Fe = 1,55 (FeCl₃.6H₂O); Mn = 3,66 (MnCl₂.4H₂O); Mo = 0,15 (NaMoO₄.2H₂O); Zn = 4,0 (ZnSO₄.7H₂O).

Os compartimentos B e C receberam os nutrientes nas mesmas concentrações e fontes adicionados ao substrato do compartimento A, exceto que, nesses compartimentos, não se adicionou ¹⁵N e o N foi adicionado como NH₄NO₃.

Utilizou-se, como inóculo de FMA, uma população nativa isolada de área de extração de argila, da região de Campos dos Goytacazes (RJ), sendo identificadas as seguintes espécies: *Glomus macrocarpum*, *Glomus etunicatum* e *Entrophospora colombiana*.

O inóculo dos FMAs foi previamente multiplicado em vasos de 6,0 L, que continham substrato esterilizado (mistura de solo + areia na proporção 2:1 v:v), utilizando, como planta hospedeira, *Braquiaria decumbens*. Como fonte de inóculo para o experimento, foi utilizada uma mistura de solo, que continha esporos e raízes colonizadas pelas espécies de FMAs (resultado da multiplicação dos FMAs).

O inoculante de rizóbio, específico para a *Sesbania virgata* (Br 5401/Br 5412), foi obtido junto ao CNPAB-EMBRAPA – Seropédica (RJ), e multiplicado em meio de cultura YEM-líquido por agitação orbital (Vincent, 1970).

As sementes do eucalipto foram procedentes da Empresa Florestal CENIBRA, da região de Teófilo Otoni (MG). As sementes de *Eucalyptus grandis* foram semeadas em bandejas de isopor do tipo Plantágil, com 128 células com 50 mL de capacidade, previamente desinfestadas com álcool 70 %. Utilizou-se, como substrato, uma mistura de areia lavada em ácido + vermiculita (proporção 1:2 v/v). Algumas bandejas receberam, sobre o substrato, 15 mL de inóculo dos FMAs, por célula, para os

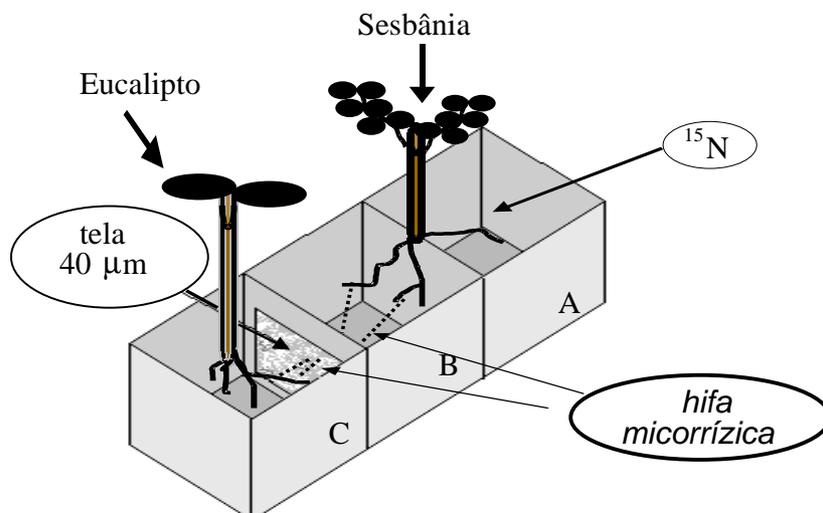


Figura 1. Esquema dos vasos utilizados e posição das plantas.

tratamentos com inoculação com FMAs. Antes da semeadura, as sementes do eucalipto foram desinfestadas por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 0,5 %, durante 15 min.

As sementes da sesbânia foram obtidas de árvores da região de Campos dos Goytacazes (RJ). Antes do plantio, foi realizada a quebra de dormência das sementes, por imersão em ácido sulfúrico (Davide et al., 1995), seguida da lavagem em água corrente. As sementes foram colocadas para embebição em água destilada por 24 h. Antes da semeadura, parte das sementes foi imersa por uma hora no meio de cultura YEM que continha o rizóbio, sendo as sementes, em seguida, semeadas em copos plásticos descartáveis de 200 mL que continham, como substrato, uma mistura de areia lavada + vermiculita (proporção 2:1 v/v). Na sesbânia, a inoculação com os FMAs foi realizada durante o transplante das mudas para os vasos compartimentalizados.

