

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**ATRIBUTOS FÍSICOS DE UM LATOSSOLO
VERMELHO DISTROFÉRRICO CULTIVADO COM
SOJA E MILHO TRATADOS COM ESTIMULANTE À
MICORRIZAÇÃO E FÓSFORO**

LEANDRO RAMÃO PAIM

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2016**

**ATRIBUTOS FÍSICOS DE UM LATOSSOLO VERMELHO
DISTROFÉRRICO CULTIVADO COM SOJA E MILHO
TRATADOS COM ESTIMULANTE À MICORRIZAÇÃO E
FÓSFORO**

LEANDRO RAMÃO PAIM
Engenheiro Agrônomo

Orientador: PROF. DR. ANTONIO CARLOS TADEU VITORINO

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

Dourados
Mato Grosso do Sul
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

P142a	<p>Paim, Leandro Ramão. Atributos físicos de um latossolo vermelho distroférico cultivado com soja e milho tratados com estimulante à micorrização e fósforo. / Leandro Ramão Paim. – Dourados, MS : UFGD, 2016. 124f.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Tadeu Vitorino. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Formononetina. 2. Fungo micorrízico arbuscular. 3. Adubação fosfatada. 4. <i>Glycine max</i>. 5. <i>Zea mays</i>. I. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD – 633.34</p>
-------	---

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.

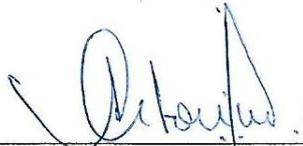
**ATRIBUTOS FÍSICOS DE UM LATOSSOLO VERMELHO DISTROFÉRRICO
CULTIVADO COM SOJA E MILHO TRATADOS COM ESTIMULANTE À
MICORRIZAÇÃO E FÓSFORO**

Por

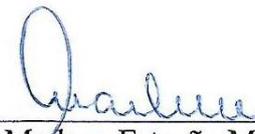
Leandro Ramão Paim

Tese apresentada como parte dos requisitos exigidos para o título de DOUTOR EM
AGRONOMIA

Aprovada em: 19/02/2016 .



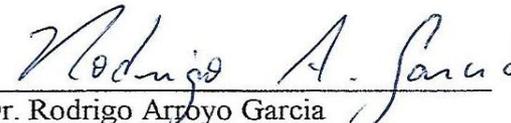
Prof. Dr. Antonio Carlos Tadeu Vitorino
Orientador – UFGD/FCA



Profa Dra Marlene Estevão Marchetti
UFGD/FCA



Prof. Dr. Luiz Carlos Ferreira de Sousa
UFGD/FCA



Dr. Rodrigo Arroyo Garcia
EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE



Prof. Dr. Eber Augusto Ferreira do Prado
UEMS/NUCET

DEDICATÓRIA

Dedico ao meu pai Adoilton Paim da Silva e minha mãe Iracy das Dores Ramão da Silva pelos ensinamentos, companheirismo e amizade sem os quais não estaria aqui neste momento. Dedico a minha companheira Suzanny Cunha da Mota e minhas irmãs Lidiane Ramão Paim e Leandra Ramão Paim pelo companheirismo e amizade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS, por ter me dado o dom da vida, a sabedoria e a força para realizar este trabalho.

Aos meus pais pelos ensinamentos e apoio necessário para alcançar esse objetivo.

Às minhas irmãs Lidiane Ramão Paim e Leandra Ramão Paim pelo apoio e amizade.

Ao Professor Antonio Carlos Tadeu Vitorino pela orientação, por seus ensinamentos pessoais e grande amizade.

Ao Professor José Oscar Novelino, por seus ensinamentos pessoais e grande amizade.

À professora Fatima Maria de Souza Moreira, pela colaboração, por seus ensinamentos e grande amizade.

À minha companheira Suzanny Cunha da Mota, pelo apoio, amizade e companheirismo.

À CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Pela concessão de bolsa de Doutorado.

Ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Pelo apoio financeiro no desenvolvimento da pesquisa, por meio do projeto “Biofertilizante formononetina (isoflavonoide) como estimulante de micorrização em soja e milho para aumento de produtividade associada à eficiência do uso de fertilizantes minerais”, aprovado no CNPq através do processo 559120/2009-5.

À UFGD – Universidade Federal da Grande Dourados – Pela oportunidade, apoio e disponibilidade de infraestrutura para a realização do Doutorado.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Leandro Ramão Paim, filho de Adoilton Paim da Silva e Iracy das Dores Ramão da Silva, nasceu em Dourados - MS, aos 15 dias do mês de maio de 1986. Em março de 2004 ingressou na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, no curso de Agronomia, diplomando-se em março de 2009, pela Universidade Federal da Grande Dourados. Em março de 2010, iniciou o curso de Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal, na Universidade Federal da Grande Dourados, diplomando-se em 2012. Em março de 2012, iniciou o curso de Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal, na Universidade Federal da Grande Dourados. Em março de 2013 foi nomeado para o cargo de Engenheiro Agrônomo no Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA).

SUMÁRIO

PÁGINA

1 RESUMO GERAL.....	xiii
2 GENERAL ABSTRACT.....	xv
3 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
4 REVISÃO DE LITERATURA.....	6
4.1 Micorrizas arbusculares.....	6
4.2 Formononetina.....	10
4.3 Proteína do solo relacionada à glomalina.....	14
4.4 Efeitos da formononetina e fungos micorrízicos arbusculares nos atributos físicos do solo.....	17
4.5 Efeitos do fósforo nos atributos físicos do solo.....	21
4.6 Objetivos.....	24
4.7 Objetivos específicos.....	24
4.8 Hipótese.....	25
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
1 ARTIGO 1: ATRIBUTOS FÍSICOS DE UM LATOSSOLO VERMELHO DISTROFÉRRICO CULTIVADO COM MILHO TRATADO COM ESTIMULANTE À MICORRIZAÇÃO E FÓSFORO.....	34
2 RESUMO.....	34
3 ABSTRACT.....	36
4 INTRODUÇÃO.....	38
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
7 CONCLUSÕES.....	70
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
1 ARTIGO 2: ATRIBUTOS FÍSICOS DE UM LATOSSOLO VERMELHO DISTROFÉRRICO CULTIVADO COM SOJA TRATADO COM ESTIMULANTE À MICORRIZAÇÃO E FÓSFORO.....	77
2 RESUMO.....	77

3 ABSTRACT.....	79
4 INTRODUÇÃO.....	81
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	85
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	91
8 CONCLUSÕES.....	117
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	118
1 CONCLUSÕES GERAIS.....	124

LISTA DE QUADROS

PÁGINA

QUADRO 1. Caracterização química do solo.....	41
QUADRO 2. Caracterização física do solo.....	41
QUADRO 3. Resumo da análise de variância dos valores de taxa de colonização micorrízica nas raízes de milho nos estádios Vt (T1), R2 (T2), R4 (T3), R6 (T4) e número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) no solo.....	47
QUADRO 4. Resumo da análise de variância dos valores de densidade do solo na camada 0,00 – 0,05 m (D 0-5), macroporosidade do solo na camada 0,00 – 0,05 m (Macro 0-5), microporosidade do solo na camada 0,00 – 0,05 m (Micro 0-5), porosidade total do solo na camada 0,00 – 0,05 m (P 0-5), após o cultivo de milho por dois anos consecutivos adubados com diferentes doses de fósforo e tratados com formononetina.....	52
QUADRO 5. Resumo da análise de variância dos valores de densidade do solo na camada 0,05 – 0,10 m (D 5-10), macroporosidade do solo na camada 0,05 – 0,10 m (Macro 5-10), microporosidade do solo na camada 0,05 – 0,10 m (Micro 5-10), porosidade total do solo na camada 0,05 – 0,10 m (P 5-10), após o cultivo de milho por dois anos consecutivos adubados com diferentes doses de fósforo e tratados com formononetina.....	53
QUADRO 6. Resumo da análise de variância dos valores de diâmetro médio ponderado dos agregados do solo na camada 0,00 – 0,05 m (DMP 0-5), diâmetro médio geométrico dos agregados do solo na camada 0,00 – 0,05 m (DMG 0-5), índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,00 – 0,05 m (IEA 0-5), após o cultivo de milho por dois anos consecutivos adubados com diferentes doses de fósforo e tratados com formononetina.....	58
QUADRO 7. Resumo da análise de variância dos valores de diâmetro médio ponderado dos agregados do solo na camada 0,05 – 0,10 m (DMP 5-10), diâmetro médio geométrico dos agregados do solo na camada 0,05 – 0,10 m (DMG 5-10), índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,05 – 0,10 m (IEA 5-10), após o cultivo de milho por dois anos consecutivos adubados com diferentes doses de fósforo e tratados com formononetina.....	59

QUADRO 8. Resumo da análise de variância dos teores de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível (GFE) e proteína do solo relacionada à glomalina total (GT), na camada 0,00 – 0,20 m, após o cultivo de milho por dois anos consecutivos adubados com diferentes doses de fósforo e tratados com formononetina.....	67
QUADRO 1. Caracterização química do solo.....	85
QUADRO 2. Caracterização física do solo.....	85
QUADRO 3. Resumo da análise de variância dos valores de taxa de colonização por fungos micorrízicos arbusculares nas raízes de soja nos estádios R1 (T1), R4 (T2), R8 (T3) e número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) no solo.....	91
QUADRO 4. Resumo da análise de variância dos valores de densidade do solo na camada 0,00 – 0,05 m (D 0-5), macroporosidade do solo na camada 0,00 – 0,05 m (Macro 0-5), microporosidade do solo na camada 0,00 – 0,05 m (Micro 0-5), porosidade total do solo na camada 0,00 – 0,05 m (P 0-5), após o cultivo de soja por dois anos consecutivos tratado com formononetina e sob diferentes doses de fósforo.....	96
QUADRO 5. Resumo da análise de variância dos valores de densidade do solo na camada 0,05 – 0,10 m (D 5-10), macroporosidade do solo na camada 0,05 – 0,10 m (Macro 5-10), microporosidade do solo na camada 0,05 – 0,10 m (Micro 5-10), porosidade total do solo na camada 0,05 – 0,10 m (P 5-10), após o cultivo de soja por dois anos consecutivos tratado com formononetina e sob diferentes doses de fósforo.....	97
QUADRO 6. Resumo da análise de variância dos valores de diâmetro médio ponderado dos agregados do solo na camada 0,00 - 0,05 m (DMP 0-5), diâmetro médio geométrico dos agregados do solo na camada 0,00 - 0,05 m (DMG 0-5) e índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,00 - 0,05 m (IEA 0-5), após o cultivo de soja por dois anos consecutivos tratado com formononetina e sob diferentes doses de fósforo.....	102

QUADRO 7. Resumo da análise de variância dos valores de diâmetro médio ponderado dos agregados do solo na camada 0,05 – 0,10 m (DMP 5-10), diâmetro médio geométrico dos agregados do solo na camada 0,05 – 0,10 m (DMG 5-10) e índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,05 – 0,10 m (IEA 5-10), após o cultivo de soja por dois anos consecutivos tratado com formononetina e sob diferentes doses de fósforo.....	103
QUADRO 8. Resumo da análise de variância dos teores de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível (GFE) e proteína do solo relacionada à glomalina total (GT), na camada 0,00 - 0,20 m, após o cultivo de soja por dois anos consecutivos tratado com formononetina e sob diferentes doses de fósforo.....	111

LISTA DE FIGURAS

PÁGINA

FIGURA 1. Fórmula molecular da formononetina.....	12
FIGURA 1. Taxa de colonização por fungos micorrízicos arbusculares em raízes de milho no estádio R4, em função da aplicação de fósforo, em cada dose de formononetina.....	48
FIGURA 2. Taxa de colonização micorrízica nas raízes de milho no estádio R6, em função da aplicação de formononetina, em cada dose de P_2O_5	50
FIGURA 3. Macroporosidade do solo na camada de 0,05 - 0,10 m, em função da aplicação de fósforo em milho, em cada dose de formononetina.....	54
FIGURA 4. Porosidade total do solo na camada de 0,00 - 0,05 m, em função da aplicação de fósforo em milho, em cada dose de formononetina.....	55
FIGURA 5. Porosidade total do solo na camada de 0,00 - 0,05 m, em função da aplicação de formononetina em milho, em cada dose de P_2O_5	56
FIGURA 6. Diâmetro médio ponderado dos agregados do solo (DMP) na camada de 0,00 - 0,05 m, em função da aplicação de formononetina em milho, em cada dose de P_2O_5	60
FIGURA 7. Diâmetro médio geométrico dos agregados do solo (DMG) na camada de 0,00 - 0,05 m, em função da aplicação de formononetina em milho, em cada dose de P_2O_5	61
FIGURA 8. Índice de estabilidade dos agregados do solo (IEA) na camada de 0,00 - 0,05 m, em função da aplicação de formononetina em milho, em cada dose de P_2O_5	64
FIGURA 1. Taxa de colonização micorrízica nas raízes de soja no estádio R4, em função da aplicação de fósforo, em cada dose de formononetina.....	92
FIGURA 2. Taxa de colonização por fungos micorrízicos arbusculares em raízes de soja no estádio R8, em função da aplicação de formononetina, em cada dose de P_2O_5	95
FIGURA 3. Macroporosidade do solo, na camada de 0,00 - 0,05 m, em função da aplicação de formononetina em soja, em cada dose de P_2O_5	98

FIGURA 4. Macroporosidade do solo, na camada de 0,05 - 0,10 m, em função da aplicação de formononetina em soja, em cada dose de P_2O_5	99
FIGURA 5. Porosidade total do solo, na camada de 0,00 - 0,05 m, em função da aplicação de formononetina em soja, em cada dose de P_2O_5	100
FIGURA 6. Diâmetro médio ponderado dos agregados do solo (DMP), na camada de 0,05 - 0,10 m, em função da aplicação de formononetina em soja, em cada dose de P_2O_5	104
FIGURA 7. Índice de estabilidade dos agregados do solo (IEA), na camada de 0,00 - 0,05 m, em função da aplicação de fósforo em soja, em cada dose de formononetina.....	106
FIGURA 8. Índice de estabilidade dos agregados do solo (IEA), na camada de 0,05 - 0,10 m, em função da aplicação de fósforo em soja, em cada dose de formononetina.....	107
FIGURA 9. Índice de estabilidade dos agregados do solo (IEA), na camada de 0,05 - 0,10 m, em função da aplicação de formononetina em soja, em cada dose de fósforo.....	108
FIGURA 10. Proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível (GFE) em função da aplicação de formononetina em soja, em cada dose de P_2O_5	112
FIGURA 11. Proteína do solo relacionada à glomalina total (GT) em função da aplicação de fósforo em soja, em cada dose de formononetina.....	113

ATRIBUTOS FÍSICOS DE UM LATOSSOLO VERMELHO DISTROFÉRRICO CULTIVADO COM SOJA E MILHO TRATADOS COM ESTIMULANTE À MICORRIZAÇÃO E FÓSFORO

Resumo Geral: Micorrizas arbusculares podem proporcionar diversos benefícios à agricultura, dentre eles a melhoria na qualidade física do solo. Uma das formas mais promissoras de indução da micorrização nas plantas em grandes áreas é a aplicação de produtos que estimulam a micorrização, e a substância com maior destaque é a formononetina. As micorrizas arbusculares interagem com o fósforo que pode modificar os efeitos desta simbiose nos atributos físicos do solo, além disso, o fósforo pode modificar o balanço de cargas no solo, atuando no processo de agregação e dispersão das partículas do solo. Objetivou-se avaliar as alterações em atributos físicos de um Latossolo Vermelho distroférico cultivado com soja e milho submetidos à adubação fosfatada e aplicação de um estimulante à micorrização na semente. O trabalho foi realizado na Fazenda Experimental da Universidade federal da Grande Dourados, município de Dourados-MS. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, arranjado em parcelas subdivididas, com cinco repetições. O experimento foi realizado por dois anos consecutivos na mesma área, sendo uma área para o milho e outra para soja, com os seguintes tratamentos: fósforo nas parcelas (0; 17,5; 35 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅), tendo como fonte o superfosfato triplo, e nas sub-parcelas quatro doses de formononetina (0, 25, 50, 100 g ha⁻¹), tendo como fonte o produto comercial PHC 506, aplicado nas sementes. Para as culturas do milho e da soja foram avaliados taxa de colonização por fungos micorrízicos arbusculares nas raízes, nos estádios Vt, R2, R4 e R6 do milho e estádios R1, R4 e R8 da soja. Avaliaram-se também, no estádio R6 no milho e R8 na soja, nas camadas 0,00 - 0,05 m e 0,05 - 0,10 m, a densidade do solo, macroporosidade do solo, microporosidade do solo, porosidade total do solo, diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, diâmetro médio geométrico dos agregados do solo, índice de estabilidade dos agregados do solo. Avaliaram-se ainda no estádio R6 no milho e R8 na soja, na camada de 0,00 - 0,20 m, o número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares no solo, o teor de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível e o teor de proteína do solo relacionada à glomalina total. Os resultados mostraram que para o milho houve aumento na taxa de colonização micorrízica, no estádio R4, com uso de fósforo na ausência da aplicação de formononetina e na taxa de colonização micorrízica, no estádio R6, com uso da formononetina na presença de 17,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅. Na camada de 0,00 - 0,05 m, o fósforo na presença de 100 g ha⁻¹ de formononetina aumentou a porosidade total do solo, mas essa resposta dependeu da dose de fósforo, pois a resposta foi quadrática. Na mesma camada, a formononetina na presença de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ aumentou linearmente a porosidade total do solo e o diâmetro médio geométrico dos agregados do solo. Ainda nesta camada, a formononetina na presença de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ proporcionou aumento na porosidade total do solo, e na presença de 35 kg ha⁻¹ de P₂O₅ o estimulante aumentou o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo e o diâmetro médio geométrico dos agregados do solo, e na presença de 35 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ a formononetina aumentou o índice de estabilidade dos agregados do solo. No entanto, estes aumentos dependeram da dose de formononetina, pois a resposta foi quadrática. Para a soja, os resultados mostraram que ocorreu aumento na taxa de colonização micorrízica, no estádio R4, com uso do fósforo na ausência de formononetina e com uso da formononetina na ausência da adubação fosfatada, no

estádio R8, mas esses aumentos ocorreram até determinadas doses de fósforo e formononetina, pois as respostas foram quadráticas. Na camada 0,00 - 0,05 m verificou-se que a formononetina (até 48 g ha⁻¹) na presença de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ aumentou a macroporosidade do solo, e na presença de 17,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅ a formononetina aumentou a porosidade total do solo. Nesta mesma camada, a aplicação do fósforo na presença de 100 g ha⁻¹ de formononetina aumentou linearmente o índice de estabilidade dos agregados do solo. Na camada 0,05 - 0,10 m a formononetina na ausência da adubação fosfatada e na presença de 35 kg ha⁻¹ de P₂O₅ aumentou a macroporosidade do solo, e na presença de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ a formononetina aumentou o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, e na presença de 35 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ a formononetina aumentou o índice de estabilidade dos agregados do solo. Com exceção do aumento no índice de estabilidade dos agregados na presença de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, os aumentos foram verificados até determinadas doses de formononetina, pois as respostas foram quadráticas. Nesta mesma camada, o fósforo na presença de 25 g ha⁻¹ de formononetina aumentou o índice de estabilidade dos agregados do solo, mas essa resposta dependeu da dose de fósforo, pois a resposta foi quadrática. A formononetina na presença de 17,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅ aumentou o teor de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível, e o fósforo na presença de 50 g ha⁻¹ de formononetina aumentou o teor de proteína do solo relacionada à glomalina total, ressaltando que esses aumentos foram verificados até uma determinada dose de fósforo e formononetina, pois as respostas foram quadráticas. Conclui-se que o fósforo até doses recomendadas para a soja e o milho e a formononetina no milho e na soja melhoram a colonização micorrízica, que proporcionaram benéficos a porosidade do solo, formação e estabilidade dos agregados do solo, principalmente na camada 0,00 – 0,05 m.

Palavras - chave: Formononetina, fungo micorrízico arbuscular, adubação fosfatada, *Glycine max*, *Zea mays*.

PHYSICAL ATTRIBUTES OF OXISOL CULTIVATED WITH CORN AND SOYBEAN TREATED WITH MYCORRHIZAL STIMULANT AND PHOSPHORUS

Abstract: Arbuscular mycorrhizal can provide several benefits to agriculture, including improvement in soil physical quality. One of the most promising ways to induce mycorrhizal in plants in large areas is the application of products that stimulate mycorrhizal and the substance with larger highlight is the formononetin. The mycorrhiza interact with phosphorus that can modify the effects of this symbiosis in soil physical attribute, in addition, the phosphorus can change the balance of loads of soil, acting in the process of aggregation and dispersion of soil particles. This study, aimed to evaluate changes in physical attributes of an Oxisol cultivated with soybeans and corn, submitted to phosphorus fertilization and application of stimulate mycorrhizal in the seed. The study was conducted at the experimental farm of the Universidade Federal da Grande Dourados, county of Dourados-MS. The experimental design was a randomized block arranged in a split plot with five repetitions. The experiment was conducted for two consecutive years in the same area, and an area for corn and another for soybeans, with the following treatments: phosphorus in the plots (0, 17.5, 35 and 70 kg ha⁻¹ of P₂O₅), used as source the triple superphosphate, and doses of formononetin in the subplots (0, 25, 50, 100 g ha⁻¹) used as source the commercial product PHC 506, applied in the seeds. For corn and soybeans were evaluated mycorrhizal colonization rate in the roots in Vt, R2, R4 and R6 stages of corn and R1, R4 and R8 stages of soybean. Were evaluated also in the R6 stage in corn and R8 stage in soybean, in layers from 0.00 - 0.05 m e 0.05 - 0.10 m, the soil bulk density, soil macroporosity, soil microporosity, total soil porosity, weighted average diameter of soil aggregates, geometric average diameter of soil aggregate and soil aggregate stability index. It is also evaluated in R6 stage in corn and R8 stage in soybean, in the layer of 0.00 - 0.20 m, the number of spores of arbuscular mycorrhizal fungi in the soil, the content of soil protein related to glomalin easily removable and content of soil protein related to glomalin total. The results showed that for corn there was an increase in the colonization rate in the R4 stage, with use of phosphorus in the absence of application of formononetin and colonization rate in the R6 stage, with use of formononetin in the presence of 17.5 kg ha⁻¹ P₂O₅. In the layer 0.00 - 0.05 m, the phosphorus in the presence of 100 g ha⁻¹ formononetin increased soil total porosity, but this response depended in the phosphorus level because the response was quadratic. In the same layer, formononetin in the presence of 70 kg ha⁻¹ P₂O₅ increased linearly soil total porosity and the geometric average diameter of soil aggregate. Still this layer, formononetin in the presence of 70 kg ha⁻¹ P₂O₅ provided increase in the soil total porosity and in the presence of 35 kg P₂O₅ the formononetin increased the weighted average diameter of soil aggregates and geometric average diameter of soil aggregate and in the presence of 35 and 70 kg ha⁻¹ P₂O₅ the formononetin increased the soil aggregate stability index. However, these increases depended on the formononetin level because the response was quadratic. For soybeans the results showed that there was an increase in the mycorrhizal colonization rate in R4 stage with use of phosphorus in the absence of formononetin and in the use of formononetin in the absence of phosphate fertilizer, at the R8 stage, but these increases occurred until certain levels of phosphorus and formononetin because the response was quadratic. In the layer 0.00 - 0.05 m, it was found that formononetin (until 48 g ha⁻¹) in the presence of 70 kg ha⁻¹ P₂O₅ increased the soil macroporosity, and in the presence of

17.5 kg ha⁻¹ P₂O₅ the formononetin increased linearly the total soil porosity. In the same layer, the phosphorus applied in the presence of 100 g ha⁻¹ formononetin increased linearly the soil aggregate stability index. In the layer 0.05 - 0.10 m the formononetin in the absence of phosphorus fertilization and in the presence of 35 kg ha⁻¹ P₂O₅ increased the soil macroporosity, and in the presence of 70 kg ha⁻¹ P₂O₅ the formononetin increased the weighted average diameter of soil aggregates and in the presence of 35 and 70 kg ha⁻¹ P₂O₅ the formononetin increased the soil aggregate stability index. Except the increase in the soil aggregate stability index in the presence of 70 kg ha⁻¹ P₂O₅, increases were observed until certain level of formononetin because the response was quadratic. In the same layer, the phosphorus in the presence of 25 g ha⁻¹ formononetin, increased the soil aggregate stability index, but this response depended on the phosphorus level, because the response was quadratic. The formononetin in the presence of 17.5 kg ha⁻¹ P₂O₅ increased the content of soil protein related to glomalin easily removable and phosphorus in the presence of 50 g ha⁻¹ formononetin increased the content of soil protein related to glomalin total, highlighting that these increases were checked until determined phosphorus and formononetin level because the response was quadratic. It is concluded that the phosphorus until recommended level for soybean and corn and formononetin on corn and soybean improve mycorrhizal colonization, which provide beneficial soil porosity, formation and stability of soil aggregates, particularly in the layer 0.00 - 0.05 m.

Keywords: Formononetin, arbuscular mycorrhizal fungi, phosphorus fertilization, *Glycine max*, *Zea mays*.

INTRODUÇÃO GERAL

A sustentabilidade na agricultura é baseada na redução da degradação do meio ambiente, promoção da rentabilidade econômica e da contribuição social. Uma das formas de aumentar a sustentabilidade na agricultura é a melhor utilização dos microrganismos existentes no solo para favorecer o crescimento e produtividade da planta. Tal procedimento, se bem sucedido, pode reduzir o uso da adubação química e aumentar a conservação do solo e do meio ambiente. Dentre estes microrganismos, destacam-se os fungos micorrízicos arbusculares, que em diversos relatos presentes na literatura demonstram grande potencial para contribuir com a sustentabilidade.

Os fungos micorrízicos arbusculares podem associar-se às plantas e formarem as micorrizas arbusculares. Essa associação é simbiótica e mutualística, podendo ocorrer em 80% das espécies vegetais. Essa associação proporciona aumento no desenvolvimento de plantas, devido à melhoria na agregação do solo, maior absorção de nutriente, maior tolerância às doenças, maior tolerância aos estresses ambientais, maior tolerância à toxicidade por nutrientes, maior tolerância à toxicidade por metais pesados no solo, maior estímulo à fixação biológica de nitrogênio nas plantas, maior produção de substâncias estimuladoras do crescimento nas plantas e alterações bioquímicas e fisiológicas nas plantas (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Dentre os diversos benefícios das micorrizas arbusculares, destaca-se a possibilidade de melhoria nos atributos físicos do solo, por exemplo, alterando a estabilidade de agregados do solo, porosidade do solo, diâmetro dos agregados do solo. Esse fato é comentado por Cardona et al. (2016) que afirmam que as micorrizas arbusculares podem ajudar a melhorar os atributos físicos do solo e por Nóbrega et al. (2001) que concluíram que a inoculação com fungo micorrízico arbuscular da espécie *Glomus etunicatum*, em soja, propiciou maior estabilidade dos agregados do solo. A melhoria nos atributos físicos é muito importante, pois proporciona melhorias no crescimento e produtividade das plantas. Caravaca et al. (2006) constataram efeito benéfico nas características físicas do solo, pois observaram aumento significativo na estabilidade dos agregados, seis meses após a inoculação conjunta dos fungos micorrízicos arbusculares das espécies *Glomus intraradices*, *Glomus deserticola* e *Glomus mosseae*, em espécie arbórea, e atribuíram esse fato, em parte, ao efeito

físico das hifas dos fungos micorrízicos arbusculares e efeito cimentante de seus exudados.

Os fungos micorrízicos arbusculares podem alterar aos atributos físicos do solo devido à ação das suas hifas e liberação de substâncias no solo. As hifas dos fungos micorrízicos arbusculares podem atuar na agregação do solo criando um esqueleto estrutural que participa da aderência de partículas do solo (GONZALES CHAVES et al., 2004). Além disso, os fungos micorrízicos arbusculares produzem substâncias que auxiliam na agregação do solo, sendo a proteína do solo relacionada à glomalina a principal delas (RILLIG et al., 2001). Essa substância destaca-se nas pesquisas sobre os efeitos dos fungos micorrízicos nas características físicas do solo, pois é insolúvel em água (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006), tem forte capacidade de cimentação e alta estabilidade no solo (WRIGHT e UPADHYAYA, 1998).

Os fungos micorrízicos arbusculares ainda apresentam outra forma de contribuição importante na melhoria dos atributos físicos do solo, que é fornecimento de matéria orgânica ao solo, pois representam cerca de 5 a 20% de toda a biomassa microbiana dos solos, além de serem os fungos mais abundantes nos solos agrícolas. Suas hifas podem chegar a 900 kg ha^{-1} (ZHU e MILLER, 2003) e seu comprimento alcança dezenas de metros por grama de solo (NOGUEIRA e CARDOSO, 2000).

Os fungos micorrízicos arbusculares também podem proporcionar maior crescimento das plantas, como verificado por Carneiro (2010), Silva et al. (2006) e Nogueira e Cardoso (2000), sendo mais uma forma de contribuir para o fornecimento de matéria orgânica ao solo. O que está de acordo com Soares e Carneiro (2010) quando observaram que parte importante dos efeitos da micorrização na recuperação de área degradada é pela maior produção de área foliar, pois contribuí para maior acúmulo de matéria orgânica no solo.

