

EFEITOS DA MICORRIZA E DO SUPRIMENTO DE FÓSFORO NA ATIVIDADE ENZIMÁTICA E NA RESPOSTA DE ESPÉCIES ARBÓREAS AO NITROGÊNIO¹

Eliane Guimarães Pereira², José Oswaldo Siqueira³, Nilton Curi³, Fátima M.S. Moreira³ e Antônio Álvaro Corsetti Purcino⁴

Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras, CP 37, Lavras, MG, 37200-000.

RESUMO- Avaliou-se, em um experimento realizado em vasos com 5 kg de um latossolo, a influência de micorriza arbuscular e do suprimento de fósforo na resposta da acácia (*Acacia mangium* (L.)), fedegoso (*Senna macranthera* (Collad.) I & B.), cássia verrugosa (*Senna multijuga* (L.C.Rich) I.& B.) e angico vermelho (*Anadenanthera peregrina* (L.) Speg.) à adubação nitrogenada. Verificou-se que plantas colonizadas por *Glomus etunicatum* (Becker & Gerdemann), mesmo apresentando menores teores de fósforo na parte aérea, apresentaram maiores respostas em crescimento à adição de N-mineral ao solo do que quando estas foram adubadas com 360 mg de P kg⁻¹. Para absorção de N, verificou-se que as plantas micorrizadas apresentaram teores de N até 2,6 vezes maior devido a aplicação deste nutriente, enquanto nas plantas com P esta relação não ultrapassou 1,5. Isto indica que o efeito da micorriza na resposta ao N-mineral não é resultante da melhoria da nutrição fosfática da planta e sim devido a melhor absorção do N via fungo micorrízico. O conteúdo de proteína solúvel na folha e a atividade da GS, Fd-GOGAT e PEPC foram pouco influenciados pelos tratamentos, sendo os valores máximos observados para o fedegoso. Além de efeitos diretos na nutrição fosfática, a micorriza se mostrou importante para a nutrição nitrogenada das espécies arbóreas utilizadas neste estudo.

¹ Recebido em 02/10/1995 e aceito em 12/02/1996. Parte da tese apresentada por EGP à UFLA para obtenção do título de MS. Parcialmente financiado pela CEMIG.

² Eng. Agr., MS, Bolsista do CNPq

³ Prof. titular, PhD, Depto de Ciência do Solo, UFLA, CP 37, Lavras, MG, 37200-000. Bolsista do CNPq.

⁴ Pesquisador, PhD, Núcleo de Biologia Aplicada, CNPMS/EMBRAPA, CP 15, Sete Lagoas, MG, 35.701-970. Bolsista do CNPq.

Abreviações: GS - sintetase da glutamina; Fd-GOGAT - sintase da ferredoxina-glutamato; PEPC - carboxilase do fosfoenolpiruvato.

Termos adicionais para indexação: espécies arbóreas nativas, fungo micorrízico, micorriza arbuscular, nutrição vegetal.

EFFECTS OF MYCORRHIZA AND PHOSPHORUS SUPPLY ON ENZYME ACTIVITY AND GROWTH RESPONSE OF WOODY SPECIES TO NITROGEN

ABSTRACT- The effects of arbuscular mycorrhizae and phosphorus supply on the response of acácia (*Acacia mangium*), fedegoso (*Senna macranthera*), cássia verrugosa (*Senna multijuga*) and angico vermelho (*Anadenanthera peregrina*) to mineral nitrogen were evaluated. The study was carried out under glasshouse conditions in plastic pots with 5 kg of a low fertility latosol (Oxisol). Plants inoculated with *Glomus etunicatum* (Becker & Gerdemann) had lower shoot P contents than plants fertilized with 360 mg P kg⁻¹ soil, but mycorrhizal plants exhibited higher growth response due to N application. N-uptake due to N-application was increased by up 2.6 in mycorrhizal plants, while in P-supplied plants this ratio was reduced to 1.5. This indicates that mycorrhizal effects on soil N-uptake was not solely mediated by an enhanced P-nutrition of the plants. Leaf soluble protein content and the activity of glutamine synthetase (GS), ferredoxin-glutamate synthase (Fd-GOGAT) and phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) were not strongly influenced by treatments, being the highest values observed for fedegoso. Besides improving plant P-nutrition, mycorrhizal symbiosis are important factor for the N-nutrition of the leguminous woody species used in this study.

Additional index terms: arbuscular mycorrhiza, mycorrhizal fungi, native woody species, plant nutrition.