O substrato, após a calagem e adubação, foi colocado nos vasos, nos seus respectivos compartimentos. Em seguida, foram adicionados 50 mL de inóculo dos FMAs nos compartimentos A e C, para os tratamentos com FMAs e FMAs + rizóbio.

Cada vaso recebeu duas plântulas da sesbânia, sendo suas raízes subdivididas entre os compartimentos A e B e duas plântulas de eucalipto foram transplantadas para o compartimento C (Figura 1). As plântulas de eucalipto e de sesbânia foram transferidas simultaneamente para os vasos compartimentalizados aos 20 e 10 dias da semeadura, respectivamente.

Os vasos foram irrigados diariamente com água desionizada até à colheita do experimento.

As plantas foram colhidas 100 dias após serem transplantadas para os vasos. As raízes foram lavadas sobre peneira em água corrente e, finalmente, em água desionizada. Amostras de raízes do eucalipto e da sesbânia foram retiradas e acondicionadas imersas em álcool 50 % para avaliação da percentagem de colonização micorrízica (Giovannetti & Mosse, 1980; Grace & Stribley, 1991). O restante das raízes da sesbânia foi congelado para posterior contagem do número de nódulos.

As raízes da sesbânia (após a retirada dos nódulos) e do eucalipto e a parte aérea das duas espécies foram secas, separadamente, em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C por 72 h para avaliação do peso da matéria seca. Após a pesagem, o material foi moído em moinho tipo Wiley, com peneira de 20 malhas por polegada, e analisado quanto ao C e ao N total, determinados em analisador simultâneo CHNS/O (Perkin-Elmer, modelo PE 2400 Série II)

O ¹⁵N das amostras do material vegetal seco e moído foi analisado por espectrômetro de massa, e os resultados foram apresentados como percentagem relativa de átomos de ¹⁵N em excesso nas plantas.

A percentagem de N fixado biologicamente (NFB) nas plantas de sesbânia foi calculada pela seguinte equação: $\%NFB = \{ [1 - (\%^{15}N \text{ em excesso planta fixadora} / \%^{15}N \text{ excesso planta não-fixadora})] \times 100 \}$ (Bergersen, 1986; Boddey et al., 1994). No tratamento com rizóbio, a percentagem de N da FBN foi calculada, tendo como base as plantas de sesbânia do tratamento-controle. A percentagem de N da FBN nas plantas do tratamento FMA + rizóbio teve, como base, as plantas do tratamento com FMAs.

Calculou-se a eficiência de utilização (EFU) de N nas plantas pela seguinte fórmula: $EFU = [(matéria\ seca)^2 / (conteúdo\ de\ N)]$ (Sidiqui & Glass, 1981).

Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de média, por Tukey a 5 %, usando o programa SAEG (Sistema de Análise Estatística e Genética), segundo Euclides (1983).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas plantas de eucalipto e de sesbânia, a inoculação com os FMAs promoveu aumentos significativos na taxa de colonização micorrízica, independentemente de as plantas estarem ou não inoculadas com o rizóbio (Quadro 1). A inoculação com o rizóbio (realizada na sesbânia) não alterou significativamente a taxa de colonização micorrízica nas plantas de sesbânia e de eucalipto.

A inoculação das plantas de sesbânia com o rizóbio promoveu aumentos significativos no número de nódulos nas plantas, independentemente da inoculação ou não com os FMAs (Quadro 1). No tratamento com a dupla inoculação (com FMAs + rizóbio), os nódulos apresentaram-se em cachos de dois a cinco nódulos presos entre si, mas a presença da micorriza não modificou o número de nódulos, quando comparado ao tratamento somente com rizóbio.

Foram observadas colonização micorrízica e nodulação nas raízes das plantas do tratamento-controle (sem inoculação com micorriza e sem inoculação com rizóbio); entretanto, os valores foram significativamente menores do que os dos tratamentos em que os respectivos microrganismos foram inoculados.

A inoculação com os FMAs promoveu aumento no peso da matéria seca da parte aérea, das raízes e total (planta toda) do eucalipto (Quadro 2), quando comparada à do tratamento-controle. O peso da matéria seca das raízes do eucalipto aumentou com a inoculação do rizóbio (na sesbânia), quando comparado também ao do tratamento-controle. O peso da matéria seca da sesbânia não apresentou variações significativas entre os tratamentos.