Diversos fatores podem afetar o desenvolvimento da micorriza arbuscular, conseqüentemente, seu efeito benéfico nos atributos físicos do solo, e o principal fator é o fósforo. Como constatado por Nobrega et al. (2001) que concluíram, que em soja conduzido em casa de vegetação, a presença de 200 mg kg^{-1} de fósforo promoveu, indiretamente, o maior comprimento total de hifas de fungos micorrízicos arbusculares nos agregados do solo e, conseqüentemente, maior agregação.

Costa et al. (2001) citam que o nível crítico de fósforo para o crescimento da planta controla a colonização micorrízica. Geralmente, solos com boa

disponibilidade de fósforo reduzem a colonização micorrízica (CARDOSO FILHO et al., 1999) e a esporulação aumenta até níveis intermediários do fósforo no solo (FERNANDES et al., 1987). De acordo com Carrenho et al. (2010) o valor de referência do fósforo para a micorrização varia em função da espécie de planta, porte da planta e estágio fenológico, isso ocorre devido a diferença na necessidade de fósforo pela planta variar em função destes fatores.

Além do efeito indireto, via alteração no desenvolvimento das micorrizas arbusculares, o efeito do fósforo também pode ser direto nos atributos físicos do solo, como verificado por Ribeiro et al. (2011) que citam que a adsorção de fósforo em um Latossolo Vermelho distroférico, em casa de vegetação, tornou a superfície das partículas do solo mais eletronegativa. Isso ocorre, pois o fósforo encontra-se no solo, preferencialmente, como anion fosfato, que pode ocupar as cargas positivas das partículas do solo. Nessas condições, em solo com maior quantidade de cargas positivas, ocorre aumento na floculação das partículas do solo, que é um fenômeno essencial para a agregação do solo. Como é constatado por Silva et al. (2001) que comentam que em solos com balanço de carga líquida positiva a adsorção de fosfato aumenta a quantidade de cargas negativas, diminui o excedente de cargas positivas, aumentando a atração eletrostática entre as partículas e diminuindo a dispersão até o ponto em que o balanço de cargas é zero.

A partir do momento em que o balanço de carga líquida no solo é negativo, o fósforo favorece a desagregação, pois adiciona mais cargas negativas no solo, proporcionando a redução na atração eletrostática entre as partículas do solo, que pode deteriorar os atributos físicos do solo. E esse fato é constatado em alguns estudos em casa de vegetação que mostram resultados de dispersão do solo devido à elevada adsorção deste anion pelas partículas do solo, por exemplo, trabalho realizado por Albuquerque et al. (2003) e Lima et al. (2000) que citam que a elevada adsorção de fósforo reduz a quantidade de poros e a estabilidade dos agregados do solo. Em outro trabalho, Silva et al. (2001) estudando um Latossolo Vermelho distrófico, em casa de vegetação, com doses de fósforo até a atingir a capacidade máxima de adsorção, verificaram que o íon fosfato reduziu o efeito cimentante dos óxidos de ferro e alumínio e alterou a agregação do solo, comprometendo as propriedades físicas e hídricas do solo.

O fósforo, devido a sua importância no crescimento de plantas, pode proporcionar maior acúmulo de matéria seca na planta, principalmente da raiz,

melhorando o aporte de matéria orgânica para o solo, nesse caso podendo beneficiar a agregação do solo. Fato constatado por Nobrega et al. (2001) que verificaram na soja, que o fósforo aumentou o diâmetro médio geométrico dos agregados do solo. Segundo os autores, esse fato foi devido à maior produção de raízes. Esse fato ocorre, pois de acordo com Tisdall e Oades (1982) a matéria orgânica do solo unem partículas primárias livres e agregados de tamanho de silte através de agentes ligantes que formam agregados até 250 µm de diâmetro no solo e Salton et al. (2008) citam que as raízes têm papel importante na formação dos agregados, pois podem atuar promovendo a aproximação das partículas do solo, e, indiretamente, pelo estímulo da atividade microbiana devido à liberação de exudados e fornecimento de matéria orgânica ao solo.

Observa-se que a presença de micorrizas arbusculares e fósforo podem alterar os atributos físicos do solo, normalmente, em condições de campo a aplicação de micorriza arbuscular e fósforo melhoram os atributos físicos. No entanto, a inoculação direta com fungos micorrízicos arbusculares no solo em grandes áreas é pouco viável, devido à elevada quantidade de inoculante necessária para competir com os fungos micorrízicos arbusculares nativos do solo, e o elevado custo de produção do inoculante, pois esses fungos são biotróficos obrigatórios, necessitando sempre de um hospedeiro vivo para completar seu ciclo de vida.

Como alternativa para aumentar a viabilidade das micorrizas arbusculares como organismos benéficos aos atributos físicos do solo em grandes áreas de plantio, conseqüentemente, tem-se a utilização de substâncias que estimulam a micorrização. As raízes das plantas produzem várias substâncias que são liberadas no solo, que afetam a microbiota do solo. Dentre essas substâncias, acredita-se que os flavonoides são fatores estimulantes da micorrização, pois regulam diversas atividades dos microrganismos do solo, dentre elas, a ativação de genes relacionados à germinação de esporos e crescimento micelial de fungo micorrízico arbuscular. A formononetina destaca-se como um dos flavonoides estudados que pode estimular a micorrização (SILVA JÚNIOR e SIQUEIRA, 1997).

Nair et al. (1991) isolaram e identificaram em raízes de trevo (*Trifolium repens*) o isoflavonóide formononetina, que foi produzida em maiores quantidades em plantas estressadas pela deficiência de fósforo e observaram que esta substância é ativa sobre propágulos de fungos micorrízicos arbusculares. De acordo com Moreira e Siqueira (2006) estudos *in vitro* demonstraram que a formononetina é o principal

composto bioativo que atua estimulando o crescimento assimbiótico de esporos de fungos micorrízicos arbusculares e acelera a micorrização, favorecendo o crescimento da planta hospedeira.

Assim, observa-se que a formononetina como estimulante à micorrização e o fósforo como fator fundamental no crescimento e desenvolvimento das plantas e das micorrizas arbusculares podem intervir diretamente e indiretamente nos atributos físicos do solo. Esses atributos são características essenciais para o adequado crescimento e produtividade das plantas, principalmente devido a alterar o crescimento do sistema radicular e absorção de água e nutrientes. Os atributos físicos do solo também alteram a infiltração de água e aeração do solo, conseqüentemente, interferindo na conservação do solo e crescimento da fauna e microrganismos do solo.

Com isso, objetivou-se com esse estudo avaliar as alterações em atributos físicos de um Latossolo Vermelho distroférico cultivado com soja e milho submetidos à adubação fosfatada e aplicação de um estimulante à micorrização na semente.

REVISÃO DE LITERATURA

Micorrizas arbusculares

Micorriza é associação simbiótica e mutualística entre fungos micorrízicos e plantas (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006), podendo ser do tipo arbuscular, ectomicorriza, ericoide, arbutoide e orquidoide (SMITH e READ, 2008). As micorrizas arbusculares são formadas pelos fungos micorrízicos arbusculares associados às plantas, sendo elas as mais comuns na natureza, pois ocorrem em aproximadamente 80% das espécies de plantas terrestres (INVAM, 2012). Por meio da associação micorrízica os fungos micorrízicos arbusculares recebem fotoassimilados das plantas e transferem nutrientes e água às plantas, promovendo importantes modificações fisiológicas, morfológicas e nutricionais nas plantas (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Fungos de cinco famílias (Gigasporaceae, Glomeraceae, Acaulosporaceae, Paraglomaceae e Archaeosporaceae) da ordem Glomerales, do filo Glomeromycota, são capazes de formar micorrizas arbusculares (STURMER e SIQUEIRA, 2006). Dentro dessas famílias são conhecidas cerca de 140 espécies, de sete gêneros (*Acaullospora*, *Archaeospora*, *Entrophospora*, *Glomus*, *Gigaspora*, *Paraglomus* e *Scutellospora*) (INVAM, 2012).

Os fungos micorrízicos arbusculares têm como sua principal estrutura de sobrevivência os esporos (MAIA, 2010). Após a germinação do esporo no solo, ocorre o crescimento assimbiótico do fungo micorrízico arbuscular, ou seja, crescimento na ausência do hospedeiro, posteriormente, ocorre à infecção da planta pelo fungo micorrízico arbuscular, que coloniza o córtex da raiz onde se formam estruturas chamadas arbúsculo, que são formadas pela ramificação das hifas na região entre a parede celular e a membrana plasmática da célula vegetal. Essa estrutura tem a função de troca de nutrientes, água e fotoassimilados entre a planta e o fungo micorrízico arbuscular. Algumas espécies destes fungos podem formar vesículas, que são estruturas responsáveis pelo armazenamento de substâncias. Os fungos micorrízicos arbusculares são biotróficos obrigatórios, ou seja, dependem do hospedeiro vivo para completar o seu ciclo de vida (SOUZA et al., 2010).

Após a infecção e colonização as micorrizas arbusculares proporcionam aumento no desenvolvimento de plantas devido a diversas melhorias nas plantas e solo. Pode ocorrer melhor agregação do solo pelo efeito físico das hifas dos fungos micorrízicos arbusculares, pela ação cimentante de substâncias liberadas no solo pelos fungos micorrízicos arbusculares e pela maior produção de matéria orgânica para o solo pelo fungo micorrízico arbuscular e pela planta colonizada pelo fungo. Maior absorção de nutrientes pela planta, principalmente, pela maior área explorada do solo pelas hifas dos fungos micorrízicos arbusculares em comparação as raízes das plantas, pela maior absorção de nutrientes mineralizados e solubilizados pelas hifas dos fungos micorrízicos arbusculares em comparação às raízes das plantas, e estímulo a fixação biológica de nitrogênio nas plantas. Maior tolerância das plantas às doenças e pragas, devido ao fungo micorrízico arbuscular ter a capacidade de competir com patógenos pela colonização na planta e possibilidade de maior acúmulo de substâncias tóxicas aos patógenos e pragas. Maior tolerância da planta a estresses ambientais, por exemplo, maior tolerância à toxicidade por nutrientes e metais pesados no solo. Alterações bioquímicas e fisiológicas nas plantas, por exemplo, favorecimento na relação água-planta, maior acúmulo de hormônios vegetais, aumento na taxa de respiração e absorção de gás carbônico que favorece a fotossíntese (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Devido aos diversos benefícios dos fungos micorrízicos arbusculares pode ocorrer maior desenvolvimento de plantas, como constatado em muitos trabalhos publicados. Por exemplo, Campos et al. (2010) que verificaram em casa de vegetação, que a inoculação de combinado de espécies de fungos micorrízicos arbusculares incrementou a produção de matéria seca da parte aérea e do sistema radicular de milho. Fato também observado por Silva et al. (2006) que verificaram que a massa seca aumentou com a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares das espécies *Glomus etunicatum*, *Glomus fasciculatum* e *Scutellospora heterogama* nas plantas de soja. Fato idêntico ao observado por Cardoso et al. (2003) que estudaram a soja em casa de vegetação, e verificaram que plantas inoculadas com fungo micorrízico arbuscular da espécie *Glomus macrocarpum* tiveram maior crescimento.

Os benefícios das micorrizas arbusculares são influenciados pelos diversos fatores que podem alterar a colonização micorrízica. Sendo eles, a espécie da planta, variedade da planta, cobertura vegetal, estado nutricional da planta, idade

da planta, taxa de crescimento da planta, alopatia, sistema radicular, exsudação da planta e senescência da planta (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Além desses fatores, Miranda e Miranda (1997) afirmam que a espécie de fungo micorrízico arbuscular, fertilidade do solo e dependência micorrízica da planta afetam a colonização micorrízica.

Dentre os fatores que afetam a colonização micorrízica destaca-se o fósforo, acredita-se que o nível crítico deste macronutriente para a planta controle a associação entre a planta e o fungo micorrízico arbuscular (COSTA et al., 2001). De maneira geral, solos com boa disponibilidade de fósforo causam redução na colonização micorrízica (CARDOSO FILHO et al., 1999) e a esporulação aumenta até níveis intermediários de fósforo no solo (FERNANDES et al., 1987). O valor de referência do fósforo pode variar, por exemplo, de acordo com a espécie de planta, porte da planta e estágio fenológico da planta. Isso ocorre devido a diferenças na exigência de fósforo ser alterada por diversos fatores (CARRENHO et al., 2010).

Nogueira e Cardoso (2000) verificaram efeito do fósforo na colonização micorriza da soja, eles estudaram em casa de vegetação, soja adubada com 0, 50, 100 e 200 mg kg⁻¹ de fósforo, avaliaram a massa seca da parte aérea aos 15, 30, 60 e 90 dias após transplantio e verificaram que na presença de 50 e 100 mg kg⁻¹ de fósforo houve redução na massa seca da soja em relação à testemunha. Aos 90 dias após transplantio na inoculação com fungo micorrízico arbuscular da espécie *Glomus intraradices* houve maior massa seca nos tratamentos 0, 25 e 50 mg kg⁻¹ de fósforo e quando se inoculou a espécie *Gigaspora margarita* houve diferença apenas na ausência de fósforo.

Existem diversas hipóteses para o efeito regulatório do fósforo na colonização micorrízica. Acredita-se que as lectinas reduzam a colonização dos fungos micorrízicos arbusculares nas raízes, pois quando a planta tem baixo teor de fósforo a atividade da fosfatase é maior, que pode inativar as lectinas por formarem dímeros. Outra hipótese é que a permeabilidade da membrana plasmática é maior em plantas deficientes em fósforo, devido ao fósforo ser integrante da mesma, assim, a maior permeabilidade pode favorecer a liberação de exudados no solo que favoreçam a colonização micorrízica (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Outra hipótese baseia-se na produção de fotossintatos pela planta, que é prejudicada em deficiência de fósforo, sendo reduzida a translocação dos mesmos para as raízes. Sabe-se que concentrações elevadas de açúcares podem inibir a

colonização micorrízica. A quarta hipótese sugere que o fósforo atue, indiretamente, em mecanismos bioquímicos da planta, modulando a supressão ou indução do processo de micorrização (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

As diferentes respostas à micorrização devido aos genótipos das plantas também têm grande influência na colonização micorrízica, como verificado por Campos et al. (2010) que observaram que o genótipo de milho Tractor apresentou maiores ganhos de altura na ausência de fungo micorrízico arbuscular, e os genótipos de milho Sol da Manhã, Ag 9010, D1, F8 e D7 apresentaram maiores valores em ganhos de altura no tratamento com inoculante micorrízico, evidenciando a diferença entre os genótipos de milho. Segundo os autores devido a diferenças na afinidade da associação micorrízica entre os fungos micorrízicos arbuscular e os genótipos.

Com relação às diferentes respostas da micorrização nas plantas em função das diferentes espécies de fungo micorrízico arbuscular, existem exemplos na literatura que indicam que a compatibilidade entre o genótipo da planta e espécie de fungo micorrízico arbuscular é essencial para uma resposta satisfatória na associação entre a planta e o fungo micorrízico arbuscular. Esse fato foi verificado por Siqueira e Klauberg Filho (2000) que concluíram que os fungos micorrízicos arbusculares das espécies *Glomus clarum* e *Glomus etunicatum* favorecem maior crescimento e nutrição do milho. Da mesma forma, mas para a soja, Cardoso et al. (2003) verificaram que a resposta da soja à colonização micorrízica dependeu da espécie de fungo micorrízico arbuscular. Esses autores verificaram redução da parte aérea da soja inoculada com os fungos micorrízicos arbusculares das espécies *Glomus etunicatum* e *Gigaspora margarita* e aumento quando utilizada a espécie *Glomus macrocarpum*.

A forma de utilização das micorrizas arbusculares podem influenciar os benefícios dos fungos micorrízicos nas plantas, devido à diferença na eficiência da técnica e a viabilidade econômica. Nos dias de hoje, as técnicas de aplicação de fungos micorrízicos arbusculares no campo são basicamente três: Inoculação com espécies selecionadas. Manejo das populações nativas, por exemplo, utilização de plantio direto e rotação de culturas (SOUZA et al., 1999). Aplicação de produtos capazes de estimular e acelerar a colonização das raízes por fungos micorrízicos arbusculares nativos (SIQUEIRA et al., 2002).

A inoculação com espécies selecionadas de fungos micorrízicos arbusculares no solo em condições de campo ainda é pouco viável em grandes áreas,

devido à elevada quantidade de inoculante necessária, para competir com as espécies de fungos micorrízicos arbusculares nativas do solo, e o elevado custo de produção, pois os fungos micorrízicos arbusculares são biotróficos obrigatórios (SILVA JÚNIOR e SIQUEIRA, 1997). Nesse contexto, a utilização de produtos estimulantes a micorrização apresenta grande potencial para produção em massa e aplicação em grandes áreas (NOVAIS e SIQUEIRA, 2009). Assim, devido a tratar-se da cultura da soja e do milho, utilizou-se um estimulante à micorrização a base de formononetina para o estudo da micorrização neste trabalho.

Formononetina

As raízes das plantas produzem várias substâncias que são liberadas no solo, por exemplo, carboidratos, aminoácidos, enzimas, hormônios, ácidos orgânicos, vitaminas, proteínas, íons orgânicos e metabolitos secundários (flavonoides e terpenoides). Acredita-se que os flavonoides são fatores estimulantes da micorrização, pois regulam diversas atividades dos microrganismos do solo, por exemplo, a ativação de genes relacionados à germinação de esporos e crescimento micelial de fungo micorrízico arbuscular (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Dentre os flavonoides, a formononetina mostra os efeitos mais consistentes na colonização micorrízica (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Essa substância foi descoberta por Nair et al. (1991), isolada de raízes de plantas de trevo (*Trifolium repens*), produzida em maiores quantidades nas plantas estressadas pela deficiência de fósforo. Acredita-se que a formononetina possa aumentar a esporulação e a taxa de colonização dos fungos micorrízicos arbusculares (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Reforçando a hipótese do maior estímulo à micorrização pela formononetina em comparação a outros flavonoides, Baptista e Siqueira (1994) testaram vários flavonoides em laboratório e verificaram que a formononetina foi a que mais estimulou o crescimento micelial do fungo micorrízico arbuscular da espécie *Gigaspora gigantea*.

Diversos trabalhos mostram aumento na colonização micorrízica proporcionado pela formononetina. Por exemplo, Siqueira et al. (1999) verificaram aumento de quase 50% na colonização das raízes de milho com aplicação de formononetina. Da mesma forma, mas para a soja, Cordeiro et al. (2015) encontraram estímulo à colonização micorrízica em casa de vegetação com aplicação

de formononetina na dose $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ de semente. Fato idêntico ao observado por Novais e Siqueira (2009) ao trabalharem com a aplicação de formononetina na soja, com vários isolados de fungos micorrízicos arbusculares, verificaram que o isolado DCS 06 da espécie *Paraglomus occultum* aumentou sua colonização em 60% em relação ao controle e os isolados DCS 02 da espécie *Acaulospora delicata*, DCS 09 e DCS 02 da espécie *Glomus clarum* obtiveram incremento menor, de 25 a 36% em relação ao controle, respectivamente.

Como resultado do maior desenvolvimento das micorrizas arbusculares a formononetina pode proporcionar ganhos no crescimento da planta. Esse fato foi verificado por Soares e Martins (2000) que após o transplântio das mudas de maracujazeiro para substrato não estéril, observaram que a aplicação da formononetina aumentou a produção de matéria seca da parte aérea. O que está de acordo com resultados de Davies Junior et al. (2005) que observaram que a aplicação de formononetina em seis cultivares de batatas promoveu aumentos significativos no desenvolvimento dos tubérculos de três cultivares estudadas.

Fato importante causado pelo estímulo a micorrização pela formononetina é o aumento na produtividade das plantas. Em estudo realizado em condições de campo, com aplicação de um produto à base de formononetina, verificou-se aumento de 52% na produtividade de soja e 24% para a produtividade de milho (SIQUEIRA et al., 1992). Fato também constatado por Romero (1999) que verificou aumento de 14 a 28% na produtividade de milho. Lambais et al. (2003) também verificaram aumento na produtividade com uso da formononetina, ele utilizou 840 mg de formononetina em 200 sementes de feijão, cultivado em vasos.

A resposta da aplicação da formononetina na colonização micorrízica pode ser influenciada pelas condições ambientais, espécie de fungo micorrízico arbuscular e disponibilidade de fósforo no solo, conseqüentemente, influência os benefícios no crescimento das plantas, produtividade e ao solo. Neste contexto, Siqueira et al. (1991) afirmam que o efeito da formononetina na colonização micorrízica é mais baixo em condições que maximizam a colonização, pois não existirá ganho em colonização através do uso da substância estimuladora devido a outras condições, por exemplo, planta altamente susceptível a colonização, nível do fósforo muito baixo no solo e espécie de fungo micorrízico arbuscular com elevada capacidade de colonização micorrízica, estimular esse processo, independentemente da aplicação da formononetina. O que está de acordo com Silva Junior e Siqueira

(1998) que não verificaram efeito benéfico da formononetina no crescimento, nodulação e nutrição da soja cultivada em casa-de-vegetação. Segundo os autores, esse efeito foi devido ao alto potencial de inóculo do fungo micorrízico arbuscular presente no solo. Da mesma forma, Novais e Siqueira (2009) relacionam condições estimulantes à colonização micorrízica à menor resposta da formononetina. Eles verificaram, em casa de vegetação, não houve efeito na esporulação do isolado DCS 13 da espécie de fungo micorrízico arbuscular *Glomus etunicatum*. Segundo os autores, isso se deve à elevada esporulação na ausência da formononetina.

Condições que prejudicam a colonização micorrízica podem reduzir o efeito da formononetina no estímulo à micorrização, como verificado por Silva Junior e Siqueira (1997) que afirmam que solos ricos em fósforo disponível podem reduzir a resposta da formononetina na colonização micorrízica e crescimento das plantas em comparação a solos pobres em fósforo disponível.

Os resultados benéficos da formononetina no aumento do crescimento e produtividade das plantas são irrefutáveis, mas os mecanismos envolvidos no estímulo à micorrização não estão definidos, mas existem algumas hipóteses. De acordo com Baptista e Siqueira (1994) a ausência do grupo OH na posição cinco e a presença da metilação na posição quatro, que a diferencia de outros flavonoides está relacionada com sua atividade estimulante (Figura 1).

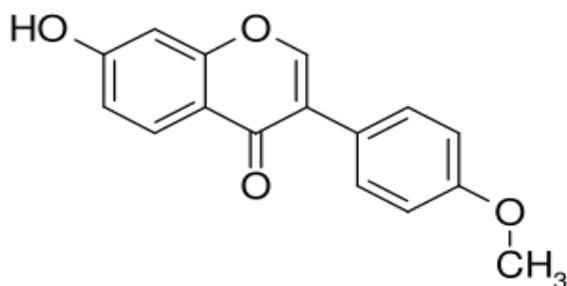


FIGURA 1. Fórmula molecular da formononetina (fonte: BECK et al., 2005).

A formononetina maximiza diversas características nos fungos micorrízicos arbusculares, que tornam a colonização micorrízica da planta mais elevada, ajudando a explicar o efeito estimulatório à colonização micorrízica. Um deles é o maior crescimento assimbiótico, que compreende a fase após a germinação do esporo até a infecção da raiz. Em estudos realizados *in vitro* verificou-se a atuação da formononetina como fator químico ativo capaz de estimular o crescimento

assimbiótico dos fungos micorrízicos arbusculares (NAIR et al., 1991; DAVIES JUNIOR et al., 1999) e crescimento assimbiótico do fungo micorrízico arbuscular em direção a planta hospedeira, provavelmente, devido a capacidade sinalizadora (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Ainda relacionada à capacidade sinalizadora da formononetina para o fungo micorrízico arbuscular, acredita-se que os flavonoides sejam sinalizadores para estes fungos, devido ao estímulo ao crescimento do fungo micorrízico arbuscular em direção à planta, facilitar interação célula-célula, induzir a diferenciação morfológica dos fungos micorrízicos arbusculares e alteração na expressão gênica durante o desenvolvimento da micorriza arbuscular (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Na fase da infecção das raízes pelos fungos micorrízicos arbusculares, a formononetina estimula a formação de apressórios e pontos de entradas primários, que são pontos de penetração da hifa na raiz. Além disso, existe a possibilidade da formononetina atuar na planta suprimindo a atividade da enzima peroxidase e outras que atuam de modo restritivo à entrada do fungo na raiz. Esse fato é muito importante, pois aumenta a infecção da raiz pelo fungo micorrízico arbuscular, conseqüentemente, melhorando a colonização micorrízica.

Na fase da colonização das raízes pelos fungos micorrízicos arbusculares a formononetina também pode atuar, aumentando o número de pontos de entrada secundários e arbúsculos. (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). O aumento no número de pontos de entradas secundários indica que a colonização continua ativa e o aumento no número de arbúsculos indica resposta positiva na funcionalidade da micorriza arbuscular, pois é órgão de troca e regulação da simbiose (SILVA JUNIOR e SIQUEIRA, 1998). Assim, essas características ajudam a explicar o efeito estimulatório da formononetina na colonização micorrízica.

Neste contexto, Davies Junior et al. (1999) constataram estímulo à formação de arbúsculo em plantas de batata tratadas com formononetina. Fato também observado por Silva Junior e Siqueira (1997) que verificaram, em casa de vegetação, aumento de 86% na densidade de pontos de entrada primários em soja tratada com formononetina, e aumento no número de arbúsculos em soja e milho tratados com formononetina. Da mesma forma, Silva Junior e Siqueira (1998) observaram aumento no número de pontos de entradas primários e secundários de hifas de fungos micorrízicos arbusculares e arbúsculos em raízes de soja tratadas com formononetina.

Além do aumento na colonização micorrízica, a esporulação dos fungos micorrízicos arbusculares, que é importante fator no aumento do potencial de inóculo do fungo micorrízico arbuscular no solo, pode aumentar com a aplicação da formononetina. O que está de acordo com Davies Junior et al. (2005) que encontraram aumento no número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares dos gêneros *Gigaspora* e *Glomus* com uso da formononetina. Resultado semelhante ocorreu na pesquisa de Novais e Siqueira (2009) que verificaram para os isolado DCS 12 do fungo micorrízico arbuscular da espécie *Glomus etunicatum*, isolado DCS 30 do fungo micorrízico arbuscular da espécie *Acaulospora delicata*, isolados DCS 06 e DCS 31 do fungo micorrízico arbuscular da espécie *Paraglomus occultum* e isolado DCS 03 do fungo micorrízico arbuscular da espécie *Kuklospora colombiana* ocorreu aumento de cerca de 90% na esporulação em relação à testemunha. Aumento na esporulação também foi encontrado por Pereira et al. (2011) que verificaram que o fungo micorrízico arbuscular da espécie *Glomus clarum* aumentou em 30% e *Acaulospora morrowie* aumentou em 43% a esporulação com a aplicação da formononetina, em comparação ao controle.

A colonização mais rápida na fase inicial de desenvolvimento da planta é importante, fato proporcionado pela formononetina devido à maximização da colonização micorrízica, assim aumentando a contribuição das micorrizas arbusculares em estádios mais jovens das plantas, conseqüentemente, aumentando os benéficos, pois quanto mais cedo o fungo micorrízico arbuscular colonizar a raiz, maior pode ser a contribuição para a planta, devido ao estágio inicial de crescimento e floração serem essenciais para o adequado crescimento e produtividade.

Devido os benefícios da formononetina no desenvolvimento dos fungos micorrízicos arbusculares, pode ocorrer maior crescimento de hifas e esporos de fungos micorrízicos arbusculares, conseqüentemente, no volume de substâncias produzidas pelos fungos micorrízicos arbusculares, por exemplo, a proteína do solo relacionada à glomalina, que é uma substância que possui muitas funções nos fungos micorrízicos arbusculares e no solo.

Proteína do solo relacionada à glomalina

Em 1996 em trabalho na produção de anticorpos monoclonais visando à identificação de fungos micorrízicos arbusculares, foi observado que um destes

anticorpos reagiu com uma substância presente na superfície das hifas de fungos micorrízicos arbusculares e não reagem com outros fungos do solo. Esta substância foi denominada glomalina e mais tarde denominada proteína do solo relacionada à glomalina (WRIGHT et al., 1996).

A proteína do solo relacionada à glomalina contém cerca de 60% de carboidratos, possui nitrogênio ligado ao oligossacarídeo e ferro. É uma substância insolúvel em água e apresenta alta hidrofobicidade (ROSIER et al., 2006). No solo, existem dois tipos de proteína do solo relacionados à glomalina. A facilmente extraível que representa a proteína formada recentemente no solo, que é mais susceptível à decomposição, por estar concentrada predominantemente na superfície dos agregados. A total, que representa a quantidade total de proteína do solo relacionada à glomalina, tanto na superfície como no interior dos agregados. Essas duas frações podem ser determinadas por métodos bioquímicos e imunorreativos (WRIGHT e UPADHYAYA, 1998).

Purin e Rillig (2007) propuseram que a proteína do solo relacionada à glomalina tem função celular primária nos fungos micorrízicos arbusculares, como chaperonas, ou seja, a capacidade de atuar como sinalizadoras do aumento da termotolerância, controle da viabilidade dos esporos, localização de proteínas nas células da paredes celular e sobre a compatibilidade do micélio. Essa substância tem uma função muito importante no solo, pois contribuir para o aumento na agregação do solo. Nesse sentido, Purin e Rillig (2007) afirmam que ao mesmo tempo em que são estabilizados pelos fungos micorrízicos arbusculares, os agregados tornam-se importante ambiente funcional e de proteção das hifas dos fungos micorrízicos arbusculares no solo.