INTRODUÇÃO

As micorrizas do tipo arbuscular são de ocorrência generalizada nas plantas vasculares e exercem enorme efeito na nutrição mineral, propiciando principalmente maior absorção de fósforo e aumentando a tolerância da planta a diversos tipos de estresse (Siqueira, 1994). Além desses efeitos, as micorrizas arbusculares estão envolvidas na conservação, armazenagem e ciclagem de nutrientes em ecossistemas florestais.

A nutrição nitrogenada de plantas com micorrizas arbusculares tem merecido pouca atenção, quando comparada com o volume de estudos sobre o efeito dessa associação na nutrição fosfática (Bowen & Smith, 1981). Nos poucos estudos envolvendo as micorrizas arbusculares e a nutrição nitrogenada das leguminosas, verifica-se uma relação sinérgica, resultante de efeitos indiretos da micorrização na nodulação e fixação biológica do N_2 . Em espécies que não formam simbiose com rizóbio, vários estudos têm demonstrado maior absorção de nitrogênio em plantas com micorrizas arbusculares, resultante do aumento da superfície de exploração do solo pelas hifas fúngicas (Ames et al., 1984), permitindo uma absorção do N não acessível para a raiz, principalmente do NH_4^+ , já que este íon é menos móvel no solo que o NO_3^- . Diversos estudos recentes demonstram que as micorrizas arbusculares absorvem e transferem até 49% do N absorvido pela planta (Johansen et al., 1993; Tobar et al., 1994; Johansen et al., 1994), representando importante mecanismo de aquisição deste nutriente, mesmo em leguminosas (Sprent, 1994).

A atividade da redutase do nitrato (RN) e da sintase da glutamina (GS), em geral, é maior tanto nas raízes quanto na parte aérea de plantas bem supridas com fósforo. Contudo, ainda não se determinou se esta maior atividade é devida ao efeito da adubação fosfática ou à colonização micorrízica (Oliver et al., 1983). Plantas micorrizadas podem apresentar maior atividade da GS nas raízes (Smith et al., 1985), favorecendo a assimilação do N. Cliquet & Stewart (1993) encontraram aumento na atividade da RN, assimilação de amônio, produção de glutamina e translocação de N no xilema de raízes de milho colonizadas com o fungo micorrízico *Glomus fasciculatum*.

Diversas espécies florestais nativas só responderam à adição de N quando devidamente micorrizadas (Pereira et al., 1995). Uma questão relevante, neste caso, seria determinar se os efeitos das micorrizas arbusculares na resposta ao nitrogênio seria resultante da maior absorção deste nutriente

pelo fungo ou do favorecimento pela nutrição fosfática (Oliver et al., 1983).

Embora alguns especialistas preconizem a micorrização como maneira de facilitar o crescimento de espécies florestais em programas de reflorestamento (Janos, 1980; Brundrett & Abbott, 1992; Herrera et al., 1993), eles não relacionam os efeitos das micorrizas arbusculares com uma melhor utilização do nitrogênio do solo. Estudos desta natureza são de importância ecológica (Sprent, 1994) quando se pretende o florestamento de solos deficientes em nitrogênio.

No presente trabalho avaliou-se a influência da nutrição fosfática e da inoculação do solo com fungos micorrízicos arbusculares, no crescimento inicial, no teor de proteína solúvel, na atividade de algumas enzimas do metabolismo do carbono e do nitrogênio e no acúmulo de nutrientes da parte aérea em fedegoso, cássia verrugosa, angico vermelho e acácia. As três primeiras espécies são de ocorrência natural nas matas remanescentes do sudeste brasileiro e a acácia é uma espécie exótica.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se um Latossolo Vermelho-Escuro epiálico, textura argilosa, relevo plano, fase cerrado, coletado próximo à represa de Camargos/Itutinga na região dos Campos das Vertentes (MG) que apresentava as seguintes características: pH em água 5,0; K - 0,95 mol_c m⁻³ de solo; Ca - 16 mol_c m⁻³; Mg - 9 mol_c m⁻³; Al - 1 mol_c m⁻³; H + Al - 23 mol_c m⁻³. A calagem, determinada pelo método de saturação por bases (Quaggio, 1983), foi feita com calcário dolomítico. Uma adubação básica de 25 mg.kg⁻¹ de K foi aplicada na forma de KCl. Após incubação, o solo foi fumigado com brometo de metila 98% na base de 393 mL.m⁻³ de substrato, e a taxa de mineralização do N foi avaliada conforme Anderson & Ingram (1989).