A dupla inoculação (FMAs + rizóbio) promoveu aumento no teor de N na parte aérea do eucalipto em relação ao tratamento com inoculação somente

Quadro 1. Colonização micorrízica e número de nódulos nas plantas de eucalipto e de sesbânia, inoculadas ou não com rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), cultivadas em consorciação

Tratamento	Eucalipto		Sesbânia	
	Sem rizóbio	Com rizóbio	Sem rizóbio	Com rizóbio
	Colonização micorrízica, %			
Sem FMAs	15,0 aB	24,0 aB	2,5 aB	10,8 aB
Com FMAs	99,5 aA	97,7 aA	97,8 aA	97,5 aA
	Nódulo, nº vaso ⁻¹			
Sem FMAs	-	-	8,5 bA	241,8 aA
Com FMAs	-	-	75,0 bA	187,3 aA

Para uma mesma espécie, as médias seguidas pela mesma letra minúscula, na linha, ou maiúscula, na coluna, não diferem entre si (teste de Tukey a 5 %).

com os FMAs e somente com o rizóbio (Quadro 2). Verificou-se aumento no teor de N nas raízes do eucalipto e da sesbânia, com a inoculação dos FMAs, e na parte aérea e nas raízes da sesbânia, com a inoculação do rizóbio, ambos em relação ao controle (Quadro 2).

Os teores de N na parte aérea do eucalipto estavam abaixo de 10 g kg⁻¹ em todos os tratamentos, inclusive com a dupla inoculação com os FMAs + rizóbio, que apresentou teor de N maior que o dos demais tratamentos. Este resultado indica que, apesar dos incrementos de 2,8, 2,8 e 36,0 % no teor de N na parte aérea do eucalipto, com a inoculação do rizóbio, dos FMAs e dos FMAs + rizóbio, respectivamente, as plantas de todos os tratamentos apresentavam deficiência de N, uma vez que os teores de N adequados para as mudas de eucalipto encontram-se na faixa entre 14 e 31 g kg⁻¹ (Barros et al., 1990; Judd et al., 1996; Malavolta et al., 1997).

O conteúdo de N nas raízes e na planta toda (total) de eucalipto aumentou com a inoculação do rizóbio quando comparado ao do controle. A inoculação com os FMAs promoveu aumentos no conteúdo de N na parte aérea e planta toda (total) de eucalipto, independentemente de estarem ou não inoculadas com o rizóbio. Nas raízes do eucalipto, a inoculação com os FMAs promoveu acréscimos no conteúdo de N. O incremento no conteúdo de N nas plantas de eucalipto e de sesbânia micorrizadas pode ser atribuído ao aumento na superfície de absorção de nutrientes promovido pelas hifas dos FMAs (Dell, 1996).

Nas plantas de sesbânia, a inoculação com o rizóbio promoveu aumentos significativos no conteúdo de N na parte aérea, nas raízes e total, quando comparados aos do controle, enquanto a inoculação com os FMAs promoveu acréscimos no conteúdo de N nas raízes e na planta toda.

O incremento observado no conteúdo de N (total) na sesbânia foi de 85,3, 54,9 e 96,0 % com a inoculação do rizóbio, dos FMAs e dos FMAs + rizóbio, respectivamente, em relação ao controle. O incremento observado no conteúdo de N nas plantas (total) de eucalipto, em relação ao controle, foi de 125, 247 e 310 % com a inoculação com o rizóbio, com os FMAs e FMAs + rizóbio (Quadro 2), respectivamente, evidenciando a importância da simbiose com estes microrganismos para o eucalipto em cultivo misto com a leguminosa.

Na parte aérea do eucalipto, a dupla inoculação promoveu decréscimo na relação C/N em relação ao tratamento inoculado somente com o rizóbio. Com a inoculação somente com o rizóbio e somente com os FMAs, observaram-se decréscimos na relação C/N nas raízes do eucalipto e da sesbânia, quando comparados aos do tratamento-controle (Quadro 2). Este resultado, juntamente ao observado no teor de N no eucalipto, indica que o rizóbio, embora se associe somente à sesbânia, influi na quantidade de N no eucalipto, acarretando alterações na relação C/N.

Na parte aérea das plantas de sesbânia, a inoculação com o rizóbio promoveu decréscimo na relação C/N, independentemente de estarem as plantas inoculadas ou não com os FMAs (Quadro 2). De acordo com Franco & Baliero (1999), espécies de leguminosas arbóreas são responsáveis pela incorporação ao solo de material formador de serapilheira com relação C/N estreita, favorecendo o retorno da vida ao solo e intensificando a ciclagem de nutrientes. Nos cultivos consorciados, a baixa relação C/N nas raízes das leguminosas pode beneficiar a outra espécie cultivada em consórcio, como foi observado na relação C/N nas raízes do eucalipto que acompanharam as respostas observadas na sesbânia.

