

PHILIPPE SOLANO TOLEDO SILVA

**MICRORGANISMOS E LODO DE ESGOTO COMPOSTADO NA NUTRIÇÃO E
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE BARU E GONÇALO-ALVES EM VASOS**

Botucatu

2021

PHILIPPE SOLANO TOLEDO SILVA

**MICRORGANISMOS E LODO DE ESGOTO COMPOSTADO NA NUTRIÇÃO E
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE BARU E GONÇALO-ALVES EM VASOS**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Campus
de Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Agronomia (Horticultura)

Orientador(a): Dirceu Maximino Fernandes

Co-Orientador(a): Ana Maria Rodrigues
Cassiolato

Botucatu

2021

S586m

Silva, Philippe Solano Toledo

Microrganismos e lodo de esgoto compostado na nutrição e desenvolvimento inicial de baru e gonçalo alves em vasos / Philippe Solano Toledo Silva. -- Botucatu, 2021

94 p. : tabs., fotos, mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu

Orientador: Dirceu Maximino Fernandes

Coorientadora: Ana Maria Rodrigues Cassiolato

1. Agronomia. 2. Produção de mudas. 3. Promotores de crescimento. 4. Lodo de esgoto. 5. Cerrado. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: MICRORGANISMOS E LODO DE ESGOTO COMPOSTADO NA NUTRIÇÃO
E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE BARU E GONÇALO-ALVES EM VASOS

AUTOR: PHILIPPE SOLANO TOLEDO SILVA

ORIENTADOR: DIRCEU MAXIMINO FERNANDES

COORIENTADORA: ANA MARIA RODRIGUES CASSIOLATO

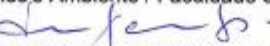
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA
(HORTICULTURA), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. DIRCEU MAXIMINO FERNANDES (Participação Virtual)
Ciência Florestal, Solos e Ambiente / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP



Prof. Dr. IRAÊ AMARAL GUERRINI (Participação Virtual)
Ciência Florestal, Solos e Ambiente / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP



Prof.^a Dr.^a KÁTIA LUCIENE MALTONI (Participação Virtual)
Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Botucatu, 06 de abril de 2021

Aos meus queridos e amados pais,

Maria Aparecida e Aparecido,

dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus.

Aos meus queridos pais pelo carinho, confiança e apoio incondicional.

À Universidade Estadual Paulista, Campi de Botucatu e de Ilha Solteira, pela oportunidade oferecida por meio do curso de pós-graduação, contribuindo para o crescimento na minha formação profissional e científica.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Aos Professores Dr. Dirceu Maximino Fernandes e Dra. Ana Maria Rodrigues Cassiolato, orientador e co-orientadora, respectivamente, pela paciência, confiança e ensinamentos, possibilitando o desenvolvimento destes trabalhos.

À Professora Dra. Kátia Luciene Maltoni, pela paciência, disponibilidade e conselhos.

Ao Professor Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho, pelo fornecimento do inóculo de *Bacillus subtilis*.

Aos funcionários da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE), do Laboratório de Fertilidade do Solo, Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas e Metais Pesados e Laboratório de Monitoramento Ambiental, pelo apoio técnico.

Aos técnicos dos Laboratórios de Pedologia do Solo e de Microbiologia do Solo, Diego Gonçalves Feitosa e José Antônio Agustini, pelo suporte e apoio técnico.

À Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP) pelo fornecimento do Lodo de Esgoto.

Às meninas do Laboratório de Pedologia do Solo, Thais Boni, Beatriz e Isabela pela ajuda no preparo de soluções e auxílio nas análises laboratoriais.

Ao meu amigo Patrick Ferreira, que desde o ensino fundamental até a pós graduação, sempre foi solícito, me ajudando com o que precisei.

À Macela Caetano e Alessandro Zabotto, pela amizade, conselhos e ajuda com as análises experimentais.

A Adrielle Prates “Martinha”, Maria Luana, Aline, Thays, Livian e Ana Paula, pela amizade e por dividirem comigo os momentos bons e ruins.

Aos meus companheiros de república, pela amizade e companheirismo.

Aos meus amigos e companheiros da equipe de Handebol da Faculdade de Medicina de Botucatu, por me receberem e dividirem comigo as alegrias, tristezas e o amor por este esporte. À vocês a minha eterna gratidão.

RESUMO

O Cerrado brasileiro apresenta grande diversidade de plantas, como o Barú e Gonçalves-Alves. Os Latossolos são predominantes e se caracterizam pela acentuada acidez e reduzida disponibilidade de alguns nutrientes, como o fósforo (P). Este e outros nutrientes limitantes, podem ser suplementados à cultura por meio da adição de resíduos orgânicos. Aliados à inoculação de microrganismos, os resíduos podem desempenhar papéis importantes no estabelecimento de plantas em diferentes ambientes. O objetivo do trabalho foi avaliar o desenvolvimento inicial de mudas de Barú e Gonçalves-Alves, por meio do aumento da disponibilidade de nutrientes (como o P), proveniente da adubação com lodo de esgoto compostado, somados ou não à inoculação de microrganismos promotores de crescimento vegetal (*Bacillus subtilis* e o fungo micorrízico arbuscular (FMA) *Glomus clarum*), em vasos. Os experimentos foram conduzidos por espécie vegetal, em casa de vegetação, na Faculdade de Ciências Agrônômicas (FCA-Unesp Botucatu). O delineamento experimental foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 2 x 4, sendo: 2 tratamentos com lodo de esgoto compostado (com e sem) e 4 tratamentos de inoculação de microrganismos (Controle, *B. subtilis*, *Gl. clarum* e *B. subtilis* + *Gl. clarum*), com 5 repetições e 1 muda por vaso. Transcorridos 150 dias do transplante, as mudas foram avaliadas para os seguintes parâmetros: massa fresca e seca da parte aérea; diâmetro do coleto; altura de plantas; número de folhas; índice de qualidade de mudas; massa fresca e seca das raízes; área de superfície; volume, comprimento total e diâmetro médio das raízes; teor relativo de clorofila foliar; fotossíntese líquida; transpiração e condutância estomática; colonização radicular e número de esporos de FMA; colonização radicular por endófitos septados escuros e carbono do CO₂ (C-CO₂) liberado. O Barú mostra ser uma espécie pouco exigente em adubação, especialmente em P, para o seu crescimento inicial, contudo a inoculação de microrganismos, especialmente o FMA, favoreceu o desenvolvimento inicial da planta. A inoculação de microrganismos e a adição do lodo de esgoto compostado atuaram de forma positiva no desenvolvimento inicial de Gonçalves-Alves, na colonização radicular e na atividade microbiana do solo.

Palavras-chave: *Dipteryx alata* Vogel; *Astronium faxinifolium* Schott.; micorriza arbuscular; *Bacillus subtilis*; promotores de crescimento; cerrado.

ABSTRACT

The Brazilian Cerrado has a great diversity of plants, including the Baru and Gonçalves-Alves trees. In this biome, Oxisols are predominant and are characterized by pronounced acidity and reduced availability of some nutrients, including phosphorus (P). This and other limiting nutrients for plant development, can be supplemented to the crop through the addition of organic residues. Combined with the inoculation of microorganisms, residues can play important roles in the establishment of plants in different environments. The objective of this study was to evaluate the initial development of Baru and Gonçalves-Alves seedlings, by increasing the availability of nutrients (such as P), from fertilization with composted sewage sludge, added or not to the inoculation of plant growth promoting microorganisms (*Bacillus subtilis* and arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) *Glomus clarum*), in pots. The experiments were carried out by plant species, in a greenhouse, at the Faculty of Agronomic Sciences (FCA-Unesp Botucatu). The experimental design was randomized blocks in a 2 x 4 factorial scheme being: 2 treatments with composted sewage sludge (with and without) and 4 treatments of inoculation of microorganisms (Control, *B. subtilis*, *Gl. clarum* and *B. subtilis* + *Gl. clarum*), with 5 repetitions and 1 plant per pot. After 150 days of transplanting, seedlings were evaluated by the following parameters: fresh and dry shoot weight; stem diameter; plant height; number of leaves; seedling quality index; fresh and dry weight and root area surface; volume, total length and mean root diameter; relative chlorophyll content; liquid photosynthesis; transpiration and stomatal conductance; root colonization and number of AMF spores; root colonization by dark septate endophytes and released CO₂ (CO₂-C) carbon. Baru shows to be a less demanding species in fertilization, especially in P, for its initial growth, however the inoculation of microorganisms, especially the AMF, favored the initial development of the plant. The inoculation of microorganisms and the addition of composted sewage sludge were positive for the initial development of Gonçalves-Alves, root colonization and soil microbial activity.

Keywords: *Dipteryx alata* Vogel; *Astronium faxinifolium* Schott; arbuscular mycorrhiza; *bacillus subtilis*; growth promoter, cerrado.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Localização da área experimental.....	33
Figura 2 -	Valores médios de temperatura (°C), Umidade Relativa (%) e precipitação total (mm), ao longo do período experimental (maio a outubro/2020) (Botucatu-SP, 2020).....	34
Figura 3 -	Lodo de esgoto e bagaço de cana-de-açúcar (1:1) sendo compostado em estufa coberta (A). Equipamento utilizado para revirar o material, auxiliando na homogeneização e secagem (B). Pesagem dos vasos contendo solo coletado (C) (Botucatu-SP, 2020).....	35
Figura 4 -	Lodo de esgoto e bagaço de cana-de-açúcar (1:1) sendo compostado em estufa coberta (A). Equipamento utilizado para revirar o material, auxiliando na homogeneização e secagem (B). Pesagem dos vasos contendo solo coletado (C) (Botucatu-SP, 2020).....	37
Figura 5 -	Coleta de sementes (A, C) e secagem (B, D) de Baru e de Gonçalves-Alves, respectivamente, em Ilha Solteira-SP, 2020.....	37
Figura 6 -	Sementes sendo preparadas para germinação em areia lavada (A). Remoção do pericarpo das sementes de Baru (B). Mudanças de Baru prontas para o transplante (C) e transplantada no vaso (D). Mudanças de Gonçalves-Alves prontas para o transplante (E) e transplantada em vaso (F). Experimentos instalados para Baru (G) e para Gonçalves-Alves (H) (Botucatu-SP, 2020).....	38
Figura 7 -	Análise de teor relativo de clorofila (SPAD) em Gonçalves-Alves (A) e Baru (B). Medições de diâmetro do coleto em Gonçalves-Alves (C) e Baru (D) (Botucatu-SP, 2020).....	39
Figura 8 -	Avaliação de trocas gasosas usando o analisador de gases no infravermelho (IRGA) modelo LI-6400XT da LI-COR® em Gonçalves-Alves (A) e Baru (B) (Botucatu-SP, 2020).....	40
Figura 9 -	Contagem de esporos em placa de acrílico com anéis concêntricos sob microscópio estereoscópio (A). Raízes sendo preparadas para iniciar o processo (B) e passando pelo processo de descoloração em banho maria a 90 °C (C). Azul de tripan sendo adicionado às amostras, para coloração em banho maria a 90 °C (D). Preparação de lâminas, para análise em microscopia óptica (E) (Botucatu-SP, 2020).....	41

Figura 10 -	Frascos sendo vedados (A) e vedados com tampa e fita isolante (B) para a quantificação do carbono do CO ₂ liberado (Botucatu-SP, 2020).....	42
Figura 11 -	Mudas de Baru sem adição de lodo e sem inoculação de microrganismos nos vasos à esquerda (controle), comparados aos demais tratamentos à direita: sem lodo, com <i>B. subtilis</i> (A), sem lodo, com <i>Gl. clarum</i> (B), sem lodo, com co-inoculação de <i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i> (C). Controle (D) comparados aos demais tratamentos com lodo mas sem inoculação (E), com lodo e <i>B. subtilis</i> (F), com lodo e <i>Gl. clarum</i> (G), com lodo e co-inoculação de <i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i> (H) (Botucatu-SP, 2020).....	54
Figura 12 -	Presença de estruturas fúngicas do fungo micorrízico arbuscular (FMA) <i>Glomus clarum</i> e e dos fungos endofíticos septados escuros (DSE) em raízes de Baru sob microscopia ótica (aumento 40x). A) Hifas e arbúsculos de FMA, B) Hifas e vesículas de FMA, C) Hifas septadas de DSE e hifas de FMA, D) Arbúsculos e vesículas de FMA (Botucatu-SP, 2020).....	59
Figura 13 -	Mudas de Gonçalves-Alves sem adição de lodo e sem inoculação de microrganismos sempre nos vasos à esquerda (controle), comparados aos demais tratamentos à direita: sem lodo, com <i>B. subtilis</i> (A), sem lodo, com <i>Gl. clarum</i> (B), sem lodo, com co-inoculação de <i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i> (C), com lodo mas sem inoculação (D), com lodo e <i>B. subtilis</i> (E), com lodo e <i>Gl. clarum</i> (F), com lodo e co-inoculação de <i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i> (G) (Botucatu-SP, 2020).....	71
Figura 14 -	Lesões (A) e escurecimento foliares de mudas de Gonçalves-Alves, anteriormente ao transplante em vasos (Botucatu-SP, 2020).....	74
Figura 15 -	Mudas de Gonçalves-Alves no início de crescimento (Botucatu-SP, 2020).....	75
Figura 16 -	Presença de estruturas fúngicas de FMA e DSE em raízes de Gonçalves-Alves, sob microscopia ótica (aumento 40x). A) Hifas e vesículas de FMA, B) Hifas e vesículas de FMA, C) Vesículas de FMA e D) Hifas septadas e microescleródios de DSE (Botucatu-SP, 2020).....	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Caracterização química inicial do solo utilizado (Botucatu-SP, 2020).....	35
Tabela 2 -	Caracterização química do lodo de esgoto compostado com bagaço de cana-de-açúcar proporção 1:1 (v/v) utilizado como substratos para os experimentos (Botucatu-SP, 2020).....	36
Tabela 3 -	Caracterização química do solo para pH, matéria orgânica (MO), fósforo (P_{resina}), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), acidez potencial (H+Al), alumínio (Al^{3+}), capacidade de troca catiônica (CTC) e soma de bases (SB), sem e com adição de lodo de esgoto compostado e inoculação dos microrganismos <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Glomus clarum</i> , aos 150 dias do transplântio das mudas do Baru (Botucatu-SP, 2020).....	43
Tabela 4 -	Caracterização química do solo para enxofre (S), boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn) e saturação de bases (V%) sem e com adição de lodo de esgoto compostado e inoculação dos microrganismos <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Glomus clarum</i> , aos 150 dias do transplântio das mudas do Baru (Botucatu-SP, 2020).....	44
Tabela 5 -	Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), diâmetro do coleto (DC), altura (ALT), número de folhas (NF) e índice de qualidade de mudas de Dickson (IQD), para os fatores inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> e <i>Glomus clarum</i>) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020).....	45
Tabela 6 -	Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com ou sem) e inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> – BS e <i>Glomus clarum</i> – GC) para massa fresca da parte aérea, diâmetro do coleto e índice de qualidade de mudas de Dickson, aos 150 dias do transplântio das mudas de Baru (Botucatu-SP, 2020).....	46
Tabela 7 -	Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para massa fresca de raízes (MFR), massa seca de raízes (MSR), área de superfície das raízes (ASR), volume de raízes (VR), comprimento total das raízes (CTR) e diâmetro médio das raízes (DMR), para os fatores inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> e <i>Glomus clarum</i>) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020).....	48
Tabela 8 -	nterações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com ou sem) e inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> - BS e <i>Glomus clarum</i> - GC) para massa fresca das raízes, área de superfície das raízes,	

	volume das raízes, comprimento total das raízes e diâmetro médio das raízes de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020).....	49
Tabela 9 -	Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para teor relativo de clorofila (SPAD), fotossíntese líquida (A), transpiração (E) e condutância estomática (gS), para os fatores inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> e <i>Glomus clarum</i>) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020).....	50
Tabela 10 -	Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com e sem) e inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> - BS e <i>Glomus clarum</i> - GC) para fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020).....	51
Tabela 11 -	Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) da parte aérea para os fatores inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> e <i>Glomus clarum</i>) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020).....	52
Tabela 12 -	Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com e sem) e inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> - BS e <i>Glomus clarum</i> - GC) para nitrogênio e cálcio de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020).....	53
Tabela 13 -	Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para teores de boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) da parte aérea para os fatores inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> e <i>Glomus clarum</i>) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020).....	55
Tabela 14 -	Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para colonização radicular por fungo micorrízico arbuscular (FMA - COL AM) e por fungo endofítico septado escuro (COL DSE), número de esporos de FMA (NESP) e carbono do CO ₂ (C-CO ₂) liberado para os fatores inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> e <i>Glomus clarum</i>) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020).....	57
Tabela 15 -	Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com e sem) e inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> - BS e <i>Glomus clarum</i> - GC) para colonização radicular por fungo micorrízico arbuscular (FMA) e por fungo endofítico septados escuros (DSE), número de esporos de FMA <i>Gl. clarum</i> e carbono do CO ₂ (C-CO ₂) liberado de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020).....	58

Tabela 16 -	Caracterização química do solo ao final do experimento, para pH, matéria orgânica (MO), fósforo (P_{resina}), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), acidez potencial (H+Al), alumínio (Al^{3+}), capacidade de troca catiônica (CTC) e soma de bases (SB) sem e com adição de lodo de esgoto compostado e inoculação de microrganismos <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Glomus clarum</i> , aos 150 dias do transplântio das mudas do Gonçalves-Alves (Botucatu-SP, 2020).....	61
Tabela 17 -	Caracterização química do solo ao final do experimento, para enxofre (S), boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn) e saturação de bases (V%) sem e com adição de lodo de esgoto compostado e inoculação de microrganismos <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Glomus clarum</i> , aos 150 dias do transplântio das mudas do Gonçalves-Alves (Botucatu-SP, 2020).....	62
Tabela 18 -	Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), diâmetro do coleto (DC), altura (ALT), número de folhas (NF) e índice de qualidade de mudas de Dickson (IQD) para os fatores inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> e <i>Glomus clarum</i>) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020).....	63
Tabela 19 -	Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com e sem) e inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> - BS e <i>Glomus clarum</i> - GC) para massa fresca da parte aérea, massa seca da parte aérea, diâmetro do colmo, número de folhas e índice de qualidade de mudas de Dickson de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020).....	64
Tabela 20 -	Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para massa fresca de raízes (MFR), massa seca de raízes (MSR), área de superfície das raízes (SR), volume de raízes (VR), comprimento total (CTR) e diâmetro médio de raízes (DMR), para os fatores inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> e <i>Glomus clarum</i>) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020).....	65
Tabela 21 -	Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado e inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> - BS e <i>Glomus clarum</i> - GC) para massa fresca de raízes, massa seca de raízes, área de superfície, volume de raízes e comprimento total das mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020).....	66
Tabela 22 -	Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para teor relativo de clorofila (SPAD), fotossíntese líquida (A), transpiração (E) e condutância estomática (gS), para os fatores inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> e <i>Glomus clarum</i>) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020).....	67

Tabela 23 -	Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com e sem) e inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> - BS e <i>Glomus clarum</i> - GC) para fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplante (Botucatu-SP, 2020).....	68
Tabela 24 -	Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre da parte aérea para os fatores inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> e <i>Glomus clarum</i>) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplante (Botucatu-SP, 2020).....	69
Tabela 25 -	Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com e sem) e inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> - BS e <i>Glomus clarum</i> - GC) para os teores de fósforo e cálcio da parte aérea de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplante (Botucatu-SP, 2020).....	70
Tabela 26 -	Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para teores de boro, cobre, ferro, manganês e zinco da parte aérea para os fatores inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> e <i>Glomus clarum</i>) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplante (Botucatu-SP, 2020).....	72
Tabela 27 -	Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com e sem) e inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> - BS e <i>Glomus clarum</i> - GC) para Boro, Ferro e Manganês de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplante (Botucatu-SP, 2020).....	73
Tabela 28 -	Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para colonização radicular por fungo micorrízico arbuscular (COL FMA) e pelo fungo endofítico septado escuro (COL DSE), número de esporos de FMA (NESP) e carbono do CO ₂ (C-CO ₂) liberado para os fatores inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> e <i>Glomus clarum</i>) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplante (Botucatu-SP, 2020).....	75
Tabela 29 -	Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com e sem) e inoculação (<i>Bacillus subtilis</i> - BS e <i>Glomus clarum</i> - GC) para colonização radicular por fungo micorrízico arbuscular (FMA) e por fungo endofítico septados escuros (DSE), número de esporos de FMA <i>Gl. clarum</i> e carbono do CO ₂ (C-CO ₂) liberado de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplante (Botucatu-SP, 2020).....	76

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	21
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	24
2.1	O Cerrado e a recuperação de áreas degradadas.....	24
2.2	O fósforo em solos de cerrado.....	25
2.3	As espécies arbóreas.....	26
2.4	Utilização de lodo de esgoto compostado na agricultura.....	28
2.5	O fungo micorrízico arbuscular (<i>Glomus clarum</i> Nicolson & Schenck).....	29
2.6	O gênero <i>Bacillus</i>.....	31
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.1	Localização e caracterização da área experimental.....	33
3.2	Delineamento experimental.....	34
3.3	Instalação e condução do experimento.....	34
3.4	Avaliações dos experimentos.....	39
3.5	Análise estatística.....	42
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
4.1	Experimento com o Baru.....	43
4.2	Experimento com o Gonçalo-Alves.....	61
5	CONCLUSÕES.....	80
	REFERÊNCIAS.....	81

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado brasileiro é o segundo maior bioma da América Latina, abrange cerca de 22% do território nacional, estando presente nos estados como Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná e São Paulo (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2019), onde está localizado o município de Botucatu. Nesta região, os remanescentes de vegetações naturais ocorrem de forma fragmentada, encontrando-se áreas de floresta estacional semidecidual, florestas ripárias, cerradão e cerrado (JORGE; MOREIRA, 2000).

Considerado como um dos “hotspots” mundiais de biodiversidade (SANO et al., 2019), o Cerrado apresenta grande diversidade de plantas endêmicas. No entanto, apenas cerca de 8,6% de seu território é legalmente protegido por unidades de conservação (VIEIRA; PRESSEY; LOYOLA; 2019), colocando inúmeras espécies vulneráveis a extinção devido a ações antrópicas (CARRANZA et al., 2014). Dentre estas estão o Barú (*Dipteryx alata* Vogel) e o Gonçalves-Alves (*Astronium fraxinifolium* Schott).

O Barú é uma árvore frutífera de grande importância ecológica, sendo classificada como espécie-chave deste bioma, uma vez que seu fruto amadurece na época da seca, mostrando-se importante tanto para alimentação humana, quanto para a fauna da região (VIEIRA; CAMILLO; CORADIN, 2016; FRAGUAS et al., 2014). Outro aspecto relevante são suas propriedades medicinais (SILVÉRIO; CASTRO; MIRANDA, 2013) presentes em sua castanha. Outra arbórea nativa com relevante potencial econômico é o Gonçalves-Alves, em decorrência das propriedades medicinais encontradas em suas folhas, cascas e raízes (LEITE, 2002; MACEDO; FERREIRA, 2004). Ambas as espécies são indicadas para projetos de reflorestamento e recuperação de áreas degradadas (MIZOBATA; CASSIOLATO; MALTONI, 2017) por serem bem adaptadas às condições do Cerrado.

Contudo, para garantir o sucesso na recuperação de áreas degradadas no Cerrado, onde os solos são bastante intemperizados e nutricionalmente pobres (AGEGNEHU; AMEDE, 2017), é necessário muito conhecimento sobre as limitações nutricionais (CRUZ et al., 2011) e sobre o comportamento das espécies vegetais em diferentes condições abióticas, de forma que sua reintrodução seja feita segundo as suas aptidões de sobrevivência e estabelecimento em campo. Estudos sobre as

respostas das plantas às diferentes condições ambientais, às adequadas fontes e doses de nutrientes são fundamentais para amparar as diversas etapas do processo de restauração de áreas degradadas (CALDEIRA et al., 2012).

Em regiões de Cerrado, o fósforo (P) é considerado um nutriente limitante ao desenvolvimento de plantas (ALEIXO et al., 2020). Sua participação em processos como a fotossíntese, divisão e crescimento celular (CARSTENSEN et al., 2018), auxiliam no desenvolvimento vegetal inicial. No solo, o P é encontrado na forma insolúvel e grande parte dos fosfatos inorgânicos, aplicados na forma de fertilizantes minerais, são rapidamente imobilizados, tornando-se indisponíveis. A maioria dos fertilizantes minerais fosfatados são provenientes de fontes não renováveis (PANTANO et al., 2016), portanto, novas biotecnologias sustentáveis que possibilitem suprir parte da necessidade da planta por este e outros nutrientes, é imprescindível.