Os tratamentos constaram da presença e ausência de adubação nitrogenada, plantas colonizadas pelo fungo micorrízico arbuscular *Glomus etunicatum* cultivadas em baixo nível de fósforo, e plantas não colonizadas cultivadas em solo contendo alto nível de fósforo. As plântulas de acácia e angico vermelho foram colonizadas com rizóbio específico para estas espécies obtidos no Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia (CNPAB-EMBRAPA). Nas plantas que receberam adubação nitrogenada, aplicou-se, semanalmente, 20 mg.kg⁻¹ de N na forma de NH_4NO_3 totalizando 280 mg.kg⁻¹ de N. Para a inoculação de *Glomus etunicatum* adicionaram-se, junto às raízes de cada plântula, 5 g de inóculo, contendo, aproximadamente, 400 esporos viáveis. O tratamento sem inoculação recebeu 100 mL de um filtrado preparado a partir de uma suspensão do inóculo em

água. Para o tratamento com baixo nível de P aplicaram-se 45mg.kg^{-1} de P para todas as espécies estudadas, já para o tratamento com alto nível de P, as plantas de angico, cássia e fedegoso receberam 360mg.kg^{-1} de P e a acácia recebeu 160mg.kg^{-1} . As dosagens para o tratamento com alto nível de P foram baseadas em experimentos prévios (Pereira et al., 1995) e visavam a obtenção de plantas micorrizadas e adubadas com menor dose de P de tamanho semelhante ao controle (não micorrizado) adubado com maior dose de P.

As sementes, obtidas do Departamento de Ciências Florestais-UFLA foram submetidas à quebra de dormência e pré-germinadas em papel de filtro, em germinador com temperatura controlada em 25°C . Após emissão da radícula, as plântulas foram repicadas, uma planta por vaso com 5 L de solo, representando a unidade experimental. O experimento foi conduzido durante o verão, em viveiro telado com cobertura de vidro, em delineamento inteiramente casualizado, com os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2×2 com cinco repetições. A umidade do solo nos vasos foi mantida entre 60 e 70% do volume total de poros, através de verificações controladas por pesagem.

As plantas foram coletadas aos 180 dias após a repicagem e o crescimento avaliado pela produção de matéria seca da parte aérea e das raízes, relação raiz/parte aérea, altura e diâmetro do caule. A nodulação e a colonização micorrízica também foram avaliadas. Para avaliação da colonização micorrízica, amostras de 1 g de raízes finas foram clarificadas com KOH 10% e coloridas com azul de tripano, sendo a colonização estimada pelo método da placa quadriculada (Giovanetti & Mosse, 1980).

Os teores de nutrientes na matéria seca da parte aérea foram determinados conforme Liao (1981) e Zarosky & Bureau (1977).

A atividade da carboxilase do fosfoenolpiruvato (PEPC), sintetase da glutamina (GS) e da sintase da ferredoxina-glutamato (Fd-GOGAT) foi determinada nas segundas folhas mais jovens completamente desenvolvidas de cada planta, colhidas às 10:00 horas. Para extração, 1 g de tecido foliar foi macerado com areia a 4°C , em 5 volumes de tampão fosfato 100 mM, pH 7,5, contendo 10 mM de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1 mM de Na_2EDTA , 2 mM de DTT, 0,8 mM de PMSF e 100 mg de PVPP insolúvel. A suspensão foi centrifugada a $16.000 g_n$ por 15 min sendo o precipitado descartado. A atividade da PEPC foi determinada pelo protocolo de Meyer et al. (1988). A atividade biossintética da GS foi medida na presença do NH_2OH como descrito por O Neal & Joy (1974) e a atividade da Fd-GOGAT de acordo com Match et al. (1979). O teor de proteína solúvel nas

folhas foi determinado segundo Lowry et al. (1951). Todos reagentes foram adquiridos da Sigma Chemical Co.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados de matéria seca da parte aérea mostram um comportamento semelhante para a acácia, cássia verrugosa e angico vermelho (Tabela 1). Nas três espécies a aplicação de nitrogênio não aumentou a matéria seca nas plantas micorrizadas, enquanto as plantas não micorrizadas apresentaram menor matéria seca no tratamento sem N. O fedegoso apresentou comportamento diferenciado das demais espécies, com resposta negativa para a aplicação de N. Os resultados de matéria seca das raízes, de modo geral, também evidenciaram comportamento diferenciado entre as espécies (Tabela 1). Na acácia, a aplicação de N aumentou a massa de raízes nas plantas não micorrizadas e diminuiu nas plantas micorrizadas. No fedegoso, a aplicação de N diminuiu a massa de raízes tanto nas plantas micorrizadas quanto nas não micorrizadas, fato também observado na parte aérea. Na cássia verrugosa não houve efeito do N. A adubação com N e inoculação com *G. etunicatum* aumentaram a massa das raízes no angico vermelho.