A eficiência de utilização de nitrogênio (EFUN) não variou no eucalipto e na sesbânia com a inoculação

Quadro 2. Peso da matéria seca, teores e eficiência de utilização de N (EFU-N) e relação C/N nas plantas de eucalipto e de sesbânia, inoculadas ou não com rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), cultivadas em consorciação

Espécie	Tratamento	Parte aérea		Raiz		Total (planta toda)	
		Sem rizóbio	Com rizóbio	Sem rizóbio	Com rizóbio	Sem rizóbio	Com rizóbio
Peso da matéria seca, g vaso ⁻¹							
Eucalipto	Sem FMAs	2,3 aB	4,9 aA	1,1 bB	2,6 aA	3,4 aB	7,5 aA
	Com FMAs	7,4 aA	7,2 aA	3,3 aA	3,3 aA	10,7 aA	10,5 aA
Sesbânia	Sem FMAs	10,4 aA	13,8 aA	5,1 aA	5,7 aA	15,5 aA	19,5 aA
	Com FMAs	13,0 aA	15,0 aA	5,5 aA	5,1 aA	18,5 aA	20,1 aA
Nitrogênio, g kg ⁻¹							
Eucalipto	Sem FMAs	7,2 aA	7,4 aB	7,1 aB	8,7 aA	-	-
	Com FMAs	7,4 bA	9,8 aA	9,9 aA	10,0 aA	-	-
Sesbânia	Sem FMAs	18,4 bA	27,2 aA	14,0 bB	21,2 aA	-	-
	Com FMAs	22,4 aA	27,7 aA	21,0 aA	22,4 aA	-	-
Nitrogênio, g vaso ⁻¹							
Eucalipto	Sem FMAs	17,1 aB	34,3 aB	7,9 bB	21,6 aA	25,0 bB	56,4 aB
	Com FMAs	54,5 aA	70,2 aA	32,3 aA	32,2 aA	86,9 aA	102,6 aA
Sesbânia	Sem FMAs	199,3 bA	380,0 aA	71,5 bB	121,8 aA	270,8 bB	501,8 aA
	Com FMAs	307,2 aA	416,4 aA	112,2 aA	114,5 aA	419,5 aA	530,8 aA
Relação C/N							
Eucalipto	Sem FMAs	40,5 aA	56,7 aA	60,1 aA	49,2 bA	-	-
	Com FMAs	55,4 aA	44,4 aB	40,5 aB	40,1 aA	-	-
Sesbânia	Sem FMAs	27,5 aA	17,0 bA	28,2 aA	18,2 bA	-	-
	Com FMAs	23,0 aA	16,5 bA	19,2 aB	18,2 aA	-	-
Eficiência de utilização de N, mg ² mg ⁻¹							
Eucalipto	Sem FMAs	-	-	-	-	233,4 aB	499,9 aA
	Com FMAs	-	-	-	-	659,7 aA	545,7 aA
Sesbânia	Sem FMAs	-	-	-	-	466,2 aA	382,7 aA
	Com FMAs	-	-	-	-	440,2 aA	380,7 aA

Para uma mesma espécie e mesma parte da planta, as médias seguidas pela mesma letra minúscula, na linha, ou maiúscula, na coluna, não diferem entre si (teste de Tukey a 5 %).

do rizóbio, independentemente de as plantas estarem ou não inoculadas com os FMAs (Quadro 2). No entanto, a inoculação com os FMAs aumentou a EFUN nas plantas de eucalipto, quando comparadas às plantas do tratamento-controle, não ocorrendo o mesmo com a sesbânia.

A eficiência de utilização de nutrientes (EFU) é a medida da matéria seca produzida por unidade de nutriente na planta (Kirdemmann & Cromer, 1996). Segundo esses autores, a maior EFU de nutrientes é resultado da minimização das perdas de nutrientes pela planta e da eficiente remobilização dos nutrientes dentro da planta, sendo esta estratégia utilizada por plantas de eucalipto cultivadas em solos com baixa fertilidade. Na planta (total) de eucalipto, a inoculação dos FMAs proporcionou aumento de 247 % no conteúdo de N e aumento de 215 % no peso da

matéria seca (Quadro 2), resultando em acréscimo de 183 % na EFUN.