Ainda não existe definição conclusiva de quais fatores interferem no teor e acúmulo da proteína do solo relacionada à glomalina, principalmente devido à dificuldade no entendimento da ciclagem da matéria orgânica no solo, nutrientes e parâmetros físicos do solo (PURIN e KLAUBERG FILHO, 2010). Driver et al. (2005) propõem que a concentração de proteína do solo relacionada à glomalina pode ser dependente do volume de hifas e esporos dos fungos micorrízicos arbusculares, pois 80% desta proteína é liberada no solo quando as hifas e esporos morrem ou senescem e são decompostos, e o restante é liberado como exudados pelos fungos micorrízicos arbusculares.

Rillig (2004) cita que os estoques de proteína do solo relacionada à glomalina são determinados pela sua produção, decomposição e pelas condições ambientais que afetam os dois fluxos. Também relacionado à decomposição das hifas e esporos dos fungos micorrízicos arbusculares, Silva et al. (2013) citam que a maior abundância e a diversidade de organismos da fauna do solo também ajudam a explicar os maiores teores de proteína do solo relacionada à glomalina. Fato também citado por Nichols e Wright (2005) que comentam que a decomposição da proteína do solo relacionada à glomalina pode ser alterada pelas características do solo que influenciam a atividade microbiana.

A espécie de fungo micorrízico arbuscular pode afetar a produção de proteína do solo relacionada à glomalina. Como foi verificado por Wright e Upadhyaya (1999) que observaram que houve diferença significativa na produção de proteína do solo relacionada à glomalina entre o fungo micorrízico arbuscular da espécie *Glomus caledonium* e *Gigaspora rósea*, que produziram respectivamente, 30 e 43% mais proteína do solo relacionada à glomalina que *Glomus intraradices*. Da mesma forma, Liebig et al. (2006) atribuíram o maior teor de proteína do solo relacionada à glomalina nos solos com cultivo mínimo em parte devido à seleção de espécies de fungos micorrízicos arbusculares mais produtoras que em solo revolvido.

Treseder e Cross (2006) comentam que fatores que controlam o crescimento dos fungos micorrízicos arbusculares também interferem na produção de proteína do solo relacionada à glomalina. Assim, destaca-se a elevada influência do fósforo na colonização micorrízica. Fato comprovado por Lovelock et al. (2004) que observaram que em solos com alta concentração de fósforo ocorreram menores concentrações de proteína do solo relacionada à glomalina. Neste sentido, Sousa et al. (2012) citam que em condições de maior disponibilidade de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo, sinais moleculares emitidos pela planta hospedeira são afetados, reduzindo os sítios de infecção e o estabelecimento da associação micorrízica, afetando a produção de proteína do solo relacionada à glomalina pelos fungos micorrízicos arbusculares.

Devido às suas características, por exemplo, ação cimentante nos agregados, hidrofobicidade e resistência à decomposição no solo a proteína do solo relacionada à glomalina tem grande capacidade de alterar os atributos físicos no solo, principalmente, à agregação do solo. A formononetina como um estimulante à

micorrização pode alterar o desenvolvimento dos fungos micorrízicos arbusculares e, conseqüentemente, a produção de proteína do solo relacionado à glomalina.

Efeitos da formononetina e fungos micorrízicos arbusculares nos atributos físicos do solo

A estrutura do solo é uma importante característica que é determinada pelos atributos físicos. Essa característica afeta o suprimento de água no solo, a aeração no solo, a disponibilidade de nutrientes no solo, a atividade microbiana e a penetração de raízes e outros. Os mecanismos envolvidos na estruturação do solo são a aproximação das partículas e estabilização do agregado formado. Na aproximação agem os seguintes fatores: floculação da argila, cátions trocáveis, desidratação do solo, secamento localizado e pressão causada pelas raízes e organismos do solo. Na estabilização dos agregados agem os seguintes fatores: quantidade e tipo de argila, forças eletrostáticas, matéria orgânica do solo, microrganismos pela ação mecânica e produção de compostos orgânicos, vegetação pela ação mecânica das raízes e fonte de matéria orgânica na superfície do solo (REINERT e REICHERT, 2006).

A agregação de um solo pode ser avaliada, indiretamente, pela determinação do diâmetro médio geométrico dos agregados do solo, que estabelece a classe de tamanho de agregados de maior ocorrência (PASSARIN et al., 2007), pelo diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, que estabelece a porcentagem de agregados de maior tamanho, retidos em cada peneira (SOLER, 2003) e pelo índice de estabilidade dos agregados do solo, que representa a estimativa da agregação do solo como um todo, e não considera a distribuição por classes de agregados (VEIRA, 2010).

A porosidade, que é muito influenciada pela agregação do solo, é o espaço do solo não ocupado por sólidos, sendo ocupado pela água e ar. É definido como a proporção entre o volume de poros e o volume total de um solo. Tem grande importância para o crescimento de raízes e movimento de ar, água e solutos no solo. A textura e a estrutura dos solos explicam em grande parte o tipo, tamanho, quantidade e continuidade dos poros. A classificação mais usual da porosidade do solo refere-se à sua distribuição por tamanho. Os microporos do solo são aqueles que possuem até 50 μm , é uma classe de tamanho de poros que, após ser saturada em água, a retém contra a gravidade. Os macroporos do solo são aqueles que têm mais

de 50 μm , eles são responsáveis pela aeração e pela maior contribuição na infiltração de água no solo (REINERT e REICHERT, 2006).

Os microrganismos do solo têm grande contribuição na dinâmica dos atributos físicos do solo. Dentre os microrganismos do solo, temos os fungos micorrízicos arbusculares, que influenciam, principalmente, a agregação do solo. Essa atuação ocorre, diretamente, da seguinte forma: Processo físico – Por meio das suas hifas externas no solo criando um esqueleto estrutural que participa da aderência das partículas do solo. Processo químico - através da proteína do solo relacionada à glomalina, que as hifas produzem e liberam no solo como exudados ou após a decomposição das hifas e esporos (GONZALES CHAVES et al., 2004).

Muitos trabalhos relatam benefícios da micorrizas arbusculares na estabilização dos agregados do solo. Por exemplo, Vilela et al. (2012) e Nobrega et al. (2001) que observaram que a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares foi eficiente em promover o aumento da estabilidade dos agregados no solo. Fato também verificado por Caravaca et al. (2006) que observaram aumento na estabilidade dos agregados no solo, seis meses após a inoculação de um combinado de espécies de fungos micorrízicos arbusculares. Eles atribuíram esse fato, em parte, as hifas dos fungos micorrízicos arbusculares, devido ao seu efeito físico, e ao poder cimentante de seus exudados. Corroborando a hipótese da melhoria na estabilidade de agregados devido as hifas dos fungos micorrízicos arbusculares Albuquerque et al. (2005), avaliando sistemas de plantio direto e convencional observaram que a estabilidade dos agregados do solo correlacionou-se positivamente com comprimento de hifas dos fungos micorrízicos arbusculares.

O diâmetro dos agregados do solo também pode aumentar devido aos fungos micorrízicos arbusculares. Como constatado por Bedini et al. (2009) que avaliando a agregação em função da inoculação de fungos micorrízicos do gênero *Glomus* verificaram que o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo correlacionaram-se positivamente com o comprimento total das hifas de fungos micorrízicos arbusculares. Resultado idêntico ao apresentado por Vilela et al. (2014) que verificaram que a inoculação com fungo micorrízico arbuscular da espécie *Glomus macrocarpum* aumentou o diâmetro médio geométrico e diâmetro médio ponderado dos agregados do solo. Fato também observado por Cardona et al. (2016) que verificaram que a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares associado a

composto orgânico aumentaram o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo em comparação a adubação química.

A proteína do solo relacionada à glomalina é insolúvel em água (BEDINI et al., 2009) e possui efeito cimentante nos agregados (TRUBER, 2013), tendo alta estabilidade no solo, podendo permanecer por 42 anos até sua mineralização completa, maior que o período das hifas que não ultrapassa 7 dias (RILLIG et al., 2001; ZHU e MILLER, 2003). Devido a essas características a proteína do solo relacionado à glomalina tem grande potencial para contribuir com a melhoria dos atributos físicos do solo. Como verificado por Bedini et al. (2009) que avaliando a agregação do solo em função da inoculação de fungos micorrízicos da espécie *Glomus* verificaram que o diâmetro médio ponderado correlacionou-se positivamente com a proteína do solo relacionada à glomalina. Fato semelhante foi constatado por Rillig (2004) que cita que existe relação positiva entre a quantidade de proteína do solo relacionada à glomalina e os agregados estáveis do solo.

Os fungos micorrízicos arbusculares também atuam na densidade do solo, agregação do solo e porosidade do solo pelo efeito da matéria orgânica do solo, pois existe elevada importância das hifas e substâncias dos fungos micorrízicos arbusculares no acúmulo de matéria orgânica no solo. Fato observado por Braghirolli et al. (2012) que afirmam que as hifas dos fungos micorrízicos arbusculares representam cerca de 5 a 20% de toda a biomassa microbiana dos solos e chegam a 1 t ha⁻¹ nos primeiros 0,20 m do solo. A proteína do solo relacionada à glomalina também contribui com a matéria orgânica do solo, pois de acordo com Rillig et al. (2001) essa proteína pode representar até 4% do carbono orgânico do solo. Fato observado em trabalhos de Silva et al. (2012) e He et al. (2010) onde ocorreu relação linear positiva entre o carbono orgânico total do solo e proteína do solo relacionada à glomalina. Outra substância encontrada na parede celular dos esporos e hifas, que pode ter elevada importância nos atributos físicos do solo devido às suas características, é a quitina, que é um polímero de N-acetilglucosamina derivativo da glucose (BRAGHIROLI et al., 2012). A meia-vida da quitina, uma substância recalcitrante e de difícil decomposição, em solos não perturbados e agregados, pode chegar a 25 anos (RILLIG et al., 2001).

Além do aumento na produção de matéria orgânica do solo, diretamente, pelo fungo micorrízico arbuscular, indiretamente as micorrizas arbusculares aumentam o acúmulo de matéria orgânica no solo por meio das plantas, pois a

matéria seca em plantas micorrizadas aumenta. Como constatado por Campos et al. (2010) que verificaram que a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares incrementou a produção de matéria seca da parte aérea e do sistema radicular do milho. E trabalho de Silva et al. (2006) que verificaram que a produção de massa seca da soja aumentou com a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e correlacionou-se positivamente com a colonização micorrízica.

É conhecido o efeito benéfico da maior produção de matéria seca pelas plantas nos atributos físicos do solo, como afirma Vieira (2010) que cita que a prática da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares é benéfica, promovendo o crescimento de plantas, aumentando o estoque de carbono e, conseqüentemente, a estabilidade dos agregados devido ao maior acúmulo de matéria orgânica do solo. Como constatado por Kohler et al. (2009) que citam que o maior crescimento de plantas aumentou a estabilidade dos agregados. Afirmação idêntica a realizada por Garcia e Rosolem (2010) que verificaram que a adoção de plantas de cobertura aumentou o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo devido à maior produção de matéria seca da parte aérea e raiz das poaceas.

A fração de partículas sólidas orgânicas no solo tem grande influência nos atributos físicos do solo, pois de acordo com Tisdall e Oades (1982) a matéria orgânica do solo possui agentes ligantes que atuam unindo partículas primárias livres e agregados do solo do tamanho de silte, desta forma, aumentando o diâmetro dos agregados do solo. Assim, a matéria orgânica do solo pode alterar positivamente a estabilidade dos agregados e o diâmetro médio ponderado e geométrico dos agregados do solo (WICK et al., 2009), a densidade do solo (SILVA et al., 2006a) e porosidade do solo.

Os fungos micorrízicos arbusculares podem atuar sobre os outros microrganismos do solo, que apresentam forte efeito agregante em função dos produtos gerados de seus metabolismos e do efeito físico com que as hifas dos fungos em geral exercem sobre as partículas do solo, conferindo maior estabilidade aos agregados (VIEIRA, 2010; SALTON et al., 2008). Nesse sentido, Hungria et al. (2009) verificaram que o aumento da atividade microbiana está ligado à deposição de material orgânico no solo e colonização micorrízica. Vilela et al. (2012) também observaram efeito sinérgico entre os fungos micorrízicos arbusculares introduzidos e a comunidade microbiana nativa no solo, pois a inoculação com fungos

micorrízicos arbusculares aumentou em 9,4% na estabilidade dos agregados, sendo sua contribuição mais evidente em solo não esterilizado.

Como estimulante à micorrização, a formononetina pode influenciar diversos parâmetros da colonização micorrízica, alterando a resposta dos fungos micorrízicos arbusculares nos atributos físicos do solo. Considerando que a formononetina melhora a colonização micorrízica, pode-se dizer que esse estimulante tem potencial para melhorar os atributos físicos do solo. São poucos os trabalhos encontrados na literatura que avaliar esse potencial.

Diversos fatores podem influenciar a resposta dos fungos micorrízicos arbusculares e formononetina nos atributos físicos do solo, por exemplo, a espécie de planta, a espécie de fungo micorrízico arbuscular, e o fósforo. O fósforo é um dos fatores que mais se destaca, pois de acordo com Moreira e Siqueira (2006) sua concentração na planta controla o desenvolvimento das micorrizas arbusculares.

Efeitos do fósforo nos atributos físicos do solo

O fósforo é o segundo elemento que mais limita a produtividade nos solos tropicais (GATIBONI, 2003), sendo que o teor total médio de fósforo na litosfera é de 2,8 g kg⁻¹ de P₂O₅. Esse macronutriente encontra-se em compostos que estão distribuídos em rochas, minerais, plantas e animais. No solo pode ser encontrado nas formas orgânicas e inorgânicas (DECHEN e NACHTIGALL et al., 2007).

O fósforo orgânico representa de 5 a 80% do total no solo, sendo encontrado na forma de fosfolipídios, ácidos nucleicos e fosfatos de inosol. Para ser absorvido pela planta precisa ser mineralizado (HAVLIN et al., 1999). O fósforo inorgânico divide-se em três partes: o fósforo presente nos minerais primários ou estruturais, o fósforo adsorvido pelas partículas do solo e o fósforo na solução do solo (GATIBONI, 2003).

Na solução do solo, em pH abaixo de 7, o fósforo predomina na forma de anion monovalente (H₂PO₄⁻) e em pH acima de 7, predomina na forma de anion divalente (HPO₄⁻²), quando o pH encontra-se acima de 9 predomina na forma PO₄⁻³. A maior parte da absorção de fósforo pelas plantas ocorre na forma H₂PO₄⁻ em seguida por HPO₄⁻². Em solos com elevada acidez, pode ocorrer alta concentração de fósforo precipitado com ferro e alumínio. Em solos alcalinos e calcários pode ocorrer

na forma de hidroxiapatita e carbonatoapatita (DECHEN e NACHTIGALL et al., 2007).

No solo, o fósforo pode ter sua disponibilidade reduzida devido ao fenômeno da adsorção pelos minerais do solo ou através da imobilização por organismos do solo. Os solos altamente intemperizados, como é o caso de alguns Latossolos da região dos Cerrados, que podem apresentar elevado intemperismo em comparação a outros Latossolos, possuem elevada capacidade de reter o fósforo, devido a sua eletropositividade, que favorece a adsorção do íon fosfato que possui carga negativa no solo (NOVAIS et al., 2007). O processo de adsorção tem uma fase inicial, que é rápida, ocorrendo nesse estágio uma atração eletrostática, seguida pela adsorção por óxidos, por meio da troca de ligantes (LABOSKI e LAMB, 2003). Nessa reação ocorre a troca de ligantes, como OH^- e OH_2^- , da superfície dos óxidos pelos fosfatos da solução que é uma ligação covalente (PARTITT, 1978).

Os efeitos do fósforo nos atributos físicos do solo podem ser diretos, pois atua no balanço das cargas do solo, devido ser preferencialmente um ânion no solo. E, pode atuar indiretamente, devido ao seu efeito no desenvolvimento das micorrizas arbusculares, das plantas e outros microrganismos do solo. E esse efeito pode ser benéfico ou maléfico, dependendo, principalmente, da sua concentração no solo.

Por ser um anion na solução do solo, o fósforo altera o balanço de cargas no solo. Essa alteração foi verificada por Ribeiro et al. (2011) que citam que a adsorção de fósforo tornou a superfície das partículas de um Latossolo Vermelho distroférico mais eletronegativa, pois o fósforo encontra-se, preferencialmente, como um anion no solo, podendo ocupar as cargas positivas das partículas do solo. Fato idêntico é citado por Silva et al. (2001) que afirmam que em solos com balanço de carga líquida positiva a adsorção de fosfato aumenta a quantidade de cargas negativas e diminui o excedente de cargas positivas, aumentando a atração eletrostática entre as partículas e diminuindo a dispersão até o ponto em que o balanço de carga é zero. Nesse caso, devido o fósforo possuir carga negativa no solo e ocupar as cargas positivas presentes nas partículas do solo, ocorre maior equilíbrio na quantidade de cargas positivas e negativas do solo, aumentando a floculação das partículas, conseqüentemente, favorecendo a agregação. A atração entre as partículas aumenta até o momento em que o solo atinge o ponto de carga zero.

Quando solos eletropositivos chegam ao ponto de carga zero, ao continuar adicionando-se carga negativa no solo, o íon fosfato faz com que aumente

o predomínio de cargas negativas no solo, favorecendo a dispersão. Com aumento nas doses de fósforo e prosseguindo o fenômeno da adição de cargas negativas no solo, o fósforo pode prejudicar os atributos físicos do solo. E esse fato é constatado por Silva et al. (2001) que verificaram que aplicação de fósforo até atingir a capacidade máxima de adsorção, em casa de vegetação, em um Latossolo Vermelho distroférico, reduziu o efeito cimentante dos óxidos de ferro e alumínio e alterou a agregação do solo, comprometendo as propriedades físicas e hídricas do solo. Lima et al. (2000) e Silva et al. (1999) também citam influência negativa do uso excessivo de fósforo no volume de poros e estabilidade dos agregados do solo, em experimento em casa de vegetação.

O fósforo pode influenciar o efeito dos fungos micorrízicos arbusculares nos atributos físicos do solo, devido ao seu efeito na colonização micorrízica. Como constatado por Sainz e Arines (1988) que ao utilizarem pequenas doses de fósforo em solos com menor disponibilidade desse nutriente verificaram maior produção de hifas externas dos fungos micorrízicos arbusculares, fato que pode beneficiar a agregação do solo. Nobrega et al. (2001) também trabalhando com efeito do fósforo na micorrização e atributos físicos, verificaram que, na soja, a maior dose de fósforo aumentou, indiretamente, o diâmetro médio geométrico dos agregados do solo e a estabilidade dos agregados do solo, devido a maior produção de hifas pelos fungos micorrízicos arbusculares.

A proteína do solo relacionada à glomalina, que é muito importante para a atuação dos fungos micorrízicos arbusculares nos atributos físicos do solo, pode ter sua produção afetada pelo fósforo, devido ao seu efeito na infecção e colonização micorrízica. Como constatado por Wuest et al. (2005) e Lovelock et al. (2004) que avaliaram o efeito de diferentes nutrientes na concentração de proteína do solo relacionada à glomalina, dentre eles o fósforo, e concluíram que em solos menos férteis os teores de proteína do solo relacionada à glomalina total são maiores.

Além de influenciar a colonização micorrízica, o fósforo altera o acúmulo de massa pela planta, principalmente das raízes. Isso ocorre, pois de acordo com Dechen e Nachatigall, (2007) o fósforo tem papel importante na fotossíntese, respiração, armazenamento e transferência de energia, como o ATP. É um dos componentes de proteínas, enzimas, ácidos nucleicos e substratos metabólicos. Assim, está ligado, principalmente, ao maior crescimento de raízes. Nesse contexto, Nobrega et al. (2001) verificaram na soja, que a maior dose de fósforo aumentou,

indiretamente, o diâmetro médio geométrico dos agregados do solo, segundo os autores devido a maior produção de raízes pelas plantas. As raízes possuem papel importante na formação dos agregados, pois podem atuar promovendo a aproximação das partículas do solo, e pelo estímulo a atividade microbiana devido à liberação de exudados e adição de matéria orgânica ao solo (SALTON et al., 2008). O maior acúmulo de massa no solo é benéfico, pois aumenta a fração de matéria orgânica do solo, que é muito importante para a melhoria dos atributos físicos do solo.

Teores adequados de fósforo proporcionam melhor desenvolvimento dos seres vivos do solo, devido o maior acúmulo de matéria orgânica no solo, que é a fonte de energia dos microrganismos. Isso é importante, pois de acordo com Vieira (2010) a comunidade microbiana apresenta forte efeito agregante em função dos produtos gerados de seus metabolismos e do efeito físico com que as hifas dos fungos exercem sobre as partículas do solo, conferindo maior estabilidade aos agregados.

Assim, observa-se que o fósforo devido ao seu efeito na planta, no solo, no fungo micorrízico arbuscular e em outros microrganismos do solo tem grande influência nos atributos físicos do solo. A formononetina devido ao seu efeito estimulante à micorrização também pode alterar os atributos físicos do solo, mas esse efeito estimulatório pode ser afetado pelo fósforo, assim a combinação da formononetina e do fósforo deve ser amplamente estudada.

Objetivos

Avaliar as alterações em atributos físicos de um Latossolo Vermelho distroférico cultivado com soja e milho submetidos à adubação fosfatada e aplicação de um estimulante à micorrização na semente.

Objetivos específicos

Verificar alterações na colonização micorrízica no milho e na soja devido aplicação da formononetina e fósforo;

Verificar alterações na densidade, porosidade e agregação do solo devido aplicação da formononetina e fósforo no milho e na soja;

Verificar efeito da formononetina e fósforo no milho e na soja na produção de proteína do solo relacionada à glomalina.

Hipótese

Na literatura são poucos os trabalhos que avaliam o efeito da aplicação da formononetina como estimulante à micorrização nos atributos físicos do solo, e existem diversos relatos sobre os efeitos benéficos dos fungos micorrízicos arbusculares na agregação do solo. Assim, é importante esse estudo, pois a formononetina pode influenciar, indiretamente, a qualidade física do solo.

Com relação ao fósforo, nota-se que os resultados do seu uso no solo, apresentam diferentes respostas nos atributos físicos do solo, mas de maneira geral pode-se dizer que, doses dentro da recomendação para o solo e cultura, é benéfico ao solo devido ao adequado desenvolvimento das plantas, fungos micorrízicos arbusculares e outros microrganismo do solo que podem contribuir com o fornecimento de matéria orgânica e exudados ao solo, interferindo na agregação e, por consequência, na qualidade física do solo.

Nesse contexto, tem-se como hipótese que a aplicação da formononetina como estimulante à micorrização, quando associada ao fósforo em solo cultivado com soja e milho promove alteração nos atributos físicos do solo, com destaque para a agregação, de um Latossolo Vermelho distroférico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, J. A.; MAFRA, A. L.; FONTOURA, S. M. V.; BAYER, C.; PASSOS, J. F. M. Avaliação de sistemas de preparo e calagem em um Latossolo Bruno aluminoso. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 963-975, 2005.
- ALBUQUERQUE, J. A.; BAYER, C.; ERNANI, P. R.; MAFRA, A. L.; FONTANA, E. C. Aplicação de calcário e fósforo e estabilidade da estrutura de um solo ácido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 799-806, 2003.
- BAPTISTA, M. J.; SIQUEIRA, J. O. Efeitos de flavonoides na germinação e no crescimento assimbiótico do fungo micorrízico arbuscular *Gigaspora gigantea*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 6, p. 127-134, 1994.
- BECK, V.; ROHR, U.; JUNGBAUER, A. Phytoestrogens derived from red clover: in alternative to estrogen replacement therapy?. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 94, p. 499-518, 2005.
- BEDINI, S.; PELLEGRINO, E.; AVIO, L.; PELLEGRINI, S.; BAZZOFFI, P.; ARGESE, E.; GIOVANNETTI, M. Changes in soil aggregation and glomalin-related soil protein content as affected by arbuscular mycorrhizal fungal species *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 1491-1496, 2009.
- BRAGHIROLI, F. L.; GROTT, A. F.; PESCADOR, R.; UHLMANN, A.; STÜRMER, S. L.; Fungos micorrízicos arbusculares na recuperação de florestas ciliares e fixação de carbono no solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, p. 733-743, 2012.
- CAMPOS, D. T. S.; ANDRADE, J. A. C.; CASSIOLATO, A. M. R. Crescimento e micorrização de genótipos de milho em casa de vegetação. **Bragantia**, v. 69, p. 555-562, 2010.
- CARAVACA, F.; ALGUACIL, M. M.; AZCÓN, R.; ROLDÁN, A. Formation of stable aggregate in rhizosphere soil of *Juniperus oxycedrus*: Effect of AM fungi and organic amendments. **Applied Soil Ecology**, v. 33, p. 30-38, 2006.
- CARDONA, W. A.; BENAVIDES, M. M. B.; MONTOYA, W. C.; Efecto de fertilizantes químicos y orgánicos sobre la agregación de un suelo cultivado con *Musa acuminata* AA. **Acta Agronomica**, v. 65, p. 144-148, 2016.
- CARDOSO, E. J. B. N.; NAVARRO, R. B.; NOGUEIRA, M. A. Absorção e translocação de manganês por plantas de soja micorrizadas, sob doses crescentes deste nutriente. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 415-423, 2003.
- CARDOSO FILHO, J. A.; PACOVSKY, R. S.; CARDOSO, E. J. B. N. Growth and metabolic activity of the extra-matrical mycelium of endomycorrhizal maize plants. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 807-815, 1999.

CARRENHO, R.; COSTA, S. M. G.; BALOTA, E. L.; COLOZZI FILHO, A. Fungos micorrízicos arbusculares em agroecossistemas brasileiros In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: Editora UFLA, 2010. p. 215-250.

CORDEIRO, M. A. S.; FERREIRA, D. A.; PAULINO, H. B.; SOUZA, C. R. F.; SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. Mycorrhization stimulant based in formononetin associated to fungicide and doses of phosphorus in soybean in the Cerrado. **Bioscience Journal**, v. 31, p. 1062-1070, 2015.

COSTA, C. M. C.; MAIA, L. C.; CAVALCANTE, U. M. T.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de dois genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 893-901, 2001.

DAVIES JUNIOR, F. T.; CALDERÓN, C. M.; HUAMAN, Z.; GÓMEZ, R. Influence of a flavonoid (formononetin) on mycorrhizal activity and potato crop productivity in the highlands of Peru. **Scientia Horticulturae**, v. 106, p. 318-329, 2005.

DAVIES JUNIOR, F. T.; EGILLA, J. N.; MILLER JUNIOR, J. C.; GROSSI, J. A. G. Influence of mycorrhiza and an isoflavonoid on plant growth and gas exchange of potatoes started from minitubers. **Scientia Horticulturae**, v. 34, p. 498, 1999.

DECHEN, A. N.; NACHTIGALL, G. R. Elementos requeridos à nutrição de plantas. In: NOVAIS, R. F.; ALVARES V, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (ed.). **Fertilidade do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 91-132.

DRIVER, J. D.; HOLBEN, W. E.; RILLIG, M. C. Characterization of glomalin as hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, p. 101-106, 2005.

FERNANDES, A. B.; SIQUEIRA, J. O.; MENEZES, M. A. L.; GUEDES, G. A. A. Efeito diferenciado do fósforo sobre o estabelecimento e efetividade da simbiose micorrízica vesicular-arbusculares em milho e soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 11, p. 101-108, 1987.

GARCIA, R. A.; ROSOLEM, C. A. Agregados em um Latossolo sob sistema plantio direto e rotação de culturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 1489-1498, 2010.

GATIBONI, L. C. **Disponibilidade de formas de fósforo do solo às plantas**. 2003. 231f. Tese (Doutorado em Biodinâmica do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS.

GONZALES-CHAVEZ, M. C. A.; GUTIERREZ-CASTORENA, M. C.; WRIGHT, S. Hongos micorrízicos arbusculares en la agregación del suelo y su estabilidad. **Terra Latinoamericana**, v. 22, p. 507-514, 2004.

HAVLIN, J. L.; BEATON, J. D.; TISDALE, S. L.; NELSON, W. L. **Soil fertility and fertilizers: An introduction to nutrient management**. 6. ed. New Jersey: Prentice Hall, 1999. 499p.

HE, X.; LI, Y.; ZHAO, L. Dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in the rhizosphere of *Artemisia ordosica* Krasch. In Mu Us Sandland, China. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, p. 1313-1319, 2010.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; BRANDÃO JÚNIOR, O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R. A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology** v. 42, p. 288-296, 2009.

INVAM. **International culture collection of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi**. Disponível em: <<http://invam.caf.wvu.edu>>. Acesso em: 8 fev. 2012.

KOHLER, J.; CARAVACA, F.; AGUACIL, M. M.; ROLDÀN, A. Elevated CO₂ increases the effect of an arbuscular mycorrhizal fungus and a plant-growth-promoting rhizobacterium on structural stability of a semiarid agricultural soil under drought conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 1710-1716, 2009.