A relação raiz/parte aérea foi maior nas plantas micorrizadas sob baixo P em fedegoso, cássia verrugosa e angico vermelho (Tabela 1), fato já relatado para outras espécies (Koide, 1991) e para cássia (Renó, 1994). Isto indica que esses tratamentos favoreceram o crescimento radicular das plantas. No fedegoso, a relação raiz/parte aérea foi menor nas plantas que receberam nitrogênio, devido ao efeito negativo mais pronunciado do N na raiz que na parte aérea. Na acácia, a menor relação raiz/parte aérea nas plantas micorrizadas e adubadas com N foi resultante de uma menor massa das raízes destas plantas. Nas plantas de acácia não micorrizadas, a aplicação de N não afetou a relação raiz/parte aérea, mas estas cresceram menos que plantas micorrizadas que não receberam N.

No acácia e no angico vermelho, a altura das plantas micorrizadas foi maior que das plantas não micorrizadas que não receberam N (Tabela 1). No fedegoso a altura das plantas não foi afetada pelos tratamentos estudados. Em cássia verrugosa houve efeito da adição de N.

A colonização micorrízica não foi afetada pela adubação nitrogenada e não diferiu entre as quatro espécies, variando de 30 a 38%. As plantas cultivadas em solo não inoculado com *G. etunicatum* não apresentaram colonização.

A nodulação só ocorreu na acácia, sendo que as plantas não adubadas com N produziram 600 mg de

TABELA 1- Altura, massa da matéria seca da parte aérea e da raiz e relação raiz/parte aérea de mudas de espécies arbóreas colonizadas com *Glomus etunicatum* (M) ou adubadas com alto nível de fósforo (P), com adição (+) ou não (-) de N-mineral (N) (médias de 5 repetições).

Variável	Tratamentos		
	Nitrogênio	M	P
.....Acácia.....			
Altura(mm)	+N	754 aA	638 bA
	-N	728 aA	540 bA
Massa da p.aérea(g)	+N	35.87 aA	31.13 aA
	-N	36.61 aA	20.09 bB
Massa da raiz(g)	+N	6.41 aB	5.38 aA
	-N	9.41 aA	3.31 bB
Relação raiz/p.aérea	+N	0.18 aB	0.18 aA
	-N	0.26 aA	0.16 bA
.....Fedegoso.....			
Altura(mm)	+N	366 aA	414 aA
	-N	425 aA	446 aA
Massa da p.aérea(g)	+N	8.84 aB	8.60 aB
	-N	18.67 aA	13.34 bA
Massa da raiz(g)	+N	3.78 aB	2.65 aB
	-N	13.09 aA	8.87 bA
Relação raiz/p.aérea	+N	0.47 aB	0.30 bB
	-N	0.70 aA	0.66 bA
.....Cássia verrugosa.....			
Altura(mm)	+N	1055 aA	1110 aA
	-N	904 aB	940 aB
Massa da p.aérea(g)	+N	23.36 aA	26.57 aA
	-N	24.56 aA	19.27 bB
Massa da raiz(g)	+N	10.73 aA	7.60 bA
	-N	10.42 aA	6.05 bA
Relação raiz/p.aérea	+N	0.47 aA	0.28 bA
	-N	0.43 aA	0.33 bA
.....Angico vermelho.....			
Altura(mm)	+N	575 aA	600 aA
	-N	590 aA	445 bB
Massa da p.aérea(g)	+N	4.65aA	3.85 aA
	-N	4.51 aA	2.09 bB
Massa da raiz(g)	+N	9.72 aA	2.31 bA
	-N	8.26 aB	1.49 bB
Relação raiz/p.aérea	+N	2.35 aA	0.59 bA
	-N	1.82 aA	0.81 bA

Médias, em uma mesma espécie, seguidas de mesma letra minúscula (linha) e maiúscula (coluna) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

nódulos/planta, enquanto a adubação com N inibiu totalmente a nodulação, confirmando os resultados de Goy et al. (1992). Geralmente, as micorrizas arbusculares estimulam a nodulação por rizóbios, devido principalmente a maior absorção de P,

TABELA 2- Atividade enzimática e teor de proteína solúvel na matéria fresca das folhas de quatro espécies arbóreas colonizadas *G. etunicatum* (M) ou adubadas com alto nível de fósforo (P), com aplicação (+) ou não (-) de N-mineral (N) (média de 5 repetições).