O uso de resíduos industriais ou agrícolas, gerados ao longo do processo de formação de matérias primas, como fonte de nutrientes para diferentes culturas agrícolas (ABREU-JUNIOR et al., 2017; RAHEEM et al., 2018) é uma prática mais recentemente difundida. Dentre os vários resíduos existentes tem-se o lodo de esgoto que, para sua correta utilização, deve passar por diversos tratamentos para remoção ou redução de patógenos (KACPRZAK et al., 2017), adequando-se aos critérios das legislações vigentes. Após o tratamento, o lodo de esgoto, agora compostado com bagaço de cana-de-açúcar, se mostra uma alternativa viável e um importante adubo, com capacidade para fornecer de matéria orgânica (MO), P e outros nutrientes às plantas (TYAGI; LO, 2013; LOBO et al., 2013).

Aliado ao manejo de adubação, tem-se as biotecnologias sustentáveis como os microrganismos promotores de crescimento de plantas. Os fungos simbiotes micorrízicos arbusculares (FMA), por meio de sua rede de hifas, exploram o solo por água e nutrientes como nitrogênio (N), zinco (Zn) e P, especialmente, que serão transferidos aos hospedeiros, se necessário. Bactérias conhecidas como promotoras de crescimento de vegetal (BPCV), como as do gênero *Bacillus*, têm mostrado, por diferentes mecanismos, auxiliar no estabelecimento vegetal nos mais diversos ambientes (GUADARRAMA et al., 2014; MÁRQUEZ; BLANCO; ARANGUREN, 2020).

Assim, diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento inicial de mudas de Baru e Gonçalo-Alves, por meio do aumento da disponibilidade de nutrientes (como o P), proveniente da adubação com lodo de esgoto compostado, somados ou não à inoculação de microrganismos promotores de crescimento vegetal (*Bacillus subtilis* e o FMA *Glomus clarum*, em vasos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O Cerrado e a recuperação de áreas degradadas

O bioma Cerrado apresenta vasta extensão, ocupando aproximadamente uma área de 2.036.448 km² do território sul-americano, destacando-se pela sua rica diversidade (KLINK; MACHADO, 2005). Compartilhando zonas de transição ecológica com a Amazônia, Caatinga, Pantanal e Mata Atlântica, apresenta diversas fitofisionomias, abrigando inúmeras espécies de plantas.

Seus solos são, em geral, ácidos e bastante intemperizados, com limitações ao desenvolvimento e estabelecimento de diversas espécies vegetais, principalmente devido à baixa fertilidade e, conseqüentemente, menor disponibilidade de nutrientes, como o P, nitrogênio (N), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), zinco (Zn), boro (B) e cobre (Cu) (GOMES et al., 2004). Estes podem apresentar alta saturação por alumínio (Al) e fixação de P (REZENDE et al., 2016), limitando a sobrevivência de espécies vegetais. O constante avanço de atividades antrópicas e o aumento de áreas destinadas à produção agrícola (RADA, 2013), somadas ao manejo mal conduzido do solo e as queimadas (NUNES et al., 2009), vem elevando os níveis de degradação deste ecossistema. Dentre os principais problemas decorrentes da degradação estão a erosão, compactação e acidificação dos solos (MELO et al., 2021).

Solos que apresentam algum recurso hídrico e estruturação, quando em menor grau de degradação, possibilitam, de forma espontânea, o desenvolvimento da vegetação (ZANDONADI; PAYOLLA; CAÍRES, 2007). Em função da degradação são sugeridas estratégias de curto ou médio prazo para sua recuperação. Em situações mais simples e visando que o processo ocorra rapidamente e em curto prazo, recomenda-se o uso de corretivos para diminuir a acidez, elevando o pH e a aplicação de fertilizantes na reposição dos teores de nutrientes do solo. A recuperação a médio prazo pode envolver diversos sistemas, como a integração lavoura-pecuária (ILP), integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF), além de outros sistemas silvipastoris (WADT, 2003). Estes são responsáveis por aumentar o aporte de biomassa vegetal sob o solo, incrementando os teores de nutrientes e MO, além

de conferirem melhor estruturação do solo por meio das plantas forrageiras, com seu sistema radicular a rizosfera (MENDONÇA; TRINDADE; GOMES, 2019).

A recuperação de áreas degradadas é uma tarefa de alta complexidade quando o solo apresenta altos níveis de perturbação, podendo a recuperação de forma espontânea ficar prejudicada ou não ocorrer (ZANDONADI; PAYOLLA; CAÍRES, 2007). Nestes casos, além do preparo mecânico do solo, correções e adubações, pode ser recomendável a introdução de espécies nativas, por serem melhor adaptadas às condições ambientais presentes e, com isto, maiores chances de sobrevivência (MALTONI; VALÉRIO, 2000). Elas são fundamentais na ciclagem de nutrientes e incorporação do carbono (C) ao solo via fotossíntese, favorecendo a atividade microbiana, a agregação e estruturação do solo, aumentando a colonização com fungos simbiotes e, conseqüentemente, resultando em melhor tolerância da planta a diversos estresses (ROSA et al., 2014).

2.2 O fósforo em solos de Cerrado

O nutriente participa de importantes processos biológicos, sendo fundamental para a síntese de moléculas como o DNA, RNA, ATP e NADPH, assim como está envolvido em processos como a fotossíntese, respiração, metabolismo de carboidratos e na ativação de algumas proteínas (POIRIER; BUCHER, 2002; VANCE; EHDE-STONE; ALLAN, 2003). Depois do N, o P é o nutriente mais limitante ao desenvolvimento de plantas, devido à sua baixa disponibilidade no solo.

A forma primária de P para as plantas é o fosfato inorgânico (P_i), contudo, a interação do P com os constituintes do solo, sua ocorrência em formas orgânicas e sua baixa taxa de difusão na solução do solo, o tornam um nutriente menos prontamente disponível na rizosfera de plantas. As concentrações de íons fosfato, geralmente encontradas na solução do solo, são muito baixas quando comparadas as concentrações presentes no citosol das células (RAGHOTHAMA; KARTHIKEYAN 2005; HINSINGER et al., 2011). Logo, muitos solos deficientes em P_i solúvel são, por vezes, limitantes ao crescimento de plantas, devido a sua baixa mobilidade e alta tendência à adsorção em óxidos de Fe de Al. Para viverem nestas condições certas plantas desenvolveram mecanismos bioquímicos e de adaptação para

garantirem a aquisição de P_i , evitando a deficiência deste nutriente (YANG; FINNEGAN, 2010).

No solo, o P pode ser encontrado em diferentes formas, como a iônica e em compostos na solução do solo, na forma adsorvida na superfície dos constituintes minerais do solo, minerais cristalinos e amorfos de P e como componente da MO (BARBER, 1995). Os teores de P de compostos orgânicos podem sofrer variações e, dependendo da classe do solo, este pode representar entre 20 e 80% do P total (STEVENSON; COLE, 1999). A liberação do P-orgânico para a solução do solo é controlada pela taxa de mineralização da MO, a qual depende da atividade microbiana do solo (BARBER, 1995).

A biociclagem dos fosfatos orgânicos assume grande importância na manutenção da biodisponibilidade em solos altamente intemperizados, onde o controle dos teores de P em solução é feito, predominantemente, pelo fosfato adsorvido aos grupos funcionais dos coloides inorgânicos. Para os cultivos comerciais, especialmente, mesmo com a biodisponibilidade de P, usualmente este não é suficiente para garantir a máxima produtividade econômica. Com isto, diferentes fatores precisam ser observados tanto na escolha da forma de aplicação como na fonte de P utilizada para adubação (SANTOS; GATIBONI; KAMINSKI, 2008).

2.3 As espécies arbóreas

O Baru (*Dipteryx alata* Vogel), também conhecido por cumbaru e cumaru, é uma frutífera nativa e de ampla distribuição no Cerrado brasileiro e em países vizinhos, como o Paraguai, Peru e Bolívia (BRAKO; ZARUCCHI, 1993; JARDIM; KILLEEN; FUENTES, 2003). Pertencente à Família Fabaceae e podendo atingir em média 15 a 25 metros de altura, estão presentes nas formações florestais do tipo cerradão e mata (HAASE; HIROOKA, 1998) nas áreas de transição entre cerrado e mata estacional ou mata de galeria e no cerrado sentido restrito (ARAÚJO; HARIDASAN, 1988; FELFILI; NOGUEIRA; SILVA-JÚNIOR, 2002). Esta espécie cresce, preferencialmente, nos solos bem drenados, de texturas arenosas a argilosas (FILGUEIRAS; SILVA, 1975) e de média fertilidade (RATTER et al., 1978).

Dentre os usos do Baru, ele pode substituir, com vantagem nutricional, o farelo de trigo em pães integrais e, também, o farelo de aveia (ROCHA; SANTIAGO, 2009). O óleo extraído de suas sementes possui altos teores de ácido oleico e linoleico, de grande utilização na indústria alimentícia e farmacêutica (ALMEIDA et al., 2016). Sua propagação é por sementes obtidas de frutos maduros coletados ainda nas árvores. O endocarpo que envolve a semente é rígido, sendo uma barreira física que retarda o processo germinativo da frutífera para cerca de 40 a 60 dias (FILGUEIRAS; SILVA, 1975). Contudo, isolando-se a semente do endocarpo, sua germinação ocorre em cerca de 5 dias, alcançando o pico aos 10 dias (MELHEM, 1974; BOTEZELLI; DAVIDE; MALAVASI, 2000).

Há poucos estudos sobre a adubação do Baru visando o desenvolvimento de mudas, plantio e manutenção, sendo necessário buscar alternativas e fontes ideais para fornecimento de nutrientes que melhorem as condições químicas, físicas e biológicas do solo de cerrado, para o seu melhor desenvolvimento. Sua utilização em áreas a serem recuperadas, de proteção ambiental ou como reservas legais, favorecerá sua conservação, além de contribuir para a manutenção de outras espécies associadas (VENTUROLI et al., 2013).

O Gonçalo-Alves é outra espécie de grande potencial para programas de revegetação e recuperação de áreas degradadas. O nome do gênero *Astronium*, derivado do grego “astron”, significa estrela, está relacionado ao seu cálice, que possui cinco sépalas (SANTIN, 1989). *Astronium fraxinifolium* Schott, no Brasil, tem ocorrência comum no Cerrado, sendo popularmente conhecido por Gonçalo-Alves, aroeira, aroeira do campo, chibata, aroeira vermelha e outros (LORENZI, 2016; SALOMÃO; SILVA, 2006).

É uma planta considerada rústica e de desenvolvimento rápido, classificada ecologicamente como decídua, pioneira e xerófila (SOUZA et al., 2012), com grande produção de sementes (LORENZI, 2016). O Gonçalo-Alves atinge cerca de 30 m de altura e possui madeira muito pesada e duradoura. Sua casca é adstringente, sendo utilizada contra diarreias e no tratamento de hemorroidas, enquanto suas folhas possuem ação antisséptica, muito indicada para tratamentos de úlceras da pele. No seu óleo essencial foram identificados diversos compostos ativos, como (Z)- β -ocimeno, (E)- β -ocimeno, biciclogermacreno, limoneno, α -terpinoleno e viridifloreno (MAIA et al., 2002; MONTANARI et al., 2012). Por fim, suas raízes quando

maceradas e usada na forma de infusão, são indicadas para o tratamento de reumatismo (CONCEIÇÃO et al., 2011).

Em decorrência da excelente germinação e rápido crescimento, a planta tem sido indicada na recuperação de áreas degradadas e implantação de sistemas agroflorestais (CARDOSO et al., 2009), contribuindo para a preservação da flora e fauna local, conservação de recursos hídricos (CALDEIRA JÚNIOR et al., 2009) e recomendada para implantação em sistemas agroflorestais.

2.4 Utilização de lodo de esgoto compostado na agricultura

O aproveitamento do lodo de esgoto na agricultura é antigo, com relatos que datam 1560. Atualmente, a atividade antrópica e o aumento populacional dos grandes centros levam a produção de uma série de resíduos orgânicos industriais e de estações de tratamento. A crescente preocupação e demanda por parte da sociedade e órgãos competentes na manutenção e melhoria do tratamento de esgotos, leva a maiores pesquisas objetivando a diminuição e um melhor destino de materiais poluidores.

Nas estações de tratamento, o resíduo de maior volume gerado durante os processos de tratamento de efluentes é denominado lodo de esgoto (LAMASTRA; SUCIU; TREVISAN, 2018). A maioria das estações de tratamento de esgoto não realizam o processo de descarte do lodo da forma correta, por diversas questões, entre elas a complexidade e alto custo que este processo representa (PEDROZA et al., 2010). O principal local de descarte do lodo são os aterros sanitários, contudo este descarte é inadequado, trazendo consequências negativas ao ambiente e à saúde pública. De acordo com resolução CONAMA nº 375/2006, que regulamenta o uso do lodo de esgoto no Brasil, é proibida sua utilização *in natura*, devido à reduzida infraestrutura de saneamento básico no país e, conseqüentemente, da má qualidade do resíduo (PEPPER; BROOKS; GERBA, 2006). Em estados como Paraná e São Paulo, o resíduo só poderá ser utilizado após sua compostagem.

A compostagem consiste em processo de decomposição microbiana sob condições que favoreçam a liberação de calor, que deverá ficar acima de 55 °C para que ocorra a eliminação de possíveis patógenos. A adição de bagaço da cana-de-

açúcar em pedaços de 0,5 a 4,0 cm como material estruturante e fonte de C ao lodo, acelera o processo de compostagem, favorecendo a aeração e ação microbiana (KIEHL, 2004), além de permitir que a umidade relativa permaneça entre 55 e 65%. Durante o processo, recomenda-se revolver o material algumas vezes, de modo a promover a mistura dos materiais e proporcionar melhor aeração. Ao final do processo, após a estabilização da temperatura, o material rico em macro e micronutrientes e MO estará pronto para ser utilizado como fertilizante orgânico.

2.5 O fungo micorrízico arbuscular (*Glomus clarum* Nicolson & Schenck)

O termo “micorrizas”, inicialmente proposto pelo botânico alemão Albert Bernard Frank, em 1885, de modo simples, pode ser definido como uma simbiose entre raízes de plantas e fungos, funcionando como uma interface de transferência de água e nutrientes. Algumas simbioses micorrízicas são descritas como mutualísticas, isto é, em que ambos os parceiros se beneficiam (SMITH; READ, 2008). Em alguns casos, os fungos podem ser biotróficos obrigatórios, ou seja, eles necessitam de uma planta hospedeira para completar seu ciclo vital (MOHAN et al., 2014; GAI et al., 2015), como no caso dos que formam as micorrizas arbusculares.

No solo, os esporos dos FMA germinam quando há condições adequadas de umidade e temperatura. Logo após a germinação, tem início o crescimento de uma hifa infectiva, que cresce em direção a uma rizosfera. Quando há o contato da hifa com raízes da planta hospedeira, seguido do reconhecimento celular, ocorre a formação de uma estrutura de penetração chamada apressório na superfície da raiz. Por meio de uma combinação entre a degradação enzimática localizada e da pressão mecânica promovida pela hifa (MOHAN et al., 2014; GAI et al., 2015), esta penetra a raiz e colonizam o tecido cortical, tanto intercelular quanto intracelularmente. O crescimento de hifas ocorre entre os espaços intercelulares, seguido de uma invaginação e diferenciação de estruturas intracelulares chamadas arbúsculos, os quais são responsáveis pela troca bidirecional de metabólitos e nutrientes entre os simbioses (BENEDETTI et al., 2005).

Com o crescimento da hifa no ambiente intraradical, algumas hifas deixam a raiz, iniciando a colonização do ambiente externo, onde serão formados os esporos.

Como um biotrófico obrigatórios, estes fungos não conseguem decompor a MO. No entanto, pelas hifas absorvem água e nutrientes que, cerca de 90% serão doados às plantas hospedeiras, incluindo o P. Por meio desta simbiose, os fungos favorecem o desenvolvimento das plantas hospedeiras em ambientes estressantes e garantindo maior tolerância a estresses bióticos e abióticos (SMITH; READ, 2008). Em troca, as plantas fornecem cerca de 10 a 30% de fotoassimilados via fotossíntese total (BAGO; PFEFFER; SHACHAR-HILL, 2000), caracterizando-se em um fluxo bidirecional entre fungo e planta hospedeira.

Ademais os fungos são ótimos condicionadores do solo, proporcionando estabilidade aos microagregados por meio das hifas e pela excreção de um tipo de gel, a glomalina (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). De forma geral, os FMA ocorrem em todos os ambientes terrestres e alagados (WANG et al., 2011). Nas regiões tropicais, mesmo com ótimas condições de temperatura e luz para o desenvolvimento de plantas, ainda existem fatores que podem restringir a simbiose, tanto abióticos (déficits hídricos, nutricionais ou relacionados a temperatura) como bióticos (pragas e doenças) (SMITH; READ, 2008).

A colonização pode ser inibida por elevas condições de fertilidade, como favorecida em solos nutricionalmente pobres. Esta simbiose pode representar um aumento de 10 a 60 vezes nas taxas de absorção de nutrientes, além de proporcionar maior atividade fotossintética e enzimática (SILVEIRA; FREITAS, 2007). Em relação ao pH, há registros de sua ocorrência de ambientes ácidos até básicos, em uma faixa que varia do 3 ao 10 (SMITH; READ, 2008).

Juntamente com o efeito nutricional proporcionado por estes simbioses, está o favorecimento da relação água-planta, aumentando a resistência das plantas hospedeiras à seca, geralmente associado a melhoria de seu estado nutricional e maior volume de solo explorado por suas hifas. Outros benefícios atribuídos aos FMA são a proteção das plantas a fungos patogênicos do sistema radicular, a redução de metais pesados próximos ao sistema radicular protegendo as raízes, e facilitando o desenvolvimento vegetal em condições de estresse osmótico (MIRANDA, 2008; SMITH; READ, 2008).

Outros grupos de fungos que também formam simbiose com plantas são os fungos endofíticos com hifas septadas, de pigmentação escuras ("dark septate

endophytes - DSE”). São Ascomicetos que colonizam a epiderme e o córtex radicular inter e intracelularmente, em raízes saudáveis de diversas plantas (JUMPPONEN; TRAPPE, 1998), sendo encontrados em todas as partes do sistema radicular, diferindo dos FMA, presentes nas raízes primárias não lignificadas (GRÜNIG; QUELOZ; SIEBER, 2011). Além das hifas, a presença dos DSE é identificada pela microescleródios que se formam inter e intracelularmente dentro do córtex das raízes (JUMPPONEN, 2001).

Esses fungos diferem dos FMA por não serem biotróficos obrigatórios e compõem um grupo com espécies saprofíticas e simbióticas (MANDYAM; JUMPPONEN, 2005) que habitam solos em todas as regiões climáticas. Os efeitos do DSE, de forma geral e, em arbóreas do cerrado de forma específica, ainda não estão bem elucidados, contudo, tem sido observado que, semelhante ao FMA, contribuem na absorção de água e nutrientes, podendo auxiliar no estabelecimento de mudas em campo.

2.6 O gênero *Bacillus*

Muitos microrganismos podem coexistir na região da rizosférica de plantas, como por exemplo, as bactérias de vida livre no solo. Estes indivíduos unicelulares, são classificados em diferentes grupos, em decorrência de suas importantes funções biológicas (HARSHEM; TABASSUM; ABDALLAH, 2019). Neste vasto grupo, encontram-se as bactérias do gênero *Bacillus*, que são pertencentes a Classe Bacilli, do Filo Firmicutes (AIZAWA, 2014). Elas são classificadas como Gram positivas, possuindo células na forma de bastonetes, e são capazes de produzir endósporo a partir de mecanismos desencadeados por fatores bióticos ou abióticos, como altas temperaturas (ALVES et al., 2018).

Diversas espécies do gênero *Bacillus*, como *B. brevis*, *B. cereus*, *B. circulans*, *B. firmus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. pumiluse* e *B. subtilis* vêm sendo reportadas como positivas para a fixação biológica de nitrogênio (FBN) com base na atividade da nitrogenase (WEI-HONG et al., 1993). Além desta, outras habilidades relatadas são o biocontrole de nematoides (BIN; GUAN-LIN, 2005) e aumento da disponibilidade de minerais nos solos de alguns nutrientes, como o N, P e ferro (Fe).

Na solubilização de fosfatos (OLIVEIRA et al., 2009), o *B. subtilis* tem se destacado por disponibilizar P para absorção pelas plantas. Esta espécie pode, ainda, atuar na promoção de crescimento vegetal por meio da produção de fitormônios do crescimento, como as auxinas e giberelinas (ZHANG et al., 2016 a, b).

Diferentes estudos demonstram que a inoculação com *B. subtilis* não apresenta uma aparente especificidade a um único hospedeiro vegetal (ARAÚJO; HENNING; HUNGRIA, 2005). Entretanto, o sucesso na interação com plantas pode sofrer uma série de variações em decorrência do ambiente e competição com espécies autóctones, da presença de simbioses, além do próprio hospedeiro. Assim, a manutenção da atividade microbiana do solo é essencial para processo de mineralização da MO e fornecimento de nutrientes às plantas (QU et al., 2020). Neste contexto, sua atividade, avaliada por meio da quantificação do carbono do CO₂ (C-CO₂) liberado pelos microrganismos é considerado um indicador sensível de qualidade biológica do solo (SILVA et al., 2021), sendo recomendado para verificação e monitoramento de distúrbios edáficos. Assim, faz-se necessário avaliações para diferentes situações, de modo a garantir os melhores resultados em relação aos microrganismos e o desenvolvimento vegetal.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização e caracterização da área experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na área experimental do Departamento de Ciência Florestal, Solos e Ambiente da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), município de Botucatu (SP), localizado nas coordenadas 22°51'03" de latitude Sul e 48°25'37" longitude Oeste e 786 m de altitude (Figura 1) no ano de 2020.

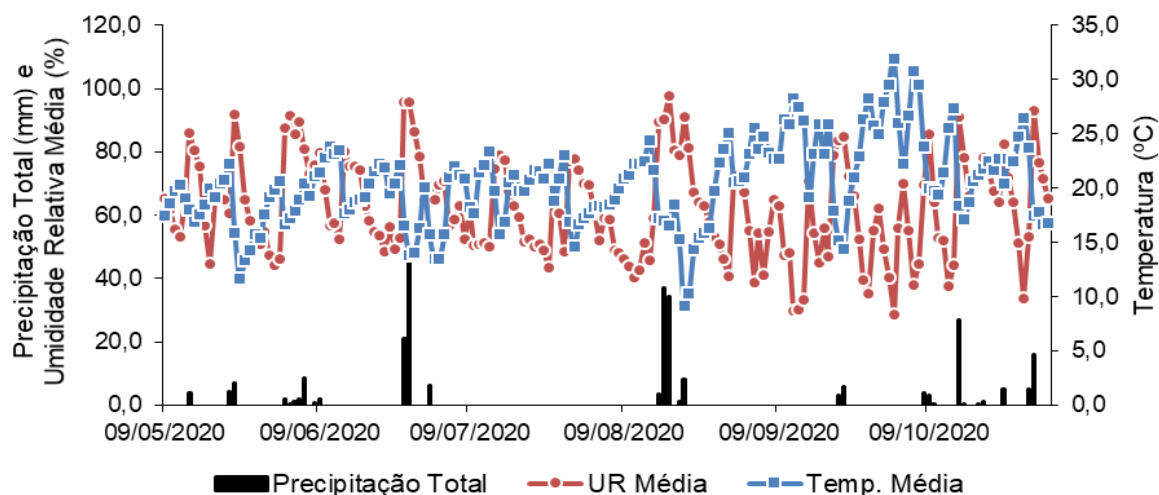
Figura 1 - Localização da área experimental (Botucatu-SP, 2020)



O clima da região é classificado como temperado quente (mesotérmico) com chuvas no verão e seca no inverno (Cfa – Koppen) e temperatura média do mês mais quente superior a 22 °C (ALVARES et al., 2013).

A temperatura, umidade e velocidade do vento média durante o período experimental, de acordo com a estação meteorológica localizada no Departamento de Ciência Florestal, Solos e Ambiente, da FCA/UNESP, Campus de Botucatu, foram de 20,1 °C; 61,7% e 1,9 m s⁻¹, respectivamente (Figura 2).

Figura 2 - Valores médios de temperatura (°C), Umidade Relativa (%) e precipitação total (mm), ao longo do período experimental (maio a outubro/2020)(Botucatu-SP, 2020)



Fonte: Estação meteorológica FCA/UNESP, Campus de Botucatu

3.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado nos experimentos conduzidos com Baru e Gonçalo-Alves foi em blocos casualizados, no esquema fatorial 2 x 4, com 5 repetições (vasos) e uma muda por repetição, totalizando 40 unidades experimentais por espécie arbórea. Em ambos os experimentos, o primeiro fator foi com e sem adição de lodo de esgoto compostado como fonte de nutrientes, especialmente P, enquanto o segundo fator consistiu dos tratamentos de inoculação com *B. subtilis* e o FMA *Glomus clarum*, ou seja: *B. subtilis*, *Gl. clarum*, a combinação de *B. subtilis* + *Gl. clarum* e o controle (sem inoculação).