LABOSKI, C. A. M.; LAMB, J. A. Changes in soil test phosphorus concentration after application of manure or fertilizer. **Soil Science Society of America Journal**, v. 67, p. 544-554, 2003.

LAMBAIS, M. R.; RÍOS R.; ANDRADE, R. M. Antioxidant responses in bean (*Phaseolus vulgaris*) roots colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v. 160, p. 421-428, 2003.

LIEBIG, M.; BOGGS, L. C.; JOHNSON, J. M. F.; WRIGHT, S.; BARBOUR, N. Cropping system effects on soil biological characteristics in the great plains. **Renewable Agriculture and Food Systems**, v. 21, p. 36-48, 2006.

LIMA, J. M.; ANDERSON, S. J.; CURI, N. Phosphate induced clay dispersion as related to aggregate size and composition in Hapludoxs. **Soil Science Society of America Journal**, v. 64, p. 892-897, 2000.

LOVELOCK, C. E.; WRIGHT, S. F.; CLARK, D. A.; RUESS, R. W. Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. **Journal of Ecology**, v. 92, p. 278-287, 2004.

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

MIRANDA, J. C. C.; MIRANDA, L. N. Micorriza arbuscular. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. **Biologia dos solos dos Cerrados**. Planaltina: Embrapa- CPAC, 1997. p. 69-123.

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

NAIR, M. G.; SAFIR, G. N.; SIQUEIRA, J. O. Isolation and identification of vesicular-arbuscular mycorrhiza stimulatory compounds from clover (*Trifolium repens*) roots. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, p. 434-439, 1991.

NICHOLS, K. A.; WRIGHT, S. F. Comparison of glomalin and humic acid in eight native US soils. **Soil Science**, v. 170, p. 985-997, 2005.

NOBREGA, J. C. A.; LIMA, J. M.; CURI, N.; SIQUEIRA, J. O.; MOTTA, P. E. F. Fosfato e micorriza na estabilidade de agregados em amostras de Latossolos cultivados e não cultivados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 11, p. 1425-1435, 2001.

NOGUEIRA, M. A.; CARDOSO, E. J. B. N. Produção de micélio externo por fungos micorrízicos arbusculares e crescimento da soja em função de doses de fósforo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 329-338, 2000.

NOVAIS, C. B.; SIQUEIRA, J. O. Aplicação de formononetina na colonização e esporulação de fungos micorrízicos em braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 496-502, 2009.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J.; NUNES, F. N. Fósforo. In: NOVAIS, R. F.; ALVARES V., V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (ed.). **Fertilidade do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 471-550

PARTITT, R. L. Anion adsorption by soils and soil materials. **Advances in Agronomy**, v. 30, p.1-50, 1978.

PASSARIN, A. L.; RODRIGUEIRO, E. L.; ROBAINA, C. R. P.; MEDINA, C. C. Caracterização de agregados em um Latossolo Vermelho distroférrico típico submetido a diferentes doses de vinhaça. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 1255-1260, 2007.

PEREIRA, L. S.; PRADO, I. G. O.; LEAL, P. L.; SIQUEIRA, J. O.; Efeito da formononetina na esporulação de fungos micorrízicos arbusculares em solo contaminado com arsênio. **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, p. 1-5, 2011.

PURIN, S.; KLAUBERG FILHO, O. Glomalina: Nova abordagem para entendermos a biologia dos fungos micorrízicos arbusculares. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: Editora UFLA, 2010. p. 383-414.

PURIN, S.; RILLIG, M. C. The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin: Limitations, progress, and new hypothesis for its function. **Pedobiologia**, v. 51, p. 123-130, 2007.

- REINERT, D. J.; REICHERT, J. M. **Propriedades físicas do solo**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2006. 18p.
- RIBEIRO, B. T.; LIMA, J. M.; CURI, N.; OLIVEIRA, G. C.; LIMA, P. L. T. Cargas superficiais da fração argila de solos influenciadas pela vinhaça e fósforo. **Química Nova**, v. 34, p. 5-10, 2011.
- RILLIG, M. C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 28, p. 355-363, 2004.
- RILLIG, M. C.; STEINBERG, P. D. Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: a mechanism of habitat modification?. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 34, p. 1371-1374, 2002.
- RILLIG, M. G.; WRIGHT, S. F.; NICHOLS, K. A.; SCHMIDT, W. F.; TORN, M. S. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. **Plant and Soil**, v. 233, p. 167-177, 2001.
- ROMERO, A. G. F. **Avaliação agrônômica de formulações de isoflavonoide estimulante da micorrização no milho (*Zea mays* L.)**. 1999. 40f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.
- ROSIER, C. L.; HOYE, A. T.; RILLIG, M. C. Glomalin-related soil protein: Assessment of current detection and quantification tools. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, p. 2205-2211, 2006.
- SAINZ, M. J.; ARINES, J. Effect of indigenous and introduced vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on growth and phosphorus uptake of *Trifolium pratense* and on inorganic P fractions in a Cambisol. **Biology and Fertility of Soils**, v. 6, p. 55-60, 1988.
- SALTON, J. C.; MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; BOENI, M.; CONCEIÇÃO, P. C.; FABRICIO, A. C.; MACEDO, M. C. M.; BROCH, D. L. Agregação e estabilidade de agregado do solo em sistemas agropecuários em Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 11-21, 2008.
- SILVA, C. F.; MARTINS, M. A.; SILVA, E. M. R.; PEREIRA, M. G.; CORREIA, M. E. F. Influência do sistema de plantio sobre atributos dendrométricos e fauna edáfica, em área degradada pela extração de argila. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, p.1742-1751, 2013.
- SILVA, C. F.; ARAÚJO, J. L. S.; SILVA, E. M. R.; PEREIRA, M. G.; FREITAS, M. S. M.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; MARTINS, M. A. Fungos micorrízicos arbusculares e proteína do solo relacionada à glomalina em área degradada por extração de argila e revegetada com eucalipto e acácia. **Ciência Florestal**, v. 22, p. 749-761, 2012.

SILVA, A. C.; SANTOS, J. B.; KASUYA, M. C. M.; SILVA, A. A.; MANABE, A. Micorrização e épocas de dessecação de *Brachiaria brizantha* no desenvolvimento da soja. **Planta Daninha**, v. 24, p. 271-277, 2006.

SILVA, M. A. S.; MAFRA, A. L.; ALBUQUERQUE, A.; ROSA, J. D.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Propriedades físicas e teor de carbono orgânico de um Argissolo Vermelho sob distintos sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 329-337, 2006a.

SILVA, R. B.; LIMA, J. M.; DIAS JUNIOR, M. S.; SILVA, F. A. M. Alterações de propriedades físicas e hídricas de um Latossolo Vermelho distrófico pela adsorção de fósforo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, p. 791-798, 2001.

SILVA, R. B.; LIMA, J. M.; DIAS JUNIOR, M. S. Efeito da adsorção de fosfato em parâmetros físicos e na compressibilidade de solos tropicais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 219-226, 1999.

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

SILVA JÚNIOR, J. P.; SIQUEIRA, J. O. Aplicação de formononetina sintética ao solo como estimulante da formação de micorriza no milho e na soja. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 9, p. 33-39, 1997.

SIQUEIRA, J. O.; LAMBAIS, M. R.; STURMER, S. L. Fungos micorrízicos arbusculares: características, associação simbiótica e aplicação na agricultura. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 25, p. 12-21, 2002.

SIQUEIRA, J. O.; KLAUBERG FILHO, O. Micorrizas arbusculares: a pesquisa brasileira em perspectiva. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa: SBCS, 2000. p. 235-264.

SIQUEIRA, J. O.; PEREIRA, M. A. M.; SIMÃO, J. B. P.; MOREIRA, F. M. S. Efeitos da formononetina (7-Hidroxi, 4^o metoxi Isoflavona) na colonização micorrízica e crescimento do milho em solo contendo excesso de metais pesados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 571-577, 1999.

SIQUEIRA, J. O.; BROWN, D. G.; SAFIR, G. R.; NAIR, M. G. Field application of the VA-mycorrhiza stimulating isoflavonoid formononetin (RhizotropinTM) on corn and soybean in Brazil. In: THE INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MANAGEMENT OF MYCORRHIZAS IN AGRICULTURE, HORTICULTURE AND FORESTRY, 1992, Perth. **Proceedings...** Perth: University of Western Australia, 1992. 132p.

SIQUEIRA, J. O.; SAFIR, G. R.; NAIR, M. G. Stimulation of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation and growth of white clover by flavonoid compounds. **New Phytologist**, v. 118, p. 87-93, 1991.

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. London: Academic Press, 2008. 815 p.

SOARES, C. R. F. S.; CARNEIRO, M. A. Micorriza arbuscular na recuperação de áreas degradadas. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: Editora UFLA, 2010. 716p.

SOARES, A. C. F.; MARTINS, M. A. Influência de fungos micorrízicos arbusculares, associada à adição de compostos fenólicos, no crescimento de mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpus*). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 731-740, 2000.

SOLER, M. A. **Agregação e atributos físico-hídricos do solo em sistemas conservacionistas de manejo**. 2003. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

SOUZA, C. S.; MENEZES, R. S. C.; SAMPAIO, E. V. S. B.; MAIA, L. C.; OEHL, F.; LIMA, F. S. Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi after organic fertilization in maize, cowpea and cotton intercropping systems. **Acta Scientiarum**, v. 34, p. 149-156, 2012.

SOUZA, F. A.; STÜRMER, S. L.; CARRENHO, R.; TRUFEM, S. F. B. Classificação e taxonomia de fungos micorrízicos arbusculares e sua diversidade e ocorrência no Brasil. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras, Editora UFLA, 2010. p.15-74

SOUZA, F. A.; TRUFEM, S. F. B.; ALMEIDA, D. L.; SILVA, E. M. R.; GUERRA, J. G. M. Efeito de pré-cultivos sobre o potencial de inóculo de fungos micorrízicos arbusculares e produção da mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 1913-1923, 1999.

STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Brazilian ecosystems. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (ed.). **Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems**. Wallingford: CABI-Pub, 2006. p. 206-236.

TRESEDER, K. K.; CROSS, A. Global distributions of arbuscular mycorrhizal fungi. **Ecosystems**, v. 9, p. 305-316, 2006.

TISDALL, J. M.; OADES, J. M. Organic matter and water-stable aggregates in soil. **Journal of Soil Science**, v. 33, p.141-163, 1982.

TRUBER, P. V. **Agregação do solo e ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em sistemas de rotação de culturas**. 2013. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP

VIEIRA, L. L. **Influência de atributos físicos, químicos e microbiológicos na agregação de solos sob diferentes sistemas de uso, em Maria da Fé, MG**. 2010.

61f. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Itajubá, Itajubá-MG.

VILELA, L. A. F.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; PAULINO, B. H.; SIQUEIRA, J. O.; SANTOS, V. L. S.; CARNEIRO, M. A. C. Arbuscular mycorrhizal fungus in microbial activity and aggregation of a Cerrado oxisol in crop sequence. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, p. 34-42, 2014.

VILELA, L. A. F.; CARNEIRO, M. A. C.; SANTOS, V. L. S.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; BARCELOS, J. G. E.; BARROS, J. Fungos micorrízicos arbusculares, atividade microbiana e estabilidade de agregados de um Latossolo Vermelho de Cerrado. FERTBIO, 2012, Maceió. **Resumo expandido...**, Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2012.

WICK, A. F.; INGRAM, L. J.; STAHL, P. D. Aggregate and organic matter dynamics in reclaimed soils as indicated by stable carbon isotopes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 201-209, 2009.

WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. A. Quantification of arbuscular mycorrhizal fungi activity by the glomalin concentration on hyphal traps. **Mycorrhiza**, v. 8, p. 283-285, 1999.

WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. A. Survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v. 198, p. 97-107, 1998.

WRIGHT, S. F.; SNYDER, M. F.; MORTON, J. B.; UPADHYAYA, A. Time-course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. **Plant and Soil**, v. 181, p. 193-203, 1996.

WUEST, S. B. CAESAR-TON-THAT, T. C.; WRIGHT, S. F.; WILLIAM, J. Organic matter addition, N, and, residue burning effects on infiltration, biological, and physical properties of an intensively tilled siltloam soil. **Soil and Tillage Research**, v. 84, p. 154-167, 2005.

ZHU, Y. G.; MILLER, R. M. Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil – plant systems. **Trends Plant Science**, v. 8, p. 407-409, 2003.

ARTIGO 1

ATRIBUTOS FÍSICOS DE UM LATOSSOLO VERMELHO DISTROFÉRRICO CULTIVADO COM MILHO TRATADO COM ESTIMULANTE À MICORRIZAÇÃO E FÓSFORO

Resumo: Os fungos micorrízicos arbusculares melhoram os atributos físicos do solo, mas é uma técnica de difícil utilização no campo. Nas grandes áreas agrícolas a forma mais promissora de utilização destes fungos é por meio da aplicação de estimulantes à micorrização. A substância com maior destaque para tanto é a formononetina. Diversos fatores podem influenciar a resposta da formononetina, sendo o fósforo um dos mais importantes. Objetivou-se avaliar as alterações em atributos físicos de um Latossolo Vermelho distroférico cultivado milho submetido à adubação fosfatada e aplicação de um estimulante à micorrização na semente. O experimento foi realizado nas safras de inverno de 2011 e 2012, em uma área da fazenda experimental da Universidade Federal da Grande Dourados, município de Dourados-MS, com o cultivo do milho, submetido ao mesmo tratamento nas parcelas e subparcelas nos dois anos de condução do experimento, sendo as análises realizadas apenas no segundo ano. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, no esquema de parcelas subdivididas, com cinco repetições. Os tratamentos foram: fósforo nas parcelas (0; 17,5; 35 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅), tendo como fonte o superfosfato triplo, e nas sub-parcelas doses de formononetina (0, 25, 50, 100 g ha⁻¹), tendo como fonte o produto PHC 506, aplicado nas sementes. Avaliaram-se a taxa de colonização nos estádios Vt, R2, R4 e R6. No estádio R6, avaliaram-se o número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares no solo, o teor de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível e o teor de proteína do solo relacionada à glomalina total, na camada 0,00 – 0,20 m. Nas camadas 0,00 – 0,05 m e 0,05 – 0,10 m avaliaram-se a densidade do solo, macroporosidade do solo, microporosidade do solo, porosidade total do solo, diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, diâmetro médio geométrico dos agregados do solo, índice de estabilidade dos agregados do solo. Verificou-se aumento na taxa de colonização micorrízica no milho, no estádio R4, com uso de fósforo na ausência da aplicação de formononetina, e na taxa de colonização, no estádio R6, com uso da formononetina na presença de 17,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅. Na camada 0,00 – 0,05 m, o fósforo na presença de 100 g ha⁻¹ de formononetina aumentou a porosidade total do solo, mas essa resposta dependeu da dose de fósforo, pois a resposta foi quadrática. Na mesma camada, a formononetina na presença de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ aumentou linearmente a porosidade total do solo e o diâmetro médio geométrico dos agregados do solo. Ainda nesta camada, a formononetina na presença de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ proporcionou aumento na porosidade total do solo, e na presença de 35 kg ha⁻¹ de P₂O₅ o estimulante aumentou o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo e o diâmetro médio geométrico dos agregados do solo, e na presença de 35 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ a formononetina aumentou o índice de estabilidade dos agregados do solo. No entanto, estes aumentos dependeram da dose de formononetina, pois a resposta foi quadrática. Concluiu-se que a adubação fosfatada até a dose recomendada e a formononetina estimulam a colonização

micorrízica no milho, que por sua vez, melhorou a porosidade do solo, no caso do fósforo, e melhorou a porosidade do solo, e a formação e estabilidade dos agregados do solo, no caso da formononetina, sendo essas melhorias na camada 0,00 – 0,05 m.

Palavras-chaves: Formononetina, estabilidade de agregado, física do solo, adubação fosfatada, *Zea mays*.

PHYSICAL ATTRIBUTES OF OXISOL CULTIVATED WITH CORN TREATED WITH MYCORRHIZAL STIMULANT AND PHOSPHORUS

Abstract: The arbuscular mycorrhizal fungi improve soil physical attributes, but it is a difficult technical use in the field. In large areas of agricultural the most promising way of using these fungi is by application of mycorrhizal stimulant. The substance with most featured is the formononetin. Several factors may influence the response of formononetin and the phosphorus is one of the most important. This study aimed to evaluate changes in physical attributes of an Oxisol cultivated with corn subjected the application of phosphorus fertilization and mycorrhizal stimulant in the seed. The experiment was conducted in the winter seasons of 2011 and 2012 in an area of the experimental farm of the Universidade Federal da Grande Dourados, county of Dourados-MS, with the cultivation of corn, subject to the same treatment in the plots and subplots in the two years of conducting of the experiment, and the analyzes made only in the second year. The experimental design was a randomized block in a split plot with five repetitions. The treatments were: phosphorus in the plots (0, 17.5, 35 and 70 kg ha⁻¹ of P₂O₅), used as source the triple superphosphate, and doses of formononetin in the sub-plots (0, 25, 50, 100 g ha⁻¹) used as source the commercial product PHC 506, applied in the seeds. We evaluated the mycorrhizal colonization rate in the Vt, R2, R4 and R6 stages. In stage R6, was evaluated number of spores of arbuscular mycorrhizal fungi in the soil, the content of soil protein related to glomalin easily removable and content of soil protein related to glomalin total, in the layer 0.00 - 0.20 m. In the layers 0.00 - 0.05 m and 0.05 - 0.10 m, it evaluated the soil bulk density, soil macroporosity, soil microporosity, total soil porosity, weighted average diameter of soil aggregates, geometric average diameter of soil aggregate and soil aggregate stability index. There was an increase in the colonization rate in corn, in the R4 stage, with use of phosphorus in the absence of application of formononetin and colonization rate in the R6 stage, with use of formononetin in the presence of 17.5 kg ha⁻¹ P₂O₅. In the layer 0.00 - 0.05 m, the phosphorus in the presence of 100 g ha⁻¹ formononetin increased soil total porosity, but this response depended in the phosphorus level because the response was quadratic. In the same layer, formononetin in the presence of 70 kg ha⁻¹ P₂O₅ increased linearly soil total porosity and the geometric average diameter of soil aggregate. Still this layer, formononetin in the presence of 70 kg ha⁻¹ P₂O₅ provided increase in the soil total porosity and in the presence of 35 kg P₂O₅ the formononetin increased the weighted average diameter of soil aggregates and geometric average diameter of soil aggregate and in the presence of 35 and 70 kg ha⁻¹ P₂O₅ the formononetin increased the soil aggregate stability index. However, these increases depended on the formononetin level because the response was quadratic. It was concluded that phosphate fertilizer until level recommended and formononetin stimulate mycorrhizal colonization in corn, which improved the soil porosity, when used the phosphorus and improved soil

porosity and the formation and stability of soil aggregates when used the formononetin, and these improvements in layer 0.00 - 0.05 m.

Keywords: Formononetin, aggregate stability, soil physics, phosphorus fertilization, *Zea mays*.

INTRODUÇÃO

Os fungos micorrízicos arbusculares podem associar-se às raízes do milho e proporcionar vários benefícios à planta e ao solo. Destacando o solo, Gonzales Chaves et al. (2004) citam que esses microrganismos participam do processo de formação e estabilização dos agregados do solo por meio de suas hifas externas criando um esqueleto estrutural que participa da aderência das partículas do solo, bem como a contribuição da proteína do solo relacionada à glomalina, como agente cimentante dos agregados do solo. Muitos trabalhos publicados comprovam os benefícios dos fungos micorrízicos arbusculares do solo, por exemplo, Peng et al. (2013), Daynes et al. (2012), Vilela et al. (2012), Bedini et al. (2009) e Caravaca et al. (2006).

As micorrizas arbusculares podem melhorar a produção de massa seca pelas plantas, como constatado para o milho em trabalho realizado por Campos et al. (2010) e aumentar a atividade de outros microrganismos do solo, pois de acordo com Hungria et al. (2009) a atividade microbiana relaciona-se com a deposição de material orgânico no solo e colonização micorrízica. Esse fato ajuda a melhorar os atributos físicos do solo, com constatado por Kohler et al. (2009) que citam que o maior crescimento de plantas aumentou a estabilidade dos agregados e por Tisdall e Oades (1982) que afirmam que para a formação de agregados do solo os polissacarídeos oriundos de microrganismos do solo tem elevada contribuição, pela ação cimentante no solo.

Apesar dos benefícios dos fungos micorrízicos arbusculares ao solo e a planta, nos dias de hoje a sua utilização em grandes áreas é muito onerosa e de difícil aplicação, devido à elevada quantidade de inoculante necessária, para que o fungo micorrízico arbuscular inoculado tenha condições de concorrer com nativo do solo, e devido ao elevado custo de produção do inoculante, pois o fungo micorrízico arbuscular é biotrófico obrigatório, sendo necessário o cultivo de plantas para produção dos inoculante. Dentre as técnicas que surgem como alternativa para a utilização dos fungos micorrízicos arbusculares em grandes áreas temos a aplicação de produtos capazes de estimular e acelerar a colonização das raízes, destacando-se pela sua facilidade de aplicação no campo (NOVAIS e SIQUEIRA, 2009). Nesse contexto, a utilização de substâncias para estimular e acelerar a colonização

apresenta grande potencial para aumentar a contribuição das micorrizas arbusculares na melhoria dos solos.

Dentre os estimulantes à micorrização estudados, destaca-se a formononetina. Essa substância foi descoberta por Nair et al. (1991), isolada de raízes de plantas de trevo (*Trifolium repens*), produzida em maiores quantidades naquelas estressadas pela deficiência de fósforo. Moreira e Siqueira (2006) comentam que estudos mostram que a formononetina possa aumentar a esporulação e a taxa de colonização por fungos micorrízicos arbusculares nas raízes. Na cultura do milho, Siqueira et al. (1999) verificaram que a aplicação de formononetina aumentou em aproximadamente 50% a colonização das raízes por fungos micorrízicos arbusculares. No entanto, existe uma complexa interação entre as micorrizas arbusculares, disponibilidade de fósforo no solo e a formononetina.

O fósforo é o nutriente que mais afeta a colonização micorrízica, nesse sentido, Moreira e Siqueira (2006) afirmam que plantas crescidas em solo rico em fósforo disponível, geralmente, têm menor colonização micorrízica. Além disso, existe a possibilidade de competição no efeito estimulatório da formononetina, pois a deficiência em fósforo pode estimular a micorrização, independente da formononetina, concorrendo com efeito estimulante à micorrização. Como afirma Novais e Siqueira (2009) que relacionam condições estimulantes à colonização micorrízica à menor resposta da formononetina, como é o caso do baixo teor de fósforo no solo. Por outro lado, de acordo com Silva Junior e Siqueira (1997) solo rico em fósforo disponível pode reduzir a resposta da formononetina na colonização micorrízica e crescimento das plantas em comparação à solo pobre em fósforo disponível. Isso ocorre, pois em níveis elevados, o fósforo reduz a colonização micorrízica, mesmo na presença da formononetina.

Portanto, o fósforo pode alterar a atuação dos fungos micorrízicos arbusculares na melhoria dos atributos físicos do solo, devido ao seu efeito na colonização micorrízica. Como constatado por Nobrega et al. (2001) que observaram, em plantas de braquiária, que nas maiores doses de fósforo ocorreu menor diâmetro médio geométrico dos agregados do solo, segundo os autores devido a menor colonização micorrízica por *Glomus etunicatum* causada pela alta adubação fosfatada.

O efeito do fósforo nos atributos físicos do solo também pode ocorrer por meio da maior produção de massa pela planta, principalmente de raízes, e alterações

no crescimento e atividade dos microrganismos do solo. A maior produção de massa pelas plantas bem nutridas em fósforo contribui para o maior fornecimento de matéria orgânica do solo que influencia positivamente os atributos físicos do solo.

O fósforo pode atuar, diretamente, nos atributos físicos do solo, alterando o balanço de cargas do solo, pois são íons na solução do solo que reagem fortemente com a fase sólida do solo. Fato verificado por Silva et al. (2001) e Ribeiro et al. (2011) que em solos com balanço de carga líquida positiva a adsorção de fosfato aumentou a quantidade de cargas negativas e diminuiu o excedente de cargas positivas. Devido a isso, Silva et al. (2001) relatam que ocorre aumento na atração eletrostática entre as partículas do solo e diminuição da dispersão até o ponto em que esse balanço de carga é zero, nessas condições, o fósforo beneficia os atributos físicos do solo por favorecer a floculação das partículas, que é parte essencial do processo de agregação do solo.

Quando o balanço de carga do solo fica negativo, o processo de adsorção do fósforo continua adicionando cargas negativas ao solo, assim favorecendo a dispersão, devido à repulsão das partículas do solo com mesma carga elétrica. Fato citado por Lima et al. (2000) que afirmam que a partir do ponto de carga zero a adsorção de fósforo favorece a desagregação do solo. Esse fato pode prejudicar os atributos físicos do solo, como constatado por Silva et al. (1999) que verificaram que essas alterações afetam a porosidade do solo e estabilidade dos agregados do solo. Fato idêntico ao observado por Silva et al. (2001) que estudando o Latossolo Vermelho distrófico, em casa de vegetação, com dose de fósforo até a atingir a capacidade máxima de adsorção de fósforo, verificaram que íons fosfato podem alterar a agregação do solo, comprometendo os atributos físicos.

Apesar do elevado impacto que os estimulantes à micorrização e o fósforo têm no solo é muito escasso as publicações que tratam dos efeitos da utilização formononetina e do fósforo no milho, relacionando aos atributos físicos do solo. Assim, o objetivo foi avaliar as alterações em atributos físicos de um Latossolo Vermelho distroférico cultivado com milho submetido à adubação fosfatada e aplicação de um estimulante à micorrização na semente.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na área da Fazenda Experimental da Universidade Federal da Grande Dourados, município de Dourados-MS, nas coordenadas geográficas S 22° 13' 59" e O 54° 59' 25", 401 m de altitude. O solo foi um Latossolo Vermelho distroférico (SANTOS et al., 2013), de textura muito argilosa, onde foi cultivado milho na safra de inverno (safrinha) nos anos 2011 e 2012, na mesma área e submetidos aos mesmos tratamentos nas parcelas e subparcelas. Na safra de verão, a área foi mantida em pousio.

O solo foi amostrado antes do início do experimento, na camada 0,00 – 0,20 m, e sua caracterização química (Quadro 1) e física (Quadro 2) realizada segundo metodologia proposta por Claessen et al. (1997).

QUADRO 1. Caracterização química do solo.

pH CaCl ₂	P	K	Al	Ca	Mg	H+Al	SB	T	V
	mg dm ⁻³	-----cmLc dm ⁻³ -----						%	
5,2	4,2	3,6	4,8	30,0	15,0	24,0	48,6	72,3	67,0

P e K: Melich I; Ca, Mg e Al: KCl 1 mol L⁻¹; SB = Ca + Mg + K; T=CTC= Sb + H+Al; Saturação em bases (V) = 100 * (SB/T).

QUADRO 2. Caracterização física do solo.

Textura (g kg ⁻¹)			Dp (g cm ⁻³)	Ds (g cm ⁻³)		
Areia	Silte	Argila	0,00 - 0,05 m	0,05 - 0,10 m	0,10 - 0,20 m	
243,9	140,6	613,4	2,9	1,4	1,6	1,6

Textura: Método da pipeta; Densidade de partícula (Dp): Método do balão volumétrico; Densidade do solo (Ds): método do anel volumétrico.

O milho foi semeado manualmente, nos dias 25/03/2011 e 20/03/2012, em plantio direto, utilizando-se o híbrido SYN maximus TLTG Viptera. A adubação foi realizada manualmente, seguindo as recomendações de Coelho et al. (2010) em função da análise de solo. Aplicou-se 60 kg ha⁻¹ de K₂O (tendo como fonte o cloreto de potássio) e 20 kg ha⁻¹ de N no plantio (tendo como fonte o sulfato de amônio). No estádio V6, realizou-se a aplicação de 80 kg ha⁻¹ de N em cobertura (tendo como fonte a ureia). Para o fósforo utilizaram as doses de acordo com cada tratamento, utilizando-se 0, 25, 50, e 100% da dose recomendada (70 kg ha⁻¹ de P₂O₅), determinada de acordo com Coelho et al. (2010) em função da análise do solo.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com cinco repetições, com os tratamentos arranjados em esquema de parcelas subdivididas, sendo quatro doses de fósforo nas parcelas (0,0; 17,5; 35,0 e 70,0 kg ha⁻¹ de P₂O₅), tendo como fonte o superfosfato triplo, e nas sub-parcelas quatro doses de formononetina (0, 25, 50, 100 g ha⁻¹), tendo como fonte o produto comercial PHC 506. A dose recomendada do produto é 50 g ha⁻¹, é um formulado em pó, que foi aplicado nas sementes do milho. Para determinação da quantidade de produto que deveria ser aplicada, determinou-se a área que cada dose de produto deveria ser utilizada, e através de uma regra de três simples obteve-se a quantidade do produto. Essa quantidade determinada foi usada no tratamento de semente de milho. O tratamento da semente foi realizado com agitação vigorosa das sementes com o PHC-506 em um saco plástico.

Cada unidade experimental tinha seis linhas de 7 m de comprimento, espaçamento entre-linhas de 0,80 m, sendo considerada como área útil apenas as quatro linhas centrais, excluindo-se 1 m de cada extremidade, onde foram coletadas as amostras para as análises. Embora o experimento tenha sido realizado por duas safras (safrinha) consecutivas as avaliações foram realizadas apenas na segunda safra, pois é maior a possibilidade de alterações nos atributos físicos do solo em experimentos mais longos.