Variáveis	Tratamentos		
	N	M	P
.....Acácia.....			
Proteína solúvel (g kg ⁻¹)	+N	11.53 Aa	7.49 Ba
	-N	10.64 Aa	16.33 Aa
PEPC(mmol CO ₂ kg ⁻¹ min ⁻¹)	+N	0.09 Aa	0.30 Aa
	-N	0.17 Aa	0.23 Aa
GS(μmol GHA kg ⁻¹ min ⁻¹)	+N	6 aA	16 aA
	-N	11 aA	14 aA
Fd-GOGAT(μmol GLU kg ⁻¹ min ⁻¹)	+N	87 aA	61 aA
	-N	93 aA	66 aA
.....Fedegoso.....			
Proteína solúvel(g kg ⁻¹)	+N	43.79 aA	56.13 aA
	-N	47.74 aA	70.78 aA
PEPC(mmol CO ₂ kg ⁻¹ min ⁻¹)	+N	5.80 aA	3.98 aA
	-N	3.81 aA	5.74 aA
GS(μmol GHA kg ⁻¹ min ⁻¹)	+N	742 bA	1085 aA
	-N	576 bB	870 aBfD
-GOGAT(μmol GLU kg ⁻¹ min ⁻¹)	+N	546 aA	908 aA
	-N	1227 aA	1061 aA
.....Cássia verrugosa.....			
Proteína solúvel(g kg ⁻¹)	+N	21.33 aA	16.63 aA
	-N	22.30 aA	23.32 aA
PEPC(mmol CO ₂ kg ⁻¹ min ⁻¹)	+N	0.11 aA	0.16 aA
	-N	0.14 aA	0.20 aA
GS(μmol GHA kg ⁻¹ min ⁻¹)	+N	N.D.	N.D.
	-N	N.D.	N.D.
Fd-GOGAT(μmol GLU kg ⁻¹ min ⁻¹)	+N	75 bA	96 aA
	-N	6 bB	57 aB
.....Angico vermelho.....			
Proteína solúvel(g kg ⁻¹)	+N	19.26 aA	14.97 aA
	-N	15.64 aA	19.56 aA
PEPC(mmol CO ₂ kg ⁻¹ min ⁻¹)	+N	0.24 aA	0.11 aA
	-N	0.16 aA	0.23 aA
GS(μmol GHA kg ⁻¹ min ⁻¹)	+N	34 aA	24 aA
	-N	28 aA	15 aA
Fd-GOGAT(μmol GLU kg ⁻¹ min ⁻¹)	+N	102 aA	168 aA
	-N	59 aA	93 aA

Médias em uma mesma espécie seguidas de letras minúscula (linha) e maiúscula (coluna) distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. ND-Não detectado.

apresentando portanto relação sinérgica. Entretanto, isto não foi observado neste experimento, provavelmente porque as plantas não micorrizadas estavam bem supridas em P. O angico vermelho não

respondeu à inoculação do solo com rizóbio, não apresentando nódulos em nenhum dos tratamentos.

As adubações nitrogenada e fosfatada aumentaram significativamente a atividade da GS no fedegoso e da Fd-GOGAT na cássia verrugosa, mas não influenciaram a atividade da PEPC em nenhuma das quatro espécies (Tabela 2). Na acácia, o teor de proteína solúvel nas folhas das plantas adubadas com P foi significativamente maior naquelas que não receberam adubação nitrogenada.

Em plantas C3 como as leguminosas arbóreas utilizadas neste estudo, a PEPC tem como principal função repor os esqueletos de carbono que são removidos do ciclo de Krebs para outras reações biossintéticas (Huppe & Turpin, 1994) e sua atividade chega a ser até 50 vezes menor nas plantas do tipo C3 do que C4 (Hatch, 1992). A alta atividade enzimática nas folhas de fedegoso (Tabela 2) é comparável aos valores encontrados em plantas de milho, que é C4 (Purcino et al.). Por outro lado, a acácia, a cássia e o angico vermelho mostram atividades muito mais baixas para GS, Fd-GOGAT e PEPC, sendo que os valores observados para PEPC

foram aproximadamente um vigésimo dos observados no milho (ibid). Isto, aparentemente, está associado ao maior conteúdo de proteína solúvel nas folhas (Tabela 2). Estes resultados corroboram a hipótese de McKey (1994) sobre a existência de mecanismos de aquisição de nitrogênio altamente evoluídos em leguminosas nodulíferas e não nodulíferas e, indicam que o fedegoso é uma espécie bastante competitiva e bem adaptada às condições do ambiente onde é nativa.

A adição de N resultou em maiores teores deste nutriente nas plantas, com exceção do angico vermelho (Tabela 3). A acácia e o angico vermelho apresentaram maiores teores de N nas plantas cultivadas com nível elevado de P do que nas micorrizadas, possivelmente resultante do seu menor crescimento (Jarrel & Beverly, 1981). O fedegoso, por outro lado, apresentou teor elevado de N, associado a uma maior atividade enzimática e capacidade de crescimento. A relação entre os teores de N para plantas de fedegoso com e sem adubação nitrogenada foi 2,6 e 1,5 vezes maior para plantas micorrizadas e adubadas com P, respectivamente. Respostas semelhantes, ou seja, maior resposta a

TABELA 3- Teores de nutrientes na parte aérea das espécies arbóreas colonizadas com *Glomus etunicatum* (M) ou adubadas com fósforo (P), com aplicação (+) ou não (-) de N-mineral (N), (média de 5 repetições).