3.3 Instalação e condução do experimento

A instalação dos experimentos ocorreu em maio de 2020. O solo utilizado foi coletado da camada sub-superficial do Setor da Patrulha da Fazenda Experimental Lageado no município de Botucatu-SP, sendo classificado como Latossolo Vermelho Distrófico (LVd), de textura média, contendo 610 g kg⁻¹ de areia total, 322 g kg⁻¹ de argila, 68 g kg⁻¹ de silte, de acordo com Santos et al. (2018).

A caracterização química inicial foi realizada em uma amostra composta por três amostras simples, coletada, peneirada e levada ao Laboratório de Fertilizante e

Corretivos do Departamento de Engenharia Florestal, Solos e Ambiente, da FCA/UNESP. As análises seguiram a metodologia proposta por Raji et al. (2001) e os valores encontrados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Caracterização química inicial do solo utilizado (Botucatu-SP, 2020)

pH	MO	P _{resina}	Al ³⁺	H+Al	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	SB	CTC	V%
CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	-----			mmol _c dm ⁻³ -----			-----	
3,7	12	6	14	80	0,2	2	1	3	83	3
S	B		Cu		Fe		Mn		Zn	
-----			mg dm ⁻³ -----							
1		0,33		3,2		30		2		0,2

O lodo utilizado foi obtido da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) da SABESP (Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo), localizada na FCA/UNESP. O lodo foi armazenado em baias durante a compostagem, quando foi misturado com bagaço de cana-de-açúcar, na proporção 1:1 v/v. O composto foi revolvido 14 vezes, até que atingisse a umidade de 14%, o que ocorreu aos 60 dias (Figura 3).

Figura 3 - Lodo de esgoto e bagaço de cana-de-açúcar (1:1) sendo compostado em estufa coberta (A). Equipamento utilizado para revirar o material, auxiliando na homogeneização e secagem (B). Pesagem dos vasos contendo solo coletado (C) (Botucatu-SP, 2020)



(A)



(B)



(C)

A caracterização química do lodo compostado foi realizada no Laboratório de Fertilizante e Corretivos do Departamento de Engenharia Florestal, Solos e Ambiente, da FCA, seguindo a metodologia proposta pelo MAPA (2017), cujos resultados se encontram na Tabela 2.

Tabela 2 - Caracterização química do lodo de esgoto compostado com bagaço de cana-de-açúcar proporção 1:1 (v/v) utilizado como substratos para os experimentos (Botucatu-SP, 2020)

N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Ca	Mg	S	Umid.	MO	CO	pH	C/N
----- % (ao natural) -----								seca	(ao natural)	(-)
3,07	2,96	0,11	1,14	0,24	1,86	14	40	26	5,7	9/1
Na		B		Cu		Fe		Mn		Zn
----- mg kg ⁻¹ (ao natural) -----										
1554		126		79		40478		281		521

Os vasos (6 litros) foram preenchidos com o solo e, em seguida, pesados (Figura 3C) para a realização do cálculo da quantidade necessária de lodo compostado para atingir o equivalente a 50 mg dm⁻³ de P (CRUZ, 2019). Com isto foram adicionados 23 g⁻¹ vaso de lodo compostado.

O inóculo do FMA, foi multiplicado, conforme descrito por SANTOS et al. (2016), em uma mistura de solo arenoso, coletado na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE) da UNESP, Campus de Ilha Solteira e areia de rio (granulação média) na proporção de 1:1 (v/v) autoclavada. A planta hospedeira foi a *Urochloa brizantha* e seu crescimento e multiplicação dos esporos de *Gl. clarum* ocorreu em condições de cultivo protegido, em jardineiras (Figura 4).

Após 80 dias da semeadura, a parte aérea das plantas foi retirada com o auxílio de uma tesoura de jardinagem, e o sistema radicular foi misturado ao solo de forma homogênea e secos à sombra. O número de esporos de *Gl. clarum* foi quantificado em 100 g de solo seco, seguindo a metodologias de decantação e peneiramento úmido proposta por Gerdemann e Nicolson (1963) e de centrifugação e flutuação em solução de sacarose (JENKINS, 1964). Os esporos coletados foram depositados em uma placa de acrílico com anéis concêntricos, sob microscópio estereoscópico, sendo contados 75 esporos por 100 g de solo-inóculo.

Figura 4 - Preparo do inóculo do fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum* utilizando *Urochloa brizantha* como planta hospedeira. Cultivo sob condições controladas (A) e o sistema radicular e o solo misturados de forma homogênea, secando à sombra (B) (Ilha Solteira-SP, 2020)



(A)



(B)

A germinação das sementes de ambas as espécies foi realizada, em copos plásticos. Adicionou-se uma semente para aproximadamente 100 g de solo-inóculo, equivalente a uma média de 75 esporos, para ambas as plantas estudadas. As sementes das duas espécies foram coletadas em diferentes árvores localizadas no município de Ilha Solteira-SP, em setembro de 2019. Após a coleta, estas passaram por um breve período de secagem ao ar livre (Figura 5).

Figura 5 - Coleta de sementes (A, C) e secagem (B, D) de Baru e de Gonçalves-Alves, respectivamente, em Ilha Solteira-SP, 2020



(A)



(B)



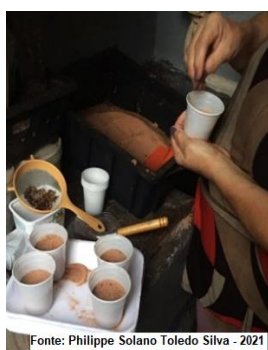
(C)



(D)

As sementes passaram por esterilização superficial por 1 minuto em uma solução de hipoclorito de sódio 2%, seguido por enxagues em água corrente. Estas foram condicionadas em copinhos de plástico de 10 cm de altura, contendo areia de rio lavada para a germinação das sementes. Transcorridos 60 dias da germinação (DAG), as mudas foram transportadas para a FCA/Unesp – Botucatu, onde foram transferidas para os vasos correspondentes, ou seja, com ou sem adição do lodo de esgoto compostado (Figura 6).

Figura 6 - Sementes sendo preparadas para germinação em areia lavada (A). Remoção do pericarpo das sementes de Baru (B). Mudas de Baru prontas para o transplântio (C) e transplantada no vaso (D). Mudas de Gonçalves-Alves prontas para o transplântio (E) e transplantada em vaso (F). Experimentos instalados para Baru (G) e para Gonçalves-Alves (H) (Botucatu-SP, 2020)



(A)



(B)



(C)



(D)



(E)



(F)



(G)



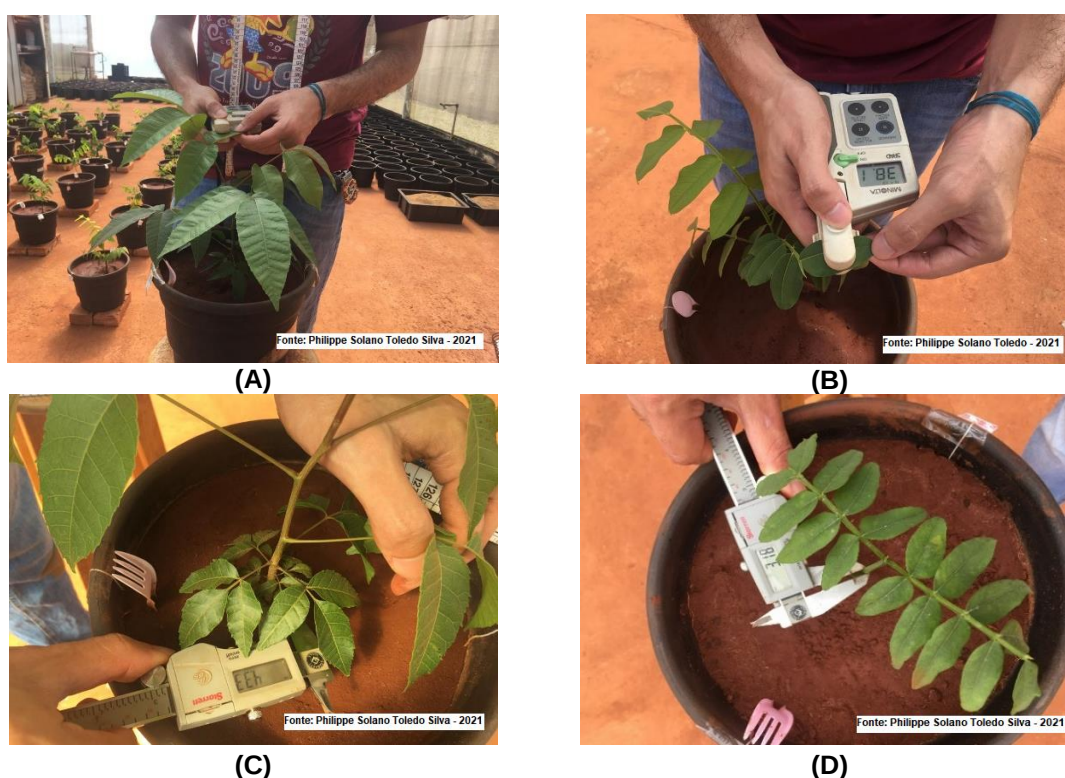
(H)

A inoculação de endósporos de *B. subtilis*, estirpe CCTB04, ocorreu por meio da adição de $2,0 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ do inoculante líquido comercial Vult, via raízes, distribuindo 2 mL do inoculante após o transplântio das mudas para os vasos. As plantas foram mantidas em casa de vegetação e o fornecimento de água durante este período foi de forma manual, a cada 2 dias, com o auxílio de um regador.

3.4 Avaliações dos experimentos

Transcorridos 150 dias do transplântio das mudas, uma amostra composta por cinco amostras simples (uma por repetição), por tratamento, foi coletada, peneirada e levada ao Laboratório de Fertilizante e Corretivos do Departamento de Engenharia Florestal, Solos e Ambiente - FCA, para a caracterização química, como descrito anteriormente. As plantas foram avaliadas para diâmetro do coleto (DC), altura (ALT) e número de folhas (NF). Para o teor relativo de clorofila (SPAD) utilizou-se o equipamento portátil modelo SPAD-502 PLUS, KONICA-MINOLTA®, realizando-se a leitura em três pontos diferentes da primeira folha completamente expandida e exposta a radiação solar (Figura 7).

Figura 7- Análise de teor relativo de clorofila (SPAD) em Gonçalves-Alves (A) e Baru (B). Medições de diâmetro do coleto em Gonçalves-Alves (C) e Baru (D) (Botucatu-SP, 2020)



Para a avaliação de trocas gasosas utilizou-se o analisador de gases no infravermelho (IRGA) modelo LI-6400XT da LI-COR®. As leituras foram feitas no período da manhã, em folhas expandidas do terço médio da planta, com irradiância de $1.200 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para o Baru (HON\u00d3RIO et al., 2019) e $1.000 \mu\text{mol}$

fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para o Gonçalves-Alves (CAMPELO et al., 2018) valores que foram determinados previamente pela curva de saturação luminosa e adaptados para cada espécie, sendo os dados de fotossíntese líquida (A) em μmol , transpiração (E) em $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e condutância estomática (gS) em $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 8).

Figura 8 - Avaliação de trocas gasosas usando o analisador de gases no infravermelho (IRGA) modelo LI-6400XT da LI-COR® em Gonçalves-Alves (A) e Baru (B) (Botucatu-SP, 2020)



(A)



(B)

Concluídas estas avaliações, as plantas foram removidas do solo e a parte aérea foi separada do sistema radicular com uma tesoura de poda. A parte aérea foi avaliada para massa fresca (MFPA), condicionada em estufa a 65°C até que fosse verificado peso constante, e avaliada para massa seca (MSPA). O sistema radicular foi pesado para massa fresca (MFR) e, em seguida, avaliado o desenvolvimento de raízes utilizando um equipamento scanner e o software Winrhizo, para as variáveis área de superfície de raízes (ASR), volume das raízes (VR), comprimento total de raízes (CTR) e diâmetro médio de raízes (DMR). Posteriormente, as amostras seguiram para secagem na estufa a 65°C até que fosse verificado peso constante, quando foram avaliadas para massa seca (MSR). Com os valores de MSPA, MSR, DC e ALT determinou-se o índice de qualidade de mudas de Dickson, por meio da expressão $\text{IQD} = (\text{MSPA} / \text{MSR}) / ((\text{ALT} / \text{DC}) + (\text{MSPA} + \text{MSR}))$, de acordo com Dickson; Leaf e Hosner (1960).

Para as avaliações microbiológicas, durante o peneiramento do solo parte das raízes foram separadas e preservadas em álcool 50%. O número de esporos de FMA foi determinado em amostras de 100 g de solo, como anteriormente descrito. Para avaliação da colonização radicular por FMA e DSE, as raízes foram lavadas, clareadas em hidróxido de potássio (KOH) (10%) + peróxido de hidrogênio, acidificadas com ácido clorídrico (HCl) (1%), coloridas com azul de tripan (0,05%), sempre a 90 °C, e mantidas em lactoglicerol (PHILLIPS; HAYMAN, 1970) até a avaliação. A porcentagem de colonização foi determinada avaliando 100 segmentos de raízes finas, por amostra, sob microscopia ótica (Figura 9).

Figura 9 - Contagem de esporos em placa de acrílico com anéis concêntricos sob microscópio estereoscópio (A). Raízes sendo preparadas para iniciar o processo (B) e passando pelo processo de descoloração em banho maria a 90 °C (C). Azul de tripan sendo adicionado as amostras, para coloração em banho maria a 90 °C (D). Preparação de lâminas, para análise em microscopia optica (E) (Botucatu-SP, 2020)



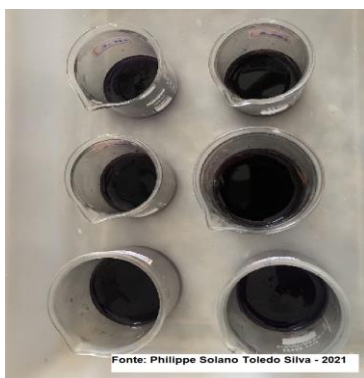
(A)



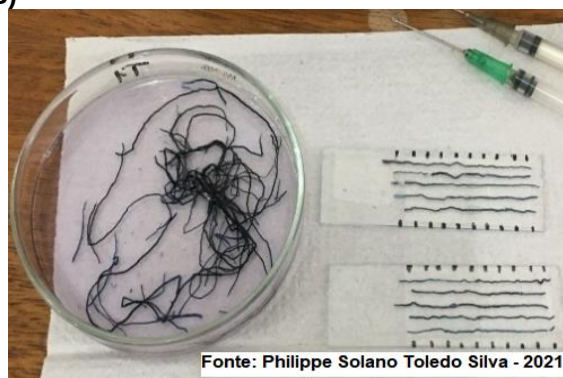
(B)



(C)



(D)



(E)

A quantificação do C-CO₂ liberado seguiu a metodologia de Mercante et al. (2004), em que 50 g de solo fresco foram colocadas em frasco de vidro juntamente com um pequeno recipiente contendo 10 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 mol L⁻¹. Os frascos foram fechados hermeticamente com plástico filme e vedados com tampa e fita isolante, pelo período de incubação de 7 dias. Imediatamente após a abertura dos frascos, foi adicionado 2 mL de cloreto de bário (BaCl₂) 10% ao recipiente contendo NaOH, para a precipitação do CO₂ na forma de Na₂CO₃. A seguir, a titulação foi realizada com HCl 0,1 mol L⁻¹, tendo fenolftaleína 1% como indicador. A titulação da base livre permite calcular, por subtração, a quantidade de CO₂ que reage com NaOH (ANDERSON; DOMSCH, 1989) (Figura 10).

Figura 10 - Frascos sendo vedados (A) e vedados com tampa e fita isolante (B) para a quantificação do carbono do CO₂ liberado (Botucatu-SP, 2020)



(A)



(B)

3.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando observada significância do teste F, as médias foram comparadas pelo teste Tukey para $p < 0,05$. O programa estatístico utilizado foi o Sisvar (FERREIRA et al., 2019).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento com o Baru

Após 150 dias do transplante, a caracterização química do solo (Tabelas 3 e 4) mostrou que a adição de lodo compostado e microrganismos pouco influenciou na fertilidade do solo e disponibilidade de nutrientes às plantas, contudo, houve incrementos nos teores de P, H+Al, CTC, S, Mn e Zn.

Tabela 3 - Caracterização química do solo para pH, matéria orgânica (MO), fósforo (P_{resina}), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), acidez potencial (H+Al), alumínio (Al^{3+}), capacidade de troca catiônica (CTC) e soma de bases (SB), sem e com adição de lodo de esgoto compostado e inoculação dos microrganismos *Bacillus subtilis* e *Glomus clarum*, aos 150 dias do transplante das mudas do Baru (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	pH	MO	P_{resina}	K	Ca	Mg	H+Al	Al^{3+}	CTC	SB
	CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³				mmol _c dm ⁻³			
----- Sem lodo de esgoto compostado -----										
Controle	3,5	18	3	0,8	3	2	64	12	70	6
<i>B. subtilis</i>	3,8	17	3	0,9	3	2	56	11	62	6
<i>Gl. clarum</i>	3,7	18	3	0,9	3	2	64	11	69	6
<i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i>	3,6	20	3	1,0	4	2	69	12	79	7
----- Com lodo de esgoto compostado -----										
Controle	3,6	18	11	1,0	5	2	72	13	80	8
<i>B. subtilis</i>	3,7	18	5	0,7	3	2	64	13	70	5
<i>Gl. clarum</i>	3,7	17	20	1,0	5	2	61	12	69	8
<i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i>	3,7	15	9	0,8	5	2	62	14	70	8

Os nutrientes do lodo compostado são liberados na solução do solo nos primeiros dias após sua aplicação, se houver condições propícias à mineralização da MO. As condições ambientais, como as baixas temperaturas observadas durante o período experimental, podem ter afetado a atividade microbiana no solo, reduzindo a taxa de mineralização do lodo compostado, dificultando seu uso de forma eficiente pelo Baru.

Tabela 4 - Caracterização química do solo para enxofre (S), boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn) e saturação de bases (V%) sem e com adição de lodo de esgoto compostado e inoculação dos microrganismos *Bacillus subtilis* e *Glomus clarum*, aos 150 dias do transplante das mudas do Baru (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn	V% %
----- mg dm ⁻³ -----							
----- Sem lodo de esgoto compostado -----							
Controle	9	0,40	2,8	34	4,6	0,6	8
<i>B. subtilis</i>	6	0,36	2,9	33	4,5	0,6	9
<i>Gl. clarum</i>	6	0,32	2,8	31	4,5	0,6	8
<i>B. subtilis</i>+<i>Gl. clarum</i>	5	0,28	3,4	39	5,1	0,8	9
----- Com lodo de esgoto compostado -----							
Controle	60	0,49	3,0	35	5,4	2,2	10
<i>B. subtilis</i>	58	0,53	3,0	36	4,5	1,5	7
<i>Gl. clarum</i>	54	0,41	3,0	37	5,3	2,1	12
<i>B. subtilis</i>+<i>Gl. clarum</i>	55	0,35	2,8	34	4,7	1,8	11

Além da taxa de mineralização, a não correção do solo pode ter influenciado a disponibilidade de nutrientes às plantas. Bonini; Alves e Montanari (2015) relatam efeitos positivos da utilização de lodo de esgoto na recuperação dos atributos químicos de um Latossolo vermelho degradado, que foi corrigido com calcário. Como o solo utilizado nos experimentos não foi corrigido, ficando o pH entre 3,5 e 3,8, parte dos nutrientes fornecidos por meio da adição do lodo compostado, somado à inoculação de microrganismos, devem ter permanecido indisponíveis. Por outro lado, Freitas et al. (2018) relatam que o crescimento inicial de mudas de Baru sob calagem e adubação fosfatada não diferenciaram do controle, indicando que a correção da acidez do solo pouco influencia no crescimento inicial, possivelmente por ser esta uma espécie adaptada às características do solo.

Dentre as variáveis ligadas ao crescimento das mudas de Baru, os valores para MFPA, MSPA e IQD foram maiores quando ocorreu a inoculação de microrganismos, especialmente com FMA *Gl. clarum*, enquanto para DC e NF foram mais elevados com a adição de lodo de esgoto compostado (Tabela 5). Os resultados deste estudo corroboram com Pinho et al. (2018) que não verificaram diferenças significativas para MFPA, MSPA e ALT das mudas de Baru cultivadas tanto em solo argiloso contendo 0,6 mg dm⁻³ de P, como em substrato comercial

contendo mistura de casca de *Pinus*, serragem de madeira, carvão vegetal, casca de arroz, rocha calcária, superfosfato simples e nitrato de amônio, e com Oliveira et al. (2014), que relatam efeitos positivos para o NF, mas não para DC, em mudas de Baru cultivadas por 79 dia após a semeadura em substratos a base de esterco bovino e fibra de coco.

Tabela 5 - Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), diâmetro do coleto (DC), altura (ALT), número de folhas (NF) e índice de qualidade de mudas de Dickson (IQD), para os fatores inoculação (*Bacillus subtilis* e *Glomus clarum*) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	MFPA (g)	MSPA (g)	DC (mm)	ALT (cm)	NF (-)	IQD (-)
Inoculação						
Controle	6,2 b	3,7 ab	4,4 a	15,0 a	7,3 a	1,5 b
<i>B. subtilis</i>	6,7 ab	3,4 b	4,5 a	16,5 a	7,1 a	1,5 b
<i>Gl. clarum</i>	8,4 a	4,5 a	4,7 a	15,2 a	7,5 a	2,4 a
<i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i>	6,8 ab	3,4 b	4,5 a	15,0 a	7,6 a	1,7 b
Lodo compostado						
Com lodo	7,2 a	3,7 a	4,8 a	15,8 a	7,8 a	1,7 a
Sem lodo	6,9 a	3,8 a	4,3 b	15,1 a	6,9 b	1,7 a
Valores de F						
Inoculação	3,23*	3,95*	0,83 ^{ns}	1,04 ^{ns}	0,90 ^{ns}	15,52**
Lodo	0,25 ^{ns}	0,52 ^{ns}	19,50**	1,13 ^{ns}	13,26**	0,00 ^{ns}
Bloco	2,23 ^{ns}	2,11 ^{ns}	0,22 ^{ns}	1,33 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,83 ^{ns}
Inoculação x Lodo	3,58*	1,91 ^{ns}	3,82*	0,43 ^{ns}	0,41 ^{ns}	4,45*
Média Geral	7,0	3,8	4,5	15,5	7,3	1,7
CV (%)	24	20	7	14	10	20

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ** e *: significativos a 1 e 5%, respectivamente; ^{ns}: não significativo.

Interações estatísticas significativas foram encontradas entre os fatores estudados para MFPA, DC e IQD. A adição de lodo compostado e os tratamentos de inoculação *B. subtilis* e *B. subtilis*+*Gl. clarum* elevaram o DC das mudas de Baru, os quais exibiram médias 4,8 e 3,9 mm, respectivamente (Tabela 6). Diversas espécies nativas do Cerrado são adaptadas às condições de baixa disponibilidade de nutrientes encontradas nos solos deste bioma. O ajuste do valor para 50 mg dm⁻³ de

P do solo por meio da adição de lodo de esgoto compostado, ao final de 150 dias, possibilitou elevar de 3 para 11 mg dm⁻³ de P_{resina}, comparando os controles com e sem adição do resíduo.

Tabela 6 - Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com ou sem) e inoculação (*Bacillus subtilis* – BS e *Glomus clarum* – GC) para massa fresca da parte aérea, diâmetro do coleto e índice de qualidade de mudas de Dickson, aos 150 dias do transplântio das mudas de Baru (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	Controle	<i>B. subtilis</i>	<i>Gl. clarum</i>	BS+GC
Lodo Compostado	----- Massa fresca da parte aérea (g) -----			
Com	4,8 bB	7,2 aAB	7,8 aA	7,7 aAB
Sem	7,4 aAB	6,3 aAB	9,0 aA	5,8 aB
	----- Diâmetro do coleto (mm) -----			
Com	4,4 aA	4,8 aA	4,8 aA	4,9 aA
Sem	4,5 aA	4,1 bA	4,4 aA	4,0 bA
	----- Índice de qualidade de Dickson (-) -----			
Com	1,3 aC	1,5 aBC	2,1 aA	2,0 aAB
Sem	1,6 aB	1,4 aB	2,5 aA	1,3 aB

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O único tratamento que superou o controle com adição de lodo no valor de P foi o que também recebeu *Gl. clarum* como inoculante, praticamente dobrando os valores médios de P (20 mg dm⁻³ de P_{resina}) (Tabela 3). Apesar do aumento da disponibilidade de P no solo, o Baru não se mostrou exigente por este nutriente durante o período de cultivo (150 dias), sendo 6 mg dm⁻³ de P disponível (Tabela 1), suficiente para seu crescimento inicial. O teor de P no solo somados a inoculação de FMA, incrementou a MFPA e MSPA (Tabela 5).