Nos estádios Vt, R2, R4 e R6 realizaram-se a coleta de raízes para determinação da taxa de colonização, coletaram-se as raízes de cinco plantas, ao acaso, em cada unidade experimental. A coleta foi realizada com auxílio de uma pá de ponta. Posteriormente, as raízes foram lavadas com água, homogeneizadas para formar uma amostra composta por unidade experimental e armazenadas em frascos plásticos contendo solução com 5% de formaldeído, 90% de álcool etílico e 5% de ácido acético. Posteriormente, 1 g de raízes finas, retiradas das amostras compostas, foi clarificado usando-se solução de KOH 5% p/v por 30 minutos. Em seguida foram lavadas em água corrente e agitadas por 4 minutos em HCl 1%. As raízes foram coradas com azul de tripan em lactoglicerol 0,05% (água: glicerol: ácido láctico, 1:1:1). Para estimar a porcentagem de raiz colonizada utilizou-se o método de intercessão, descrito por Giovanetti e Mosse (1980) e observação em microscópio estereoscópico (ampliação de 10 a 40 vezes).

No estádio R6 foram coletadas, ao acaso, cinco amostras simples de solo, por unidade experimental, na camada 0,00 - 0,20 m, com uso do trado holandês.

Essas amostras foram homogeneizadas e retiradas uma amostra composta por unidade experimental e armazenadas a 4° C. Nestas amostras avaliaram-se a densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares, de acordo com a metodologia descrita por Gerdemann e Nicholson (1963). Essas amostras também foram utilizadas para a determinação do teor de proteína do solo relacionada à glomalina total e proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível. Para ambos os tipos de proteína foi utilizada a metodologia de Wright e Upadhyaya (1998) e para a dosagem proteica o método de Bradford (1976).

A extração e contagem de esporos foram realizadas da seguinte forma: A partir das amostras de solo compostas, colocou-se 50 cm³ de solo em um becker; transferiu-se para um becker grande e suspendeu-se com no mínimo 500 mL de água de torneira; agitou-se vigorosamente com um bastão de vidro para suspender os esporos e esperou-se por 30 segundos; passou-se a suspensão através de duas peneiras empilhadas, com aberturas de 710 µm e 0,053 mm; repetiu-se os dois procedimentos anteriores por três vezes, ou até a água do Becker ficar limpa. Após isso, transferiu-se o material retido na peneira de 0,053 mm para um tubo de centrífuga com água; centrifugou-se a 3000rpm por três minutos; retirou-se o sobrenadante cuidadosamente, deixando-se apenas o solo no tubo de centrífuga. Adicionou-se solução de sacarose (50%) no tubo de centrífuga contendo o solo; centrifugou-se a 2000rpm por um minuto; despejou-se o sobrenadante na peneira de 0,053 mm e lavou-se com água de torneira para remover o excesso de sacarose; transferiram-se os esporos da peneira de 0,053 mm para uma placa canelada e realizou-se a contagem por meio de uma lupa.

A extração da proteína do solo relacionada à glomalina total foi realizada da seguinte forma: o solo foi seco ao ar e passado através de peneira de malha de 2 mm, posteriormente, pesou-se 1 g de solo e adicionou-se 8 ml da solução de citrato de sódio 50 mM. O material foi autoclavado por 60 minutos a 121° C, posteriormente, o material foi centrifugado a 2500rpm por 30 minutos. O sobrenadante foi retirado e armazenado a 4° C. Esse ciclo de extração repetiu-se até a completa extração da proteína do solo relacionada à glomalina total da amostra. Identifica-se a extração total quando o sobrenadante fica amarelo claro. Após a extração anotou-se o volume extraído e armazenou-se a 4° C.

A extração da proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível foi realizada da seguinte forma: o solo foi seco ao ar e passado através de

peneira de malha de 2 mm, posteriormente, pesou-se 1 g de solo e adicionou-se 8 mL da solução de citrato de sódio 20 mM. O material foi autoclavado por 60 minutos a 121° C, posteriormente, o material foi centrifugado a 2500rpm por 15 minutos. Após a extração anotou-se o volume extraído e armazenou-se a 4° C.

A leitura do teor de proteína do solo relacionada à glomalina total e proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível foi realizada da seguinte forma: Retirou-se 0,1 mL de cada amostra extraída, e adicionou-se o extrator da proteína (reagente de Bradford), preparado com a dissolução 100 mg de Coomassie Brilliant Blue G-250 em 50ml de etanol 95% e adição de 100 mL de ácido fosfórico 85%. A curva de calibração foi preparada com a albumina bovina, obtendo-se as concentrações 0, 20, 40, 60, 80, 100 ug de proteína. As leituras foram realizadas no comprimento de onda 595 nm em espectrofotômetro.

Determinou-se a densidade do solo, macroporosidade do solo, microporosidade do solo e porosidade total do solo, na camada 0,00 – 0,05 m e 0,05 – 0,10 m. Para essas determinações foram coletadas uma amostra por unidade experimental e por camada estudada, com uso de anel volumétrico, no estádio R6 do milho. Para a coleta, primeiramente, abriu-se uma trincheira no solo com profundidade de 0,20 m, na entrelinha da cultura, posteriormente as amostras foram coletadas, centralizando-se o anel volumétrico na profundidade 0,025 m para representar a camada 0,00 – 0,05 m e centralizado na profundidade 0,075 m para representar a camada 0,05 – 0,10 m. As amostras foram envolvidas em papel filme, e armazenadas a 4° C. Posteriormente, realizou-se a análise segundo metodologia proposta por Donagema et al. (2011).

Para a determinação da densidade do solo, macroporosidade do solo, microporosidade do solo e porosidade total do solo, os anéis volumétricos contendo as amostras indeformadas de solo foram saturados em água. Para a saturação, foi colocado um filo em uma das extremidades do anel volumétrico contendo a amostra, posteriormente, foram levados para bandeja contendo uma fina camada de água. Após a saturação em água, a amostra de solo com anel volumétrico foi pesada e colocada na mesa de tensão para perderem água retida nos seus macroporos, ou seja, 0,6 m de coluna de água. Posteriormente, a amostra foi pesada e levada para estufa para secagem completa a 105° C, após a secagem na estufa a amostra e o anel volumétrico foi pesado, para possibilitar o desconto da massa do anel da massa da amostra de solo.

Para determinação da densidade do solo utilizou-se a seguinte fórmula:
 $D_s = \text{Massa do solo seco} / \text{volume do anel volumétrico}$.

Para determinação da macroporosidade do solo utilizou-se a seguinte fórmula: Macroporosidade = porosidade total – microporosidade

Para determinação da microporosidade do solo utilizou-se a seguinte fórmula: Microporosidade = (Massa do solo após submetida a 60 cm de coluna de água - massa do solo após seco em estufa) / volume do anel volumétrico.

Para determinação da porosidade total do solo utilizou-se a seguinte fórmula: Porosidade total = (Massa do solo após submetida a saturação - massa do solo após seco em estufa) / volume do anel volumétrico.

Determinou-se o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, diâmetro geométrico dos agregados do solo e índice de estabilidade dos agregados do solo, na camada 0,00 – 0,05 m e 0,05 – 0,10 m. Para essas determinações, coletou-se ao acaso, no estádio R6 do milho, uma amostra por unidade experimental e por camada estudada, na forma de blocos de 20 x 20 x 5 cm com estrutura preservada. Abriu-se uma trincheira no solo de 0,20 m de profundidade e com auxílio de uma espátula, coletou-se a amostra, posteriormente, foram armazenadas em sacos plásticos e secas ao ar. Em seguida, realizaram-se as determinações em laboratório, seguindo a metodologia proposta por Castro Filho et al. (1998) para o índice de estabilidade dos agregados do solo, e metodologia proposta por Kemper e Rosenau (1986) para o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo e diâmetro médio geométrico dos agregados do solo.

Para a determinação do diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, diâmetro médio geométrico dos agregados do solo e índice de estabilidade dos agregados do solo, as amostras coletas em formas de bloco, após seca ao ar, foram submetidas a peneiramento via seca, em agitador mecânico contendo dois jogos de peneiras, por 5 minutos. Os agregados retidos na peneira de malha 4,76 mm foram submetidos a peneiramento via úmida por 15 minutos, por meio do aparelho de oscilação vertical. Para isso, três amostras de 25 g do solo, foram pesadas em balança de precisão, sendo uma amostra levada para estufa a 105° C para determinação da umidade inicial da amostra e as outras duas foram saturadas em uma fina camada de água e submetidas ao aparelho de oscilação vertical contendo água, sendo cada amostra colocada em um jogo de peneira (malhas de 1,000; 0,500; 0,250 e 0,105 mm e o fundo da peneira). Após peneiramento via úmido, os agregados retido em cada

peneira foram passados para latas de alumínio com massa conhecida, e foram levadas para estufa a 105 ° C para secagem. Após a secagem, essas amostras foram pesadas em balança de precisão, em seguida determinou-se a porcentagem de agregados secos retido em cada peneira em relação ao total da amostra seca. Essa porcentagem foi utilizadas em fórmulas para determinação do diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, diâmetro médio geométrico dos agregados do solo e índice de estabilidade dos agregados do solo.

Fórmula para determinação do diâmetro médio ponderado: $DMP = \sum (\% \text{ agregados em cada peneira} / 100 * \text{diâmetro médio entre a malha da peneira onde foi retido o agregado e da peneira imediatamente superior})$

Fórmula para determinação do diâmetro médio geométrico: $DMG = (\sum (\% \text{ agregados em cada peneira} * \text{LOG do diâmetro médio entre a malha da peneira onde foi retido o agregado e da peneira imediatamente superior}) / \text{soma das porcentagens de agregados retidos em todas as peneiras})^{10}$

Fórmula para determinação do índice de estabilidade dos agregados: $IEA = \text{Somatório da massa seca de agregados retidos nas peneiras } 0,25; 0,50 \text{ e } 1,00 \text{ mm} / \text{soma da massa seca de agregados retidos em todas as peneira}) * 100$

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e para as fontes de variação significativas a 5% pelo teste F, realizou-se a análise de regressão. Foram apresentados gráficos no trabalho quando houve significâncias dos coeficientes da equação a 10% de probabilidade, pelo teste t. Realizou-se a análise de correlação de Pearson, considerando-se significativa as correlações a 5% de probabilidade. Classificaram-se as correlações de acordo com Jacques (2003) sendo, fraca (0,00 - 0,30), moderada (0,31 – 0,60), forte (0,61- 0,90) e muito forte (0,91 – 1,00).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a taxa de colonização micorrízica nas raízes de milho nos estádios Vt, R2, R4 e número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares no solo houve diferenças significativas para as fontes de variações doses de P_2O_5 e doses de formononetina e para interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina, pelo teste F ($p < 0,05$) (Quadro 3). Para taxa de colonização micorrízica por fungos micorrízicos arbusculares nas raízes de milho no estágio R6, houve diferenças significativas para a fonte de variação dose de fósforo e para interação entre dose de fósforo e dose de formononetina, pelo teste F ($p < 0,05$) e não houve diferença significativa para a fonte de variação dose de formononetina.

QUADRO 3. Resumo da análise de variância dos valores de taxa de colonização micorrízica nas raízes de milho nos estádios Vt (T1), R2 (T2), R4 (T3), R6 (T4) e número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) no solo.

Fonte de variação	T1	T2	T3	T4	Número de esporos de FMAs
Dose de P_2O_5 (P)	5,92*	10,43*	17,94*	6,79*	70,82*
Dose de formononetina (F)	9,69*	11,63*	6,14*	2,62 ^{ns}	13,02*
P x F	4,17*	3,09*	10,26*	14,36*	7,00*
CV 1 (%)	4,99	4,50	4,58	7,27	9,42
CV 2 (%)	5,17	5,49	6,17	6,49	13,87

*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. ^{ns}: Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Para a taxa de colonização micorrízica nas raízes de milho nos estádios Vt, R2 e R4 e número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares no solo, as doses de formononetina, associadas a 0; 17,5; 35 e 70 kg ha⁻¹ de P_2O_5 , não alteraram significativamente os coeficientes das equações de regressão a 10% de probabilidade, pelo teste t. Para a taxa de colonização micorrízica nas raízes de milho nos estádios Vt, R2 e R6 e número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares no solo as doses de fósforo, associadas as doses 0, 25, 50 e 100 g ha⁻¹ de formononetina, não alteraram significativamente os coeficientes das equações de regressão, a 10% de probabilidade, pelo teste t.

Para a taxa de colonização micorrízica na raiz do milho no estágio R4, verificou-se aumento, com elevação nas doses de fósforo na ausência da aplicação de formononetina (Figura 1). O modelo que melhor se ajustou aos dados foi o linear. A análise de regressão não mostrou efeito significativo da dose de fósforo na colonização micorrízica, no estágio R4, quando utilizado na presença de 25, 50 e 100 g ha⁻¹ de formononetina, pois nenhum dos modelos testados se ajustou aos dados.

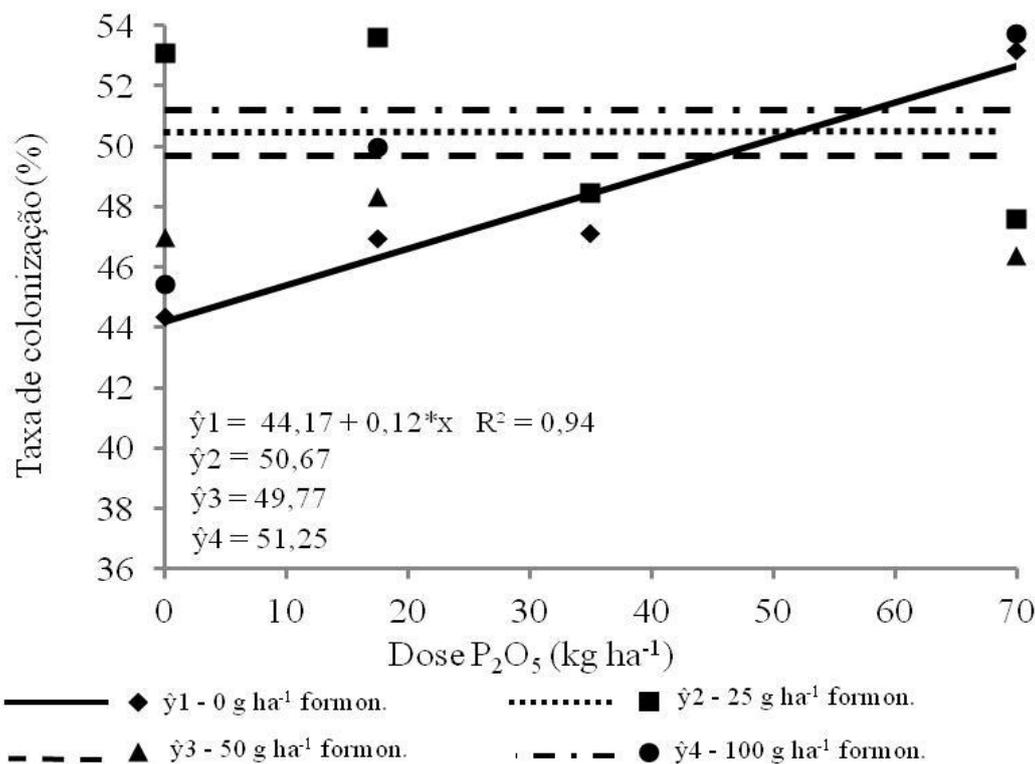


FIGURA 1. Taxa de colonização por fungos micorrízicos arbusculares em raízes de milho no estágio R4, em função da aplicação de fósforo, em cada dose de formononetina. (*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t).

A maior taxa de colonização micorrízica na raiz do milho, estimada por meio da equação de regressão, na ausência da formononetina, foi na dose 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, que resultou em 54% de colonização micorrízica. Assim, o fósforo aumentou em 27% a colonização micorrízica (44 para 54%), quando utilizado na ausência da aplicação da formononetina. De acordo com classificação proposta por Carneiro et al. (1998), valores baixos de colonização micorrízica estão na faixa 20 a 49% e médios entre 50 a 79%. Nesse caso, observa-se que na ausência da aplicação da formononetina, a aplicação do fósforo melhorou a faixa de classificação da colonização micorrízica, que passou de baixa para média, pois a colonização

estimada subiu de 44% na dose 0 kg ha⁻¹ de P₂O₅ para 54% na dose 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅.

O aumento na colonização micorrízica com aumento na dose de fósforo, no estágio R4 no milho, pode ser explicado, em parte, pelas diferentes exigências em fósforo em cada estágio fenológico. Como afirmam Carrenho et al. (2010) que citam que o controle da micorrização é exercido pela exigência da planta em fósforo, que varia de acordo com o crescimento. As características da planta de milho também podem justificar a ausência de resposta das doses de fósforo utilizadas no experimento. De acordo com Coelho et al. (2010) plantas de intenso desenvolvimento e de ciclo curto como o milho, requerem maior nível de fósforo disponível e reposição mais rápida de fósforo do que culturas perenes. Esse fato aumenta a tolerância da micorriza arbuscular ao fósforo no solo.

As características do solo contribuíram para falta de alteração na colonização micorrízica com uso do fósforo e para efeito estimulatório do fósforo observado na ausência de formononetina no estágio R4. Isso ocorre, pois quanto menor o teor de fósforo disponível no solo, maior deverá ser a dose de fósforo aplicada no solo para causar prejuízos à colonização micorrízica. Nesse contexto, verificou-se que a caracterização química do solo do experimento mostrou um teor de fósforo classificado como baixo para a cultura do milho, de acordo com valores propostos por Alvares V. et al. (1999). Além disso, os Latossolos da região se caracterizam pelo elevado potencial em adsorção de fósforo, devido à elevada quantidade de argilas do tipo 1:1 e óxidos de ferro e alumínio, o que reduz a disponibilidade do fósforo aplicado no solo.

Outro fator que pode contribuir para a ausência de resposta do fósforo na colonização micorrízica é o grupo de espécie de fungo micorrízico arbuscular presente no solo. Existe no solo elevado número de espécies destes fungos, que respondem de forma diferente ao nível de fósforo no solo e na planta. Como verificado por Melloni et al. (2000) que observaram que para o fungo micorrízico arbuscular da espécie *Glomus intraradices*, o fósforo reduziu a colonização em mudas de limão, já para o fungo micorrízico arbuscular da espécie *Glomus etunicatam* não houve diferença na colonização micorrízica com uso do fósforo. Segundo os autores a espécie *Glomus intraradices* é sensível ao uso do fósforo diferente da espécie *Glomus etunicatum*.

Para taxa de colonização micorrízica na raiz de milho no estágio R6, ocorreu aumento com aplicação de formononetina na presença de 17,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅ (Figura 2). O modelo que melhor se ajustou aos dados foi o linear. Na análise de regressão não houve efeito significativo da formononetina na colonização micorrízica, no estágio R6, quando utilizada na ausência da adubação fosfatada e na presença de 35 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, pois nenhum dos modelos testados se ajustou aos dados.

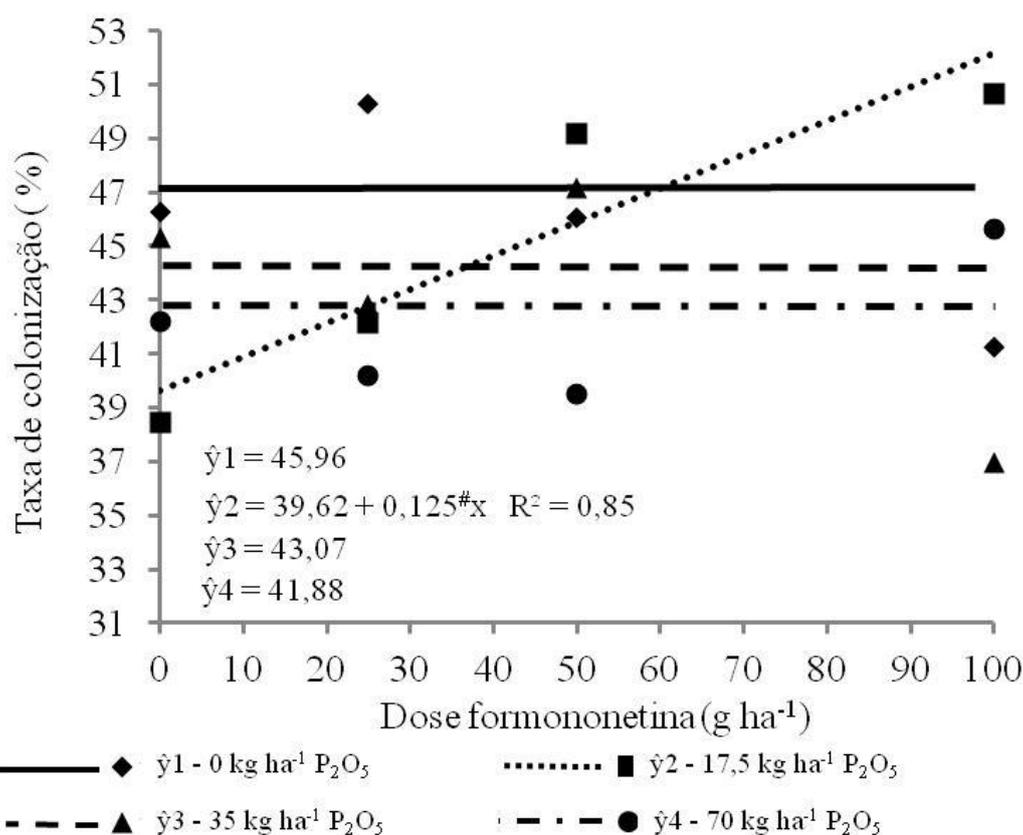


FIGURA 2. Taxa de colonização micorrízica nas raízes de milho no estágio R6, em função da aplicação de formononetina, em cada dose de P₂O₅. (#: Significativo a 10% de probabilidade pelo teste t).

A maior taxa de colonização micorrízica na raiz do milho no estágio R6, estimada por meio da equação de regressão, na presença de 17,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅, foi na dose 100 g ha⁻¹, que resultou em 52% de colonização micorrízica. Assim, a formononetina aumentou em 30% a colonização micorrízica (40 para 52%), quando utilizada na presença de 17,5 kg ha⁻¹ P₂O₅. De acordo com classificação proposta por Carneiro et al. (1998), valores baixos de colonização micorrízica estão na faixa 20 a 49% e médios entre 50 a 79%. Nesse caso, observa-se que na presença de 17,5 kg ha⁻¹

¹ de P_2O_5 a aplicação da formononetina melhorou a faixa de classificação da colonização micorrízica, que passou de baixa para média, pois a colonização estimada subiu de 40% na dose 0 g ha^{-1} de formononetina, para 52% na dose 100 g ha^{-1} de formononetina.

Corroborando este resultado, Siqueira et al. (1999) também encontraram aumento na colonização em milho tratado com formononetina, sendo este aumento de 50%. Fato também verificado por Novais e Siqueira (2009) que verificaram que a formononetina aumentou a colonização micorrízica em *Brachiaria decumbens*, planta da família das poaceas, como o milho.

O aumento na colonização micorrízica causado pela formononetina não está completamente esclarecido, mas acredita-se que a formononetina possa aumentar o número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares, aumentar o crescimento assimbiótico dos fungos micorrízicos arbusculares, aumentar o número de pontos de entradas primários e secundários das hifas dos fungos micorrízicos arbusculares nas raízes, que são fatores muito importantes para aumentar a infecção das plantas pelos fungos micorrízicos arbusculares, conseqüentemente, a colonização micorrízica. A formononetina pode inibir a enzima peroxidase, reduzindo a atuação restritiva que esta enzima da planta têm sobre a colonização pelo fungo micorrízico arbuscular. A formononetina pode aumentar o número de arbúsculo, que atuam na troca de fotoassimilados, nutrientes e água entre a planta e o fungo micorrízico arbuscular, indicando aumento na atividade da simbiose (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

No estágio R6 do milho, o efeito da formononetina não ocorreu na ausência do fósforo. Como constatado por Siqueira et al. (1991) e Silva Junior e Siqueira (1998) que não verificaram efeito da formononetina em baixo teor de fósforo disponível. Portanto, esse fato pode estar ligado ao elevado estímulo que a ausência em fósforo pode proporcionar no solo, assim, dispensando o efeito estimulatório da formononetina para ganhos em colonização micorrízica, pois o solo onde foi conduzido o experimento apresenta baixo teor de fósforo e elevada adsorção de fósforo.

Para densidade do solo e microporosidade do solo na camada de 0,00 – 0,05 m houve significância pelo teste F ($p < 0,05$) para as fontes de variações doses de P_2O_5 e doses de formononetina e para interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina (Quadro 4). Para macroporosidade do solo na camada 0,00 - 0,05 m,

não houve resposta significativa para as fontes de variações doses de P_2O_5 e doses de formononetina, mas ocorreu interação significativa pelo teste F ($p < 0,05$) entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina. Para a porosidade total do solo na camada 0,00 - 0,05 m não houve resposta significativa para a fonte de variação doses de formononetina, já para fonte de variação doses de P_2O_5 e para interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina houve resposta significativa pelo teste F ($p < 0,05$).

QUADRO 4. Resumo da análise de variância dos valores de densidade do solo na camada 0,00 – 0,05 m (D 0-5), macroporosidade do solo na camada 0,00 – 0,05 m (Macro 0-5), microporosidade do solo na camada 0,00 – 0,05 m (Micro 0-5), porosidade total do solo na camada 0,00 – 0,05 m (P 0-5), após o cultivo de milho por dois anos consecutivos adubados com diferentes doses de fósforo e tratados com formononetina.

Fonte de variação	D 0-5	Macro 0-5	Micro 0-5	P 0-5
Dose de P_2O_5 (P)	59,64*	0,33 ^{ns}	15,28*	27,03*
Dose de formononetina (F)	13,92*	1,74 ^{ns}	3,66*	2,37 ^{ns}
P x F	13,48*	5,19*	14,13*	13,18*
CV 1 (%)	4,68	19,65	19,12	12,58
CV 2 (%)	5,64	20,48	26,17	14,62

*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. ^{ns}: Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Para microporosidade do solo, macroporosidade do solo e porosidade total do solo, na camada de 0,05 – 0,10 m, houve significância pelo teste F ($p < 0,05$) para as fontes de variações doses de P_2O_5 e doses de formononetina e para interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina (Quadro 5). Para densidade do solo na camada 0,05 – 0,10 m não houve resposta significativa para a fonte de variação doses de formononetina, já para a fonte de variação doses de P_2O_5 e para a interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina houve resposta significativa pelo teste F ($p < 0,05$).

QUADRO 5. Resumo da análise de variância dos valores de densidade do solo na camada 0,05 – 0,10 m (D 5-10), macroporosidade do solo na camada 0,05 – 0,10 m (Macro 5-10), microporosidade do solo na camada 0,05 – 0,10 m (Micro 5-10), porosidade total do solo na camada 0,05 – 0,10 m (P 5-10), após o cultivo de milho por dois anos consecutivos adubados com diferentes doses de fósforo e tratados com formononetina.

Fonte de variação	D 5-10	Macro 5-10	Micro 5-10	P 5-10
Dose de P ₂ O ₅ (P)	36,49*	24,78*	20,11*	60,89*
Dose de formononetina (F)	1,10 ^{ns}	5,65*	4,91*	4,34*
P x F	6,44*	16,45*	10,44*	12,18*
CV 1 (%)	9,23	15,68	30,40	14,81
CV 2 (%)	9,97	19,74	23,25	17,39

*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. ^{ns}: Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Para a densidade do solo, microporosidade do solo e macroporosidade do solo na camada 0,00 – 0,05 m e para a densidade do solo, microporosidade do solo, macroporosidade do solo e porosidade total do solo na camada 0,05 – 0,10 m as doses de formononetina, associadas a 0; 17,5; 35 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, não alteraram significativamente os coeficientes das equações de regressão a 10% de probabilidade, pelo teste t. Para a densidade do solo, microporosidade do solo e macroporosidade do solo na camada 0,00 – 0,05 m e para a densidade do solo, microporosidade do solo e porosidade total do solo na camada 0,05 – 0,10 m as doses de fósforo, associadas a 0, 25, 50 e 100 g ha⁻¹ de formononetina, não alteraram significativamente os coeficientes das equações de regressão a 10% de probabilidade, pelo teste t.

Na camada de 0,05 - 0,10 m, na presença de 25 g ha⁻¹ de formononetina, aplicação do fósforo no milho alterou os valores de macroporosidade do solo (Figura 3). O modelo que melhor se ajustou aos dados foi o quadrático. Na análise de regressão não houve efeito significativo da dose de fósforo na macroporosidade do solo, na camada 0,05 - 0,10 m, quando utilizado na ausência da aplicação de formononetina, e presença de 50 e 100 g ha⁻¹ de formononetina, pois nenhum dos modelos testados se ajustou aos dados.