Nutriente	N	Acácia		Fedegoso		Cássia verrugosa		Angico vermelho	
		M	P	M	P	M	P	M	P
N/g kg ⁻¹	+N	23.4 bA	25.6 aA	47.0 aA	42.3 bA	25.8 aA	27.4 aA	21.8 bA	29.6 aA
	-N	14.2 bB	20.1 aB	18.2 bB	27.0 aB	11.9 bB	19.1 aB	20.0 bA	28.2 aA
P/g kg ⁻¹	+N	0.4 bA	0.9 aB	0.6 bA	5.2 aA	0.4 bB	2.0 aA	0.5 bA	1.3 aB
	-N	0.4 bA	1.3 aA	0.5 bA	3.0 aB	0.8 bA	1.4 aB	0.5 bA	1.5 aA
K/g kg ⁻¹	+N	4.2 aA	3.7 aA	12.6 bA	19.0 aA	9.1 aA	4.5 bA	6.9 bB	14.6 aA
	-N	3.7 aA	3.9 aA	9.4 aB	12.3 aB	9.0 aA	4.0 bA	17.5 aA	14.9 bA
Ca/g kg ⁻¹	+N	23.9 aA	24.9 aA	18.6 aA	19.5 aB	13.9 bA	24.0 aA	12.0 bB	16.4 aA
	-N	21.9 aA	27.3 aA	15.1 bB	23.0 aA	17.5 bA	23.1 aA	17.0 aA	15.1 bA
Mg/g kg ⁻¹	+N	1.5 bA	1.6 aA	1.9 aA	1.9 aA	1.7 aA	1.8 aA	11.6 aA	2.6 bA
	-N	1.4 bA	1.8 aA	1.6 aB	1.7 aA	1.9 aA	1.8 aA	1.2 bB	2.8 aA
S/g kg ⁻¹	+N	2.3 aA	2.0 aB	2.2 aA	2.1 aB	1.9 bA	2.4 aA	1.1 bA	1.9 aA
	-N	1.5 bB	2.8 aA	1.5 bB	2.9 aA	1.6 bA	2.5 aA	1.0 bA	2.0 aA
Zn/μg kg ⁻¹	+N	21 bA	33 aA	29 bA	36 aA	34 aA	27 bA	27 bA	21 bA
	-N	146 bA	23 aB	15 bB	19 aB	17 bB	15 bB	16 aB	14 bB
Mn/μg kg ⁻¹	+N	119 bA	164 aA	90 aA	103 aA	69 aA	80 aA	67 bB	126 aA
	-N	81 bB	197 aA	81 aB	78 aB	43 bB	48 aB	89 aA	98 aB
Fe/μg kg ⁻¹	+N	110 aA	74 bA	134 aA	119 aB	841 aA	86 bA	106 bA	203 aA
	-N	53 bB	91 aA	91 bB	149 aA	469 aB	69 bA	142 bA	183 aA
Cu/μg kg ⁻¹	+N	5 aA	6 aA	5 aA	2 bB	7 aA	3 bA	5 aB	4 bA
	-N	4 bB	6 aA	4 aB	3 bA	5 aB	3 bA	8 aA	2 bB

Médias em uma mesma espécie, seguidas de mesma letra minúscula (linha) e maiúscula (coluna) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

adição de N em plantas micorrizadas, comparada com aquelas que receberam P, também foram verificadas para as demais espécies. Porém nas espécies nodulíferas (acácia e angico) estas respostas foram menores. Isto sugere uma estreita relação entre a simbiose micorrízica e a nutrição nitrogenada nas leguminosas, sendo esta mais pronunciada nas espécies que não utilizam o N₂ atmosférico via fixação biológica (Sprent, 1994).

Em todas espécies, plantas cultivadas com altas doses de P apresentaram maiores teores deste nutriente, independentemente da adição de N (Tabela 3), sem entretanto apresentarem crescimento maior que plantas micorrizadas (Tabela 1). A acácia adubada com P apresentou maior teor de N, P, Mg, Zn e Mn, independente da adubação nitrogenada. Para o angico vermelho os maiores teores dos nutrientes N, P, S e Fe foram observados nas plantas com alto fornecimento de P, indicando que talvez tenha baixo micotrofismo.