MFPA foi superior aos demais tratamentos quando inoculada com *Gl. clarum*, na ausência de lodo (Tabela 6). Estes resultados diferem dos relatados por Lacerda et al. (2011), os quais não verificaram diferenças para MSPA de mudas de Baru inoculadas ou não com *Gl. clarum*, em condições de alta ou baixa disponibilidade de P no solo. Resultados semelhantes ao presente estudo foram observados por Martinotto et al. (2012), com espécies de crescimento secundário a clímax, como o

Baru, tendo os autores relatado a pouca exigência em relação ao suprimento com P, apesar da disponibilidade ter aumento no solo.

Além das condições de fertilidade do solo, a relação entre plantas e microrganismos também é influenciada pelos fatores climáticos (KILPELAINEN; APHALO; LEHTO, 2020). Na região onde está localizado o município de Botucatu-SP, a temperatura média dos meses mais frios é de 18 °C, com geadas esporádicas. O experimento foi conduzido no período de inverno e início da primavera, em casa de vegetação com telas laterais abertas, ou seja, sem controle local de temperatura. Como relatado por Mathur; Tomar e Jajoo (2019) e Zhang et al. (2020), a simbiose com o FMA pode elevar a resistência de plantas à estresses abióticos, como baixas temperaturas. Assim, os resultados obtidos nestas condições experimentais, de baixas temperaturas, podem ser associados ao melhor desenvolvimento das mudas quando inoculadas com o *Gl. clarum*.

Em relação ao IQD, não houve diferenças significativas quanto a adição ou não de lodo de esgoto, contudo, incrementos para esta variável foram detectadas quando houve inoculação, especialmente do fungo simbiote (Tabela 6). IQD é um índice que, para calcular a qualidade de mudas, leva em consideração vários parâmetros importantes da planta (FONSECA et al., 2002). Assim, quanto maior o IQD, melhor será o padrão de qualidade (GOMES; PAIVA, 2011; VIDAL et al., 2006). Avaliando o crescimento de mudas de Baru em substratos enriquecidos com N, P e K, aos 100 dias após a semeadura, Berti et al. (2017) não detectaram diferenças para o IQD em relação aos nutrientes, corroborando com o presente estudo, como a adição ou não de lodo de esgoto compostado como fonte de nutrientes, incluindo P.

As variáveis relacionadas ao sistema radicular (MFR, ASR, CTR e DMR) mostraram incrementos quando ocorreu adição de lodo compostado e inoculação, enquanto MSR respondeu positivamente apenas à inoculação de microrganismos, com os valores mais elevados para *Gl. clarum*, seguidos pela associação dos *B. subtilis* + *Gl. clarum* (Tabela 7). A inoculação de FMA incrementou ASR, VR e CTR na ausência de lodo, e o DMR com a adição de lodo. A combinação de *B. subtilis* + *Gl. clarum* elevou os valores de MFR, ASR, VMR e CTR nos tratamentos sem adição de lodo e o DMR quando houve adição de lodo (Tabela 8). Embora a interação e os mecanismos específicos pelos quais o *B. subtilis* e o FMA estimulam um ao outro seja pouco compreendido, uma possível explicação para os resultados

seja a exsudação radicular mais rica, fonte de nutrientes para diversos microrganismos no solo, como o *B. subtilis*.

Tabela 7 - Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para massa fresca de raízes (MFR), massa seca de raízes (MSR), área de superfície das raízes (ASR), volume de raízes (VR), comprimento total das raízes (CTR) e diâmetro médio das raízes (DMR), para os fatores inoculação (*Bacillus subtilis* e *Glomus clarum*) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	MFR (g)	MSR (g)	ASR (cm ²)	VR (cm ³)	CTR (cm)	DMR (mm)
Inoculação						
Controle	6,6 ab	3,1 b	162,7 a	3,0 b	573,5 b	1,9 b
<i>B. subtilis</i>	5,9 b	3,1 b	124,8 b	2,8 b	498,7 b	1,3 c
<i>Gl. clarum</i>	8,0 a	4,7 a	181,0 a	4,3 a	728,9 a	2,7 a
<i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i>	7,9 a	4,2 ab	187,0 a	4,5 a	681,4 a	1,7 bc
Lodo compostado						
Com lodo	7,5 a	3,6 a	147,8 b	3,8 a	493,3 b	2,1 a
Sem lodo	6,6 b	3,9 a	179,9 a	3,5 a	747,9 a	1,7 b
Valores de F						
Inoculação	5,44**	7,48**	12,77**	15,54**	18,30**	28,95**
Lodo	4,66*	0,76 ^{ns}	16,82**	1,30 ^{ns}	109,47**	14,16**
Bloco	2,64 ^{ns}	1,36 ^{ns}	0,99 ^{ns}	1,23 ^{ns}	0,82 ^{ns}	0,79 ^{ns}
Inoculação x Lodo	4,31*	2,48 ^{ns}	24,75**	17,27**	40,71**	16,01**
Média Geral	7,1	3,7	163,9	3,7	620,6	1,9
CV (%)	20	24	15	18	12	18

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ** e *: significativos a 1 e 5%, respectivamente; ^{ns}: não significativo.

De acordo com Zhang et al. (2016), plantas melhor nutridas em decorrência da simbiose com o *Gl. clarum*, aliado a ação dos hormônios produzidos pelo *B. subtilis*, os quais estimulam o crescimento do sistema radicular, permitindo maior exploração do solo e absorção de água e nutrientes, com aumento e qualidade dos compostos rizosféricos.

Em estudos sobre as variações genéticas do Baru para características do sistema radicular de mudas de diferentes progênies, Oliveira et al. (2006) relataram que, aos 45 dias após a germinação sem inoculação de microrganismos, encontraram valores como CTR de 189,3 cm, VR de 1,45 cm³ e DMR de 1,02 mm.

Os resultados, inferiores aos deste estudo, indicam que a inoculação possibilita incrementos nestas variáveis ao longo do crescimento do Baru (Tabela 8).

Tabela 8 - Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com ou sem) e inoculação (*Bacillus subtilis* - BS e *Glomus clarum* - GC) para massa fresca das raízes, área de superfície das raízes, volume das raízes, comprimento total das raízes e diâmetro médio das raízes de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	Controle	<i>B. subtilis</i>	<i>Gl. clarum</i>	BS+GC
Lodo Compostado	----- Massa fresca das raízes (g) -----			
Com	6,7 aB	6,0 aB	7,8 aAB	9,7 aA
Sem	6,3 aA	5,8 aA	8,2 aA	6,0 bA
	----- Área de superfície das raízes (cm²) -----			
Com	135,1 bB	125,9 aB	116,8 bB	213,4 aA
Sem	190,3 aB	123,7 aC	245,3 aA	160,4 bBC
	----- Volume das raízes (cm³) -----			
Com	2,8 aB	2,6 aB	3,7 bB	5,9 aA
Sem	3,4 aB	2,9 aB	4,8 aA	3,0 bB
	----- Comprimento total de raízes (cm) -----			
Com	338,3 bC	487,1 aB	444,1 bBC	703,9 aA
Sem	808,7 aB	510,2 aD	1013,7 aA	658,9 aC
	----- Diâmetro médio das raízes (mm) -----			
Com	1,5 bC	1,7 aBC	3,2 aA	2,1 aB
Sem	2,3 aA	1,0 bB	2,2 bA	1,3 bB

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em outro trabalho, Siqueira et al. (2019) avaliaram a utilização de lodo de esgoto tratado na composição de substratos para a produção de mudas de *Plathymenia reticulata* e, aos 120 dias após a semeadura, verificaram menor comprimento e volume de raízes para os tratamentos que receberam o lodo. No presente estudo, o incremento nas variáveis para o sistema radicular da planta que receberam co-inoculação de microrganismos, podem estar relacionadas ao aumento da disponibilidade de P e outros nutrientes no solo pela ação do *B. subtilis* combinadas com o *Gl. clarum*.

O SPAD não exibiu diferenças significativas entre tratamentos de lodo ou de inoculação de microrganismos, ou para as possíveis interações (Tabela 9).

Tabela 9 - Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para teor relativo de clorofila (SPAD), fotossíntese líquida (A), transpiração (E) e condutância estomática (gS), para os fatores inoculação (*Bacillus subtilis* e *Glomus clarum*) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Baru, aos 150 dias do transplante (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	SPAD (-)	(A) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	(E) ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	gS (cm s^{-1})
Inoculação				
Controle	32,46 a	1,2 b	0,17 b	0,006 c
<i>B. subtilis</i>	29,10 a	1,5 b	0,29 a	0,009 b
<i>Gl. clarum</i>	34,43 a	1,9 a	0,21 b	0,007 c
<i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i>	33,03 a	2,0 a	0,31 a	0,011 a
Lodo compostado				
Com lodo	32,5 a	1,4 b	0,23 a	0,006 b
Sem lodo	32,0 a	1,9 a	0,26 a	0,010 a
Valores de F				
Inoculação	1,93 ^{ns}	14,16 ^{**}	17,62 ^{**}	26,45 ^{**}
Lodo	0,07 ^{ns}	31,45 ^{**}	2,86 ^{ns}	31,95 ^{**}
Bloco	3,17 [*]	0,11 ^{ns}	2,20 ^{ns}	0,10 ^{ns}
Inoculação x Lodo	2,74 ^{ns}	7,17 ^{**}	8,48 ^{**}	10,46 ^{**}
Média Geral	32,2	1,7	0,25	0,008
CV (%)	16	17	19	19

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ** e *: significativos a 1 e 5%, respectivamente; ^{ns}: não significativo.

O lodo influenciou a transpiração, porém a fotossíntese líquida e condutância estomática mostraram significância para adição de lodo, para inoculação e para as interações entre fatores. fotossíntese líquida e a condutância estomática das plantas foram maiores sem adição de lodo, enquanto o teor relativo de clorofila e transpiração não exibiram diferenças quanto a ausência ou adição de lodo. Para a inoculação de microrganismos, a fotossíntese líquida apresentou os menores valores nos tratamentos controle e inoculação de *B. subtilis*, e os maiores para *Gl. clarum* e *B. subtilis* + *Gl. clarum*. Para a condutância estomática o controle não diferiu do tratamento inoculado com *Gl. clarum*, mas foram inferiores aos tratamentos com *B. subtilis* e *B. subtilis* + *Gl. clarum* (Tabela 9)

No desdobramento das interações significativas, fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática foram maiores com a inoculação das mudas

foram inoculadas, mas não foram influenciadas pelo lodo na co-inoculação com *B. subtilis* + *Gl. clarum* (Tabela 10). As condições ambientais, de acordo com Bahuguna e Jagadish (2015), exercem importantes efeitos no estabelecimento vegetal, onde fatores como a radiação solar, temperatura e umidade relativa do ar influenciam diretamente nas respostas fisiológicas das plantas que, de acordo com a espécie, pode desenvolver a capacidade de se regular fisiologicamente em função da disponibilidade de água e nutrientes no solo ou ambiente de cultivo.

Tabela 10 - Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com e sem) e inoculação (*Bacillus subtilis* - BS e *Glomus clarum* - GC) para fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	Controle	<i>B. subtilis</i>	<i>Gl. clarum</i>	BS+GC
Lodo Compostado	----- Fotossíntese líquida ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----			
Com	1,2 aB	1,0 bB	1,4 bB	2,0 aA
Sem	1,4 aB	1,9 aA	2,4 aA	2,0 aA
	----- Transpiração ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----			
Com	0,15 aB	0,33 aA	0,14 bB	0,32 aA
Sem	0,20 aB	0,25 bAB	0,28 aAB	0,32 aA
	----- Condutância estomática (cm s^{-1}) -----			
Com	0,004 bB	0,009 aA	0,003 bB	0,011 aA
Sem	0,007 aB	0,009 aAB	0,010 aA	0,011 aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As mudas de Baru apresentaram baixos valores para fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática, diferindo dos achados de Honório et al. (2019), os quais relataram as médias de $2,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para fotossíntese líquida, $1,5 \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para transpiração e $0,1 \text{cm s}^{-1}$ para condutância, aos 120 dias após o transplântio. O fechamento estomático é uma das primeiras respostas fisiológicas associadas ao estresse hídrico, pois diminui a perda de água para o ambiente (BRODRIBB; HOLBROOK, 2005). Neste experimento, o fornecimento de água às mudas foi intermitente, a cada dois dias, e somado à redução na umidade relativa do ar pode ser associado a um déficit hídrico das mudas, mesmo com um conteúdo adequado de água no solo (Tabela 10). A diminuição da fotossíntese em baixas temperaturas, geralmente, estão associadas a redução da eficiência da enzima

Rubisco, prejudicando sua capacidade de regeneração, reduzindo a eficiência de carboxilação total do ciclo de Calvin (CRAFTS-BRANDNER; SALVUCCI, 2002). Apesar dos baixos valores, quando houve inoculação de microrganismos foi possível observar incrementos na fotossíntese, transpiração e condutância estomática.

Isoladamente não foi detectado efeito do *Gl. clarum* quando associado ao lodo compostado. Mas, de acordo com Mathur; Tomar e Jajoo (2019) e Zhang et al. (2020), os FMA são capazes de aumentar a resistência do hospedeiro a estresses abióticos por meio de mecanismos que envolvem melhorarias na absorção de água e nutrientes, modificações nas membranas celulares, ativação do sistema de enzimas antioxidantes e regulação da expressão de alguns genes relacionados (LIU et al., 2017; TU et al., 2019), como ao frio frente à baixas temperaturas.

Para os teores de nutrientes da parte aérea, a adição de lodo compostado incrementou os valores de N, K e S, enquanto que o teor de P foi maior quando não houve adição de lodo compostado (Tabela 11). O N e o Ca apresentaram significância para inoculação de microrganismos, com desdobramentos para as interações com o lodo (Tabela 12). A adição de lodo somadas a inoculação de *B. subtilis* ou *Gl. clarum* isoladamente foram superiores ao tratamento de co-inoculação de *B. subtilis* + *Gl. clarum*. Para o Ca, a maior média observada foi no tratamento onde houve co-inoculação de *B. subtilis* + *Gl. clarum* somadas a adição de lodo.

A deficiência destes nutrientes pode prejudicar o desenvolvimento de mudas. N é o elemento mineral de maior exigência nas plantas, servindo de constituinte para muitos componentes da célula vegetal, incluindo aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos, enquanto o P e o K atuam diretamente no metabolismo energético e regulação osmótica das células vegetais (TAIZ et al., 2017).

Berti et al. (2017) não verificaram resposta de mudas de Baru a aplicação de N, P e K, diferindo dos resultados encontrados no presente estudo para o N e K quando houve adição de lodo compostado. Entretanto, para o P, o teor na parte aérea foi menor quando houve adição de lodo, indicando que o Baru não é exigente por este nutriente na fase inicial do seu crescimento. A baixa exigência por estes e outros nutrientes na fase pela muda, pode estar relacionado ao tamanho de sua semente (Figura 5B) e, provavelmente, a sua grande reserva nutricional, como relatado por Sousa et al. (2015). Além desta, as condições ambientais, ou seja, as baixas temperaturas no início do experimento devem ter contribuído para o crescimento mais lento e a menor exigência nutricional nesta fase inicial (Figura 11).

Tabela 11 - Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) da parta aérea para os fatores inoculação (*Bacillus subtilis* e *Glomus clarum*) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S
	(g kg ⁻¹)					
Inoculação						
Controle	18,1 a	0,53 a	6,6 a	3,0 b	1,6 a	1,3 a
<i>B. subtilis</i>	18,3 a	0,50 a	6,6 a	3,1 ab	1,8 a	1,4 a
<i>Gl. clarum</i>	19,0 a	0,48 a	6,3 a	3,0 b	1,7 a	1,2 a
<i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i>	15,8 b	0,48 a	5,6 a	3,5 a	1,8 a	1,2 a
Lodo compostado						
Com lodo	19,3 a	0,45 b	6,9 a	3,2 a	1,8 a	1,4 a
Sem lodo	16,3 b	0,54 a	5,7 b	3,0 a	1,7 a	1,2 b
Valores de F						
Inoculação	12,4**	0,6 ^{ns}	3,1 ^{ns}	8,0**	2,6 ^{ns}	1,0 ^{ns}
Lodo	58,5**	8,0*	19,0**	4,0 ^{ns}	0,8 ^{ns}	5,2*
Bloco	2,7 ^{ns}	0,7 ^{ns}	1,5 ^{ns}	1,0 ^{ns}	1,0 ^{ns}	1,9 ^{ns}
Inoculação x Lodo	8,3**	0,5 ^{ns}	1,4 ^{ns}	12,0**	0,5 ^{ns}	1,4 ^{ns}
Média Geral	17,8	0,5	6,3	3,1	1,7	1,2
CV (%)	5	14	10	6	8	16

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ** e *: significativos a 1 e 5%, respectivamente; ^{ns}: não significativo.

Tabela 12 - Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com e sem) e inoculação (*Bacillus subtilis* - BS e *Glomus clarum* - GC) para nitrogênio e cálcio de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	Controle	<i>B. subtilis</i>	<i>Gl. clarum</i>	BS+GC
----- Nitrogênio (g kg ⁻¹) -----				
Com	20,0 aA	20,6 aA	21,0 aA	15,6 aB
Sem	16,3 bA	16,0 bA	17,0 bA	16,0 aA
----- Cálcio (g kg ⁻¹) -----				
Com	3,0 aB	3,0 aB	3,0 aB	4,0 aA
Sem	3,0 aA	3,3 aA	3,0 aA	3,0 bA

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 11 - Mudanças de Baru sem adição de lodo e sem inoculação de microrganismos nos vasos à esquerda (controle), comparados aos demais tratamentos à direita: sem lodo, com *B. subtilis* (A), sem lodo, com *Gl. clarum* (B), sem lodo, com co-inoculação de *B. subtilis* + *Gl. clarum* (C). Controle (D) comparados aos demais tratamentos com lodo mas sem inoculação (E), com lodo e *B. subtilis* (F), com lodo e *Gl. clarum* (G), com lodo e co-inoculação de *B. subtilis* + *Gl. clarum* (H) (Botucatu-SP, 2020)



(A)



(B)



(C)



(D)



(E)



(F)



(G)



(H)

Em relação ao S e ao Ca, a adição de lodo compostado elevou os teores destes nutrientes na parte aérea das mudas de Baru (Tabelas 11), especialmente para o Ca quando houve co-inoculação de *B. subtilis* + *Gl. clarum* (Tabelas 12). Estes resultados corroboram com Boni et al. (2016) que observaram incrementos de S nos teores foliares em mudas de Baru que receberam adição de resíduo orgânico, e para Ca quando houve adição de resíduo orgânico + 300 mg de P_2O_5 . O crescimento de mudas em solos de Cerrado pode ser prejudicado pela deficiência de Ca, visto que este elemento é pouco móvel no solo. Neste contexto, a associação com um ou mais microrganismos auxilia a planta na absorção deste e outros nutrientes. Cui et al. (2019) relatam que *Gl. mosseae* combinado com uma fonte Ca exógeno aumentou a biomassa de *Arachis hypogaea* L., resultados semelhantes aos

encontrados para o Baru..Quando o FMA é associado a uma bactéria promotora de crescimento por meio da produção de hormônio, como o *B. subtilis*, estas estimulam o crescimento de raízes, conseqüentemente, podem ocorrer mais pontos de infecção pelo FMA na planta, expandindo o volume de solo explorado, auxiliando na absorção de nutrientes, especialmente os de baixa mobilidade (Tabela 12).

Como observado neste trabalho, houve aumento no teor de Ca com a co-inoculação com *B. subtilis* + *Gl. clarum* somadas a adição de lodo. Haridassan (2008) relataram, para diversas arbóreas do cerrado, teores foliares de Ca variando entre 1,0 e 10,6 g kg⁻¹, faixa em que o Ca foi encontrado na parte aérea de Baru, demonstrando que as mudas foram adequadamente supridas por este nutriente.

Para os teores de B, Cu, Fe e Mn na parte aérea não houve significância para a adição de lodo compostado ou inoculação de microrganismos, enquanto o Zn foi favorecido pela adição de lodo compostado (Tabela 13).

Tabela 13 - Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para teores de boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) da parte aérea para os fatores inoculação (*Bacillus subtilis* e *Glomus clarum*) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	----- (mg kg ⁻¹) -----				
Inoculação					
Controle	29,8 a	3,1 a	329,3 a	562,3 a	17,3 a
<i>B. subtilis</i>	27,0 a	3,8 a	445,0 a	568,5 a	18,1 a
<i>Gl. clarum</i>	30,6 a	3,0 a	392,0 a	535,0 a	16,5 a
<i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i>	30,2 a	3,5 a	387,0 a	590,5 a	15,3 a
Lodo compostado					
Com lodo	27,5 a	3,2 a	356,3 a	554,6 a	18,4 a
Sem lodo	31,3 a	3,5 a	420,3 a	573,6 a	15,2 b
Valores de F					
Inoculação	0,6 ^{ns}	0,9 ^{ns}	1,2 ^{ns}	1,2 ^{ns}	2,5 ^{ns}
Lodo	3,5 ^{ns}	1,9 ^{ns}	2,1 ^{ns}	0,8 ^{ns}	17,3 ^{**}
Bloco	0,2 ^{ns}	0,3 ^{ns}	1,8 ^{ns}	0,3 ^{ns}	2,4 ^{ns}
Inoculação x Lodo	0,8 ^{ns}	0,6 ^{ns}	1,2 ^{ns}	6,7 ^{ns}	0,8 ^{ns}
Média Geral	29,4	3,37	388,3	564,0	16,8
CV (%)	17	19	27	9	11

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ** e *: significativos a 1 e 5%, respectivamente; ^{ns}: não significativo.

Boni et al. (2016) também não verificaram diferenças para os teores foliares de B, Cu, Fe e Mn indicando que os teores iniciais destes nutrientes no solo foram suficientes para suprir a planta nesta fase de crescimento. Contudo, os autores observaram incrementos de Zn nos teores foliares em mudas conduzidas em cultivo protegido com adição de resíduo orgânico, aos oito meses após a semeadura, assim como no presente trabalho para os tratamentos que adição lodo compostado.

A baixa disponibilidade de alguns nutrientes, como o Zn, resulta em drásticos efeitos enzimáticos no desenvolvimento de plantas, uma vez que este é um micronutriente que atua como cofator enzimático e regulador da síntese protéica, fundamental na síntese do triptofano. O Zn é um elemento chave na síntese do ácido indol acético (IAA), que auxilia no desenvolvimento das plantas (CASTILLO-GONZÁLEZ et al., 2018), sendo, portanto, exigido em maior quantidade na fase inicial de crescimento do Baru. (Tabela 13)

Para as variáveis microbiológicas de colonização radicular micorrízica (COL FMA), por endofíticos septados escuros (COL DSE), número de esporos de FMA (NESP) e C-CO₂ liberado houve significância para adição de lodo compostado, para inoculação de microrganismos e para as interações (Tabela 14).

A COL FMA mostrou incrementos quando houve inoculação de *Gl. clarum*, seguido do tratamento com *B. subtilis* (41,3 e 22,5%, respectivamente), na ausência de lodo (Tabela 15). A COL FMA do Baru inoculado com *Gl. clarum* pode ser considerada alta. No entanto, para os mesmos tratamento de inoculação, a COL reduziu cerca de 50% com adição de lodo de esgoto, indicando interferência negativa do resíduo orgânico adicionado como fonte de nutrientes, especialmente de P (Figura 12).

Lacerda et al. (2011) avaliando a colonização por *Gl. clarum* no crescimento inicial de diferentes arbóreas do Cerrado, dentre elas Baru, gabioba (*Campomanesia cambessedean*), jatobá (*Hymenaea courbaril*), ingá (*Inga laurina*), caroba (*Jacaranda cuspidifolia*) e chichá (*Sterculia striata*) sob diferentes teores de P na solução do solo, verificaram que todas estas espécies, com exceção do chichá, responderam a inoculação, corroborando os resultados deste estudo para o Baru. A baixa fertilidade pode contribuir para elevar a esporulação do fungo, facilitando a colonização de raízes, especialmente das espécies melhor adaptadas as condições presentes (GEHRING et al., 2017).