Já a inoculação com FMAs + rizóbio proporcionou, em relação ao controle, aumento de 209, 310 e 133 % no peso de matéria seca, no conteúdo de N e na EFU, respectivamente, enquanto a inoculação do rizóbio (na sesbânia) proporcionou incrementos nas plantas de eucalipto de 120, 126, 114 % no peso da matéria seca, no conteúdo e na EFUN, respectivamente, em relação ao controle. Estas respostas evidenciam, mais uma vez, que os FMAs inoculados em ambas as plantas e mesmo o rizóbio inoculado na leguminosa apresentam efeitos positivos sobre a eficiência de utilização de N nas plantas de eucalipto no cultivo consorciado.

A inoculação com o rizóbio diminuiu a percentagem relativa de ¹⁵N (% de ¹⁵N em relação ao N total) na

parte aérea, nas raízes e na planta toda (total) de eucalipto (Quadro 3). Na parte aérea e nas raízes, a inoculação com FMAs + rizóbio levou, respectivamente, ao acréscimo e ao decréscimo na percentagem relativa de ^{15}N , quando comparados aos do tratamento inoculado somente com FMAs.

A inoculação dos FMAs promoveu decréscimo na percentagem relativa de ^{15}N na parte aérea e total do eucalipto, quando comparado ao do controle, enquanto, nos demais tratamentos, não foram observadas diferenças significativas na percentagem relativa de ^{15}N (Quadro 3).

Na parte aérea e nas raízes da sesbânia, a inoculação somente com o rizóbio e com os FMAs proporcionou decréscimos na percentagem relativa de ^{15}N em relação ao controle. A dupla inoculação proporcionou decréscimos na percentagem relativa de ^{15}N nas raízes da sesbânia em relação ao tratamento inoculado somente com os FMAs e somente com o rizóbio.

O conteúdo de ^{15}N no eucalipto (total) diminuiu com a inoculação do rizóbio, independentemente da inoculação ou não dos FMAs (Quadro 3). A inoculação com os FMAs promoveu acréscimo no conteúdo de ^{15}N no eucalipto em relação ao controle. Na sesbânia, entretanto, não foram verificadas diferenças significativas no conteúdo de ^{15}N com a inoculação dos microrganismos.

A percentagem relativa de ^{15}N e o conteúdo de ^{15}N observados nas plantas de eucalipto em todos os tratamentos (Quadro 3) indicam que o ^{15}N absorvido pelas raízes da sesbânia localizadas no compartimento A foi mobilizado para as raízes da sesbânia do compartimento B e, por algum processo

de transferência, chegaram até às raízes do eucalipto do compartimento C, onde foram, então, absorvidos e distribuídos entre as raízes e a parte aérea do eucalipto.

Os mecanismos de transferência de N, que poderiam estar ocorrendo concomitantemente ou individualmente em cada tratamento, podem ser: o transporte direto, via hifa do fungo micorrízico; o transporte indireto, envolvendo a hifa do fungo micorrízico, e o transporte não envolvendo fungos micorrízicos.

No transporte direto, as hifas estariam interconectando as raízes das duas espécies simultaneamente e, por elas, o N seria transportado da planta de sesbânia para o eucalipto. Mader et al. (2000), estudando o transporte de ^{15}N de um compartimento de solo separado do compartimento de raízes por uma membrana hidrofóbica (inibe o fluxo de massa e a difusão de íons), que só permite a passagem de hifas de FMAs, observaram que o aumento no fluxo de ^{15}N neste compartimento foi três vezes maior quando as plantas estavam inoculadas com os FMAs em relação a plantas não inoculadas, indicando a possibilidade de transferência de N via hifas, sem que o nutriente entre na solução do solo.

No transporte indireto envolvendo a hifa micorrízica, o N seria liberado no solo pelas raízes da sesbânia (por exsudação de compostos orgânicos ou pela decomposição dos nódulos e das raízes mortas da sesbânia) ou pelas hifas ligadas a estas raízes, e seria absorvido pela hifa micorrízica conectada à raiz do eucalipto que, por sua vez, liberaria o nutriente para a planta hospedeira.