Com exceção do fedegoso, que teve o seu crescimento reduzido quando recebeu N, a adição de N promoveu o acúmulo deste e de outros nutrientes na parte aérea das plantas, como o K, Mg, Zn, Mn e Fe na acácia (Tabela 3). Na cássia verrugosa, a adição de N resultou em maior teor de N, Zn e Mn, enquanto o angico apresentou maior teor de Mg e Zn nas plantas micorrizadas e adubadas com N.

Plantas não micorrizadas, com exceção do fedegoso, apesar de terem apresentado maior teor de P responderam em crescimento à adição de N, enquanto as plantas micorrizadas que apresentaram menor teor de P, não tiveram seu crescimento aumentado pela adição de N. Isto indica que o efeito da micorriza na absorção do N do solo não foi nutricional, ou seja, induzido pela melhoria da nutrição fosfática da planta (Koide, 1991; Siqueira, 1994) e sim, provavelmente, resultante do melhor aproveitamento do N do solo pelas hifas fúngicas (Ames, Reid & Porter, 1983; Johansen, Jakobsen & Jensen, 1993), evidenciando a importância desses fungos como fator ecológico para a nutrição das leguminosas (McKey, 1994). De fato, o N liberado pela mineralização da matéria orgânica do solo foi da ordem de 1,23 mg.Kg⁻¹.dia⁻¹, portanto aparentemente suficiente para atender a demanda deste nutriente pelas plantas micorrizadas.

O crescimento das espécies não colonizadas por fungos micorrízicos foi limitado no solo que não recebeu adubação nitrogenada mesmo com adubação fosfática. Isto indica que além de efeitos diretos na nutrição fosfática, amplamente documentados (Siqueira, 1994), as micorrizas arbusculares são importantes para a nutrição nitrogenada das espécies arbóreas estudadas.

Assim, em solos degradados, com baixo teor de matéria orgânica, o sucesso no estabelecimento de espécies arbóreas destinadas à recomposição florística, depende pelo menos em parte, da presença no solo de propágulos de fungos micorrízicos arbusculares eficientes.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Luiz Edson Mota de Oliveira da UFPA, à Edna P.P.Pinho e Solange R.M.Andrade do CNPMS pela assistência nas análises laboratoriais.

REFERÊNCIAS

- AMES, R.N.; LYNN, K. PORTER; StJOHN, T.V.; PATRICK REID, C.P. Nitrogen sources and A values for vesicular-arbuscular and non-mycorrhizal sorghum grown at three rates of ¹⁵N-amonium sulphate. **The New Phytologist**, 97(2):269-276, 1984.
- AMES, R.N.; REID, C.P.; PORTER, L.K. Hyphal uptake and transport of nitrogen from two ¹⁵N-labelled sources by *Glomus mosseae*, a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. **The New Phytologist**, 95(3):381-396, 1983.
- ANDERSON, J.M.; INGRAN, J.S.I. **Tropical soil biology and fertility**; a handbook of methods. Wallingford, CBA International, 1989. 171p.
- BOWEN, G.D.; SMITH, S.E. The effects of mycorrhizas on nitrogen uptake by plants. In: CLARK, F.E.; ROSSWALL, T. (eds.) **Terrestrial nitrogen cycles: process, ecosystems, strategies and management impacts**. Stockholm, Swedish Natural Science Research Council, 1981. p.327-347. (Ecological bulletin, v.33)
- BRUNDRETT, M.C.; ABBOTT, L.K. Roots of jarrah forest plants. I. Mycorrhizal associations of shrubs and herbaceous plants. **Canadian Journal of Botany**, 68(3):551-578, 1992.
- CLIQUE, J.B.; STEWART, G.R. Ammonia assimilation in *Zea mays* L. infected with a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum*. **Plant Physiology**, 101(3):865-871, 1993.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **The New Phytologist**, 84(3):489-500, 1980.
- GOY, S.R.; SPRENT, J.I.; JAMES, E.K.; JACOB NETO, J. Influence of nitrogen form and concentration on the nitrogen fixation of *Acacia auriculiformis*. **Symbiosis**, 14:115-122, 1992.
- HATCH, M.D. C4 photosynthesis: an unlikely process full of surprises. **Plant and Cell Physiology**, 33(4):333-342, 1992.
- HERRERA, M.A.; SALAMANCA, C.P.; BAREA, J.M. Inoculation of woody legumes with selected arbuscular mycorrhizal fungi and Rhizobia to recover