Tabela 14 - Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para a colonização radicular por fungo micorrízico arbuscular (FMA - COL AM) e por fungo endofítico septado escuro (COL DSE), número de esporos de FMA (NESP) e carbono do CO₂ (C-CO₂) liberado para os fatores inoculação (*Bacillus subtilis* e *Glomus clarum*) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Baru, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	COL FMA (%)	COL DSE (%)	NESP (100g solo)	C-CO ₂ (µg C-CO ₂ g ⁻¹ solo)
Inoculação				
Controle	5,8 c	2,0 b	12,8 bc	7,3 a
<i>B. subtilis</i>	16,5 b	2,3 ab	11,7 c	5,4 b
<i>Gl. clarum</i>	31,6 a	2,5 a	17,2 a	6,4 ab
<i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i>	15,1 b	0,8 c	15,0 ab	6,0 ab
Lodo compostado				
Com lodo	14,0 b	1,4 b	10,9 b	5,7 b
Sem lodo	20,5 a	2,4 a	17,5 a	6,9 a
Valores de F				
Inoculação	152,2**	48,5**	17,2**	4,4*
Lodo	56,2**	78,5**	126,5**	9,5**
Bloco	0,3 ^{ns}	2,0 ^{ns}	0,6 ^{ns}	1,3 ^{ns}
Inoculação x Lodo	47,9**	71,1**	35,7**	14,8**
Média Geral	17,2	1,9	14,2	6,3
CV (%)	16	18	13	19

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ** e *: significativos a 1 e 5%, respectivamente; ^{ns}: não significativo.

O sucesso na colonização pode estar relacionado com a manutenção e multiplicação do inóculo de FMA no solo. A inoculação de *Gl. clarum* incrementou o NESP na ausência de lodo compostado, indicando ser esta espécie de FMA indicada para áreas de cerrado em reflorestamento e em áreas degradadas em recuperação.

Estas mudas mostraram elevada produção de raízes, garantindo maiores chances de sobrevivência em campo (ASMELASH; BEKELE; BELAY, 2019). Neste contexto, a introdução e multiplicação de esporos de *Gl. clarum* no solo facilitou a absorção de água e nutrientes pela planta, com incrementos para raízes e parte aérea (Tabela 14).

Tabela 15 - Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com e sem) e inoculação (*Bacillus subtilis* - BS e *Glomus clarum* - GC) para colonização radicular por fungo micorrízico arbuscular (FMA) e por fungo endofítico septados escuros (DSE), número de esporos de FMA *Gl. clarum* e carbono do CO₂ (C-CO₂) liberado de mudas de Baru, aos 150 dias do transplantio (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	Controle	<i>B. subtilis</i>	<i>Gl. clarum</i>	BS+GC
Lodo Compostado	----- Colonização radicular por FMA (%) -----			
Com	9,9 aB	10,5 bB	21,8 bA	13,7 aB
Sem	1,7 bD	22,5 aB	41,3 aA	16,4 aC
	----- Colonização radicular por DSE (%) -----			
Com	2,7 aA	1,0 bBC	1,3 bB	0,6 aC
Sem	1,4 bB	3,6 aA	3,7 aA	1,0 aB
	----- Número de esporos de FMA (100g solo seco) -----			
Com	11,9 aA	11,2 aA	9,1 bA	11,5 bA
Sem	13,7 aC	12,3 aC	25,3 aA	18,5 aB
	----- C-CO₂ liberado (µg C-CO₂ g⁻¹ solo) -----			
Com	7,5 aA	3,5 bB	4,6 bB	7,2 aA
Sem	7,5 aA	7,3 aA	8,2 aA	4,9 bB

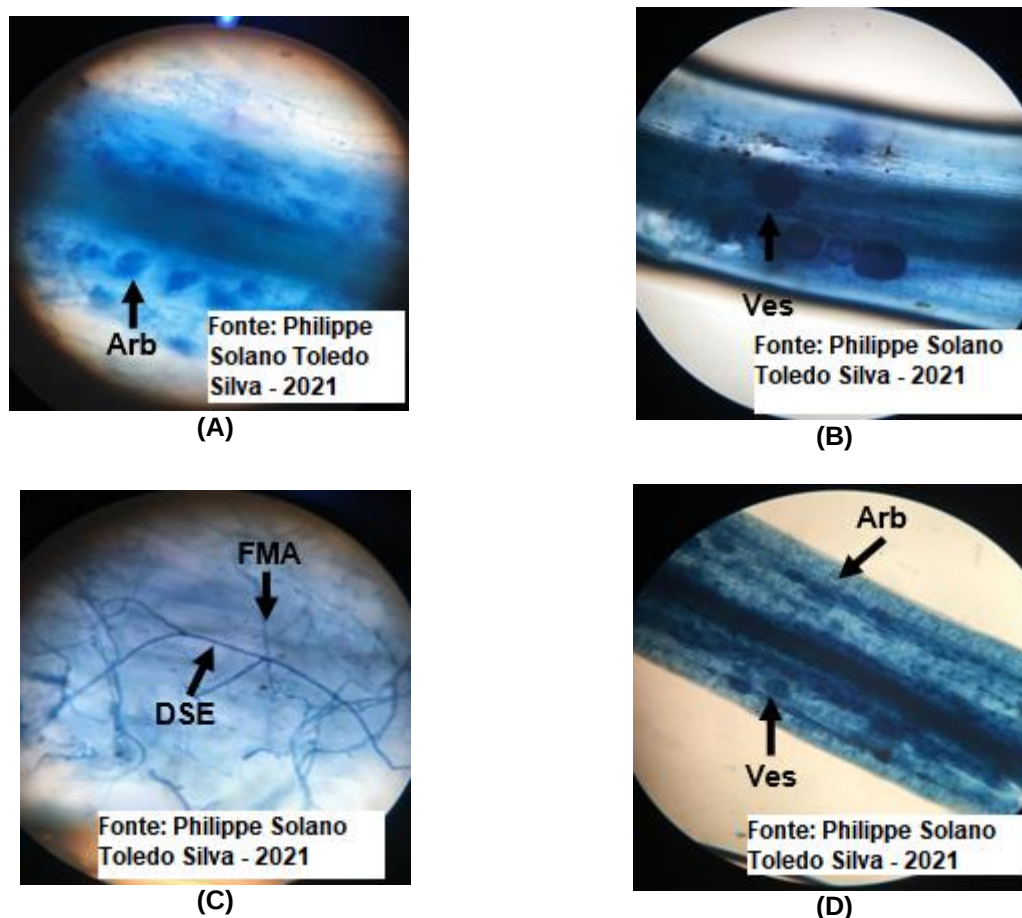
Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na rizosfera, o FMA pode estabelecer relações com outros microrganismos, dentre eles o *B. subtilis* e os DSE. De acordo com Nanjundappa et al. (2019), a interação entre o *B. subtilis* e o FMA pode ter beneficiado o crescimento de plantas por meio de mecanismos que as conferem melhor nutrição e proteção contra estresses bióticos e abióticos. Neste estudo a inoculação da bactéria, isoladamente, aumentou a COL FMA em relação aos tratamentos controle e *B. subtilis* + *Gl. clarum*. Hashem et al. (2016) reportaram aumento na colonização radicular por FMA em *Acacia gerrardii* que recebeu inoculação com *B. subtilis*. Resultados semelhantes foram relatados por Vivas et al. (2003) para *Gl. mosseae* e *Gl. intraradices*, diferindo do presente estudo, inoculado com *Gl. clarum*.

Há poucos estudos sobre a interação entre *B. subtilis* e *Gl. clarum* em espécies arbóreas de Cerrado, especialmente o Baru. Quando houve inoculação da bactéria isoladamente, e sem aplicação do lodo, a colonização por espécies

autóctones foi estimulada (Tabela 15).. Entretanto, fatores como níveis de fertilidade do solo e especificidade da planta devem ter afetado a colonização pelo *Gl. clarum*.

Figura 12 - Presença de estruturas fúngicas do fungo micorrízico arbuscular (FMA) *Glomus clarum* e dos fungos endofíticos septados escuros (DSE) em raízes de Baru sob microscopia ótica (aumento 40x). A) Hifas e arbúsculos de FMA, B) Hifas e vesículas de FMA, C) Hifas septadas de DSE e hifas de FMA, D) Arbúsculos e vesículas de FMA (Botucatu-SP, 2020)



O Baru apresentou baixíssima colonização pelos DSE, sendo as maiores médias observadas nos tratamentos em que houve inoculação de *B. subtilis* ou *Gl. clarum*, sem adição de lodo compostado (Tabela 15). Poucos relatos podem ser encontrados sobre o papel que este grupo fúngico desempenha em espécies arbóreas do cerrado. Embora eles coexistam aos FMA no interior das células corticais (Figura 12C e 12D), diferentes condições ambientais ou de fertilidade do solo faz com que um grupo fúngico se sobressaia, ou seja substituído por outro na aquisição de água e nutrientes a planta (LUGO et al., 2018).

Ainda, pode ser que as condições experimentais não tenham sido adequadas ao estabelecimento da associação entre as mudas e os fungos, o que explica os baixos valores de colonização encontrados para o DSE em relação aos de FMA. Segundo Muthukumar e Prabha (2013) maiores taxas de colonização pelos DSE são encontradas em ambientes mais extremos, desfavoráveis aos FMA, contudo, sua presença pode estimular o crescimento e as ramificações de hifas de FMA, por meio da produção de metabólitos solúveis na região da rizosfera, auxiliando os FMA e a planta hospedeira no estabelecimento em dado ambiente.

Para a atividade microbiológica do solo, avaliada por meio do C-CO₂ liberado mostrou significância para adição de lodo e inoculação de microrganismos (Tabela 14). Para as interações foram verificadas diferenças para o tratamento em relação a adição ou não de lodo compostado com taxas de C-CO₂ liberado mais baixas nos tratamentos com adição de lodo e de inoculação isoladamente. O *B. subtilis* ou de *Gl. clarum*, isoladamente, proporcionaram as médias mais elevadas quando não houve adição de lodo compostado, enquanto que para a co-inoculação *B. subtilis* + *Gl. clarum* as maiores médias foram na presença de lodo de esgoto (Tabela 15).

A atividade microbiana do solo tem como principal fonte de nutrientes os compostos orgânicos excretados pelas raízes na forma de exsudatos (SINGH et al., 2007; CHAPARRO et al. 2013). Este resultado pode ser um indício de baixa atividade microbiana na degradação da MO remanescente no lodo compostado. Vieira; Castilhos; Castilhos (2011) avaliando os atributos biológicos após a adição de lodo de esgoto, relatam aumento da atividade microbiana do solo, diferindo dos resultados encontrados neste estudo. Fatores como baixa temperatura e umidade durante o período experimental podem interferir na atividade microbiana do solo e, consequentemente, na mineralização do lodo compostado e liberação de nutrientes.

Durante a fase inicial de crescimento, o Baru apresentou baixa exigência nutricional, condição que pode promover alteração na região da rizosfera, ou seja, quando houve adição de lodo compostado ocorreu a diminuição de exsudação radicular e interação com microrganismos, diminuindo sua atividade. Contudo, quando houve a inoculação de *B. subtilis* ou do *Gl. clarum*, a atividade destes microrganismos foi beneficiada pelo Baru, por meio da exsudação radicular mais rica, fonte de foto assimilados (MAZURANA et al., 2013), aumentando a taxa de C-CO₂ liberado.

4.2 Experimento com o Gonçalves-Alves

Ao final do experimento com o Gonçalves-Alves, aos 150 dias de cultivo, os resultados da análise química final do solo estão apresentados nas Tabelas 16 e 17. Bezerra et al. (2006) destacam que o efeito positivo da aplicação de lodo no desenvolvimento de plantas e recuperação de solos degradados, ocorre, especialmente, por meio do fornecimento de MO e nutrientes. Neste estudo, a adição de lodo compostado, somados a inoculação de microrganismos, elevou os teores de nutrientes no solo, especialmente o P, S e o Zn.

Tabela 16 - Caracterização química do solo ao final do experimento, para pH, matéria orgânica (MO), fósforo (P_{resina}), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), acidez potencial (H+Al), alumínio (Al^{3+}), capacidade de troca catiônica (CTC) e soma de bases (SB) sem e com adição de lodo de esgoto compostado e inoculação de microrganismos *Bacillus subtilis* e *Glomus clarum*, aos 150 dias do transplante das mudas do Gonçalves-Alves (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	pH CaCl ₂	MO g dm ⁻³	P_{resina} mg dm ⁻³	K ----- mmol _c dm ⁻³	Ca	Mg	H+Al ----- mmol _c dm ⁻³	Al^{3+} -----	CTC	SB
----- Sem lodo de esgoto compostado -----										
Controle	3,7	16	3	0,9	4	2	57	12	64	7
<i>B. subtilis</i> (BS)	3,6	17	3	1,1	4	2	61	13	68	7
<i>Gl. clarum</i> (GC)	3,7	18	3	0,9	4	2	64	12	71	7
BS + GC	3,7	18	3	0,7	3	2	60	13	65	5
----- Com lodo de esgoto compostado -----										
Controle	3,6	18	5	0,8	5	3	70	13	78	8
<i>B. subtilis</i> (BS)	3,7	16	18	0,7	5	2	67	12	74	8
<i>Gl. clarum</i> (GC)	3,8	19	10	0,6	5	2	56	13	64	8
BS + GC	3,7	20	9	0,9	5	3	62	12	71	8

Contudo, as temperaturas baixas, como as que foram observadas durante o período experimental, podem ter diminuído a velocidade da mineralização da MO e influenciado na liberação de nutrientes. Neste contexto, os microrganismos solubilizadores podem contribuir mobilizando alguns destes nutrientes, como no

caso do P, por meio da solubilização de fosfatos inorgânicos, liberação de ácidos e produção de fosfatases (TAKTEK et al., 2015).

Tabela 17 - Caracterização química do solo ao final do experimento, para enxofre (S), boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn) e saturação de bases (V%) sem e com adição de lodo de esgoto compostado e inoculação de microrganismos *Bacillus subtilis* e *Glomus clarum*, aos 150 dias do transplante das mudas do Gonçalves-Alves (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn	V%
	----- mg dm ⁻³ -----						%
	----- Sem lodo de esgoto compostado -----						
Controle	10	0,37	3,1	32	4,4	0,3	11
<i>B. subtilis</i> (BS)	6	0,33	2,8	28	4,2	0,3	11
<i>Gl. clarum</i> (GC)	7	0,32	2,9	30	4,2	0,3	9
BS + GC	7	0,35	3,3	46	4,2	0,3	8
	----- Com lodo de esgoto compostado -----						
Controle	56	0,30	3,2	37	4,5	1,9	10
<i>B. subtilis</i> (BS)	54	0,28	3,1	36	4,3	1,8	11
<i>Gl. clarum</i> (GC)	54	0,30	2,9	35	4,2	1,8	12
BS + GC	68	0,30	3,2	38	5,6	2,0	12

Além dos atributos químicos, os microrganismos também contribuem para melhorar a agregação do solo, no caso, por meio da liberação de exsudatos mucilaginosos pelos FMA e exopolissacarídeos bacteriano, com os produzidos por algumas espécies de *Bacillus*, dentre elas o *B. subtilis*. Com isto, auxiliam na união das partículas, melhorando a estrutura do solo (RASHID et al., 2016).

As mudas de Gonçalves-Alves responderam à adição de lodo como fonte de nutrientes e simbiose micorrízica (Tabela 18). Incrementos no crescimento e qualidade das mudas com a adição de lodo de esgoto compostado foram verificados para todas as variáveis (MFPA, MSPA, DC, ALT, NF e IQD), mas apenas DC e ALT não responderam à inoculação de microrganismos.

Avaliando as características químicas do solo e o crescimento de Gonçalves-Alves em área degradada com lodo de esgoto e silicato de cálcio, Caldeira Júnior et al. (2009) observaram incrementos para altura, diâmetro do coleto e projeção da copa das mudas, aos 14 meses em campo.

Tabela 18 - Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), diâmetro do coleto (DC), altura (ALT), número de folhas (NF) e índice de qualidade de mudas de Dickson (IQD) para os fatores inoculação (*Bacillus subtilis* e *Glomus clarum*) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Gonçalo-Alves, aos 150 dias do transplântio (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	MFPA (g)	MSPA (g)	DC (mm)	ALT (cm)	NF (-)	IQD (-)
Inoculação						
Controle	6,3 b	2,5 c	2,6 a	11,8 a	9,7 a	0,38 ab
<i>B. subtilis</i>	7,5 b	3,5 b	2,3 a	11,4 a	7,8 b	0,36 b
<i>Gl. clarum</i>	9,7 a	4,3 a	2,9 a	12,9 a	10,3 a	0,45 a
<i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i>	6,5 b	1,9 c	2,5 a	11,6 a	10,4 a	0,34 b
Lodo compostado						
Com lodo	13,9 a	5,7 a	3,8 a	15,7 a	11,7 a	0,6 a
Sem lodo	1,17 b	0,4 b	1,4 b	8,2 b	7,3 b	0,1 b
Valores de F						
Inoculação	8,85**	24,10**	2,59 ^{ns}	0,67 ^{ns}	9,28**	6,80**
Lodo	580,03**	588,20**	219,73**	92,48**	123,34**	959,05**
Bloco	2,19 ^{ns}	1,86 ^{ns}	1,38 ^{ns}	1,15 ^{ns}	1,53 ^{ns}	0,94 ^{ns}
Inoculação x Lodo	7,45**	27,57**	5,92**	0,31 ^{ns}	3,18*	21,45**
Média Geral	7,5	3,0	2,6	11,9	9,5	0,4
CV (%)	22	23	19	21	13	14

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ** e *: significativos a 1 e 5%, respectivamente; ^{ns}: não significativo.

Em outro estudo, Silva et al. (2008) verificaram maior crescimento de plantas de Gonçalo-Alves em um solo que houve aumento nos teores de nutrientes, incluindo P, por meio da adição de lodo de esgoto. Estes resultados corroboram com os encontrados no presente estudo para adição de lodo compostado como fonte de nutrientes, que somados à inoculação de microrganismos, especialmente o *Gl. clarum*, incrementaram o crescimento inicial das mudas de Gonçalo-Alves.

No desdobramento das interações entre fatores observou-se incrementos para MFPA, MSPA, DC e NF na presença de lodo de esgoto e do FMA, enquanto IQD aumentou com adição de lodo associado a *B. subtilis* ou *Gl. clarum* (Tabela 19). O FMA pode ter facilitado a aquisição de água e nutrientes pelas plantas de Gonçalo-Alves por meio da sua rede de hifas, o que se reflete nos ganhos em MFPA, MSPA, DC, NF e IQD.

Tabela 19 - Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com e sem) e inoculação (*Bacillus subtilis* - BS e *Glomus clarum* - GC) para massa fresca da parte aérea, massa seca da parte aérea, diâmetro do colmo, número de folhas e índice de qualidade de mudas de Dickson de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplante (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	Controle	<i>B. subtilis</i>	<i>Gl. clarum</i>	BS+GC
Lodo Compostado	----- Massa fresca da parte aérea (g) -----			
Com	11,3 aC	14,5 aB	17,8 aA	11,8 aBC
Sem	1,3 bA	0,6 bA	1,6 bA	1,2 bA
	----- Massa seca da parte aérea (g) -----			
Com	4,53 aC	6,95 aB	8,19 aA	3,28 aD
Sem	0,45 bA	0,01 bA	0,52 bA	0,51 bA
	----- Diâmetro do coleto (mm) -----			
Com	3,58 aB	3,66 aB	4,56 aA	3,32 aB
Sem	1,76 bA	0,94 bA	1,26 bA	1,68 bA
	----- Número de folhas (-) -----			
Com	11,0 aB	10,4 aB	13,2 aA	12,4 aAB
Sem	8,4 bA	5,2 bB	7,4 bA	8,4 bA
	----- Índice de qualidade de Dickson (-) -----			
Com	0,60 aB	0,70 aA	0,76 aA	0,52 aB
Sem	0,16 bA	0,01 bB	0,12 bA	0,16 bA

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As espécies pioneiras de regiões tropicais são geralmente muito responsivas a adubação, especialmente com o P, que é considerado um nutriente limitante ao crescimento e estabelecimento de plantas em solos de cerrado (BERTI et al., 2017). Portanto, os FMA tornam-se um importante aliado ao contribuir para o melhor aproveitamento de nutrientes no solo e ao conferir proteção às condições adversas, como as baixas temperaturas observadas durante o período experimental (MATHUR; TOMAR; JAJOO, 2019; ZHANG et al., 2020).

Há poucos relatos dos efeitos de *B. subtilis* sobre o crescimento de Gonçalves-Alves, contudo, o aumento do IQD observado para as mudas que foram co-inoculadas, somadas a adição de lodo, pode estar relacionado indiretamente à habilidade promotora de crescimento da bactéria, por meio do controle de

fitohormônios do crescimento como auxinas, giberelinas e citocininas, ou pela solubilização e aumento da disponibilidade de P e outros nutrientes no solo (SISVASAKTHI; USHARANI, SARANRAJ, 2014). Com isto, o aumento do sistema da radicular possibilita a criação de novos pontos de infecção pelo *Gl. clarum*, favorecendo a simbiose e aumentando o volume de solo explorado e, consequentemente, a absorção de água e nutrientes para a planta (Tabela 19).

MFR, MSR, SR, VR, CTR e DMR exibiram significância para a adubação com lodo compostado, enquanto a inoculação com *Gl. clarum* proporcionaram as médias mais elevadas para MSR, VR e CTR, comparadas aos demais tratamentos. MFR não diferiu entre tratamentos de inoculação, mas estes do controle, enquanto SR e DMR não responderam à inoculação (Tabela 20).

Tabela 20 - Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para massa fresca de raízes (MFR), massa seca de raízes (MSR), área de superfície das raízes (SR), volume de raízes (VR), comprimento total (CTR) e diâmetro médio de raízes (DMR), para os fatores inoculação (*Bacillus subtilis* e *Glomus clarum*) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplante (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	MFR (g)	MSR (g)	SR (cm ²)	VR (cm ³)	CTR (cm)	DMR (mm)
Inoculação						
Controle	3,6 b	1,2 c	90,0 a	1,0 b	491,1 bc	0,48 a
<i>B. subtilis</i>	6,0 a	1,9 b	82,3 a	0,8 b	597,7 ab	0,46 a
<i>Gl. clarum</i>	7,4 a	2,6 a	94,4 a	1,4 a	630,9 a	0,47 a
<i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i>	6,2 a	1,2 c	84,4 a	0,9 b	456,0 c	0,50 a
Lodo compostado						
Com lodo	10,3 a	3,1 a	144,9 a	1,8 a	871,3 a	0,52 a
Sem lodo	1,3 b	0,3 b	30,7 b	0,3 b	216,6 b	0,43 b
Valores de F						
Inoculação	15,48**	28,35**	2,73 ^{ns}	20,98**	8,97**	0,96 ^{ns}
Lodo	477,89**	472,49**	1181,58**	750,77**	550,18**	28,44**
Bloco	1,56 ^{ns}	0,59 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,74 ^{ns}	0,36 ^{ns}	1,64 ^{ns}
Inoculação x Lodo	4,51*	19,18**	7,71**	14,72**	20,20**	1,83 ^{ns}
Média Geral	5,8	1,7	87,8	1,0	543,9	0,50
CV (%)	22	23	12	15	16	11

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ** e *: significativos a 1 e 5%, respectivamente; ^{ns}: não significativo.

No desdobramento das interações significativas, MFR, MSR, SR, VR e CTR mostraram incrementos para a adição de lodo de esgoto e inoculação, variando apenas entre os microrganismos aplicados (Tabela 21). A MFR não apresentou diferenças entre tratamentos de inoculação, mas entre estes e o controle, com as menores médias. A MSR, SR e VR exibiram as maiores médias quando as mudas de Gonçalves-Alves foram inoculadas com *Gl. clarum*, enquanto o CTR além da inoculação com o FMA, também respondeu ao *B. subtilis*.

Tabela 21 - Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado e inoculação (*Bacillus subtilis* - BS e *Glomus clarum* - GC) para massa fresca de raízes, massa seca de raízes, área de superfície, volume de raízes e comprimento total das mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplante (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	Controle	<i>B. subtilis</i>	<i>Gl. clarum</i>	BS+GC
Lodo Compostado	----- Massa fresca de raízes (g) -----			
Com	6,8 aB	10,6 aA	12,7 aA	11,1 aA
Sem	1,5 bA	0,3 bA	2,1 bA	1,4 bA
	----- Massa seca de raízes (g) -----			
Com	2,46 aC	3,35 aB	4,73 aA	1,95 aC
Sem	0,50 bA	0,05 bA	0,50 bA	0,38 bA
	----- Área de superfície (cm²) -----			
Com	140,5 aAB	151,7 aAB	153,2 aA	134,1 aB
Sem	39,7 bA	12,9 bB	35,6 bA	34,7 bA
	----- Volume de raízes (cm³) -----			
Com	1,60 aB	1,48 aB	2,39 aA	1,55 aB
Sem	0,45 bA	0,17 bA	0,37 bA	0,36 bA
	----- Comprimento total das raízes (cm) -----			
Com	696,1 aB	1.089,4 aA	983,9 aA	715,8 aB
Sem	286,1 bA	105,9 bB	277,9 bA	196,3 bAB

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Estes resultados são corroborados por Sugai; Collier e Saggin-Júnior (2011) que observaram aumento do sistema radicular de mudas de Angico em solos de Cerrado, quando estas foram inoculadas com FMA nativos. Neste estudo, a adubação com lodo compostado somado à inoculação, especialmente do *Gl. clarum*, possibilitou às mudas aumento no volume de solo explorado, por meio das hifas.