Quadro 3. Percentagem relativa de ^{15}N e conteúdo de ^{15}N nas plantas de eucalipto e de sesbânia, inoculadas ou não com rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), cultivadas em consorciação

Espécie	Tratamento	Parte aérea		Raiz		Total (planta toda)	
		Sem rizóbio	Com rizóbio	Sem rizóbio	Com rizóbio	Sem rizóbio	Com rizóbio
Porcentagem relativa de ^{15}N , %							
Eucalipto	Sem FMAs	0,1727 aA	0,0289 bA	0,2455 aA	0,0640 bA	0,1965 aA	0,0423 bA
	Com FMAs	0,0022 bB	0,0158 aA	0,1840 aA	0,0807 bA	0,0780 aB	0,0411 aA
Sesbânia	Sem FMAs	2,9230 aA	1,1400 bA	2,7200 aA	1,3750 bA	2,6650 aA	1,2000 aA
	Com FMAs	1,4600 aB	0,8140 aA	1,3560 aB	0,1000 bB	1,4200 aA	0,8540 aA
Conteúdo de ^{15}N , mg vaso ⁻¹							
Eucalipto	Sem FMAs	-	-	-	-	0,0486 aB	0,0246 bA
	Com FMAs	-	-	-	-	0,0658 aA	0,0370 bA
Sesbânia	Sem FMAs	-	-	-	-	6,6600 aA	5,7600 aA
	Com FMAs	-	-	-	-	5,4000 aA	4,4400 aA

Para uma mesma espécie e mesma parte da planta, as médias seguidas pela mesma letra minúscula, na linha, ou maiúscula, na coluna, não diferem entre si (teste de Tukey a 5 %).

Graham et al. (1981) observaram que a colonização micorrízica altera a taxa de exsudação radicular, a qual pode ter um efeito importante na transferência de nutrientes entre as plantas.

No transporte indireto não envolvendo fungos micorrízicos, o nutriente é liberado na solução do solo e chega até às raízes do eucalipto por algum mecanismo de transporte no solo (fluxo de massa, difusão), onde, então, é absorvido (Newman, 1988).

No presente trabalho, no tratamento-controle e com rizóbio, pode ocorrer somente o transporte indireto, não envolvendo os FMAs, enquanto no tratamento com FMAs + rizóbio e com FMAs, podem ocorrer os três mecanismos de transportes, que podem ser observados pelas respostas nos tratamentos com micorriza, em que o conteúdo de ^{15}N nas planta de eucalipto (total) foi maior em relação ao controle e a inoculação somente com o rizóbio, ou seja, maior quantidade de ^{15}N foi transferida da sesbânia para o eucalipto.

Nos tratamentos com rizóbio e FMAs + rizóbio, apesar do aumento de 125 e 310 % no conteúdo de N (total) no eucalipto (Quadro 2) em relação ao controle, observou-se menor percentual relativo de ^{15}N nestes tratamentos (Quadro 3), sugerindo que o N da fixação biológica de nitrogênio (FBN) na sesbânia deve ter sido, em parte, transferido para o eucalipto. O percentual de ^{15}N nas plantas de eucalipto (total) em todos os tratamentos foi de 13 a 30 vezes menor que o percentual de ^{15}N encontrado na sesbânia (Quadro 3), indicando que a sesbânia permitiu a transferência do ^{15}N proporcional ao percentual de ^{15}N que absorveu do solo.

No percentual relativo de ^{15}N e no conteúdo de ^{15}N , menores valores indicam que a planta absorveu menos do N que foi adicionado ao solo, via adubação. Assim, nos tratamentos inoculados com rizóbio ou com FMAs + rizóbio, as plantas de eucalipto e de sesbânia, embora tenham apresentado maiores valores nos conteúdos de N (Quadro 2), revelaram menores valores nos conteúdos de ^{15}N (Quadro 3) que podem ser justificados pela aquisição de N via FBN, que foi de 55 e 40 % com a inoculação do rizóbio e de FMAs + rizóbio, respectivamente.

Esperava-se que o aumento no conteúdo de N na sesbânia (total), decorrente da inoculação com os FMAs, correspondesse a aumentos no conteúdo de ^{15}N , o que não foi observado. Vários fatores podem ser considerados para explicar esta resposta neste tratamento. Uma delas pode ser devida à contaminação com rizóbio, observada pelo número de nódulos (Quadro 1) que pode ter promovido a FBN, diminuindo a absorção do N do solo adicionado por meio da adubação. Além disto, devem-se considerar a absorção e a utilização do ^{15}N do pelas hifas dos FMAs que se encontram no solo. De acordo com Attiwill & Adams (1993), os fungos assimilam o NH_4^+ como glutamina, a qual se move para as raízes das plantas hospedeiras, mas pode ser estocada como

um reservatório de N solúvel, sendo, posteriormente, liberada para a planta hospedeira conforme sua demanda.