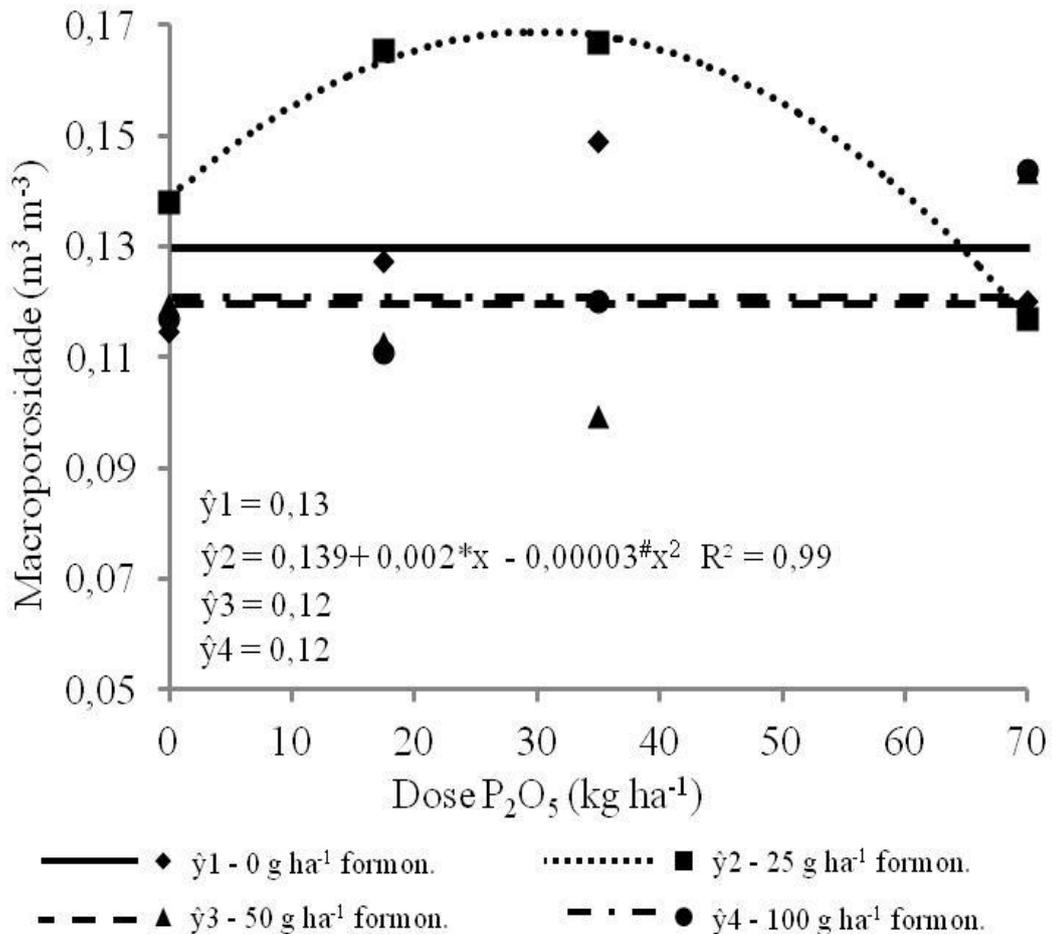


FIGURA 3. Macroporosidade do solo na camada 0,05 – 0,10 m, em função da aplicação de fósforo em milho, em cada dose de formononetina. (* e #: Significativo a 5 e 10% de probabilidade pelo teste t, respectivamente)

A maior macroporosidade do solo na camada de 0,05 – 0,10 m, na presença de 25 g ha⁻¹ de formononetina, estimada por meio da equação de regressão, foi na dose 25 kg ha⁻¹ de P₂O₅, que resultou em 0,16 m³ m⁻³. Assim, o fósforo aumentou em 14% a macroporosidade (0,14 para 0,16 m³ m⁻³), na camada de 0,05 – 0,10 m, quando utilizado na presença de 25 g ha⁻¹ de formononetina.

Na camada de 0,00 – 0,05 m, na presença de 100 g ha⁻¹ de formononetina, a aplicação do fósforo no milho alterou os valores de porosidade total do solo (Figura 4). O modelo que melhor se ajustou aos dados foi o quadrático. Na análise de regressão não houve efeito da dose de fósforo na porosidade total, na camada 0,00 – 0,05 m, quando utilizado na ausência da aplicação de formononetina e presença de 25 e 50 g ha⁻¹ de formononetina, pois nenhum dos modelos testados se ajustou aos dados.

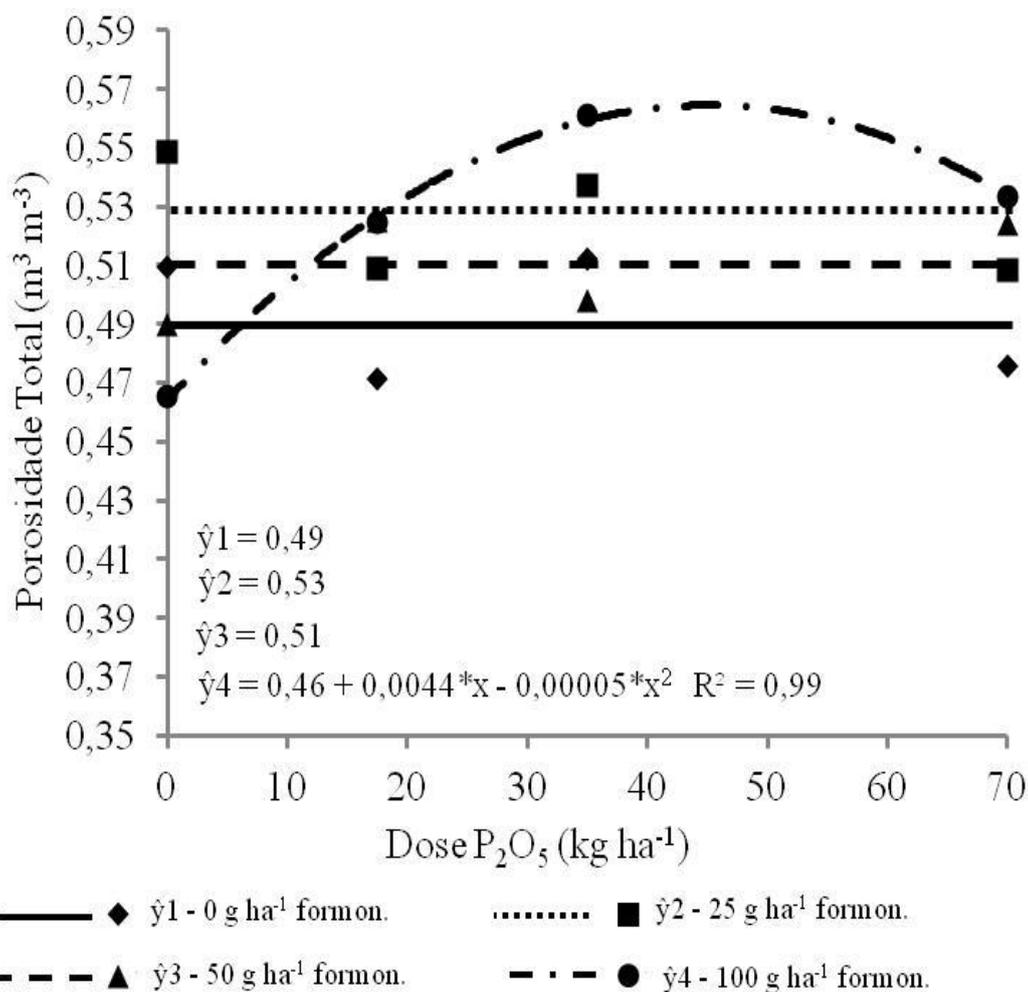


FIGURA 4. Porosidade total do solo na camada 0,00 – 0,05 m, em função da aplicação de fósforo em milho, em cada dose de formononetina. (*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t)

A maior porosidade total do solo na camada de 0,00 – 0,05 m, estimada por meio da equação de regressão, na presença de 100 g ha^{-1} de formononetina, foi na dose 44 kg ha^{-1} de P_2O_5 , que resultou em 0,57 $\text{m}^3 \text{m}^{-3}$. Assim, o fósforo aumentou em 33% a porosidade total (0,43 para 0,57 $\text{m}^3 \text{m}^{-3}$), na camada de 0,00 – 0,05 m, quando utilizado na presença de 100 g ha^{-1} de formononetina.

A porosidade total do solo na camada de 0,00 - 0,05 m foi alterada com aplicação da formononetina na presença de 17,5 e 70 kg ha^{-1} de P_2O_5 (Figura 5). Na dose 17,5 kg ha^{-1} de P_2O_5 o modelo que melhor se ajustou aos dados foi o quadrático, e na dose 70 kg ha^{-1} de P_2O_5 o modelo linear. Na análise de regressão não houve efeito significativo da dose de formononetina na porosidade total, na camada 0,00 –

0,05 m, quando utilizada na ausência da adubação fosfatada e na presença de 35 kg ha⁻¹ de P₂O₅, pois nenhum dos modelos testados se ajustou aos dados.

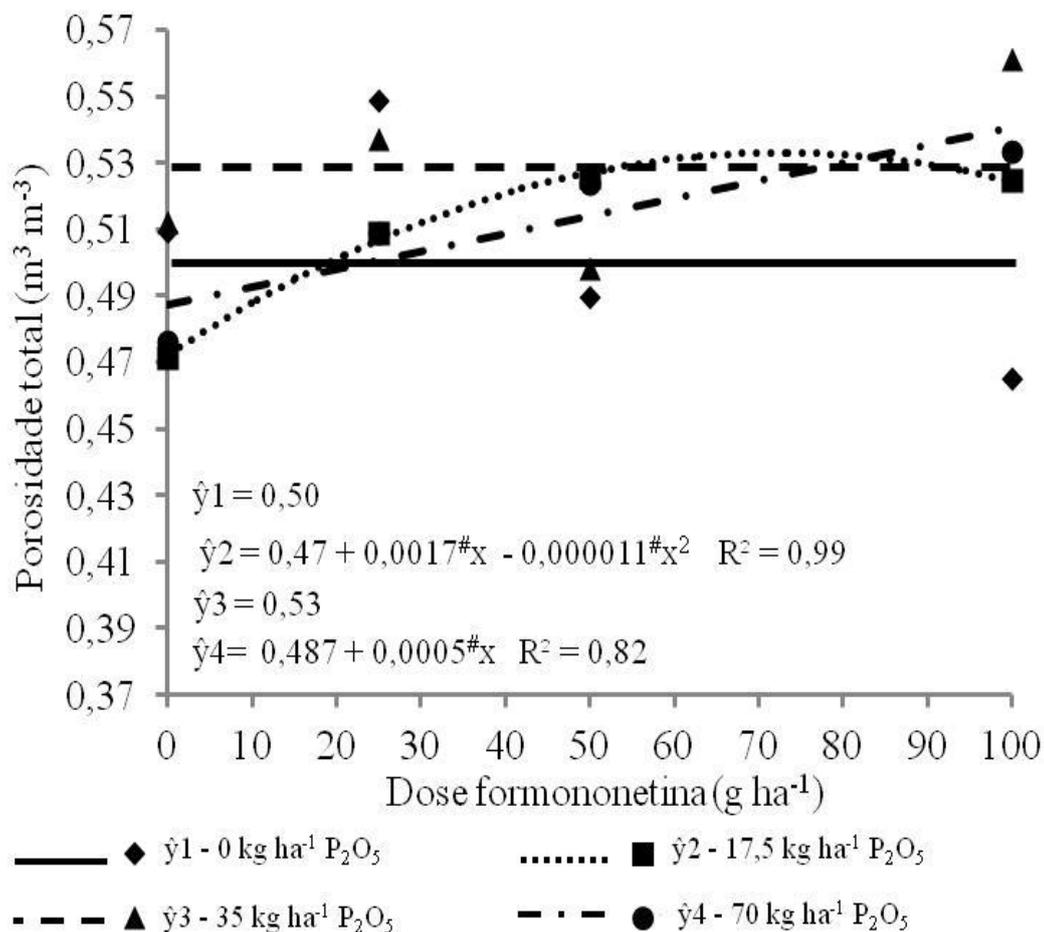


FIGURA 5. Porosidade total do solo na camada 0,00 – 0,05 m, em função da aplicação de formononetina em milho, em cada dose de P₂O₅. (#: Significativo a 10% de probabilidade pelo teste t).

A maior porosidade total do solo na camada de 0,00 – 0,05 m, na presença de 17,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅, estimada por meio da equação de regressão, foi na dose 78 g ha⁻¹ de formononetina, que resultou em porosidade total de 0,54 m³ m⁻³. Assim, a formononetina aumentou em 15% a porosidade total do solo (0,47 para 0,54 m³ m⁻³) na camada de 0,00 – 0,05 m, quando utilizada na presença de 17,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅.

A maior porosidade total do solo na camada de 0,00 – 0,05 m, na presença de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, estimada por meio da equação de regressão, foi na dose 100 g ha⁻¹ de formononetina, que resultou em uma porosidade total de 0,54 m³ m⁻³. Assim, ocorreu aumento de 10% na porosidade total (0,49 para 0,54 m³ m⁻³), na

camada de 0,00 – 0,05 m, com aplicação de formononetina na presença de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅.

A macroporosidade do solo e a porosidade total do solo são influenciados pelos agregados do solo, como verificado por Silva et al. (2006) que verificaram correlação positiva e significativa entre a porosidade total do solo e o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo ($r=0,30$) e índice de estabilidade dos agregados do solo ($r=0,46$). Assim, pode-se dizer que estes indicadores estão ligados a boa agregação do solo. Nesse sentido, de acordo com Dechen e Nachtigall et al. (2007) e Valadão et al. (2015) o fósforo aumenta a produção de raiz. Esse aumento na produção de raiz pode ser benéfico à formação e estabilidade dos agregados, como verificado por Garcia e Rosolem (2010) que verificaram que a adoção de plantas de cobertura aumentou o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo. Segundo os autores em parte, devido a maior produção de raízes pelas poaceas.

O estímulo à produção de raiz pelo fósforo é muito importante, pois a morte e decomposição da raiz deixa poros de elevado diâmetro no solo. Prando et al. (2010) avaliando três sistemas de rotação de culturas verificaram maior infiltração inicial de água na camada de 0,00 – 0,10 m na rotação milho/soja/*Brachiaria ruziziensis*/mamona. Segundo os autores, este efeito foi devido a maior matéria seca radicular promovida pelo sistema com *Brachiaria ruziziensis* + mamona que possuem sistema radicular mais vigoroso, o que possibilita melhor movimentação da água pelos canais abertos e deixados pelas raízes.

Parte da maior macroporosidade e porosidade total com aplicação do fósforo pode ser explicadas pela matéria orgânica oriunda da raiz, que após ação dos microrganismos do solo, podem transformar-se em matéria orgânica do solo. Da mesma forma, a formononetina por estimular a micorrização, pode melhorar a produção de massa seca parte aérea e raiz da planta, além da maior produção de hifas e esporos de fungos micorrízicos arbusculares, contribuindo na adição da matéria orgânica no solo, ajudando a explicar o efeito benéfico deste estimulante à micorrização na porosidade total do solo.

A maior produção de raiz em plantas com adequada nutrição fosfatada pode aumentar a atividade microbiana do solo, devido à rizosfera ser mais volumosa e produzir mais exudados. Fato que também pode ocorrer pela aplicação da formononetina que, indiretamente, pode estimular a microbiota do solo devido ao estímulo a micorrização, por exemplo, pela maior produção de matéria orgânica e

liberação de substâncias no solo. Assim, o fósforo e a formononetina podem aumentar a fonte de energia para os microrganismos do solo, aumentando sua atividade. Isso é importante para a melhoria na porosidade do solo, pois de acordo com Tisdall e Oades (1982) os microrganismos são benéficos à porosidade do solo, pois tem elevada importância na formação dos agregados que possuem tamanho maior que 0,25 μm e no aumento da estabilidade dos agregados, devido a ação cimentante de seus polissacarídeos.

A formononetina pela seu estímulo à micorrização e o fósforo que, neste experimento, não prejudicou a colonização micorrízica no milho, somando-se a esses fatos, verificou-se que ocorreu correlação fraca, positiva ($r=0,23$) e significativa a 5% entre taxa de colonização micorrízica no milho no estágio R4 e porosidade total do solo na camada de 0,00 – 0,05 m. Assim, o fósforo e a formononetina podem contribuir para o maior desenvolvimento das micorrizas arbusculares, que por sua vez, podem contribuir para a melhora na agregação do solo, assim, aumentando macroporosidade e porosidade total do solo.

Para o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, diâmetro médio geométrico dos agregados do solo e índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,00 – 0,05 m, houve diferença significativa para as fontes de variações doses de P_2O_5 e doses de formononetina e para interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina, pelo teste F ($p<0,05$) (Quadro 6).

QUADRO 6. Resumo da análise de variância dos valores de diâmetro médio ponderado dos agregados do solo na camada 0,00 – 0,05 m (DMP 0-5), diâmetro médio geométrico dos agregados do solo na camada 0,00 – 0,05 m (DMG 0-5), índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,00 – 0,05 m (IEA 0-5), após o cultivo de milho por dois anos consecutivos adubados com diferentes doses de fósforo e tratados com formononetina.

Fonte de variação	DMP 0-5	DMG 0-5	IEA 0-5
Dose de P_2O_5 (P)	31,94*	57,85*	14,57*
Dose de formononetina (F)	42,58*	10,81*	47,98*
P x F	19,25*	31,17*	10,83*
CV 1 (%)	5,77	9,49	1,09
CV 2 (%)	8,58	11,25	1,77

*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Para diâmetro médio ponderado dos agregados do solo e diâmetro médio geométrico dos agregados do solo na camada 0,05 – 0,10 m, houve diferença

significativa para as fontes de variações doses de P_2O_5 e doses de formononetina e para interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina, pelo teste F ($p < 0,05$) (Quadro 7). Já para o índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,05 – 0,10 m, houve diferença significativa para a fonte de variação doses de P_2O_5 e para interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina, pelo teste F ($p < 0,05$), já para a fonte de variação doses de formononetina não houve diferença significativa.

QUADRO 7. Resumo da análise de variância dos valores de diâmetro médio ponderado dos agregados do solo na camada 0,05 – 0,10 m (DMP 5-10), diâmetro médio geométrico dos agregados do solo na camada 0,05 – 0,10 m (DMG 5-10), índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,05 – 0,10 m (IEA 5-10), após o cultivo de milho por dois anos consecutivos adubados com diferentes doses de fósforo e tratados com formononetina.

Fonte de variação	DMP 5-10	DMG 5-10	IEA 5-10
Dose de P_2O_5 (P)	10,20*	7,00*	8,43*
Dose de formononetina (F)	9,80*	5,77*	3,30 ^{ns}
P x F	16,12*	11,49*	32,49*
CV 1 (%)	7,25	14,25	0,92
CV 2 (%)	6,27	12,32	0,97

*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. ^{ns}: Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Para o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, diâmetro médio geométrico dos agregados do solo e índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,05 – 0,10 m as doses de formononetina, associadas a 0; 17,5; 35 e 70 kg ha^{-1} de P_2O_5 não alteraram significativamente os coeficientes das equações de regressão a 10% de probabilidade, pelo teste t. Para o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, diâmetro médio geométrico dos agregados do solo e índice de estabilidade dos agregados do solo nas camadas 0,00 – 0,05 m e 0,05 – 0,10 m as doses de fósforo, associadas a 0, 25, 50 e 100 g ha^{-1} de formononetina, não alteraram significativamente os coeficientes das equações de regressão a 10% de probabilidade, pelo teste t.

O diâmetro médio ponderado dos agregados do solo na camada 0,00 – 0,05 m foi alterado com a aplicação da formononetina na presença de 35 kg ha^{-1} de P_2O_5 (Figura 6). O modelo que melhor se ajustou aos dados foi o quadrático. Na análise de regressão não houve efeito significativo da formononetina no diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, na camada 0,00 – 0,05 m, quando utilizada

na ausência da adubação fosfatada e presença de 17,5 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, pois nenhum dos modelos testados se ajustou aos dados.

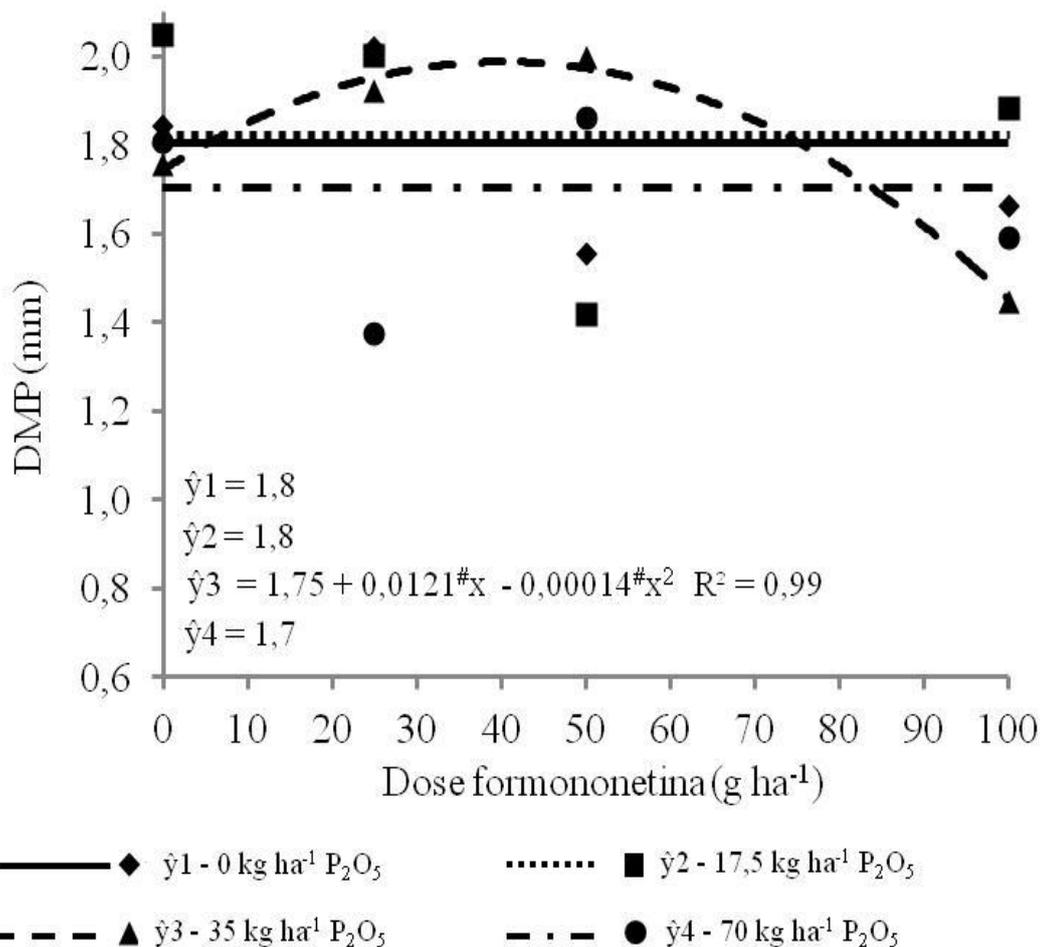


FIGURA 6. Diâmetro médio ponderado (DMP) na camada 0,00 – 0,05 m, em função da aplicação de formononetina em milho, em cada dose de P₂O₅. (#: Significativo a 10% de probabilidade pelo teste t).

O maior diâmetro médio ponderado dos agregados do solo na camada de 0,00 – 0,05 m, na presença de 35 kg ha⁻¹ de P₂O₅, estimada por meio da equação de regressão, foi na dose 43 g ha⁻¹ de formononetina, que resultou em 2,0 mm. Assim, a formononetina aumentou em 18% o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo (1,7 para 2,0 mm), na camada de 0,00 – 0,05 m, quando utilizada na presença de 35 kg ha⁻¹ de P₂O₅.

O diâmetro médio geométrico dos agregados do solo na camada 0,00 – 0,05 m foi alterado com a aplicação da formononetina na presença de 35 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ (Figura 7). O modelo que melhor se ajustou aos dados foi o quadrático e o linear, respectivamente. Na análise de regressão não houve efeito da formononetina

no diâmetro médio geométrico, na camada 0,00 – 0,05 m, quando utilizado na ausência da adubação fosfatada e presença de 17,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅, pois nenhum dos modelos testados se ajustou aos dados.

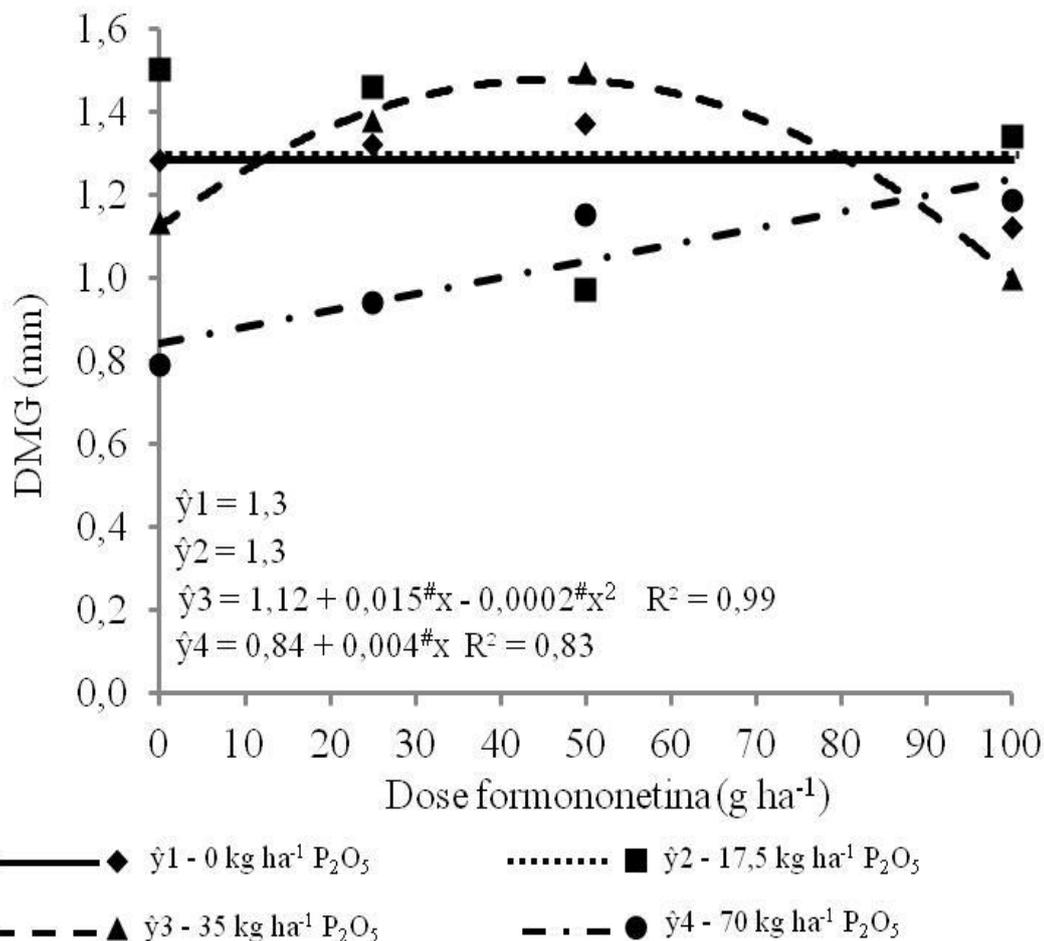


FIGURA 7. Diâmetro médio geométrico (DMG) na camada 0,00 – 0,05 m, em função da aplicação de formononetina em milho, em cada dose de P₂O₅. (#: Significativo a 10% de probabilidade pelo teste t)

O maior diâmetro médio geométrico dos agregados do solo na camada de 0,00 – 0,05 m, na presença de 35 kg ha⁻¹ de P₂O₅, estimada por meio da equação de regressão, foi na dose 47 g ha⁻¹ de formononetina, que resultou em 1,5 mm. Assim, a formononetina aumenta em 36% o diâmetro médio geométrico (1,1 para 1,5 mm), na camada de 0,00 – 0,05 m, quando utilizada na presença de 35 kg ha⁻¹ de P₂O₅.

O maior diâmetro médio geométrico dos agregados do solo na camada de 0,00 – 0,05 m, na presença de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, estimada por meio da equação de regressão, foi na dose 100 g ha⁻¹ de formononetina, que resultou em 1,2 mm. Assim, ocorreu aumento de 50% (0,8 para 1,2 mm) no diâmetro médio geométrico dos

agregados, na camada de 0,00 – 0,05 m, com aplicação de formononetina na presença de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅.

Resultado semelhante ao apresentado neste trabalho foi verificado por Nobrega et al. (2001) que observaram que o aumento na colonização micorrízica beneficiou o diâmetro médio ponderado e geométrico dos agregados do solo. Resultado também verificado por Vilela et al. (2014) que verificaram que a inoculação com fungo micorrízico arbuscular da espécie *Glomus macrocarpum* aumentou o diâmetro médio geométrico. Reforçando a ligação da colonização micorrízica com o diâmetro dos agregados, verificou-se que a análise de correlação mostrou correlação moderada e positiva ($r=0,31$ e $r=0,34$) e significativa a 5% entre taxa de colonização micorrízica no estágio R2 e diâmetro médio ponderado e diâmetro médio geométrico na camada de 0,00 – 0,05 m, respectivamente. Fato semelhante foi observado por Bedini et al. (2009) que avaliando alterações na agregação do solo pela inoculação de fungos micorrízicos arbusculares do gênero *Glomus*, verificaram que os valores de diâmetro médio ponderado correlacionam-se positivamente com o comprimento total das hifas. Efeito idêntico ao observado por Peng et al. (2013) que verificaram que o comprimento de hifas de fungos micorrízicos arbusculares correlaciona-se positivamente com diâmetro médio ponderado e diâmetro médio geométrico. Nesse sentido, um dos fatores que podem ter contribuído para o maior diâmetro médio ponderado e geométrico dos agregado do solo é a maior colonização micorrízica proporcionada pela formononetina, devido a maior produção de hifas dos fungos micorrízicos arbusculares que tem ação direta na agregação do solo.