Assim, como observado para SR, VR e CTR (Tabela 21), a interação entre lodo de esgoto compostado e *Gl. clarum* gerou incrementos na absorção de água e nutrientes pelas suas raízes e/ou hifas do fungo, favorecendo seu desenvolvimento. Além do *Gl. clarum*, a associação com *B. subtilis* somadas a adição de lodo compostado, mostrou-se promissora no desenvolvimento de mudas, verificado por meio dos incrementos em MFR, MSR e CTR (Tabela 21). Resultados semelhantes foram relatados por Mafia et al. (2007) que, ao avaliarem a eficiência de isolados bacterianos obtidos da rizosfera de mudas clonais de eucalipto, em diferentes regiões do Brasil, detectaram maior enraizamento e produção de biomassa pelas plantas inoculadas com *B. subtilis*, em relação ao controle, não inoculados.

Para teor relativo de clorofila, fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática, apenas a primeira variável não respondeu à adição de lodo, à inoculação de microrganismos e às interações entre estes fatores (Tabela 22).

Tabela 22 - Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para teor relativo de clorofila (SPAD), fotossíntese líquida (A), transpiração (E) e condutância estomática (gS), para os fatores inoculação (*Bacillus subtilis* e *Glomus clarum*) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplantio (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	SPAD (-)	(A) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	(E) ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	gS (cm s^{-1})
Inoculação				
Controle	31,2 a	2,55 ab	0,62 a	0,033 a
<i>B. subtilis</i>	29,3 a	2,41 ab	0,44 b	0,022 b
<i>Gl. clarum</i>	30,8 a	2,88 a	0,62 a	0,030 a
<i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i>	31,4 a	2,20 b	0,46 b	0,021 b
Lodo compostado				
Com lodo	31,8 a	3,26 a	0,59 a	0,029 a
Sem lodo	29,5 a	1,76 b	0,48 b	0,023 b
Valores de F				
Inoculação	0,43 ^{ns}	5,10 ^{**}	11,87 ^{**}	11,84 ^{**}
Lodo	2,34 ^{ns}	136,58 ^{**}	13,01 ^{**}	12,25 ^{**}
Bloco	0,67 ^{ns}	0,48 ^{ns}	0,39 ^{ns}	0,27 ^{ns}
Inoculação x Lodo	0,48 ^{ns}	7,93 ^{**}	9,01 ^{**}	9,17 ^{**}
Média Geral	30,69	2,51	0,53	0,026
CV (%)	15	16	17	21

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ** e *: significativos a 1 e 5%, respectivamente; ^{ns}: não significativo.

A fotossíntese, transpiração e condutância estomática foram mais elevadas com adição de lodo. Para fotossíntese, as médias mais elevadas foram detectadas no tratamento com adição de lodo compostado, quando os microrganismos foram isoladamente inoculados ou no controle, os quais diferiram estatisticamente do tratamento com co-inoculação (*B. subtilis* + *Gl. clarum*). Na ausência de lodo, as maiores médias observadas foram no tratamento que recebeu FMA (Tabela 23).

Tabela 23 - Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com e sem) e inoculação (*Bacillus subtilis* - BS e *Glomus clarum* - GC) para fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplantio (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	Controle	<i>B. subtilis</i>	<i>Gl. clarum</i>	BS+GC
Lodo Compostado	----- Fotossíntese líquida ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----			
Com	3,33 aA	3,61 aA	3,58 aA	2,52 aB
Sem	1,77 bAB	1,21 bB	2,19 bA	1,88 bAB
	----- Transpiração ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----			
Com	0,65 aA	0,62 aA	0,64 aA	0,44 aB
Sem	0,58 aA	0,26 bB	0,61 aA	0,48 aA
	----- Condutância estomática (cm s^{-1}) -----			
Com	0,031 aA	0,033 aA	0,030 aA	0,019 aB
Sem	0,035 aA	0,012 bB	0,031 aA	0,022 aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para a transpiração e condutância estomática, diferenças entre os tratamentos com lodo compostado foram detectadas quando ocorreu a inoculação com *B. subtilis* que na presença do lodo proporcionou as médias mais elevadas. (Tabela 23). As mudas de Gonçalves-Alves exibiram valores baixos para as trocas gasosas, um comportamento que se assemelha ao relatado por Campelo et al. (2015), ao analisarem plantas desta espécie em campo, na estação seca.

As reduções da condutância estomática, no presente estudo, demonstram que as mudas promoveram o fechamento estomático de suas folhas em decorrência a algum estresse abiótico, provavelmente hídrico ou por temperatura. Ao

investigarem os efeitos da sazonalidade em plantas de *Jatropha curcas*, Rodrigues et al. (2011) relatam que, além da disponibilidade de água no solo, fatores como a temperatura influenciaram as respostas fisiológicas de algumas espécies de plantas. Além da condutância estomática, a capacidade fotossintética e transpiração das plantas podem sofrer alterações, se adaptando as condições ambientais presentes (LARCHER, 2006). Neste contexto, as plantas devem ter se associado aos microrganismos como forma de aliviar os efeitos do estresse fisiológico por meio de mecanismos que envolvem melhorias na absorção de água e nutriente.

Para os teores de macronutrientes na parte aérea, N, P, K e Ca responderam à inoculação de microrganismos, enquanto que para a adição de lodo compostado, somente o Ca não apresentou significância. Os teores de N, Mg e S foram maiores quando houve adição de lodo, enquanto a co-inoculação de *B. subtilis*+*Gl. clarum*, seguidos de *Gl. clarum*, proporcionaram as maiores médias para N (Tabela 24).

Tabela 24 - Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre da parte aérea para os fatores inoculação (*Bacillus subtilis* e *Glomus clarum*) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplantio (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S
	----- (g kg ⁻¹) -----					
Inoculação						
Controle	24,4 ab	1,6 a	6,5 ab	4,9 b	2,4 a	1,5 a
<i>B. subtilis</i>	20,4 c	1,2 b	6,2 ab	4,9 b	2,3 a	1,7 a
<i>Gl. clarum</i>	23,3 b	1,1 b	6,11 b	5,6 ab	2,3 a	1,6 a
<i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i>	25,5 a	1,4 ab	7,0 a	6,0 a	2,3 a	1,7 a
Lodo compostado						
Com lodo	24,8 a	1,7 a	5,5 b	6,0 a	2,5 a	1,8 a
Sem lodo	22,0 b	1,0 b	7,4 a	5,1 a	2,2 b	1,5 b
Valores de F						
Inoculação	28,7**	6,6**	4,1*	6,8**	0,2 ^{ns}	1,9 ^{ns}
Lodo	49,2**	87,3**	89,6**	3,8 ^{ns}	14,6**	16,9**
Bloco	1,9 ^{ns}	0,1 ^{ns}	2,0 ^{ns}	2,6 ^{ns}	0,2 ^{ns}	0,4 ^{ns}
Inoculação x Lodo	1,8 ^{ns}	5,5*	10,0 ^{ns}	4,0*	0,3 ^{ns}	0,4 ^{ns}
Média Geral	23,4	1,3	6,5	5,4	2,3	1,6
CV (%)	4	13	8	10	8	10

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ** e *: significativos a 1 e 5%, respectivamente; ^{ns}: não significativo.

Os teores de P, no desdobramento das interações significativas, foram superiores na presença de lodo compostado quando ocorreu inoculação, porém na ausência de lodo o tratamento controle foi superior em teor de P (Tabela 25).

Tabela 25 - Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com e sem) e inoculação (*Bacillus subtilis* - BS e *Glomus clarum* - GC) para os teores de fósforo e cálcio da parta aérea de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplante (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	Controle	<i>B. subtilis</i>	<i>Gl. clarum</i>	BS+GC
Lodo Compostado	----- Fósforo (g kg⁻¹) -----			
Com	1,7 aA	1,5 aA	1,5 aA	1,9 aA
Sem	1,4 aA	0,8 bB	0,8 bB	0,9 bB
	----- Cálcio (g kg⁻¹) -----			
Com	5,5 aA	5,5 aA	5,5 aA	5,8 aA
Sem	4,3 bB	4,3 bB	5,6 aA	6,3 aA

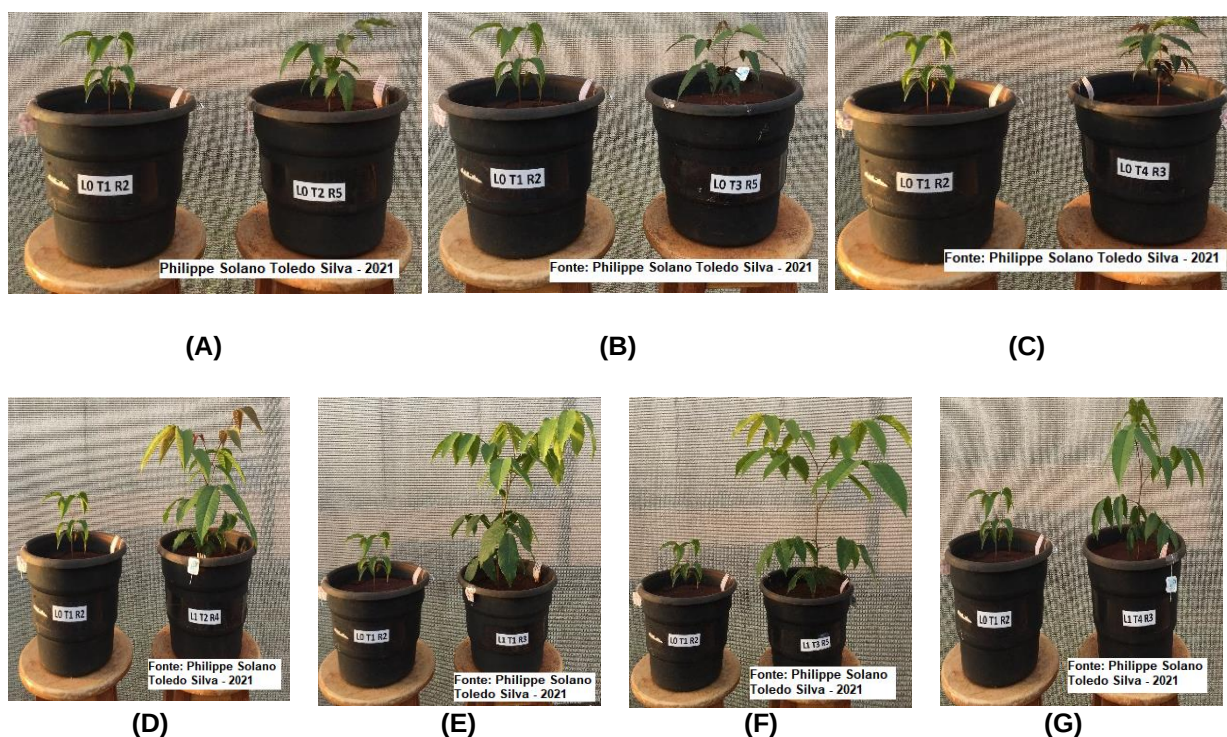
Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Duboc e Gerrini (2007), ao avaliarem os teores foliares de nutrientes em mudas de Gonçalves-Alves com 12 meses, sob diferentes doses de N, reportaram 14,5; 1,9; 9,5; 15,2; 2,3 e 1,0 g kg⁻¹ de N, P, K, Ca, Mg e S, respectivamente. Verifica-se semelhança para os teores de P, Mg e S detectados no presente trabalho, sugerindo que a exigência por estes nutrientes pelas mudas, nesta fase de crescimento, foi suprida pela adição de lodo compostado. No entanto, os teores de N encontrados pelo mesmo autor foram menores comparados aos do presente estudo, enquanto os de K e Ca foram maiores (Tabela 24). Estes resultados podem indicar que o N foi exigido em maior quantidade no início do crescimento, em relação ao K e o Ca.

Alguns fatores ambientais podem afetar o crescimento e a exigência das plantas por determinado nutriente. Baixas temperaturas podem causar distúrbios em suas funções básicas, acarretando a inibição de muitos processos bioquímicos como transporte de solutos e metabolismo de enzimas, prejudicando o crescimento das mudas (Figura 13). Os nutrientes N, K e Ca desempenham papéis importantes como constituintes de aminoácidos, ácidos nucleicos, coenzimas e regulações metabólicas (TAIZ et al., 2017). Logo, a associação com microrganismos pode amenizar o estresse pelo frio por meio de mecanismos que melhoram a absorção de água e

nutrientes, possibilitando o crescimento de mudas de Gonçalves-Alves mais saudáveis e vigorosas.

Figura 13 - Mudanças de Gonçalves-Alves sem adição de lodo e sem inoculação de microrganismos sempre nos vasos à esquerda (controle), comparados aos demais tratamentos à direita: sem lodo, com *B. subtilis* (A), sem lodo, com *Gl. clarum* (B), sem lodo, com co-inoculação de *B. subtilis*+*Gl. clarum* (C), com lodo mas sem inoculação (D), com lodo e *B. subtilis* (E), com lodo e *Gl. clarum* (F), com lodo e co-inoculação de *B. subtilis*+*Gl. clarum* (G) (Botucatu-SP, 2020)



Semelhantes ao detectado no presente estudo, Mizobata; Cassiolato; Maltoni (2017) verificaram aumentos nos teores de K e Ca em mudas de Gonçalves-Alves suplementadas com resíduo orgânico. Os teores destes nutrientes na parte aérea, se comparados aos do solo ao final do experimento, foram superiores, indicando que a planta deve ter utilizado a associação com microrganismos para suprir parte da necessidade destes nutrientes.

A forma predominante de K no solo é a estrutural, isto é, faz parte da estrutura de minerais primários (muscovita biotita e feldspatos) e, ou, secundários (vermiculita e esmectita) (FERNANDES; SOUZA; SANTOS, 2018). A liberação do K estrutural para a solução do solo é um processo lento e, assim, não atende à

demanda das plantas a curto prazo. A ação solubilizadora do *B. subtilis* pode ter contribuído para liberação de K e, por meio das hifas do FMA, a planta ter aumentado este teor na sua parte aérea (Tabela 24).

Em relação aos teores de B, Cu, Fe, Mn e Zn na parte aérea, houve significância para adição de lodo, de microrganismos e interação significativa para B, Fe e Mn, enquanto que o Zn espondeu apenas ao lodo (Tabelas 26).

Tabela 26 - Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para teores de boro, cobre, ferro, manganês e zinco da parte aérea para os fatores inoculação (*Bacillus subtilis* e *Glomus clarum*) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplante (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	----- (mg kg ⁻¹) -----				
Inoculação					
Controle	35,1 a	8,0 a	241,5 c	156,5 ab	20,0 a
<i>B. subtilis</i>	32,3 b	8,0 a	310,3 a	206,2 a	19,0 a
<i>Gl. clarum</i>	32,5 b	7,6 a	281,3 b	147,0 c	20,5 a
<i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i>	31,0 b	7,8 a	302,8 a	167,3 b	19,6 a
Lodo compostado					
Com lodo	30,7 b	7,7 a	251,0 b	209,4 a	22,7 a
Sem lodo	34,7 a	8,0 a	317,0 a	129,0 b	16,8 b
Valores de F					
Inoculação	9,0 ^{**}	0,3 ^{ns}	48,1 ^{**}	39,4 ^{**}	1,0 ^{ns}
Lodo	53,3 ^{**}	0,7 ^{ns}	220,0 ^{**}	377,1 ^{**}	89,7 ^{**}
Bloco	2,1 ^{ns}	0,2 ^{ns}	0,7 ^{ns}	1,1 ^{ns}	0,5 ^{ns}
Inoculação x Lodo	10,8 ^{**}	1,6 ^{ns}	181,7 ^{**}	51,0 ^{**}	0,7 ^{ns}
Média Geral	32,7	7,87	284,0	169,2	19,7
CV (%)	4	9	4	6	8

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ** e *: significativos a 1 e 5%, respectivamente; ^{ns}: não significativo.

Em relação ao Zn, elemento essencial para a síntese de triptofano, aminoácido chave na síntese de ácido indol acético (AIA) (CASTILLO-GONZÁLEZ et al., 2018). As mudas responderam a adição de lodo de esgoto compostado, mas não responderam a inoculação. Este resultado indica que as plantas podem ter se beneficiado da síntese de fitormônios do crescimento, dentre eles o AIA, pelos microrganismos, não demonstrando alta exigência por Zn nesta fase de crescimento.

O B e o Fe exibiram os maiores teores com a inoculação de *B. subtilis* e de *Gl. clarum* para o Fe e de *Gl. clarum* para o B, ambos na ausência no lodo compostado (Tabela 27). Saboya et al. (2012) relataram incrementos para B em mudas pinhão-manso inoculadas com *Gl. clarum* + *Acaulospora morrowiae*, mostrando a importância da simbiose para a absorção do nutriente, principalmente por sua baixa mobilidade no solo (COLOZZI-FILHO; BALOTA, 1994).

Tabela 27 - Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com e sem) e inoculação (*Bacillus subtilis* - BS e *Glomus clarum* - GC) para Boro, Ferro e Manganês de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplante (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	Controle	<i>B. subtilis</i>	<i>Gl. clarum</i>	BS+GC
Lodo Compostado	----- Boro (mg kg⁻¹) -----			
Com	35,3 aA	30,3 bB	28,5 bB	28,7 bB
Sem	34,6 aAB	34,3 aAB	36,7 aA	33,3 aB
	----- Ferro (mg kg⁻¹) -----			
Com	238,6 aC	274,6 bB	165,6 bD	325,0 aA
Sem	244,3 aD	346,0 aB	397,0 aA	280,6 bC
	----- Manganês (mg kg⁻¹) -----			
Com	158,0 aD	279,0 aA	185,6 aC	215,0 aB
Sem	155,0 aA	133,3 bAB	108,3 bC	119,6 bBC

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O efeito promotor de crescimento do *B. subtilis* favoreceu o crescimento do sistema radicular das mudas, contribuindo para um incremento na absorção de Mg pela planta de Gonçalves-Alves. O aumento nos teores de Mg na parte aérea das mudas pode estar relacionado a algum estresse abiótico, como baixas temperaturas, que podem causar danos foliares (Figura 14).

O Fe é um nutriente essencial ao metabolismo das mitocôndrias e cloroplastos (TAIZ et al., 2017), enquanto no solo é encontrado na forma Fe³⁺, que reage formando óxidos e hidróxidos insolúveis, portanto, indisponíveis as plantas (ROUT; SAHOO, 2015). A associação com microrganismos melhorou a absorção de Fe, possivelmente por meio da liberação de compostos orgânicos capazes de reduzi-lo, como *B. subtilis*, facilitando sua absorção pela planta por meio das hifas do

FMA (Tabela 27). O lodo compostado fornecido as mudas de Gonçalves-Alves é rico em B (125 mg kg^{-1}) e Fe (40478 mg kg^{-1}), e os teores iniciais destes nutrientes no solo podem ter sido suficientes para suprir a necessidade das mudas inoculadas.

Figura 14 - Lesões (A) e escurecimento foliares de mudas de Gonçalves-Alves, anteriormente ao transplante em vasos (Botucatu-SP, 2020)



(A)



(B)

A colonização radicular por FMA (COL FMA) e por endófitos septados escuros (COL DSE), número de esporos de FMA (NESP) e o C-CO₂ liberado apresentaram significância para inoculação e para a adição de lodo, enquanto o NESP não respondeu aos tratamentos (Tabela 28). As espécies arbóreas pioneiras, como o Gonçalves-Alves, segundo Carrenho; Trufem; Bononi (2001), são mais responsivas a inoculação micorrízica em relação as espécies clímax. Este comportamento deve estar relacionado com o tamanho e pouca quantidade de reservas das sementes de Gonçalves-Alves, produzindo poucas raízes no início do seu crescimento (Figura 15).

A simbiose com estes microrganismos auxilia o crescimento de mudas, melhorando sua nutrição via incrementos na absorção de água e nutrientes por meio de suas hifas. As variáveis COL FMA, COL DSE e C-CO₂ liberado mostraram significância para as interações (Tabela 29). A inoculação com *Gl. clarum* e *B. subtilis* elevou a colonização das mudas que receberam adição de lodo compostado.

Tabela 28 - Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para colonização radicular por fungo micorrízico arbuscular (COL FMA) e pelo fungo endofítico septado escuro (COL DSE), número de esporos de FMA (NESP) e carbono do CO₂ (C-CO₂) liberado para os fatores inoculação (*Bacillus subtilis* e *Glomus clarum*) e lodo de esgoto compostado (com ou sem) de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplantio (Botucatu-SP, 2020)

Tratamentos	COL FMA (%)	COL DSE (%)	NESP (100g solo)	C-CO ₂ liberado (µg C-CO ₂ g ⁻¹ solo)
Inoculação				
Controle	18,0 c	2,9 b	11,5 c	5,0 a
<i>B. subtilis</i>	32,2 b	0,9 c	14,3 b	5,1 a
<i>Gl. clarum</i>	44,2 a	6,1 a	10,3 c	3,6 b
<i>B. subtilis</i> + <i>Gl. clarum</i>	17,7 c	0,0 d	19,6 a	3,3 b
Lodo compostado				
Com lodo	41,3 a	3,9 a	14,0 a	4,5 a
Sem lodo	14,7 b	1,0 b	13,8 a	4,1 b
Valores de F				
Inoculação	421,7**	1404,0**	45,5**	34,0**
Lodo	1842,0**	1595,4**	0,0 ^{ns}	6,5*
Bloco	1,2 ^{ns}	1,8 ^{ns}	0,8 ^{ns}	0,9 ^{ns}
Inoculação x Lodo	501,1**	1229,8**	30,6 ^{ns}	214,4**
Média Geral	28	2,4	14	4,3
CV (%)	7	9	14	12

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ** e *: significativos a 1 e 5%, respectivamente; ^{ns}: não significativo.

Figura 15 - Mudas de Gonçalves-Alves no início de crescimento (Botucatu-SP, 2020)



Tabela 29 - Interações significativas entre adição de lodo de esgoto compostado (com e sem) e inoculação (*Bacillus subtilis* - BS e *Glomus clarum* - GC) para colonização radicular por fungo micorrízico arbuscular (FMA) e por fungo endofítico septados escuros (DSE), número de esporos de FMA *Gl. clarum* e carbono do CO₂ (C-CO₂) liberado de mudas de Gonçalves-Alves, aos 150 dias do transplante (Botucatu-SP, 2020)

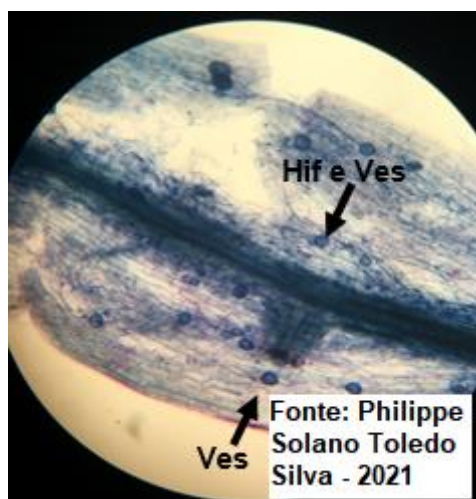
Tratamentos	Controle	<i>B. subtilis</i>	<i>Gl. clarum</i>	BS+GC
Lodo Compostado	----- Colonização radicular por FMA (%) -----			
Com	24,7 aC	51,9 aB	73,2 aA	15,4 bD
Sem	11,4 bAB	12,4 bAB	15,2 bB	20,0 aA
	----- Colonização radicular por DSE (%) -----			
Com	4,8 aB	0,0 bC	10,8 aA	0,0 aC
Sem	1,0 bB	1,8 aA	1,3 bB	0,0 aC
	----- C-CO₂ liberado (µg C-CO₂ g⁻¹ solo) -----			
Com	1,8 bC	7,0 aA	4,5 aB	4,5 aB
Sem	8,2 aA	3,1 bB	2,7 bC	2,2 bC

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

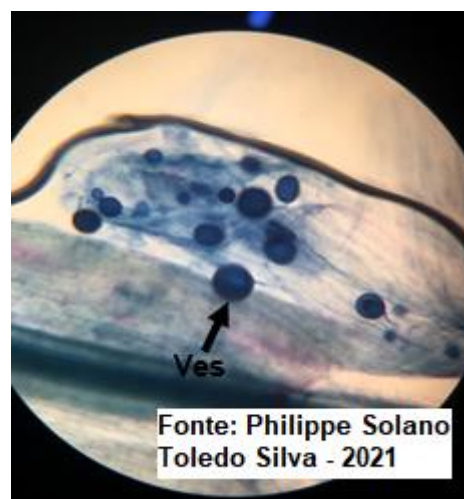
Com o aumento da colonização por FMA, as raízes passam a ter uma maior importância como fonte de inóculo, diminuindo a esporulação do fungo, comportamento semelhante ao observado neste estudo para o baixo NESP, especialmente o tratamento inoculado com *Gl. clarum*. Kabir; O'Halloran; Hamel (1996) relatam que a porcentagem de colonização está positivamente relacionada com a abundância de hifas no solo e que, nessa situação, estas estruturas podem tornar-se a principal forma de propagação pelos FMA no solo (Figura 16).