O acréscimo no conteúdo de N nas plantas de eucalipto (Quadro 2) com a inoculação dos FMAs + rizóbio, em relação ao tratamento somente com os FMAs, foi de 18 %, deixando evidente o efeito sinérgico da dupla inoculação. Esta resposta indica que, provavelmente, deve estar ocorrendo transferência de N proveniente da FBN, da sesbânia para o eucalipto, o que pode ser confirmado pelo menor percentual e menor conteúdo de ^{15}N observado com a inoculação dos FMAs + rizóbio comparado ao tratamento inoculado somente com os FMAs.

CONCLUSÕES

1. A inoculação com rizóbio, com FMAs e com FMAs + rizóbio promoveu aumentos no conteúdo de N e diminuição da relação C/N no eucalipto e na sesbânia.
2. Ocorreu transferência de ^{15}N das plantas de sesbânia para o eucalipto em todos os tratamentos, sendo esta transferência proporcional ao ^{15}N absorvido pela sesbânia.
3. A inoculação com o rizóbio aumentou o conteúdo de N (total) e diminuiu o conteúdo de ^{15}N nas plantas de eucalipto, indicando que parte do N absorvido deve ser proveniente da FBN da sesbânia.
4. Os resultados indicaram o efeito positivo da utilização de rizóbio e micorrizas na consorciação eucalipto-leguminosa sobre as plantas de eucalipto.

LITERATURA CITADA

- ATTIWILL, P.M. & ADAMS, M.A. Nutrient cycling in forests. *Transley Review*, 50. New Phytol., 124:561-582, 1993.
- BARROS, N.F. & NOVAIS, R.F. Eucalypt nutrition and fertilizer regimes in Brazil. In: ATTIWILL, P.M. & ADAMS, M.A., eds. *Nutrition of Eucalypts*. Australia, 1996. p.335-356.
- BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F. & NEVES, J.C.L. Fertilização e correção do solo para o plantio de eucalipto. In: BARROS, N.F. & NOVAIS, R.F., eds. *Relação solo-eucalipto*. Viçosa, Folha de Viçosa, 1990. p.127-186.
- BERGERSEN, F.J. Measurements of biological dinitrogen fixation. In: BIONIFT REGIONAL SYMPOSIUM AND WORKSHOP, BIONIFT. Canberra, 1986 BIONIFT. Canberra, 1986, p.105-115.
- BODDEY, R.M.; ALVES, B.J.R. & URQUIAGA, S. Quantificação da fixação biológica de nitrogênio associada a plantas utilizando o isótopo ^{15}N . In: HUNGRIA M. & ARAÚJO, R.S. eds. *Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola*. Brasília, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1994. p.471-487.