O estímulo à micorrização pela formononetina pode contribuir com maior atividade de microrganismos do solo, pois de acordo com Hungria et al. (2009) o aumento da atividade microbiana está ligado à deposição de material orgânico e colonização micorrízica. Esse fato ajuda a explicar o maior diâmetro médio ponderado e geométrico dos agregados do solo, pois de acordo com Tisdall e Oades (1982) para a formação de agregados maiores que 0,25 μm, têm grande influência agentes temporários e transientes, dentre eles temos os polissacarídeos oriundos de microrganismos do solo, que atuam principalmente pelo seu efeito cimentante.

Além disso, devido ao estímulo a micorrização pela formononetina pode ocorrer maior produção de matéria orgânica através das hifas dos fungos micorrízicos arbusculares, como constatado por Braghirolli et al. (2012) e da maior

produção de matéria seca da parte aérea e raiz de plantas micorrizadas, como constatado por Campos et al. (2010) para o milho. Esses aumentos podem proporcionar maior teor de matéria orgânica do solo, que contribui para o aumento no diâmetro médio ponderado e geométrico devido a sua importância para a formação dos agregados do solo. Como afirma Azevedo e Dalmolin (2006) que citam que solos com teores adequados de matéria orgânica do solo, geralmente, são bem estruturados.

O índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,00 – 0,05 m foi alterado com a aplicação da formononetina na presença de 35 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ (Figura 8). O modelo que melhor se ajustou aos dados foi o quadrático. Na análise de regressão não houve efeito da dose de formononetina no índice de estabilidade dos agregados, na camada 0,00 – 0,05 m, quando utilizada na ausência da adubação fosfatada e presença de 17,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅, pois nenhum dos modelos testados se ajustou aos dados.

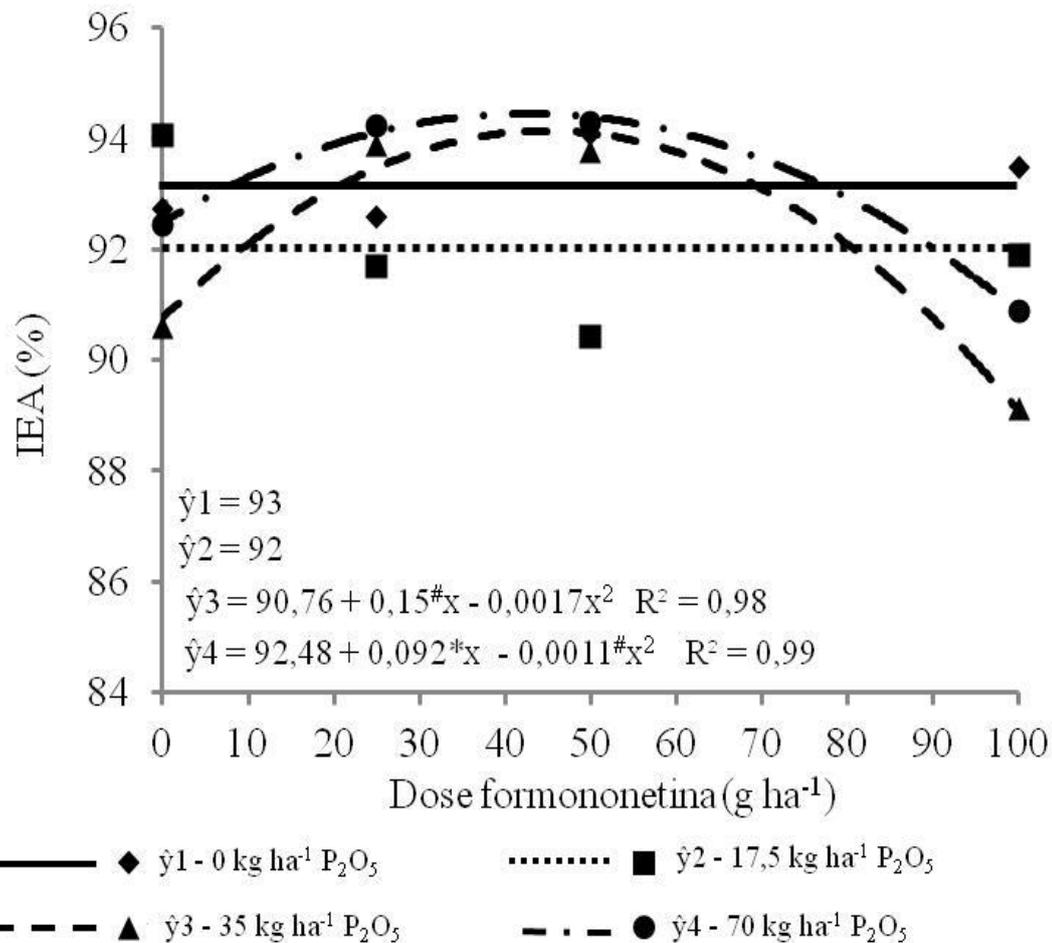


FIGURA 8. Índice de estabilidade dos agregados do solo (IEA) na camada 0,00 – 0,05 m, em função da aplicação de formononetina em milho, em cada dose de P_2O_5 . (* e #: Significativo a 5 e 10% de probabilidade pelo teste t, respectivamente)

O maior índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,00 – 0,05 m, na presença de 35 kg ha^{-1} de P_2O_5 , estimada por meio da equação de regressão, foi na dose 44 g ha^{-1} de formononetina, que resultou em um índice de estabilidade dos agregados de 94%. Assim, a formononetina aumentou em 4% o índice de estabilidade dos agregados do solo (90 para 94%), na camada de 0,00 – 0,05 m, quando utilizada na presença de 35 kg ha^{-1} de P_2O_5 .

O maior índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,00 – 0,05 m, na presença de 70 kg ha^{-1} de P_2O_5 , estimada por meio da equação de regressão, foi na dose 42 g ha^{-1} de formononetina, que resultou em um índice de estabilidade dos agregados de 94%. Assim, ocorreu aumento de 2% (92 para 94%) no índice de estabilidade dos agregados do solo, na camada de 0,00 – 0,05 m, com aplicação de formononetina na presença de 70 kg ha^{-1} de P_2O_5 .

O efeito benéfico da formononetina na estabilidade dos agregados do solo ocorreu na presença do fósforo, provavelmente, isso ocorreu, pois as doses de fósforo utilizadas no experimento estão dentro do recomendado para o milho e o solo apresenta um teor baixo de fósforo disponível, fatos que colaboraram para que não houvesse prejuízos proporcionados pelo fósforo na colonização micorrízica, assim, beneficiando a estabilidade dos agregados do solo. Corroborando, Nobrega et al. (2001) que concluíram que a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares propiciou maior estabilidade dos agregados, condicionado ao nível de fósforo no solo, sendo que sua presença promoveu, indiretamente, o maior comprimento total de hifas de fungos micorrízicos arbusculares e, conseqüentemente, maior agregação do solo.

Uma das possíveis causas do maior índice de estabilidade dos agregados do solo com aplicação da formononetina deve-se ao estímulo à micorrização, que pode proporcionar maior produção de hifas dos fungos micorrízicos arbusculares. Muitos trabalhos apresentam maior estabilidade dos agregados devido às hifas dos fungos micorrízicos arbusculares. Por exemplo, Caravaca et al. (2006) que observaram um aumento significativo na estabilidade dos agregados, após a inoculação de um combinado de espécies de fungos micorrízicos arbusculares. Eles atribuíram esse fato, em parte, às hifas dos fungos micorrízicos arbusculares, devido ao efeito físico das mesmas e efeito cimentante de seus exudados. Resultado idêntico ao apresentado por Albuquerque et al. (2005) que observaram que a estabilidade dos agregados correlaciona-se positivamente com o micélio fúngico. Da mesma forma, Vilela et al. (2012) atribuíram a elevação no índice de estabilidade dos agregados do solo, em parte, aos fungos micorrízicos arbusculares introduzidos.

Além das hifas, os fungos micorrízicos arbusculares podem liberar no solo substâncias como exudados, sendo uma das mais importantes a proteína de solo relacionada à glomalina. Essa substância é insolúvel em água (BEDINI et al., 2009), possui efeito cimentante (TRUBER, 2013), alta hidrofobicidade (ROSIER et al., 2006) e pode permanecer até 42 anos no solo para sua completa mineralização (RILLING et al., 2001; ZHU e MILLER, 2003). Essas características conferem a proteína do solo relacionada à glomalina um elevado potencial para melhoria na estabilidade dos agregados do solo. Como comprovado por Rillig (2004) que cita que existe relação positiva entre a quantidade de proteína do solo relacionada à glomalina e estabilidade dos agregados do solo.

As micorrizas arbusculares podem aumentar o acúmulo de matéria orgânica do solo devido ao aumento da produção de matéria seca da parte aérea e raízes das plantas e de hifas e esporos dos fungos micorrízicos arbusculares. Como contatado por Braghirolli et al. (2012) que citam que as hifas dos fungos micorrízicos arbusculares representam até 20% de toda a biomassa microbiana dos solos. Como exemplo, Rillig et al. (2001) citam que a quitina é uma substância encontrada em grande quantidade nas hifas dos fungos micorrízicos arbusculares, que quando transformada em matéria orgânica do solo, possui difícil decomposição podendo permanecer por 25 anos no solo. Nesse sentido, a formononetina como estimulante à micorrização pode proporcionar ganho em matéria orgânica do solo. Vieira (2010) relatam esse efeito benéfico dos fungos micorrízicos arbusculares, pois citam que a prática da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares promove o maior crescimento de plantas, aumentando o estoque de carbono e, conseqüentemente, a estabilidade dos agregados. De acordo com o autor acontece maior estabilidade dos agregados, pois a matéria orgânica do solo exerce importante papel na cimentação das partículas minerais e orgânicas do solo.

A atividade microbiana no solo pode influenciar positivamente a estabilidade dos agregados, como constatado por Vilela et al. (2012) que observaram que houve efeito sinérgico entre os fungos micorrízicos arbusculares introduzidos e a comunidade microbiana nativa do solo proporcionando maior índice de estabilidade dos agregados. Fato semelhante foi observado por Vieira (2010) que encontrou maior estabilidade nos agregados do solo, segundo o autor, em parte, devido à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares promover o maior crescimento de plantas, que favorece os microrganismos do solo. Nesse contexto, a maior colonização micorrízica proporcionada pela formononetina pode contribuir para a maior atividade da microbiota do solo, assim, aumentando a estabilidade dos agregados do solo.

Para teor de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível houve diferença significativa para as fontes de variações doses de P_2O_5 e doses de formononetina e para interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina, pelo teste F ($p < 0,05$) (Quadro 8). Para teor de proteína do solo relacionada à glomalina total houve diferença significativo para a fonte de variação doses de P_2O_5 e para interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina, pelo teste F ($p < 0,05$), já para a fonte de variação doses de formononetina não houve resposta significativa.

QUADRO 8. Resumo da análise de variância dos teores de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível (GFE) e proteína do solo relacionada à glomalina total (GT), na camada de 0,00 – 0,20 m, após o cultivo de milho por dois anos consecutivos adubados com diferentes doses de fósforo e tratados com formononetina.

Fonte de variação	GFE	GT
Dose de P ₂ O ₅ (P)	24,50*	52,00*
Dose de formononetina (F)	8,18*	1,74 ^{ns}
P x F	3,78*	42,13*
CV 1 (%)	4,47	13,12
CV 2 (%)	4,52	13,40

*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. ^{ns}: Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Para o teor de proteína do solo relacionada à glomalina total e teor de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível as doses de formononetina, associadas a 0; 17,5; 35 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, não alteraram significativamente os coeficientes das equações de regressão a 10% de probabilidade pelo teste t. Para o teor de proteína do solo relacionada à glomalina total e teor de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível as doses de fósforo, associadas a 0, 25, 50 e 100 g ha⁻¹ de formononetina, não alteraram significativamente os coeficientes das equações de regressão a 10% de probabilidade pelo teste t.

Uma das possíveis explicações da ausência de resposta no teor de proteína do solo relacionada à glomalina total e facilmente extraível com uso do fósforo e formononetina no milho, na análise de regressão, é a capacidade que cada espécie de fungo micorrízico arbuscular tem de produzir a proteína. Como constatado por Wright e Upadhyaya (1999) que verificaram que houve diferença significativa na produção de proteína do solo relacionada à glomalina entre os fungos micorrízicos arbusculares da espécie *Glomus caledonium* e *Gigaspora rósea*, que produziram, respectivamente, 30 e 43% mais proteína do solo relacionada à glomalina que a espécie *Glomus intraradices*. Assim, o conjunto de espécie presente no solo pode influenciar a resposta da formononetina e do fósforo na produção de proteína do solo relacionada à glomalina.

Outro fator que pode ter contribuído para ausência de resposta no teor de proteína do solo relacionada à glomalina total e facilmente extraível com uso da formononetina no milho, na análise de regressão, é a característica da planta, pois de

acordo com Treseder e Cross (2006) fatores que controlam o crescimento dos fungos micorrízicos arbusculares interferem na produção da proteína. Nesse sentido, Angelini et al. (2012) citam que as poaceas podem apresentar maior taxa de colonização e esporulação, provavelmente, devido à maior eficiência fotossintética e sistema radicular mais volumoso. Por esse motivo, a aplicação da formononetina pode não apresentar ganhos em colonização micorrízica, que resultem em maior produção da proteína do solo relacionada à glomalina, pois não se sabe quanto deve ser o ganho em colonização que proporciona alterações significativas na produção de proteína do solo relacionada à glomalina.

As doses de fósforo utilizadas no experimento não proporcionaram efeito negativo na colonização micorrízica, pois as doses de fósforo estão dentro de recomendação para o milho, o solo apresentava um teor de fósforo disponível classificado como baixo e uma elevada capacidade de adsorção de fósforo. Devido à relação positiva do teor de proteína do solo relacionada à glomalina com a colonização micorrízica, esses fatos podem contribuir para a ausência da resposta das doses de fósforo no teor de proteína do solo relacionada à glomalina total e facilmente extraível, na análise de regressão.

As melhorias no índice de estabilidade dos agregados do solo, diâmetro médio geométrico dos agregados do solo, diâmetro médio ponderado dos agregados do solo e porosidade total do solo com uso da formononetina ocorreram sempre na presença de fósforo. Provavelmente, as doses de fósforos utilizadas no experimento não foram suficientes para prejudicar o desenvolvimento das micorrizas arbusculares, que poderia diminuir o efeito da formononetina nos atributos físicos do solo.

Outro fato importante a ser observado é que todos os resultados significativos, na análise de regressão, referem-se à camada 0,00 – 0,05 m. Esse fato ocorre, pois em plantio direto, a camada superficial é a que mais sofre ação da matéria orgânica, e que apresenta maior diversidade de espécies de microrganismos do solo e fungos micorrízicos arbusculares, e, possivelmente, a formononetina e o fósforo atuaram nesses fatores para modificar os atributos físicos do solo. Além disso, o experimento foi conduzido por dois anos, tempo que pode ter limitado a resposta dos tratamentos em camadas mais profundas.

As doses de formononetina que proporcionaram maiores melhorias nos atributos físicos do solo foram próximas a dose recomendada pelo fabricante ou

superiores a recomendação. Assim, existe o indício de que para a cultura do milho safrinha, no Latossolo Vermelho distroférico, as doses recomendadas pelo fabricante (50 g ha^{-1} de formononetina) apresentam boas respostas para o aumento na colonização micorrízica e na melhoria dos atributos físicos do solo.

De maneira geral, os resultados positivos do fósforo na macroporosidade do solo e porosidade total do solo ocorreram, em partes, devido ao maior desenvolvimento das plantas quando adubadas com fósforo e à maior atuação de microrganismos do solo e micorrizas arbusculares. Para a formononetina os efeitos benéficos na porosidade total, formação e estabilidade dos agregados do solo, de maneira geral, ocorreram devido ao estímulo à micorrização, que pode proporcionar maior desenvolvimento de fungos micorrízicos arbusculares, aumentando o efeito direto das hifas na formação dos agregados e maior fornecimento de matéria orgânica ao solo via massa seca de plantas e hifas de fungos micorrízicos arbusculares, além da possibilidade do efeito sinérgico aos microrganismos do solo.

CONCLUSÕES

A adubação fosfatada até a dose recomendada e a formononetina estimulam a colonização micorrízica no milho, que por sua vez, melhorou a porosidade do solo, no caso do fósforo, e melhorou a porosidade do solo, e a formação e estabilidade dos agregados do solo, no caso da formononetina, sendo essas melhorias na camada 0,00 – 0,05 m.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, J. A.; MAFRA, A. L.; FONTOURA, S. M. V.; BAYER, C.; PASSOS, J. F. M. Avaliação de sistemas de preparo e calagem em um Latossolo Bruno Alumínico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 963-975, 2005.

ALVARES V., V. H.; DIAS, L. E.; RIBEIRO, C. A.; SOUZA, R. B. Uso de gesso agrícola. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARAES, P. T. G.; ALVAREZ V., V. H. (ed.). **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. Aproximação**. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. p. 67-78.

ANGELINI, G. A. R.; LOSS, A.; PEREIRA, M. G.; TORRES, J. L. R.; SAGGIN JÚNIOR, O. J. Colonização micorrízica, densidade de esporos e diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em solo de Cerrado sob plantio direto e convencional. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, p. 115-130, 2012.

AZEVEDO, A. C.; DALMOLIN, R. S. D. **Solos e Ambiente: uma introdução**. 2. ed. Santa Maria: Editora Pallotti, 2006. 100p.

BEDINI, S.; PELLEGRINO, E.; AVIO, L.; PELLEGRINI, S.; BAZZOFFI, P.; ARGESE, E.; GIOVANNETTI, M. Changes in soil aggregation and glomalin related soil protein content as affected by arbuscular mycorrhizal fungal species *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 1491-1496, 2009.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRAGHIROLI, F. L.; GROTT, A. F.; PESCADOR, R.; UHLMANN, A.; STÜRMER, S. L.; Fungos micorrízicos arbusculares na recuperação de florestas ciliares e fixação de carbono no solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, p. 733-743, 2012.

CAMPOS, D. T. S.; ANDRADE, J. A. C.; CASSIOLATO, A. M. R. Crescimento e micorrização de genótipos de milho em casa de vegetação. **Bragantia**, v. 69, p. 555-562, 2010.

CARAVACA, F.; ALGUACIL, M. M.; AZCÓN, R.; ROLDÁN, A. Formation of stable aggregate in rhizosphere soil of *Juniperus oxycedrus*: Effect of AM fungi and organic amendments. **Applied Soil Ecology** v. 33, p. 30-38, 2006.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; CARVALHO, D.; BOTELHO, S.; ORIVALDO JÚNIOR, J. S. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas nativas de ocorrência no sudeste do Brasil. **Cerne**, v. 4, p. 129-145, 1998.

CARRENHO, R.; COSTA, S. M. G.; BALOTA, E. L.; COLOZZI FILHO, A. Fungos micorrízicos arbusculares em agroecossistemas brasileiros In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: Editora UFLA, 2010. p. 215-250.

CASTRO FILHO, C. MUZILLI, O. PODANOSCHI, A. L. Estabilidade dos agregados e sua relação com o teor de carbono orgânico num Latossolo Roxo distrófico, em função de sistemas de plantio, rotações de culturas e métodos de preparo das amostras. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 22, p. 527-538, 1998.

CLAESSEN, M. E. C.; BARRETO, W. O.; PAULA, J. L.; DUARTE, M. N. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 1997. 212 p.

COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E.; PITTA, G. V. E.; ALVES, V. M. C. Fertilidade do solo. In: **Sistema de produção: Cultivo do milho**. 6 ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. 2010. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_6_ed/economia.htm>. Acesso em: 10 Jan. 2012.

DAYNES, C. N.; FIELD, D. J.; SALEEBA, J. A.; COLE, M. A.; MCGEE, P. A. Development and stabilization of soil structure via interactions between organic matter, arbuscular mycorrhizal fungi and plant roots. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 57, p. 683-694, 2013.

DECHEN, A. N.; NACHTIGALL, G. R. Elementos requeridos à nutrição de plantas. In: NOVAIS, R. F.; ALVARES V., V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (ed.). **Fertilidade do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 91-132.

DONAGEMMA, G. K.; CAMPOS, S. V. B.; CALDERANO, S. B.; TEIXEIRA, W. G.; VIANA, J. H. M. (org.). **Manual de métodos de análise de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA-Serviço Nacional de Levantamento e Conservação do Solo, 2011. 230p.

GARCIA, R. A.; ROSOLEM, C. A. Agregados em um Latossolo sob sistema plantio direto e rotação de culturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 1489-1498, 2010.

GERDEMANN, J. W.; NICHOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **British Mycological Society Transactions**, v. 446, p. 235-344, 1963.

GIOVANETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular arbuscular mycorrhizal infection roots. **New Phytologist**, v. 84, p. 489-500, 1980.

GONZALES-CHAVEZ, M. C. A.; GUTIERREZ-CASTORENA, M. C.; WRIGHT, S. Hongos micorrízicos arbusculares en la agregación del suelo y su estabilidad. **Terra Latinoamericana**, v. 22, p. 507-514, 2004.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; BRANDÃO JÚNIOR, O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R. A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, v. 42, p. 288-296, 2009.

JACQUES, S. M. C. **Bioestatística: princípios e aplicações**. Porto Alegre: Artemed, 2003. 255p

KEMPER, W. D.; ROSENAU, R. C. Aggregate stability and size distribution. In: KLUTE, A. (org.). **Methods of soil analysis. Part I. Physical and mineralogical methods**. Madison: Soil Science Society of America, 1986. p. 425-442.

KOHLER, J.; CARAVACA, F.; AGUACIL, M. M.; ROLDÀN, A. Elevated CO₂ increases the effect of an arbuscular mycorrhizal fungus and a plant-growth-promoting rhizobacterium on structural stability of a semiarid agricultural soil under drought conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 1710-1716, 2009.

LIMA, J. M.; ANDERSON, S. J.; CURI, N. Phosphate induced clay dispersion as related to aggregate size and composition in Hapludoxs. **Soil Science Society of America Journal**, v. 64, p. 892-897, 2000.

MELLONI, R.; NOGUEIRA, M. A.; FREIRE, V. F.; CARDOSO, E. J. B. N.; Fósforo adicionado e fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e nutrição mineral de limoeiro-cravo [*Citrus limonia* (L.) Osbeck]. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 767-775, 2000.

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

NAIR, M. G.; SAFIR, G. N.; SIQUEIRA, J. O. Isolation and identification of vesicular-arbuscular mycorrhiza stimulatory compounds from clover (*Trifolium repens*) roots. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, p. 434-439, 1991.

NOBREGA, J. C. A.; LIMA, J. M.; CURI, N.; SIQUEIRA, J. O.; MOTTA, P. E. F. Fosfato e micorriza na estabilidade de agregados em amostras de Latossolos cultivados e não cultivados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 11, p. 1425-1435, 2001.

NOVAIS, C. B.; SIQUEIRA, J. O. Aplicação de formononetina na colonização e esporulação de fungos micorrízicos em braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 496-502, 2009.

PENG, S.; GUO, T.; LIU, G. The effects of arbuscular mycorrhizal hyphal networks on soil aggregations of purple soil in southwest China. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 57, p. 411-417, 2013.

PRANDO, M. B.; OLIBONE, O.; OLIBONE, A. P. E.; ROSOLEM, C. A. Infiltração de água no solo sob escarificação e rotação de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 693-700, 2010.

RIBEIRO, B. T.; LIMA, J. M.; CURI, N.; OLIVEIRA, G. C.; LIMA, P. L. T. Cargas superficiais da fração argila de solos influenciadas pela vinhaça e fósforo. **Química Nova**, v. 34, p. 5-10, 2011.

RILLIG, M. C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 28, p. 355-363, 2004.

RILLIG, M. G.; WRIGHT, S. F.; NICHOLS, K. A.; SCHMIDT, W. F.; TORN, M. S. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. **Plant and Soil**, v. 233, p. 167-177, 2001.

ROSIER, C. L.; HOYE, A. T.; RILLIG, M. C. Glomalin-related soil protein: Assessment of current detection and quantification tools. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, p. 2205-2211, 2006.

SALTON, J. C.; MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; BOENI, M.; CONCEIÇÃO, P. C.; CARVALHO, F. A.; MACEDO, M. C. M.; BROCH, D. L. Agregação e estabilidade de agregados do solo em sistemas agropecuários em Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 11-21, 2008.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; CUNHA, T. J. F.; OLIVEIRA, J. B. **Sistemas brasileiros de classificação de solos**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA Solos, 2013. 353p.

SANTOS, I. P. A.; PINTO, J. C.; SIQUEIRA, J. O.; MORAIS, A. R.; SANTOS, C. L. Influência do fósforo, micorriza e nitrogênio nos parâmetros microbiológicos da *Brachiaria brizantha* e *Arachis pintoi* consorciados. **Pasturas Tropicais**, v. 23, p. 22-26, 2001.

SILVA, M. A. S.; MAFRA, A. L.; ALBUQUERQUE, J. A.; ROSA, J. D.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Propriedades físicas e teor de carbono orgânico de um Argissolo Vermelho sob distintos sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 329-337, 2006.

SILVA, R. B.; LIMA, J. M.; DIAS JUNIOR, M. S.; SILVA, F. A. M. Alterações de propriedades físicas e hídricas de um Latossolo Vermelho distrófico pela adsorção de fósforo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, p. 791-798, 2001.

SILVA, R. B.; LIMA, J. M.; DIAS JUNIOR, M. S. Efeito da adsorção de fosfato em parâmetros físicos e na compressibilidade de solos tropicais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 219-226, 1999.

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

SILVA JÚNIOR, J. P.; SIQUEIRA, J. O. Aplicação de formononetina sintética ao solo como estimulante da formação de micorriza no milho e na soja. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 9, p. 33-39, 1997.

SIQUEIRA, J. O.; PEREIRA, M. A. M.; SIMÃO, J. B. P.; MOREIRA, F. M. S. Efeitos da formononetina (7-Hidroxi, 4^o metoxi Isoflavona) na colonização micorrízica e crescimento do milho em solo contendo excesso de metais pesados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 571-577, 1999.

SIQUEIRA, J. O.; SAFIR, G. R.; NAIR, M. G. Stimulation of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation and growth of white clover by flavonoid compounds. **New Phytologist**, v. 118, p. 87-93, 1991.

TISDALL, J. M.; OADES, J. M. Organic matter and water-stable aggregates in soil. **Journal of Soil Science**, v. 33, p.141-163, 1982.

TRESEDER, K. K.; CROSS, A. Global distributions of arbuscular mycorrhizal fungi. **Ecosystems**, v. 9, p. 305-316, 2006.

TRUBER, P. V. **Agregação do solo e ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em sistemas de rotação de culturas**. 2013. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP.

VALADÃO, F. C. A.; WEBER, O. L.; VALADÃO JUNIOR, D. D.; SCAPINELL, A.; DEINA, F. R.; BIANCHINI, A. Adubação fosfatada e compactação do solo: sistema radicular da soja e do milho e atributos físicos do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, p. 243-255, 2015.

VIEIRA, L. L. **Influência de atributos físicos, químicos e microbiológicos na agregação de solos sob diferentes sistemas de uso, em Maria da Fé, MG**. 2010. 61f. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Itajubá, Itajubá-MG.

VILELA, L. A. F.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; PAULINO, B. H.; SIQUEIRA, J. O.; SANTOS, V. L. S.; CARNEIRO, M. A. C. Arbuscular mycorrhizal fungus in microbial activity and aggregation of a Cerrado Oxisol in crop sequence. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, p. 34-42, 2014.

VILELA, L. A. F.; CARNEIRO, M. A. C.; SANTOS, V. L. S.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; BARCELOS, J. G. E.; BARROS, J. Fungos micorrízicos arbusculares, atividade microbiana e estabilidade de agregados de um Latossolo Vermelho de Cerrado. FERTBIO, 2012, Maceió **Resumo expandido...**, Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2012.

WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. A. Quantification of arbuscular mycorrhizal fungi activity by the glomalin concentration on hyphal traps. **Mycorrhiza**, v. 8, p. 283-285, 1999.

WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. A. Survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v. 198, p. 97-107, 1998.

ZHU, Y. G.; MILLER, R. M. Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil – plant systems. **Trends Plant Science**, v. 8, p. 407-409, 2003.