Em relação aos DSE, o papel que o grupo desempenha em espécies arbóreas pioneiras no cerrado, ainda é pouco relatado. Os DSE são caracterizados pelas hifas septadas melanizadas e microescleródios (Figura 15D) (SEERANGAN; THANGAVELU, 2014) e, apesar das semelhanças com os FMA, os DSE podem coexistir com FMA e produzir metabólitos capazes de aumentar a germinação, o crescimento e a ramificação de hifas destes fungos (SCERVINO et al., 2009). Neste estudo, o tratamento com inoculação de *Gl. clarum* e aplicação do lodo compostado mostrou a maior colonização por DSE, indicando que ambos respondem a adubação e podem beneficiar sua planta hospedeira de forma indireta.

Figura 16 - Presença de estruturas fúngicas de FMA e DSE em raízes de Gonçalves-Alves, sob microscopia ótica (aumento 40x). A) Hifas e vesículas de FMA, B) Hifas e vesículas de FMA, C) Vesículas de FMA e D) Hifas septadas e microescleródios de DSE (Botucatu-SP, 2020)



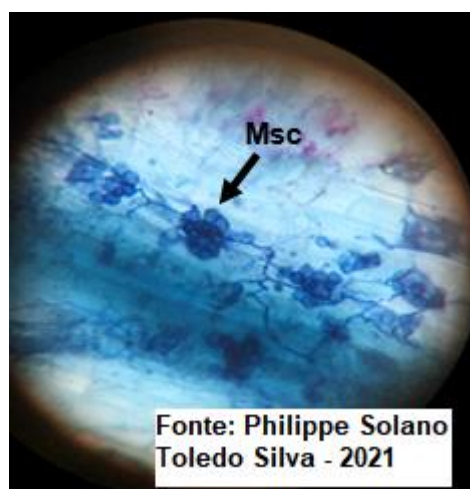
(A)



(B)



(C)



(D)

Em relação aos tratamentos inoculados com *B. subtilis*, a colonização por DSE foi praticamente inexistente (Tabela 28). Há poucos estudos sobre a interação entre *B. subtilis* e os DSE, entretanto Braga Júnior et al. (2017) constataram que a produção de sideróforos e outras moléculas pela bactéria foram capazes de diminuir o crescimento micelial *in vitro* de alguns grupos fúngicos, dentre eles *Curvularia luneta* e *Fusarium* spp.

Os fungos DSE podem ser mutualísticos na maioria das situações e, segundo Newsham (2011), desenvolver caráter patogênico em outras, necessitando uma minuciosa seleção. Por outro lado, alguns mostraram ter o crescimento micelial prejudicado pela ação da bactéria, interferindo negativamente na colonização, possivelmente, fato também observado neste estudo para os tratamentos inoculados com *B. subtilis* (Tabela 29). No entanto, as respostas ainda não estão claras, havendo a necessidade de mais estudos sobre o comportamento destes microrganismos, especialmente em espécies arbóreas de cerrado.

O C-CO₂ liberado apresentou incrementos quando houve inoculação de microrganismos junto a adição de lodo compostado, especialmente de *B. subtilis* (Tabela 29). Entretanto, sem a adição de lodo, os tratamentos de inoculação foram inferiores ao controle. A liberação de C-CO₂ é proveniente da atividade respiratória de bactérias, fungos e outros microrganismos do solo (SAURICH et al, 2019), podendo ser utilizada como um indicador sensível ao manejo do solo. O fornecimento de MO e outros nutrientes ao solo, via resíduos orgânicos, pode propiciar sua atividade no solo (GAMA-RODRIGUES et al., 2005; VENZKE FILHO et al., 2008).

Capuani et al. (2012), avaliando a atividade microbiana em diferentes tipos de solo sob a adição de resíduos de algodão e torta de mamona, verificaram que a atividade microbiana dos solos que receberam os resíduos foi maior nos primeiros dias, decrescendo com o passar do tempo. Silva; Souto; Araújo (2006) também relataram maior liberação de CO₂ nas primeiras avaliações em um Luvisolo com diferentes resíduos vegetais, que decresceu posteriormente. Estes resultados corroboram com o presente estudo, para um Latossolo que recebeu lodo compostado, com avaliação da atividade microbiológica aos 150 dias de experimento (Tabela 29). A lenta mineralização do lodo de esgoto, decorrentes das condições de baixas temperaturas observadas durante o experimento, somadas a ausência de práticas de re-inoculação de microrganismos, podem ter contribuído para diminuir a atividade dos microrganismos no solo.

O aumento na taxa respiratória pode ser uma característica desejável, tendo em vista que pode indicar alta atividade da biomassa microbiana e rápida transformação da MO. Alta atividade respiratória pode ser em decorrência de um

grande reservatório de substratos de C lábeis, onde há intensa decomposição da MO ou, também, pode indicar um pequeno reservatório decorrente da quebra de agregados do solo, a qual expõe material orgânico que se encontrava protegido da ação microbiana (TÓTOLA; CHAER, 2002). Logo, segundo Islam; Weil (2000), altas taxas de CO₂ liberado pode indicar tanto alta produtividade do sistema quanto um distúrbio ecológico, devendo ser analisada segundo o contexto de cada situação.

5 CONCLUSÕES

O Baru, diferente do Gonçalo-Alves, mostra pouca exigência em P para o crescimento inicial.

Na ausência de lodo compostado, nas mudas de Baru, a inoculação de microrganismos proporciona incrementos para massa fresca, área de superfície, volume e comprimento total de raízes, fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática. A inoculação de *Gl. clarum* eleva o número de esporos de FMA no solo e o C-CO₂ liberado, enquanto *Gl. clarum* e *B. subtilis* elevam a colonização radicular pelos FMA e DSE

A adição de lodo compostado, associados a inoculação de microrganismos aumenta os teores de P, S e Zn no solo, enquanto sem inoculação, foram mais altos os teores N, K, Ca, S e Zn da parte aérea das mudas de Baru

A adição de lodo compostado eleva os teores de N, P, Mg, S, Mn e Zn na parte aérea das mudas e, quando associada à inoculação de microrganismos, especialmente *Gl. clarum*, proporciona incrementos nas variáveis relacionadas ao crescimento da parte aérea e do sistema radicular, na colonização por FMA e DSE e nos teores de C-CO₂ liberado, em mudas de Gonçalo-Alves

A inoculação de microrganismos (*B. subtilis* ou *Gl. clarum*) isoladamente ou somados à adição de lodo compostado, incrementou os valores de fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática das mudas de Gonçalo-Alves

Na ausência de lodo houve incrementos para K, B e Fe nas mudas de Gonçalo-Alves

REFERÊNCIAS

- ABREU-JUNIOR, C.H.; FIRME, L.P.; MALDONADO, C.A.B.; NETO, S.P.M.; ALVES, M.C.; MURAOKA, T.; BOARETTO, A.E.; GAVA, J.L.; HE, Z.; NOGUEIRA, T.A.R.; CAPRA, G.F. Fertilization using sewage sludge in unfertile tropical soils increased lwood production in *Eucalyptus* plantations. **Journal of Environmental Management**, v. 203, n. 1, p. 51-58, 2017.
- AGEGNEHU, G.; AMEDE, T. Integrated Soil Fertility and Plant Nutrient Management in Tropical Agro-Ecosystems: A Review. **Pedosphere**, v. 27 n. 4, p. 662-680, 2017.
- AIZAWA, S.I. *Bacillus subtilis* – The Representative of Gram-Positive Bacteria. In: AIZAWA, S.I. **The Flagellar World**. Electron Microscopic Images of Bacterial Flagella and Related Surface Structures. 1 ed. Cambridge: Academy Press, 2014.
- ALEIXO, S.; GAMA-RODRIGUES, A.C.; GAMA-RODRIGUES, E.F.; CAMPELLO, E.F.C.; SILVA, E.C.; SCHRIPSEMA, J. Can soil phosphorus availability in tropical forest system be increased by nitrogen-fixing leguminous trees? **Science of the Total Environment**, v. 712, p. 136405, 2020.
- ALMEIDA, E.L.; GOULART, G.A.S.; NETO, S.C.; CHIERICE, G.O.; SIQUEIRA, A.B. Preparação e caracterização de poliuretanos contendo diferentes quantidades de óleo de baru. **Polímeros**, v. 26, n. 2, p. 176-184, 2016.
- ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; GONÇALVES, J.L.M.; SPAROVEK, G. Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- ALVES, K.C.S.; ALMEIDA, M.E.M.; GLORIA, J.C.; SANTOS, F.A.; PEREIRA, K.D.; CASTRO, D.P.; MARIÚBA, L.A.M. *Bacillus subtilis*: uma versátil ferramenta biotecnológica. **Scientia Amazonia**, v. 7, n. 2, p. 15-23, 2018.
- ANDERSON, J.P.E.; DOMSCH, K.H. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 21, p. 471-479, 1989.
- ARAÚJO, G.M.; HARIDASAN, M. A comparison of the nutritional status of two forest communities on mesotrophic and dystrophic soils in Central Brazil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 19, n. 7-12, p. 1075-4089, 1988.
- ARAÚJO, F.F.; HENNING, A.A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, n. 8, p. 1639-1645, 2005.
- ASMELASH, F.; BEKELE, T.; BELAY, Z. Comparative field survival and growth of selected Ethiopian native tree species and the effect of whole soil arbuscular mycorrhizal fungi inoculation. **Horticulture and Forestry**, v. 11, n. 2, p. 19-31, 2019.
- BAGO, B.; PFEFFER, P.E.; SHACHAR-HILL, Y. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. **Plant Physiology**, v. 124, n. 3, p. 949-958, 2000.

BAHUGUNA, R.N.; JAGADISH, K.S.V. Temperatura regulation of plant phenological development. **Environmental and Experimental Botany**, v. 111, n. 1, p. 83-90, 2015.

BARBER, S.A. **Soil Nutrient Bioavailability: A Mechanistic Approach**. New York: Wiley. 1995, 414 p.

BENEDETTI, T.; ANTONIOLLI, Z.I.; GIRACCA, E.M.N.; STEFFEN, R.B. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares na cultura do milho após uso de espécies de plantas de cobertura de solo. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 4, n. 1, p. 44-51, 2005.

BERTI, C.L.F.; KAMADA, T.; SILVA, M.P.; MENEZES, J.F.S.; OLIVEIRA, A.C.S. Crescimento de mudas de baru em substratos enriquecido com nitrogênio, fósforo e potássio. **Cultura Agrônômica**, v. 26, n. 2, p. 191-202, 2017.

BEZERRA, F.B.; OLIVEIRA, M.A.C.; PEREZ, D.V.; ANDRADE, A.G.; MENEGUELLI, N.A. Lodo de esgoto em revegetação de área degradada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 3, p. 469-476, 2006.

BIN, L.; GUAN-LIN, X.; SOAD, A.; COOSEMANS, J. Suppression of *Meloidogyne javanica* by antagonistic and plant growth-promoting rhizobacteria. **Journal of Zhejiang University SCIENCE B**, v. 6, n. 6, p. 496-501, 2005.

BONI, T.S.; MALTONI, K.L.; BUZETTI, S.; CASSIOLATO, A.M.R. Avaliação comparativa do estado nutricional de mudas de baru (*Dipteryx alata*). **Ciência Florestal**, v. 26, n. 1, p. 109-121, 2016.

BONINI, C.S.B.; ALVES, M.C.; MONTANARI, R. Recuperação da estrutura de um Latossolo vermelho degradado utilizando lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 1, p. 34-42, 2015.

BOTEZELLI, L.; DAVIDE, A.C.; MALAVASI, M.M. Características dos frutos e sementes de quatro procedências de baru, *Dipteryx alata* Vogel (baru), **CERNE**, v. 6, n. 1, p. 9-18, 2000.

BRAGA JÚNIOR, G.M.; CHAGAS JÚNIOR, A.F.; CHAGAS, L.F.B.; CARVALHO FILHO, M.R.; MILLER, L.O.; SANTOS, G.R. Controle biológico de fitopatógenos por *Bacillus subtilis* *in vitro*. **Biota Amazônia**, v. 7, n. 3, p. 45-51, 2017.

BRAKO, L.; ZARUCCHI, J.L. Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Peru. **Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden**, v. 45, n. 4, p. 1-1286, 1993.

BRODRIBB, T.J.; HOLBROOK, N.M. Water stress deforms tracheids periphera to the leaf vein of a tropical conifer. **Plant Physiology**, v. 137, n. 3, p. 1139-1146, 2005.

CALDEIRA, M.V.W.; PERONI, L.; GOMES, D.R.; DELARMELINA, W.M.; TRAZZI, P.A. Diferentes proporções de biossólido na composição de substratos para produção de muda de timbó (*Ateleia glazoviana* Baill). **Scientia Forestalis**, v. 40, n. 93, p. 15-22, 2012.

CALDEIRA JÚNIOR, C.F.C.; SOUZA, R.A.; SANTOS, A.M.; SAMPAIO, R.A.; MARTINS, E.R. Características químicas do solo e crescimento de *Astronium*

fraxinifolium Schott em área degradada adubada com lodo de esgoto e silicate de cálcio. **Revista Ceres**, v. 56, n. 2, p. 213-218, 2009.

CAPUANI, S.; RIGON, J.P.G.; BELTRÃO, N.E.M.; BRITO NETO, J.F. Atividade microbiana em solos, influenciada por resíduos de algodão e torta de mamona. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 12, p. 1269-1274, 2012.

CAMPELO, D.H.; LACERDA, C.F.; SOUSA, J.A.; BEZERRA, A.M.E.; ARAÚJO, J.D.M.; NEVES, A.L.R.; SOUSA, C.H.C. Características morfofisiológicas foliares e estado nutricional de seis espécies lenhosas em função da disponibilidade de água no solo. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 3, p. 924-936, 2018.

CAMPELO, D.H.; LACERDA, C.F.; SOUSA, J.A.; CORREIA, D.; BEZERRA, A.M.E.; ARAUJO, J.D.M.; NEVES, A.L.R. Trocas gasosas e eficiência do fotossistema II em plantas adultas de seis espécies florestais em função do suprimento de água no solo. **Revista Árvore**, v. 39, n. 5, p. 973-983, 2015.

CARDOSO, E.L.; SILVA, M.L.N.; MOREIRA, F.M.S.; CURI, N. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em pastagem cultivada e nativa no Pantanal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 6, p. 631-637, 2009.

CARRANZA, T.; BALMFORD, A.; KAPOV, V.; MANICA, A. Protected area effectiveness in reducing conversion in a rapidly vanishing ecosystem: the Brazilian Cerrado. **Conservation Letters**, v. 7, n. 3, p. 216-223, 2014.

CARRENHO, R.; TRUFEM, S.F.B.; BONONI, V.L.R. Fungos micorrízicos arbusculares em rizosfera de três espécies de fitobiontes instaladas em áreas de mata ciliar revegetada. **Acta Botanica Brasilica**, v. 15, n. 1, p. 115-124, 2001.

CARSTENSEN, A.; HERDEAN, A.; SCHMIDT, S.B.; SHARMA, A.; SPETEA, C.; PRIBIL, M.; HUSTED, S. The impacts of Phosphorus Deficiency on the Photosynthetic Electron Transport Chain. **Plant Physiology**, v. 177, p. 271-284, 2018.

CASTILLO-GONZÁLEZ, J.; OJEDA-BARRIOS, D.; HERNÁNDEZ-RODRIGUEZ, A.; GONZÁLEZ-FRANCO, A.C.; ROBLES-HERNÁNDEZ, L.; LÓPEZ-OCHOA, G.R. Zinc metalloenzymes in plants. **Interciencia**, v. 43, n. 4, p. 242-249, 2018.

CHAPARRO, J.M.; BADRI, D.V.; BAKKER, M.G.; SUGIYAMA, A.; MANTER, D.K.; VIVANCO, J.M. Root exudation of phytochemicals in *Arabidopsis* follows specific patterns that are developmentally programmed and correlated with soil microbial functions. **Plos One**, v. 8, p. 55731-55735, 2013.

COLOZZI FILHO, A.; BALOTA, E.L. Micorrizas arbusculares. In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R. (Ed.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa, 1994. p. 383-418.

CONCEIÇÃO, G.M.; RUGGIERI, A.C.; ARAUJO, M.F.V.; CONCEIÇÃO, T.T.M.M.; CONCEIÇÃO, M.A.M.M. Plantas do cerrado: comercialização, uso e indicação terapêutica fornecida pelos raizeiros e vendedores, Teresina, Piauí. **Scientia Plena**, v. 7, n. 12, p. 1-6, 2011.

CRAFTS-BRANDNER, S.J.; SALVUCCI, M.E. Sensitivity of Photosynthesis in a C4 Plant, Maize, to Heat Stress. **Plant Physiology**, v.129, p. 1773-1780, 2002.

CRUZ, C.A.F.; CUNHA, A.C.M.C.M.; PAIVA, H.N.; NEVES, J.C.L. Efeito de macronutrientes sobre o crescimento e qualidade de mudas de canafístula cultivadas em Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico. **Revista Árvore**, v. 35, n. 5, p. 983-995, 2011.

CRUZ, C.V. **Produção e eficiência agrônômica de composto orgânico bioestabilizado enriquecido com fósforo a partir de lodo de esgoto**. 111 f. Tese de Doutorado em Agronomia (Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2019.

CUI, L.; GUO, F.; ZHANG, J.L.; YANG, S.; MENG, J.J.; GENG, Y.; WANG, Q.; LI, X.G.; WAN, S.B. Arbuscular mycorrhizal fungi combined with exogenous calcium improves the growth of peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings under continuous cropping. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 18, n. 2, p. 407-416, 2019.

DICKSON, A.; LEAF, A.L.; HOSNER, J.F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **Forest Chronicle**, v. 36, n. 1, p. 10-13, 1960.

DUBOC, E.; GUERRINI, I.A. Crescimento inicial e sobrevivência de espécies florestais de matas de galeria no domínio do cerrado em resposta a fertilização. **Energia na Agricultura**, v. 22, n. 1, p. 42–60, 2007.

FELFILI, J.M.; NOGUEIRA, P.E.; SILVA-JÚNIOR, M.C. Composição florística e fitossociologia do Cerrado sentido restrito no município de Água Boa-MT. **Acta Botanica Brasilica**, v. 16, n. 1, p. 103-112, 2002.

FERNANDES, M.S.; SOUZA, S.R.; SANTOS, L.A. **Nutrição mineral de plantas**. 2 ed., Viçosa, 2018. 670 p.

FERREIRA, D.F. Sisvar: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

FILGUEIRAS, T.S.; SILVA, E. Estudo preliminar do Baru (Leg. Faboideae). **Brasil Florestal**, v. 6, n. 22, p. 33-39, 1975.

FONSECA, É.P.; VALÉRI, S.V.; MIGLIORANZA, É.; FONSECA, N.A.N.; COUTO, L. Padrão de qualidade de mudas de *Trema micrantha* (L.) Blume, produzidas sob diferentes períodos de sombreamento. **Revista Árvore**, v. 26, n. 4, p.515-523, 2002.

FRAGUAS, R.M.; SIMÃO, A.S.; LEAL, R.S.; SANTOS, C.M.; ROCHA, D.A.; TAVARES, T.S.; MARQUES, T.R.; DUARTE, M.H.; MARCUSSI, S.; ABREU, C.M.P. Chemical composition of processed baru (*Dipteryx alata* Vog.) almonds: Lyophilization and roasting. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 13, p. 1061-1069, 2014.

FREITAS, E.C.S.; PAIVA, H.N.; LEITE, H.G.; NETO, S.N.O. Crescimento de mudas de *Dipteryx alata* sob adubação fosfatada e calagem. **Ambiência**, v. 14, n. 2, p. 267-281, 2018.

GAI, J.; GAO, W.; LIU, L.; CHEN, Q.; FENG, G.; ZHANG, J.; CHRISTIE, P.; LI, X. Infectivity and community composition of arbuscular mycorrhizal fungi from different soil depths in intensively managed agricultural ecosystems. **Journal of Soils and Sediments**, v.15, n. 5, p. 1200-1211, 2015.

- GAMA-RODRIGUES, E.F.; BARROS, N.F.; GAMA-RODRIGUES, A.C.; SANTOS, G.A.S. Nitrogênio, carbono e atividade da biomassa microbiana do solo em plantações de eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, n. 3, p. 893-901, 2005.
- GEHRING, C.A.; STHULTZ, C.M.; FLORES-RENTERIA, L.; WHIPPLE, A.V.; WHITHAM, T.G. Tree genetics defines fungal partner communities the may confer drought tolerance. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 42, p. 11169-11174, 2017.
- GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of micorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transaction of British Mycology Society**, v. 46, n. 2, p. 235-244, 1963.
- GOMES, J.M.; PAIVA, H.N. **Viveiros Florestais: propagação sexuada**. Viçosa: UFV, 2011. 116 p.
- GOMES, J.B.V.; CURI, N.; MOTTA, P.E.F.; KER, J.C.; MARQUES, J.J.G.S.M.; SCHULZE, D.G. Análise de componentes principais de atributos físicos, químicos e mineralógicos de solos do bioma cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 1, p. 137-153, 2004.
- GUADARRAMA, P.; CASTILLO, S.; RAMOS-ZAPATA, J.A.; HERNÁNDEZ-CUEVAS, L.V.; CAMARGO-RICALDE, S.L. Arbuscular mycorrhizal fungal communities in changing environments: The effects of seasonality and anthropogenic disturbance in a seasonal dry forest. **Journal of Soil Ecology**, v. 57, n. 2, p. 87-95, 2014.
- GRÜNIG, C.R.; QUELOZ, V.; SIEBER, T. N Structure of diversity in dark septate endophytes: from species to genes. In: PIRTTILÄ, A.M.; FRANK, C. (Ed.) **Endophytes of forest trees: biology and applications**. Berlin: Springer, 2011. p. 3-30. (Springer Forestry Series, 80).
- HAASE, R.; HIROOKA, R.Y. Structure, composition and small litter dynamics of a semi-deciduous forest in Mato Grosso, Brazil. **Flora**, v. 193, n. 2, p. 141-147, 1998.
- HARIDASSAN, M. Nutritional adaptations of native plants of the cerrado biome in acid soils. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 20, n. 3, p. 183-195, 2008.
- HARSHEM, A.; TABASSUM, B.; ABDALLAH, E.F. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 6, p. 1291-1297, 2019.
- HASHEM, A.; ABD_ALLAH, E.F.; ALQARAWI, A.A.; AL-HUQAIL, A.A.; WIRTH, S.; EGAMBERDIEVA, D. The interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and endophytic bacteria enhances plant growth of *Acacia gerrardii* under salt stress. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1089, 2016.
- HINSINGER, P.; BETENCOURT, E.; BERNARD, L.; BRAUMAN, A.; PLASSARD, C.; SHEN, J.; TANG, X.; ZHANG, F. P for two, sharing a scarce resource: Soil Phosphorus Acquisition in the Rhizosphere of Intercropped Species. **Plant Physiology**, v. 156, n. 3, p. 1078-1086, 2011.

HONÓRIO, A.B.M.; LOPES, M.B.S.; SIEBENEICHLER, S.C.; SOUZA, C.M.; LEAL, T.C.A.B. Análise de crescimento e parâmetros fisiológicos em mudas de *Dipteryx alata* Vogel. **Pesquisa Aplicada e Agrotecnologia**, v. 12, n. 1, p. 41-52, 2019.

ISLAM, K.R.; WEIL, R.R. Land use effects on soil quality in a tropical forest ecosystem of Bangladesh. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 79, n. 1, p. 9-16, 2000.

JARDIM, A.; KILLEEN, T.J.; FUENTES, A. **Guía de los árboles y arbustos del bosque seco chiquitano**, Santa Cruz, Bolívia: FAN, 2003. 324 p.

JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v. 48, n. 9, p. 692, 1964.

JORGE, L.A.B.; MOREIRA, M.P. Padrões da fragmentação do habitat na Cuesta de Botucatu (SP). **Ciência Florestal**, v. 10, n. 1, p. 141-157, 2000.

JUMPPONEN, A. Dark septate endophytes: Are They mycorrhizal? **Mycorrhiza**, v. 11, n. 4, p. 207-211, 2001.