- CAMPELLO, E.F.C. O papel de leguminosas arbóreas noduladas e micorrizadas na recuperação de áreas degradadas. In: BALENSIEFER, M., coord. Recuperação de áreas degradadas. III Curso de Atualização, Curitiba, 1996. p.11-16.
- COSTA JUNIOR, P.F. Comportamento de leguminosas arbóreas inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e rizóbio em estéril de extração de argila. Campos dos Goytacazes, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 1997. 71p. (Tese de Mestrado)
- CRUZ, A.F. Influência de fungos micorrízicos arbusculares na transferência de nitrogênio das plantas de feijão e caupi para o milho cultivado sob sistema de consórcio. Campos dos Goytacazes, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 1996. 59p. (Tese de Mestrado)
- CRUZ, A.F. & MARTINS, M.A. Transferência de nitrogênio entre plantas interconectadas por fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). R. Bras. Ci. Solo, 21:559-565, 1997.
- DAVIDE, A.C.; FARIA, J.M.R. & BOTELHO, S.A. Propagação de espécies florestais. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 1995. 41p.
- DELL, B. Diagnosis of nutrient deficiencies in eucalypts. In: ATTIWILL, P.M. & ADAMS, M.A. eds. Nutrition of Eucalypts. Australia, 1996. p.417-440.
- EUCLYDES, R.F. Sistema para Análise Estatísticas e Genéticas - SAEG. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1983. 74p.
- FRANCO, A.A. & BALIERO F.C. Fixação biológica de nitrogênio: uma alternativa aos fertilizantes nitrogenados. In: SIQUEIRA J.O.; MOREIRA, F.M. S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E. & CARVALHO, J.G., eds. Inter-relações fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas. Lavras, 1999. p.577-596.
- FREY B. & SCHUEPP, H. Transfer of symbiotically fixed nitrogen from berseem (*Trifolium alexandrinum* L.) to maize via vesicular-arbuscular mycorrhizal hyphae. New Phytol., 122:447-454, 1992.
- GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring VA mycorrhizal infection in roots. New Phytol., 84:489-500, 1980.
- GRACE, C. & STRIBLEY, D.P. A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Micol. Res., 95:1160-1162, 1991.
- GRAHAM, J.H.; LEONARD, R.T. & MENGE, J.A. Membrane-mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. Plant Physiol., 68:548-552, 1981.
- IKRAM, A.; JENSEN, E.S. & JAKOBSEN, I. No significant transfer of N and P from *Pueraria phaseoloides* to *Hevea brasiliensis* via hyphal links of arbuscular mycorrhiza. Soil Biol. Biochem., 26:1541-1547, 1994.
- JOHANSEN, A.; FINLAY, R.D. & OLSSON, P.A. Nitrogen metabolism of external hyphae of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. New Phytol., 133:705-712, 1996.
- JUDD, T.S.; ATTIWILL P.M. & ADAMS, M.A. Nutrient concentration in *Eucalyptus*: a synthesis in relation to differences between taxa, sites and components. In: ATTIWILL, P.M. & ADAMS, M.A., eds. Nutrition of Eucalypts. Australia, 1996. p. 123-154.
- KESSEL, C.V.; SINGLETON, P.W. & HOBEN, H.J. Enhanced N-transfer from a soybean to maize by vesicular arbuscular mycorrhizal (VAM) fungi. Plant Physiol., 79:562-563, 1985. (Short Communication)
- KRIEDEMANN, P.E. & CROMER, R.N. The nutritional physiology of the eucalypts – Nutrition and growth. In: ATTIWILL, P.M. & ADAMS, M.A., eds. Nutrition of Eucalypts. Australia, 1996. p.109 -122.
- MADER, P.; VIERHEILIG, H.; STREITWOLF-ENGEL, R.; BOLLER, T.; FREY, B.; CHRISTIE, P. & WIEMKEN, A. Transport of ¹⁵N from a soil compartment separated by a polytetrafluoroethylene membrane to plant roots via the hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol., 146:155-161, 2000.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C. & OLIVEIRA, S.A. Avaliação de estado nutricional das plantas. POTAFOS, 1997. 319p.
- MARSCHNER, H. & DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. Plant Soil, 159:89-102, 1994.
- MARTENSSON, A. M.; RYDBERG, I. & VESTBERG, M. Potential to improve transfer of N in intercropped systems by optimizing host-endophyte combinations. Plant Soil, 205:57-66, 1998.
- MARTINS, M.A. Interactions between plants with special reference to the role of the external mycelium of VA mycorrhizal fungi. England, The University of Sheffield, 1992a 171p. (Tese de Doutorado)
- MARTINS, M.A. The role of the external mycelial network of VA mycorrhizal fungi. A study of carbon transfer between plants interconnected by a common mycelium. Mycorrhiza, 2:69-73, 1992b.
- MARTINS, M.A. & READ, D.J. The role of the external mycelial network of VA mycorrhizal fungi:II. A study of phosphorus transfer between plants interconnected by a common mycelium. R. Microbiol., 27:30-35, 1996.
- MARTINS, M.A. The role of the external mycelial network of arbuscular mycorrhizal fungi in the carbon transfer process between plants. Mycol. Res., 97:807-810, 1993.
- MARTINS, M.A. & CRUZ, A.F. The role of the external mycelial network of arbuscular mycorrhizal fungi: III. A study of nitrogen transfer between plants interconnected by a common mycelium. R. Microbiol., 29:289-294, 1998.
- NEWMAN, E.I. Mycorrhizal links between plants: Their functioning and ecological significance. Adv. Ecol. Res., 18:243-270, 1988.
- ROBINSON, D. & FITTER, A. The magnitude and control of carbon transfer between plants linked by a common mycorrhizal network. J. Exp. Bot., 330:9-13, 1999.
- SEN, R. Budgeting for the wood-wide web. New Phytol., 145:161-165, 2000. (Fórum Commentary)
- SIDDIQI, M.Y. & GLASS, A.D.M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. J. Plant. Nutr., 4:289-302, 1981.
- VINCENT, J.M. A manual for the practical study of root-nodule bacteria. London, JBP, 1970. 164p. (Handbook, 15)
- WIGAND, C. & STEVENSON, C. Facilitation of phosphate assimilation by aquatic mycorrhizae of *Vallinaria americana* Michx. Hydrobiologia, 342/343:35-41, 1997.