- desertified Mediterranean ecosystems. **Applied and Environmental Microbiology**, 59(1):129-133, 1993.
- HUPPE, H.C.; TURPIN, D.H. Integration of carbon and nitrogen metabolism in plant and algal cells. **Annual Review of Plant and Plant Molecular Biology**, 45:577-607, 1994.
- JANOS, D.P. Vesicular-arbuscular mycorrhizae affect lowland tropical rain forest plant growth. **Ecology**, 61(1):151-162, 1980.
- JARREL, W.M.; BEVERLY, R.B. The dilution effect in plant nutrition studies. **Advances in Agronomy**, 34:197-224, 1981.
- JOHANSEN, A.; JAKOBSEN, I.; JENSEN, E.S. Hyphal N transport by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus associated with cucumber grown at three nitrogen levels. **Plant and Soil**, 160(1):1-9, 1994.
- JOHANSEN, A.; JAKOBSEN, I.; JENSEN, E.S. Hyphal transport by a vesicular-arbuscular fungus of N applied to the soil as ammonium or nitrate. **Biology and Fertility of Soils**, 16(1):66-70, 1993.
- KOIDE, R.T. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. **The New Phytologist**, 113(3):365-386, 1991.
- LIAO, C.F.H. Devarda's alloy method for total nitrogen determination. **Soil Science Society of America Journal**, 45(5):852-855, 1981.
- LOWRY, O.N.; NIRA, J.; ROSEMBROUGH, A.; EARL, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin-phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, 193: 267-275, 1951.
- MATOH, T.; SUZUKI, F.; IDA, S. Corn leaf glutamate synthase purification and properties of the enzyme. **Plant and Cell Physiology**, 20: 1329-1340, 1979.
- McKEY, D. Legumes and nitrogen: The evolutionary ecology of a nitrogen-demanding lifestyle. In: SPRENT, J.I.; McKey, D. (eds), **Advances in Legume Systematics: The Nitrogen Factor**. Kew, UK, Royal Botanic Garden, p.211-228, 1994.
- MEYER, C.R.; RUOTIN, P.; WEDDING, R.T. A simple and accurate spectrophotometric assay for phosphoenolpyruvate carboxylase activity. **Plant Physiology**, 86:325-328, 1988.
- OLIVER, A.J.; SMITH, S.E.; NICHOLAS, D.J.D.; WALLACE, W.; SMITH, F.A. Activity of nitrate reductase in *Trifolium subterraneum* L.: effect of mycorrhizal infection and phosphate nutrition. **The New Phytologist**, 94(1): 63-79, 1983.
- O'NEAL, O.; JOY, K.W. Glutamine synthase of pea leaves. I. Purification, stabilization and pH optima. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 159:113-122, 1974.
- PEREIRA, E.G.; SIQUEIRA, J.O.; VALE, F.R.do; CURI, N. Resposta de leguminosas arbóreas nativas da região Campos das Vertentes (MG) ao nitrogênio mineral e fungo endomicorrízico. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 3, Londrina. **Anais...** Londrina, 1995. p.109.
- PURCINO, A.A.C., PAIVA, E.; SILVA, M.R.; ANDRADE, S.R.M.. Influence of *Azospirillum* inoculation and nitrogen supply on grain yield, carbon- and nitrogen assimilating enzymes in maize. **Journal of Plant Nutrition** 19(1), 1996 (no prelo).
- QUAGGIO, J.A. **Critérios de calagem em solos no estado de São Paulo**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1983, 78p. Tese de mestrado.
- RENÓ, N.B. **Requerimentos nutricionais e resposta ao fósforo e fungo micorrízico de espécies arbóreas nativas do sudeste brasileiro**. Lavras, ESAL, 1994. 62p. Tese de mestrado.
- SIQUEIRA, J.O.; Micorizas arbusculares. In: ARAÚJO, R.S.; HUNGRIA, M. (eds.) **Microrganismos de importância ecológica**. Brasília, EMBRAPA, 1994, p.151-194.
- SMITH, S.E.; StJOHN, B.J.; SMITH, F.A.; NICHOLAS, D.J.P. Activity of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in *Trifolium subterraneum* L. and *Allium cepa* L.: effects of mycorrhizal and phosphate nutrition. **The New Phytologist**, 99(2):211-227, 1985.
- SPRENT, J.I. Nitrogen acquisition systems in the Leguminosae. In: SPRENT, J.I.; McKey, D. (eds.). **Advances in Legume Systematics 5: The Nitrogen factor**. Kew, UK, Royal Botanic Gardens, 1994, p.1-16.
- TOBAR, R.; AZCÓN, R.; BAREA, J.M. Improved nitrogen uptake and transport from ¹⁵N-labelled nitrate by external hyphae of arbuscular mycorrhiza under water stressed condition. **The New Phytologist**, 126(1):119-122, 1994.
- ZAROSKY, R.J.; BURAU, R.G. A rapid nitric perchloric acid digestion method for multi-element tissue analysis. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 8(5):425-436, 1977.