JUMPPONEN, A.; TRAPPE, J.M. Dark-septate root endophytes: A review with special reference to facultative biotrophic symbiosis. **New Phytologist**, v. 140, n. 2, p. 295-310, 1998.

KABIR, Z.; O'HALLORAN, I.P.; HAMEL, C. The proliferation of fungal hyphae in soils supporting mycorrhizal and non-mycorrhizal plants. **Mycorrhiza**, v. 6, n. 6, p. 477-480, 1996.

KACPRZAK, M.; NECZAJ, E.; FIJALKOWSKI, K.; GROBELAK, A.; GROSSER, A., WORWAG, M.; RORAT, A.; BRATTEBO, H.; ALMAS, A.; SINGH, B.R. Sewage sludge disposal strategies for sustainable development. **Environmental Research**, v. 156, p. 39-46, 2017.

KIEHL, E.J. **Manual de compostagem: maturação e qualidade do composto**. 4ª ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2004. 173 p.

KILPELAINEN, J.; APHALO, P.J.; LEHTO, T. Temperature affected the formation of arbuscular mycorrhizas and ectomycorrhizas in *Populus angustifolia* seedlings more than a mild drought. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 146, article ID 107798, 2020.

KLINK, C.A.; MACHADO, R.B. Conservation of the Brazilian Cerrado. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 707-713, 2005.

LACERDA, K.A.P.; SILVA, M.M.S.; CARNEIRO, M.A.C.; REIS, E.F.; SAGGIN-JUNIOR, O.J. Fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada no crescimento inicial de seis espécies arbóreas do cerrado. **Cerne**, v. 17, n. 3, p. 377-386, 2011.

LAMASTRA, L.; SUCIU, N.A.; TREVISAN, M. Sewage sludge for sustainable agriculture: contaminants' contents and potencial use as fertilizer. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 5, n. 10, p. 1-6, 2018.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA, 2006. 531 p.

LEITE, E.J. State-of-knowledge on *Astronium fraxinifolium* Schott (Anacardiaceae) for genetic conservation in Brazil. Perspect. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 5, n. 1, p. 63-77, 2002.

LIU, X.M.; XU, Q.L.; LI, Q.Q.; ZHANG, H.; XIAO, J.X. Physiological responses of the two blueberry cultivars to inoculation with an arbuscular mycorrhizal fungus under low-temperature stress. **Journal of Plant Nutrition**, v. 40, n. 18, p. 2562-2570, 2017.

LOBO, T.F.; GRASSI FILHO, H.; BÜLL, L.T.; QUEIROZ MOREIRA, L.L. Manejo do lodo de esgoto e nitrogênio mineral na fertilidade do solo ao longo do tempo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 2705, 2013.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 5 ed., 2016. v. 1. 384 p.

LUGO, M.A.; MENOVO, E.; ALLIONE, L.R.; NEGRITTO, M.A.; HENNING, J.A. ANTON, A.M. Arbuscular mycorrhizas and dark septate endophytes associated with grasses from the Argentine Puna. **Mycologia**, v. 110, n. 4, p. 654-665, 2018.

MACEDO, M.; FERREIRA, A.R. Plantas medicinais usadas para tratamentos dermatológicos, em comunidades da Bacia do Alto Paraguai, Mato Grosso. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 1, p. 40-44, 2004.

MAFIA, R.G.; ALFENAS, A.C.; FERREIRA, E.M.; TEIXEIRA, D.A.; ZAUZA, E.A.V. Indução do enraizamento e crescimento do eucalipto por rizobactéria: efeito da adição de fonte alimentar e da composição do substrato de enraizamento. **Revista Árvore**, v. 31, n. 4, p. 589-597, 2007.

MAIA, J.G.S.; DA SILVA, M.H.L.; ANDRADE, E.H.A.; ZOGHBI, M.G.B.; CARREIRA, L.M.M. Essential oils from *Astronium urundeuva* (Allemão) Engl. and *A. fraxinifolium* Schott ex Spreng. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 17, n. 1, p. 72-74, 2002.

MALTONI, K.L.; VALÉRIO FILHO, W.V. Contribuições da revegetação para as características químicas do subsolo. In: SIMPÓSIO DE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, 4., Blumenau, 2000. **Anais...** Silvicultura Ambiental. Blumenau: FUBRA/SOBRAGE, 2000.

MANDYAM, K.; JUMPPONEN, A. Seeking the elusive function of the root colonizing dark septate endophytic fungi. **Study of Mycology**, v. 53, n. C, p. 173-189, 2005.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. **Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos**, Brasília: MAPA, 2017. 240p.

MÁRQUEZ, R.; BLANCO, E.L.; ARANGUREN, Y. *Bacillus* strain selection with plant growth-promoting mechanisms as potential elicitors of systemic resistance to gray mold in pepper plants. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 8, p. 1913-1922, 2020.

MARTINOTTO, F.; MARTINOTTO, C.; COELHO, M.F.B.; AZEVEDO, R.A.B.; ALBUQUERQUE, M.C.F. Sobrevivência e crescimento inicial de espécies arbóreas nativas do Cerrado em consórcio com mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 1, p. 22-29, 2012.

MATHUR, S.; TOMAR, R.S.; JAJOO, A. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) protects photosynthetic apparatus of wheat under drought stress. **Photosynthesis Research**, v. 139, n. 1-3, p. 227-238, 2019.

MAZURANA, M.; FINK, J.R.; CAMARGO, E.; SCHMITT, C.; ANDREAZZA, R.; CAMARGO, F.A.O. Estoque de carbono e atividade microbiana em sistema de plantio direto consolidado no sul do Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 288-296, 2013.

MELHEM, T.S. A Entrada de água na semente de *Dipteryx alata* Vog. (Leguminosae-Lotoideae). **Hoehnea**, v. 4, n. 1, p. 33-48, 1974.

MELO, N.C.; RIBEIRO, F.; COSTA, H.M.S.; SOUZA, F.J.L.; SALES, E.C.G.; MELO, N.F.B.; LIMA, M.C. Conservação do solo: um estudo de caso sobre o processo de ensino e aprendizagem no campus agrícola do Instituto Federal do Amapá. **Research, Society and Development**, v.10, n.6, p.22810615723, 2021.

MENDONÇA, P.R.F.; TRINDADE, J.S.; GOMES, M.B. Influência de diferentes adubos orgânicos em solo cultivado com *Brachiaria brizantha*. **Revista Eletrônica Interdisciplinar**, v. 11, n. 1, p. 39-50, 2019.

MERCANTE, F.M.; FABRICIO, A.C.; MACHADO, L.A.Z.; SILVA, W.M. **Parâmetros microbiológicos como indicadores de qualidade do solo sob sistemas integrados de produção agropecuária**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 27 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 20).

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **O bioma cerrado**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado.html>>. Acesso em: 27 mar. 2019.

MIRANDA, J.C.C. **Cerrado, micorriza arbuscular, ocorrência e manejo**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008. 169 p.

MIZOBATA, K.K.G.S; CASSIOLATO, A.M.R.; MALTONI, K.L. Crescimento de mudas de Baru e Gonçalves Alves em solo degradado, suplementado com resíduo, em Ilha Solteira-SP. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 2, p. 429-444, 2017.

MOHAN, J.E.; COWDEN, C.C.; BAAS, P.; DAWADI, A.; FRANKSON, P.T.; HELMICK, K.; HUGHES, E.; KHAN, S.; LANG, A.; MACHMULLER, M. Mycorrhizal fungi mediation of terrestrial ecosystem responses to global change: mini-review. **Fungal Ecology**, v. 10, n. 1, p. 3-19, 2014.

MONTANARI, R.M.; BARBOSA, L.C.A.; DEMUNER, A.J.; SILVA, C.J.; ANDRADE, N.J.; ISMAIL, F.M.D.; BARBOSA, M.C.A. Exposure to Anacardiaceae volatile oils and their constituents induces lipid peroxidation within food-borne bacteria cells. **Molecules**, v. 17, n. 8, p. 9728-9740, 2012.

MOREIRA, F.M.D.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Lavras: Editora UFLA, 2006.

MUTHUKUMAR, T.; PRABHA, K. Arbuscular mycorrhizal and septate endophyte fungal associations in lycophytes and ferns of South India. **Symbiosis**, v. 59, n. 1, p. 15-33, 2013.

- NANJUNDAPPA, A.; BAGYARAJ, D.J.; SEXENA, A.K.; KUMAR, M.; CHAKDAR, H. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and *Bacillus* spp. in soil enhancing growth of crop plants. **Fungal Biology and Biotechnology**, v. 6, n. 23, 2019.
- NEWSHAM, K.K. A meta-analysis of plant responses to dark septate root endophytes. **New Phytologist**, v. 190, n. 3, p. 783-793, 2011.
- NUNES, L.A.P.L.; ARAÚJO FILHO, J.A.; HOLANDA JÚNIOR, E.V.; MENEZES, R.I.Q. Impacto da queimada e de enleiramento de resíduos orgânicos em atributos biológicos de solo sob caatinga no semiárido nordestino. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 1, p. 131-140, 2009.
- OLIVEIRA, A.N.; SILVA, A.C.; ROSADO, S.C.S.; RODRIGUES, E.A.C. Variação genéticas para caracterização do sistema radicular de mudas de baru (*Dipteryx alata* Vog.). **Revista Árvore**, v. 30, n. 6, p. 905-909, 2006.
- OLIVEIRA, L.C.; COSTA, E.; SOBRINHO, M.F.O.; BINOTTI, F.F.S.; MARUYAMA, I.; ALVES, A.C. Esterco bovino e fibra de coco na formação de mudas de baruzeiro. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 1, n. 2, p. 42-51, 2014.
- OLIVEIRA, A.; ALMEIDA, A.; CARVALHO, C.M.B.; TOMÉ, J.P.C.; FAUSTINO, M.A.F.; NEVES, M.G.P.M.S.; TOMÉ, A.C.; CAVALEIRO, J.A.S.; CUNHA, A. Porphyrin derivatives as photosensitizers for the inactivation of *Bacillus cereus* endospores. **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, n. 6, p. 1986-1995, 2009.
- PANTANO, G.; GROSSELI, G.M.; MOZETO, A.A.; FADINI, P.S. Sustentabilidade no uso do fósforo: Uma questão de segurança hídrica e alimentar. **Química Nova**, v. 39, n. 6, p.732-740, 2016.
- PEDROZA, M.M.; VIEIRA, G.E.G.; SOUSA, J.F.; PICKLER, A.C.; LEAL, E.R.; MILHOMEN, C C. Produção e tratamento de lodo de esgoto – uma revisão. **Revista Liberato**, v. 11, n. 16, p. 89-188, 2010.
- PEPPER, I.L.; BROOKS, J.P.; GERBA, C.P. Pathogens in biosolids. **Advances in Agronomy**, Amsterdam, v. 90, p.1-41, 2006.
- PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots for rapid assessment of infection. **Transaction of British Mycology Society**, v. 55, n. 1, p. 158-161, 1970.
- PINHO, E.K.C.; LOPES, A.N.K.; COSTA, A.C.; SILVA, A.B.V.; VILAR, F.C.M.; REIS, R.G.E. Substratos e tamanhos de recipiente na produção de mudas de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.). **Ciência Agrícola**, v. 16, n. 1, p. 11-19, 2018.
- POIRIER, Y.; BUCHER, M. Phosphate transport and homeostasis in *Arabidopsis*. **The Arabidopsis Book**, v. 1, e0024, 2002.
- QU, Q.; XU, H.; XUE, S.; LIU, G. Stratification ratio of rhizosphere soil microbial index as an indicator of soil microbial activity over conversion of cropland to forest. **Catena**, v. 195, p. 104476, 2020.
- RADA, N. Assessing Brazil's Cerrado agricultural miracle. **Food Policy**, v. 38, n. 1 C, p. 146-155, 2013.

RAGHOTHAMA, K.G.; KARTHIKEYAN, A.S. Phosphate acquisition. **Plant and Soil**, v. 274, n. 37, p. 37-49, 2005.

RAHEEM, A.; SIKARWAR, V.S.; HE, J.; DASTYAR, W.; DIONYSIOU, D.D.; WANG, W.; ZHAO, M. Opportunities and challenges in sustainable treatment and resource reuse of sewage sludge: A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 337, p. 616-641, 2018.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. (Ed.), **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2001. 285p.

RASHID, M.I.; MUJAWAR, L.H.; SHAHZAD, T.; ALMEELBI, T.; ISMAIL, I.M.I.; OVES, M. Bacteria and fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils. **Microbiological Research**, v. 183, p. 26-41, 2016.

RATTER, J.A.; ASKEW, G.P.; MONTGOMERY, R.F.; GIFFORD, D.R. Observations on forests of some mesotrophic soils in Central Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 1, n. 1, p. 47-58, 1978.

REZENDE, C.G.B.; BONFIM-SILVA, E.M.; SILVA, T.J.A.; CABRAL, C.E.A.; SCHLICHTING, A.F. Fosfato natural reativo na adubação do capim piatã em Latossolo Vermelho do Cerrado. **Revista Agrarian**, v. 9, n. 31, p. 55-62, 2016.

ROCHA, L.S.; SANTIAGO, R.A.C. Implicações nutricionais e sensoriais da polpa e casca de baru (*Dipteryx Alata* vog.) na elaboração de pães. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 4, p. 820-825, 2009.

RODRIGUES, B.M.; ARCOVERDE, G.B.; ANTONIO, A.C.D.; SANTOS, M.G. Relações hídricas em pinhão-mansão de acordo com a sazonalidade climática, em condições semiáridas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 9, p. 1112-1115, 2011.

ROSA, P.A.L.; ALVES, M.C.; VIDEIRA, L.M.L.; BONINI, C.B.S. Recuperação de um solo de cerrado após 19 anos: Ocorrência espontânea de espécies arbóreas. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 1, n. 1, p. 44-57, 2014.

ROUT, G.R.; SAHOO, S. Role of iron in plant growth and metabolism. **Reviews in Agricultural Science**, v. 3, n. 1, p. 1-24, 2015.

SABOYA, R.C.C.; CHAGAS JUNIOR, A.F.; MONTEIRO, F.P.R.; SANTOS, G.R.; ERASMO, E.A.L.; CHAGAS, L.F.B. Fungos micorrízicos arbusculares afetando a produção de mudas de pinhão-mansão na região sul do Estado de Tocantins, Brasil. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 1, p.142-146, 2012.

SALOMÃO, A.N.; SILVA, J.A. **Reserva genética florestal Tamanduá**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 137 p.

SANTOS, D.R.; GATIBONI, L.C.; KAMINSKI, J. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solo sob sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 576-586, 2008.

SANTOS, H.G. dos; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C. dos; OLIVEIRA, V.A. de; LUMBRERAS, J.F.; COELHO, ALMEIDA, J.A., ARAÚJO FILHO, J.C., OLIVEIRA,

J.B., CUNHA, T.J.F. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5.ed., Brasília, EMBRAPA, 2018. 590 p.

SANTOS, A.A.; AGUSTINI, J.A.; MALTONI, K.L.; CASSIOLATO, A.M.R. Addition of residues and reintroduction of microorganisms in *Jatropha curcas* cultivated in degraded soil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n. 4, p. 372-377, 2016.

SANO, E.E.; RODRIGUES, A.A.; MARTINS, E.S.; BETTIOL, G.M.; BUSTAMANTE, M.M.C.; BEZERRA, A.S.; COUTO JUNIOR, A.F.; VASCONCELOS, V.; SCHULER, J.; BOLFE, E.L. Cerrado ecoregions: A spatial framework to assess and prioritize Brazilian savanna environmental diversity for conservation. **Journal of Environmental Management**, v. 232, p. 818-828, 2019.

SANTIN, D.A. **Revisão taxonômica do gênero *Astronium* Jacq. e revalidação do gênero *Myracrodruon* Fr. Allen (Anacardiaceae)**. 178 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1989.

SAURICH, A.; TIEMEYER, B.; DON, A.; FIEDLER, S.; BECHTOLD, M.; AMELUNG, W.; FREIBAUER, A. Drained organic soils under agriculture – The more degraded the soil the higher the specific basal respiration. **Geoderma**, v. 355, p. 113911, 2019.

SCERVINO, J.M.; GOTTLIEB, A.; SILVANI, V.A.; PÉRGOLA, M.; FERNÁNDEZ, L.; GODEAS, A.M. Exudates of dark septate endophyte (DSE) modulate the development of the arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) *Gigaspora rosea*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, n. 8, p. 1753-1756, 2009.

SEERANGAN, K.; THANGAVELU, M. Arbuscular mycorrhizal and dark septate endophyte fungal associations in South Indian aquatic and wetland macrophytes. **Journal of Botany**, v. 2014, article ID 173125, 2014.

SILVA, G.A.; SOUTO, J.S.; ARAUJO, J.L. Atividade microbiana em luvisolo do semi-árido da Paraíba após a incorporação de resíduos vegetais. **Areia, Agropecuária Técnica**, v. 27, n. 1, p. 13-20, 2006.

SILVA, E.A.; CASSIOLATO, A.M.R.; MALTONI, K.L.; SCABORA, M.H. Efeitos da rochagem e de resíduos orgânicos sobre aspectos químicos e microbiológicos de um subsolo exposto e sobre o crescimento de *Astronium fraxinifolium* Schott. **Revista Árvore**, v. 32, n. 2, p. 323-333, 2008.

SILVA, M.O.; SANTOS, M.P.; SOUSA, A.C.P.; SILVA, R.L.V.; MOURA, I.A.A.; SILVA, R.S.; COSTA, K.D.S. Qualidade do solo: indicadores biológicos para um manejo sustentável; **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 6853-6875, 2021.

SILVEIRA, A.P.D.; FREITAS, S.S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2007. 312 p.

SILVÉRIO, M.D.O.; CASTRO, C.F.S.; MIRANDA, A.R. Avaliação da atividade antioxidante e inibitória da tirosinase das folhas de *Dipteryx alata* Vogel (Baru). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 15, n. 1, p. 59-60, 2013.

SINGH, B.K.; MUNRO, S.; POTTS, J.M.; MILLARD, P. Influence of grass species and soil type on rhizosphere microbial community structure in grassland soils.

Applied Soil Ecology, v. 36, n. 2-3, p. 147-155, 2007.

SIQUEIRA, D.P.; BARROSO, D.G.; CARVALHO, G.C.M.W.; ERTHAL, R.M.; RODRIGUES, M.C.C.; MARCIANO, C.R. Lodo de esgoto tratado na composição de substrato para produção de mudas de *Plathymenia reticulata* Benth. **Ciência Florestal**, v. 29, n. 2, p. 728-739, 2019.

SISVASAKTHI, G.; USHARANI, G.; SARANRAJ, S.A. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) – *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 16, p. 1265-1277, 2014.

SMITH, S.E.; READ, D. **Mychorrhizal Symbiosis**. 3 ed. London: Academy Press, 2008.

SOUSA, F.F.; VENTURIN, N.; CARLOS, L.; MACEDO, R.L.G.; LIMA, F.S.; SANTOS, S.C. Efeito de doses de nitrogênio e potássio sobre o crescimento de mudas de baru em casa de vegetação. In: CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS, 12., 2015, Poços de Caldas. **Anais...**, v. 7, n. 1, Poços de Caldas: Instituto Federal do Sul de Minas, 2015. p. 1-8.

SOUZA, F.B.C.; MENGARDA, L.H.G.; SPADETO, C.; LOPES, J.C. Substratos e temperaturas na germinação de sementes de Gonçalves Alves (*Astronium concinnum* Schott). **Revista Tropica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 6, n. 3, p. 76-86, 2012.

STEVENSON, F.J.; COLE, M.A. **Cycles of Soil: Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients**, 2 ed. New York: Wiley, 1999. 427 p.

SUGAI, M.A.A.; COLLIER, L.S.; SAGGIN-JÚNIOR, J.O. Inoculação micorrízica no crescimento de mudas de angico em solo no cerrado. **Bragantia**, v. 70, n. 2, p. 415-423, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MÜLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.

TAKTEK, S.; TRÉPANIER, M.; SERVIN, P.M.; ST-ARNAUD, M.; PICHÉ, Y.; ANDRÉ-FORTIN, J.; ANTOUN, H. Trapping of phosphate solubilizing bacteria on hyphae of the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 90, n. 1, p. 1-9, 2015.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade do solo In: ALVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R.; BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M. (Ed.) **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. p. 195-276.

TU, J.L.; LIU, X.M.; XIAO, J.X. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on osmoregulation and antioxidant responses of blueberry plants. **Bangladesh Journal of Botany**, v. 48, n. 3, p. 641-647. 2019.

TYAGI, V.K.; LO, S.L. Sludge: A waste or renewable source for energy and resources recovery? **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 25, n. C, p. 708-728, 2013.

VANCE, C.P.; EHDE-STONE, C.; ALLAN, D.L. Phosphorus acquisition and use: Critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. **New Phytologist**, v. 157, n. 3, p. 423-447, 2003.

VENTUROLI, F.; VENTUROLI, S.; BORGES, J.D.; CASTRO, D.S.; SOUSA, D.M.; MONTEIRO, M.M.; CALIL, F.N. Incremento de espécies arbóreas em plantio de recuperação de área degradada em solo de cerrado no distrito federal. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 1, p. 143-151, 2013.

VENZKE FILHO, S.P.; FEIGL, B. J.; PICCOLO, M. C.; SIQUEIRA NETO, M.; CERRI, C. C. Biomassa microbiana do solo em sistema de plantio direto na região de Campos Gerais – Tibagi, PR. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 2, p. 599-610, 2008.

VIDAL, L.H.I.; SOUZA, J.R.P.; FONSECA, E.P.; BORDIN, I. Qualidade de mudas de guaco produzidas por estaquia em casca de arroz carbonizada com vermicomposto. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n. 1, p. 26-30, 2006.

VIEIRA, G.D.; CASTILHOS, D.D.; CASTILHOS, R.M.V. Atributos microbianos do solo após a adição de lodo, anaeróbio da estação de tratamento de efluentes de parboilização do arroz. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 2, p. 543-550, 2011.

VIEIRA, R.F.; CAMILO, J.; CORADIN, L. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Centro-Oeste**. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2016. 1162 p. (Série Biodiversidade, 44)

VIEIRA, R.R.S.; PRESSEY, R.L.; LOYOLA, R. The Residual nature of protected areas in Brazil. **Biological Conservation**, v. 233, p. 152-161, 2019.

VIVAS, A.; MARULANDA, A.; RUIZ-LOZANO, J.M.; BAREA, J.M.; AZCON, R. Influence of a *Bacillus* sp. on physiological activities of two arbuscular mycorrhizal fungi and on plant responses to PEG-induced drought stress. **Mycorrhiza**, v. 13, n. 2, p. 49-56, 2003.

WADT, P.G.S. **Práticas de conservação do solo e recuperação de áreas degradada**. Rio Branco: Embrapa, 2003. 29 p.

WANG, Y.; HUANG, Y.; QIU, Q.; XIN, G.; YANG, Z.; SHI, S. Flooding greatly affects the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi communities in the roots of wetland plants. **PloS One**, v. 6, p. e24512, 2011.

WEI-HONG, X.; CHANG-LI, X.; SONG-SHENG, Q.; TIAN-QUAN, Y. Measurement of multiplication rate of *Bacillus* sp. NTT-61 growth and study on its thermodynamic properties. **Thermochimica Acta**, v. 195, p. 297-302, 1993.

YANG, X.J.; FINNEGAN, P.M. Regulation of phosphate starvation responses in higher plants. **Annals of Botany**, v. 105, n. 4, p. 513-526, 2010.

ZANDONADI, J.E.; PAYOLLA, B.L.; CAÍRES, M.J.B. Recuperação de áreas degradadas na construção da UHE Tucuruí, PA. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE GRANDES BARRAGENS, 27., 2007, Belém. **Anais...** Belém: Comitê Brasileiro de Barragens, 2007. p. 1-17.

ZHANG, F.; ZOU, Y.N.; WU, Q.S.; KUCA, K. Arbuscular mycorrhizas modulate root polyamine metabolism to enhance drought tolerance of trifoliate orange. **Environmental and Experimental Botany**, v. 171, p. 103926, 2020.

ZHANG, S.; HUANG, L.; YAN, A.; LIU, Y.; LIU, B.; YU, C.; ZHANG, A.; SCHIEFELBEIN, J.; GAN, Y. Multiple phytohormones promote root hair elongation by regulating similar set of genes in the root epidermis in Arabidopsis. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 22, p. 6363-6372, 2016 a.

ZHANG, N.; XIE, Y.D.; GUO, H.J.; ZHAO, L.S.; XIONG, H.C.; GU, J.Y.; LI, J.H.; KONG, F.Q.; SUI, L.; ZHAO, Z.W.; ZHAO, S.R.; LIU, L.X. Gibberellins regulate the stem elongation rate without affecting the mature plant height of a quick development mutant of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 107, p. 228–236, 2016 b.