ARTIGO 2

ATRIBUTOS FÍSICOS DE UM LATOSSOLO VERMELHO DISTROFÉRRICO CULTIVADO COM SOJA TRATADA COM ESTIMULANTE À MICORRIZAÇÃO E FÓSFORO

Resumo: Os fungos micorrízicos arbusculares modificam os atributos físicos do solo, mas sua utilização é difícil em áreas agrícolas extensas. O estímulo à micorrização com uso de substâncias apresenta-se como a forma mais viável. Dentre essas substâncias, a que mais se destaca é a formononetina. Diversos fatores podem influenciar o efeito da formononetina, sendo um dos mais importantes é o fósforo. Objetivou-se avaliar as alterações nos atributos físicos de um Latossolo Vermelho distroférico submetido ao cultivo da soja com adubação fosfatada no solo e formononetina em tratamento de semente. O experimento foi realizado por dois anos consecutivos (safras 2010/11 e 2011/12), na fazenda experimental da Universidade Federal da Grande Dourados, município de Dourados-MS, com o cultivo da soja na mesma área, submetidos aos mesmos tratamentos nas parcelas e subparcelas, sendo as análises realizadas apenas no segundo ano. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, no esquema de parcelas subdivididas, com cinco repetições. Os tratamentos foram: fósforo nas parcelas (0; 17,5; 35 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅), tendo como fonte o superfosfato triplo, e nas sub-parcelas as doses de formononetina (0, 25, 50, 100 g ha⁻¹), tendo como fonte o produto comercial PHC 506, aplicado nas sementes. Avaliou-se a taxa de colonização micorrízica nos estádios R1, R4 e R8. No estádio R8, na camada 0,00 – 0,20 m, foi avaliado o número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares no solo, o teor de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível e teor de proteína do solo relacionada à glomalina total. Nas camadas 0,00 – 0,05 m e 0,05 – 0,10 m, avaliaram-se a densidade do solo, macroporosidade do solo, microporosidade do solo, porosidade total do solo, diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, diâmetro médio geométrico dos agregados do solo e índice de estabilidade dos agregados do solo. Os resultados mostraram que houve aumento na taxa de colonização micorrízica, no estádio R4, com uso do fósforo na ausência de formononetina e com uso da formononetina na ausência da adubação fosfatada, no estádio R8, mas esses aumentos ocorreram até determinadas doses de fósforo e formononetina, pois as respostas foram quadráticas. Na camada 0,00 - 0,05 m verificou-se que a formononetina (até 48 g ha⁻¹) na presença de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ aumentou a macroporosidade do solo, e na presença de 17,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅ a formononetina aumentou a porosidade total do solo. Nesta mesma camada, a aplicação do fósforo na presença de 100 g ha⁻¹ de formononetina aumentou linearmente o índice de estabilidade dos agregados do solo. Na camada 0,05 - 0,10 m a formononetina na ausência da adubação fosfatada e na presença de 35 kg ha⁻¹ de P₂O₅ aumentou a macroporosidade do solo, e na presença de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ a formononetina aumentou o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, e na presença de 35 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ a formononetina aumentou o índice de estabilidade dos agregados do solo. Com exceção do aumento no índice de estabilidade dos agregados na presença de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, os aumentos foram verificados até determinadas doses de formononetina, pois as respostas foram

quadráticas. Nesta mesma camada, o fósforo na presença de 25 g ha⁻¹ de formononetina aumentou o índice de estabilidade dos agregados do solo, mas essa resposta dependeu da dose de fósforo, pois a resposta foi quadrática. A formononetina na presença de 17,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅ aumentou o teor de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível, e o fósforo na presença de 50 g ha⁻¹ de formononetina aumentou o teor de proteína do solo relacionada à glomalina total, ressaltando que esses aumentos foram verificados até uma determinada dose de fósforo e formononetina, pois as respostas foram quadráticas. Conclui-se que o fósforo até doses recomendadas para a cultura e a formononetina melhoram a colonização micorrízica na soja e a produção de proteína do solo relacionada à glomalina, que proporcionam benefícios a estabilidade dos agregado do solo, no caso de fósforo, e na porosidade do solo, formação e estabilidade dos agregados do solo, no caso da formononetina.

Palavras-chaves: Formononetina, estabilidade de agregado, física do solo, adubação fosfatada, *Glycine max*.

PHYSICAL ATTRIBUTES OF OXISOL CULTIVATED WITH SOYBEAN TREATED WITH MYCORRHIZAL STIMULANT AND PHOSPHORUS

Abstract: The arbuscular mycorrhizal fungi modify the soil physical attributes, but its use is difficult in large agricultural areas. The stimulus to the mycorrhiza with substance is presented as the most feasible way. Among these substances, the one that stands out is the formononetin. Several factors may influence the effect of formononetin, one of the most important is the phosphorus. This study aimed to evaluate the changes in physical attributes of an Oxisol submitted to cultivates soybean with phosphate fertilizer in soil and formononetin in seed treatment. The experiment was conducted for two consecutive years (2010/11 and 2011/12), at the experimental farm of the Universidade Federal Grande Dourados, county of Dourados-MS, with the cultivation of soybean in the same area, submitted to the same treatments in plots and subplots. The analysis made only in the second year. The experimental design was a randomized block in a split plot with five repetitions. The treatments were: phosphorus in the plots (0, 17.5, 35 and 70 kg ha⁻¹ of P₂O₅), used as source the triple superphosphate, and doses of formononetin in the sub-plots (0, 25, 50, 100 g ha⁻¹) used as source the commercial product PHC 506, applied in the seeds. We evaluated the mycorrhizal colonization rate in the R1, R4 and R8 stages. In R8 stage, in the layer 0.00 - 0.20 m, was evaluated number of spores of arbuscular mycorrhizal fungi in the soil, the content of soil protein related to glomalin easily removable and content of soil protein related to glomalin total. In the layers 0.00 - 0.05 m and 0.05 - 0.10 m, it evaluated the soil bulk density, soil macroporosity, soil microporosity, total soil porosity, weighted average diameter of soil aggregates, geometric average diameter of soil aggregate and soil aggregate stability index. The results showed that there was an increase in the mycorrhizal colonization rate in R4 stage with use of phosphorus in the absence of formononetin and in the use of formononetin in the absence of phosphate fertilizer, at the R8 stage, but these increases occurred until certain levels of phosphorus and formononetin because the response was quadratic. In the layer 0.00 - 0.05 m, it was found that formononetin (until 48 g ha⁻¹) in the presence of 70 kg ha⁻¹ P₂O₅ increased the soil macroporosity, and in the presence of 17.5 kg ha⁻¹ P₂O₅ the formononetin increased linearly the soil total porosity. In the same layer, the phosphorus applied in the presence of 100 g ha⁻¹ formononetin increased linearly the soil aggregate stability index. In the layer 0.05 - 0.10 m the formononetin in the absence of phosphorus fertilization and in the presence of 35 kg ha⁻¹ P₂O₅ increased the soil macroporosity, and in the presence of 70 kg ha⁻¹ P₂O₅ the formononetin increased the weighted average diameter of soil aggregates and in the presence of 35 and 70 kg ha⁻¹ P₂O₅ the formononetin increased the soil aggregate stability index. Except the increase in the soil aggregate stability index in the presence of 70 kg ha⁻¹ P₂O₅, increases were observed until certain level of formononetin because the response was quadratic. In the same layer, the phosphorus in the presence of 25 g ha⁻¹ formononetin, increased the soil aggregate stability index, but this response depended on the phosphorus level, because the response was quadratic. The formononetin in the presence of 17.5 kg ha⁻¹ P₂O₅ increased the content of soil protein related to glomalin easily removable and phosphorus in the presence of 50 g ha⁻¹ formononetin increased the content of soil protein related to glomalin total, highlighting that these increases were checked until determined phosphorus and formononetin level because the response

was quadratic. It is concluded that the phosphorus until recommended doses for culture and formononetin improve mycorrhizal colonization in soybean and production of soil protein related to glomalin that provide beneficial in the soil aggregate stability, when used the phosphorus, and soil porosity, formation and stabilization of soil aggregates, when used the formononetin.

Keywords: Formononetin, aggregate stability, soil physics, phosphate fertilizer, *Glycine max.*

INTRODUÇÃO

Os fungos micorrízicos arbusculares podem associar-se às raízes da soja e proporcionar muitos benefícios à planta e ao solo. Destacando-se o solo, Gonzales Chaves et al. (2004) afirmam que esses microrganismos participam da formação e estabilização dos agregados do solo por meio das suas hifas externas no solo, que atuam como um esqueleto estrutural, aumentando a aderência das partículas do solo e por atuação da proteína do solo relacionada à glomalina, que é produzida pelos fungos micorrízicos arbusculares e tem ação cimentante nos agregados do solo.

Na literatura muitos trabalhos mostram melhoria nos atributos físicos do solo devido às micorrizas arbusculares. Como, Vilela et al. (2014) que verificaram que a inoculação com o fungo micorrízico arbuscular da espécie *Glomus macrocarpum*, em casa de vegetação, em sucessão soja e poaceas forrageiras, aumentou o diâmetro médio ponderado e geométrico dos agregados do solo, e atribuíram esse fato a maior produção de hifas, esporos e proteína do solo relacionada à glomalina pelo fungo micorrízico arbuscular, e também pelo maior estímulo ao desenvolvimento de outros microrganismos do solo e maior crescimento de plantas. Também na soja, Nobrega et al. (2001) verificaram maior diâmetro médio geométrico dos agregados do solo. Segundo os autores, causado pela maior produção de hifas pelos fungos micorrízicos arbusculares. Vilela et al. (2012), Bedini et al. (2009), Kohler et al. (2009) e Caravaca et al. (2006) também relatam benefícios dos fungos micorrízicos arbusculares nos atributos físicos do solo. Indiretamente, os fungos micorrízicos arbusculares podem alterar os atributos físicos do solo por meio do maior acúmulo da matéria orgânica no solo através das suas hifas e esporos e maior crescimento das plantas, que deposita mais matéria orgânica no solo e pela maior atividade de outros microrganismos do solo que são muito importantes para os atributos físicos do solo.

Para o sucesso da micorrização e, conseqüentemente, melhorias no solo e plantas, a tecnologia de aplicação do fungo micorrízico arbuscular é muito importante. A sua inoculação direta no solo em áreas extensas ainda é pouco viável, devido à elevada quantidade de inoculante necessária em condições de campo, para que o fungo micorrízico arbuscular introduzido tenha condições de suportar a competição com os nativos. E pelo alto custo de produção do inoculante, pois o

fungo micorrízico arbuscular é biotrófico obrigatório, necessitado de hospedeiro vivo para esporular. Nesse contexto, faz-se necessário a busca por novas formas de utilização dos fungos micorrízicos arbusculares, dentre as técnicas alternativas nos dias de hoje temos a aplicação de produtos capazes de estimular e acelerar a colonização micorrízica das raízes. Essa técnica apresenta elevado potencial para aplicação na agricultura em larga escala (NOVAIS e SIQUEIRA, 2009).

A formononetina é a substância estimulante à micorrização mais estudada atualmente, foi descoberta por Nair et al. (1991) em raízes de plantas de trevo (*Trifolium repens*), produzida em maiores quantidades naquelas estressadas pela deficiência de fósforo. Acredita-se que esta substância aumenta a esporulação e a taxa de colonização das raízes pelos fungos micorrízicos arbusculares (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Em experimento com soja, Silva Junior e Siqueira (1998) verificaram aumento no número de arbúsculos, pontos de entradas primários e secundários e na colonização por fungos micorrízicos arbusculares das espécies *Acaulospora morrowiae*, *Gigaspora margarita*, *Glomus clarum*, *Glomus etunicatum* e *Seuteilospora heterogama* nas plantas tratadas com formononetina.

Assim, devido ao estímulo a micorrização pela formononetina, que pode proporcionar maior produção de esporos e hifas de fungos micorrízicos arbusculares e, indiretamente, maior crescimento de plantas e maior atuação de microrganismos do solo, pode ocorrer efeitos benéficos desta substância no solo. Mas, muitos fatores influenciam o desenvolvimento das micorrizas arbusculares e o estímulo à micorrização pela formononetina, conseqüentemente, a resposta nos atributos físicos do solo. A espécie de planta é um desses fatores, pois de acordo com Souza et al. (2011) plantas com sistema radicular menos ramificado, como é o caso da soja, que possui sistema radicular pivotante, apresentam menor eficiência em absorção de fósforo em comparação às plantas com sistema radicular fasciculado. Assim, espera-se que em plantas como a soja, o efeito prejudicial do fósforo na colonização micorrízica ocorra em teores maiores no solo em comparação às plantas mais eficientes em absorver fósforo, pois de acordo com Costa et al. (2001) o nível crítico deste macronutriente na planta controla a associação micorrízica.

Outro fator que se deve levar em consideração na micorrização e no estímulo à micorrização é o fósforo, nutriente este que mais afeta a colonização micorrízica. Acredita-se que plantas crescidas em solos ricos em fósforo disponível tenham menor colonização micorrízica (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). O fósforo

também pode influenciar o estímulo à micorrização pela formononetina. Como relatado por Novais e Siqueira (2009) que relacionam condições estimulantes à colonização micorrízica à menor resposta da formononetina. Fato também observado por Silva Junior e Siqueira (1998) que não verificaram efeito benéfico no crescimento, nodulação e nutrição da soja em teores baixos de fósforo no solo. Isso pode ocorrer, pois o teor muito baixo deste nutriente no solo é altamente estimulatório à micorrização. O excesso de fósforo disponível no solo também pode ser prejudicial ao estímulo à micorrização, como relatado por Silva Junior e Siqueira (1997) na cultura da soja. Isso ocorre devido à redução na colonização micorrízica causada pelo excesso de fósforo. Assim, o fósforo pode alterar a atividade e o crescimento da micorriza arbuscular, indiretamente, afetando as características físicas do solo.

Indiretamente, o fósforo pode alterar os atributos físicos no solo devido ao seu efeito no crescimento das plantas e nos microrganismos do solo. Esse efeito pode ser benéfico devido a maior produção de massa pela planta, principalmente de raízes, que contribui para o maior fornecimento de matéria orgânica do solo que pode influenciar positivamente os atributos físicos do solo. Como observado por Nobrega et al. (2001) que verificaram que na soja a maior dose de fósforo aumentou, indiretamente, o diâmetro médio geométrico dos agregados do solo, segundo os autores devido a maior produção de raízes pelas plantas. Como a matéria orgânica é fonte de energia e nutrientes para os microrganismos do solo, o fósforo pode melhorar a atuação destes seres vivos do solo, que são muito importantes para a melhoria nas características físicas do solo.

Além do seu efeito na micorrização, o fósforo pode atuar diretamente nos atributos físicos do solo, pois são íons na solução do solo que reagem fortemente com a fase sólida, assim, alterando o balanço de cargas do solo, que modifica as forças de atração e repulsão entre as partículas do solo. Fato descrito por Silva et al. (2001) que verificaram que em solos com balanço de carga líquida positiva a adsorção de fosfato aumenta a quantidade de cargas negativas e diminui o excedente de cargas positivas, aumentando a atração eletrostática entre as partículas, pois cargas elétricas diferentes se atraem, favorecendo a floculação no solo e diminuindo a dispersão. Nesse caso, a adição do fósforo é benéfica ao solo, por favorecer agregação do solo.

No entanto, a partir do momento que o balanço de cargas do solo fica eletronegativo, a continuidade do fenômeno da adsorção de fósforo adiciona mais cargas negativas no solo, favorecendo a repulsão entre as partículas do solo. Neste caso, quando em excesso no solo, o fósforo favorece a dispersão, que é prejudicial à agregação e, conseqüentemente, ao solo. Fato constatado por Silva et al. (1999) que citam que o fósforo em excesso alterou a quantidade de poros do solo, estabilidade dos agregados do solo, dentre outros atributos físicos do solo. Silva et al. (2001) também verificaram que o fósforo em excesso reduziu o efeito cimentante dos óxidos de ferro e de alumínio e alteraram a agregação do solo, assim, comprometendo atributos físicos do solo.

Os resultados das micorrizas arbusculares e fósforo nos atributos físicos do solo são constatados em vários trabalhos, mas o número de trabalhos publicados que tratam especificamente da avaliação da aplicação de formononetina e do fósforo nos atributos físicos do solo cultivado com soja é muito baixo. Assim, o objetivo foi avaliar as alterações nos atributos físicos de um Latossolo Vermelho distroférico submetido ao cultivo da soja com adubação fosfatada no solo e formononetina em tratamento de semente.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em uma área na Fazenda Experimental da Universidade Federal da Grande Dourados, localizada nas coordenadas geográficas S 22° 13' 56" e O 54° 59' 25", 401 m de altitude, no município de Dourados-MS. O solo foi classificado como Latossolo Vermelho distroférrico de acordo Santos et al. (2013), de textura muito argilosa, foi cultivado com a soja, nas safras dos anos 2010/11 e 2011/12, na mesma área e submetidos aos mesmos tratamentos nas parcelas e subparcelas.

O solo foi amostrado antes do início do experimento e sua caracterização química (Quadro 1) e física (Quadro 2) realizada segundo metodologia proposta por Claessen et al. (1997).

QUADRO 1. Caracterização química do solo

pH CaCl ₂	P	K	Al	Ca	Mg	H+Al	SB	T	V
	mg dm ⁻³	-----cm _c dm ⁻³ -----							
5,0	13,0	0,2	0,1	6,1	2,2	6,2	8,5	14,8	57,0

P e K: Melich I; Ca, Mg e Al: KCl 1 mol L⁻¹; SB = Ca + Mg + K; T=CTC= Sb + H+Al; Saturação em bases (V) = 100 * (SB/T).

QUADRO 2. Caracterização física do solo

Textura (g kg ⁻¹)			Dp (g cm ⁻³)	Ds (g cm ⁻³)		
Areia	Silte	Argila		0,00 – 0,05 m	0,05 – 0,10 m	0,10 – 0,20 m
244,9	142,5	610,5	2,7	1,3	1,5	1,6

Textura: Método da pipeta; Densidade de partícula (Dp): Método do balão volumétrico; Densidade do solo (Ds): método do anel volumétrico.

A soja foi semeada manualmente, nas safras 2010/11 (semeada no dia 21/12/2010) e 2011/12 (semeada no dia 03/11/2011), em plantio direto, utilizando-se a cultivar FTS Campo Mourão. No período entre as duas safras o solo foi deixado em pousio. Com base nos teores de nutrientes presentes na análise de solo fez-se a adubação do solo seguindo as recomendações da Embrapa Soja (2010) para a cultura da soja. A adubação foi realizada manualmente, aplicando-se 70 kg ha⁻¹ de K₂O (tendo como fonte o cloreto de potássio). Utilizou-se inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio, através do produto comercial NITRAGIN CELL TECH HG, contendo *Bradyrhizobium Japonicum* SEMIA 5080 e SEMIA 5079. Para o fósforo

utilizaram-se as doses de acordo com cada tratamento, sendo utilizados 0, 25, 50 e 100% da dose recomendada pela Embrapa Soja (2010).

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com cinco repetições, com os tratamentos arranjados em esquema de parcelas subdivididas, sendo quatro doses de fósforo nas parcelas (0; 17,5; 35 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅), tendo como fonte o superfosfato triplo, e nas sub-parcelas quatro doses de formononetina (0, 25, 50, 100 g ha⁻¹), tendo como fonte o produto comercial PHC 506. Cada unidade experimental tinha seis linhas de 7 m de comprimento, com espaçamento entrelinhas de 0,45 m, sendo considerada como área útil apenas as quatro linhas centrais, excluindo-se 1 m de cada extremidade, onde foram coletadas as amostras para análises. Embora o experimento tenha sido realizado por duas safras consecutivas, as avaliações foram realizadas apenas na segunda safra, pois para os experimentos que avaliam os atributos físicos é maior a possibilidade de alteração com o passar do tempo, pelo efeito residual dos tratamentos e a mudança gradual destes atributos.

O PHC 506 é um formulado em pó que possui elevada aderência na semente. A dose recomendada pelo fabricante é 50 g ha⁻¹ de formononetina. Este produto foi aplicado na semente da soja, após o tratamento com fungicida e com bactérias fixadoras de nitrogênio. Para o tratamento com o PHC-506, foi determinada a área que cada dose do produto iria ocupar, e determinou-se a massa do produto que deveria ser utilizada através de uma regra de três simples, posteriormente, determinou-se a massa de sementes de soja que seria utilizada para semear a área ocupada por cada dose de formononetina, em seguida, a semente foi tratada manualmente, através da agitação vigorosa da semente com o produto em um saco plástico.

Nos estádios R1, R4 e R8 realizou-se a coleta de raízes para determinação da taxa de colonização. Coletaram-se ao acaso, raízes de cinco plantas por unidade experimental. A coleta foi realizada com auxílio de uma pá de ponta. Posteriormente, foram lavadas com água, homogeneizada e retirada uma amostra composta por unidade experimental, em seguida, armazenou-se em frascos plásticos contendo solução com 5% de formaldeído, 90% de álcool etílico e 5% de ácido acético. Posteriormente, 1 g de raízes finas foi clarificado utilizando-se solução de KOH 5% p/v por 30 minutos. Em seguida foram lavadas em água corrente e agitadas por 4 minutos em HCl 1%. As raízes foram coradas com azul de tripan em

lactoglicerol 0,05% (água: glicerol: ácido láctico, 1:1:1). Para estimar a porcentagem de raiz colonizada utilizou-se o método de intercessão, descrito por Giovanetti e Mosse (1980) e observação em microscópio estereoscópico (ampliação de 10 a 40 vezes).

No estádio R8 foram coletadas, ao acaso, cinco amostras simples de solo por unidade experimental, na camada 0,00 – 0,20 m, com auxílio de um trado holandês. As amostras simples foram homogeneizadas e retiradas uma amostra composta por unidade experimental. Essas amostras foram armazenadas a 4° C e utilizadas para avaliação da densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares no solo ao final do experimento, de acordo com a metodologia descrita por Gerdemann e Nicholson (1963). Nestas amostras também foram determinados o teor de proteína do solo relacionada à glomalina total e teor de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível. Para ambos os tipos de proteína foi utilizada a metodologia de extração de Wright e Upadhyaya (1998) e para a dosagem proteica o método de Bradford (1976).

A extração e contagem de esporos foram realizadas da seguinte forma: A partir das amostras compostas, colocou-se 50 cm³ de solo em um becker; transferiu-se para um becker grande e suspendeu-se com no mínimo 500 mL de água de torneira; agitou-se vigorosamente com um bastão de vidro para suspender os esporos e esperou-se por 30 segundos; passou-se a suspensão através de duas peneiras empilhadas, com aberturas de 710 µm e 0,053 mm; repetiu-se os dois procedimentos anteriores por três vezes, ou até a água do Becker ficar limpa. Após isso, transferiu-se o material retido na peneira de 0,053 mm para um tubo de centrífuga com água; centrifugou-se a 3000rpm por três minutos; retirou-se o sobrenadante cuidadosamente, deixando-se apenas o solo no tubo de centrífuga. Adicionou-se solução de sacarose (50%) no tubo de centrífuga contendo o solo; centrifugou-se a 2000rpm por um minuto; despejou-se o sobrenadante novamente na peneira de 0,053 mm e lavou-se com água de torneira para remover o excesso de sacarose; transferiram-se os esporos da peneira com malha de 0,053 mm para uma placa canelada e na lupa fez-se a contagem.

A extração da proteína do solo relacionada à glomalina total foi realizada da seguinte forma: o solo foi seco ao ar e passado através de peneira de malha de 2 mm, posteriormente, pesou-se 1 g de solo e adicionou-se 8 mL da solução de citrato de sódio 50 mM. O material foi autoclavado por 60 minutos a 121° C,

posteriormente, a amostra foi centrifugada a 2500rpm por 30 minutos. O sobrenadante foi retirado e armazenado a 4° C. Esse ciclo repetiu-se até a completa extração da proteína do solo relacionada à glomalina total da amostra. Identifica-se a extração total quando o sobrenadante fica amarelo claro. Após a extração anotou-se o volume extraído e armazenou-se a 4° C.

A extração da proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível foi realizada da seguinte forma: o solo foi seco ao ar e passado através de peneira de malha de 2 mm, posteriormente, pesou-se 1 g de solo e adicionou-se 8 mL da solução de citrato de sódio 20 mM. O material foi autoclavado por 60 minutos a 121° C, posteriormente, o material foi centrifugado a 2500 rpm por 15 minutos. Após a extração anotou-se o volume extraído e armazenou-se a 4° C.

A leitura do teor de proteína do solo relacionada à glomalina total e teor de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível foram realizadas da seguinte forma: Retirou-se 0,1 mL de cada amostra extraída, e adicionou-se o extrator da proteína (reagente de Bradford), preparado pela dissolução de 100 mg de Coomassie Brilliant Blue G-250 em 50ml de etanol 95% e, e adição de 100 mL de ácido fosfórico 85%. A curva de calibração foi preparada com a albumina bovina, obtendo-se as concentrações 0, 20, 40, 60, 80, 100 ug de proteína. As leituras foram realizadas no comprimento de onda de 595 nm em espectrofotômetro.

Determinou-se a densidade do solo, macroporosidade do solo, microporosidade do solo e porosidade total do solo, na camada 0,00 – 0,05 m e 0,05 – 0,10 m, no estádio R8 da soja. Para essas determinações foi coletada uma amostra de solo por unidade experimental e por camada estudada com uso de anel volumétrico. Para a coleta, primeiramente, abriu-se uma trincheira no solo com profundidade de 0,20 m, na entrelinha da cultura, posteriormente, as amostras foram coletadas, centralizando-se o anel volumétrico na profundidade 0,025 m para representar a camada 0,00 – 0,05 m e centralizado na profundidade 0,075 m para representar a camada 0,05 – 0,10 m. As amostras foram envolvidas em papel filme, e armazenadas a 4° C. Posteriormente, realizou-se a análise segundo metodologia proposta por Donagema et al. (2011).

Para a determinação da densidade do solo, macroporosidade do solo, microporosidade do solo e porosidade total do solo os anéis volumétricos contendo as amostras indeformadas de solo foram saturados em água. Para a saturação, foi colocado um filo em uma das extremidades do anel volumétrico contendo a amostra,

posteriormente, foram levados para bandeja contendo uma fina camada de água. Após a saturação em água, a amostra de solo com anel volumétrico foi pesada e colocada na mesa de tensão até perderem água retida nos seus macroporos, ou seja, 0,6 m de coluna de água. Posteriormente, a amostra foi pesada e levada para estufa para secagem completa a 105° C, após a secagem na estufa a amostra e o anel volumétrico foram pesados em balança de precisão, para possibilitar o desconto da massa do anel, da massa da amostra de solo.

Para determinação da densidade do solo utilizou-se a seguinte fórmula:
 $D_s = \text{Massa do solo seco} / \text{volume do anel volumétrico}$.

Para determinação da macroporosidade do solo utilizou-se a seguinte fórmula: Macroporosidade = porosidade total - microporosidade.

Para determinação da microporosidade do solo utilizou-se a seguinte fórmula: Microporosidade = (Massa do solo após submetida a 0,6 m de coluna de água - massa do solo após seco em estufa) / volume do anel volumétrico.

Para determinação da porosidade total do solo utilizou-se a seguinte fórmula: Porosidade total = (Massa do solo após saturação - massa do solo após seco em estufa) / volume do anel volumétrico.

Determinou-se o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, diâmetro geométrico dos agregados do solo e índice de estabilidade dos agregados do solo, na camada 0,00 – 0,05 m e 0,05 – 0,10 m, no estádio R8 da soja. Para essas determinações, coletou-se ao acaso, uma amostra em forma de blocos de 20 x 20 x 5 cm, com estrutura preservada, por unidade experimental e por camada estudada. Abriu-se uma trincheira no solo, de 0,20 m de profundidade e com auxílio de uma espátula, coletou-se a amostra, posteriormente, foram armazenadas em sacos plásticos e secas ao ar. Em seguida, realizou-se as determinações em laboratório, seguindo a metodologia proposta por Castro Filho et al. (1998) para o índice de estabilidade dos agregados do solo, e metodologia proposta por Kemper e Rosenau (1986) para o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo e diâmetro médio geométrico dos agregados do solo.

Para a determinação do diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, diâmetro médio geométrico dos agregados do solo e índice de estabilidade dos agregados do solo, as amostras coletas em formas de bloco, após seca ao ar, foi submetida ao peneiramento via seca, em agitador mecânico contendo dois jogos de peneiras. A amostra foi dividida em duas partes iguais e submetida à agitação por 5

minutos. Posteriormente, os agregados retidos na peneira de malha 4,76 mm foram armazenados para ser submetido ao peneiramento via úmida por 15 minutos, por meio do aparelho de oscilação vertical. Para o peneiramento via úmida, foram retiradas três amostras de 25 g do solo retido na peneira de malha 4,76 mm, sendo uma amostra levada para estufa a 105° C para determinação da umidade e as outras duas foram submetidas ao aparelho de oscilação vertical contendo água, sendo cada amostra saturada em uma fina camada de água e colocada uma em cada jogo de peneira do aparelho de oscilação vertical (malhas de 1,000; 0,500; 0,250 e 0,105 mm e o fundo da peneira). Após peneiramento via úmido, os agregados retido em cada peneira foram passados para latas de alumínio com massa conhecida, e foram levadas para estufa a 105 ° C para secagem. Após a secagem, essas amostras foram pesadas em balança de precisão, em seguida, determinou-se a porcentagem de agregados secos retido em cada peneira em relação ao total da amostra seca. Essa porcentagem foi utilizada em fórmulas para determinação do diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, diâmetro médio geométrico dos agregados do solo e índice de estabilidade dos agregados do solo.

Fórmula para determinação do diâmetro médio ponderado: $DMP = \sum (\% \text{ agregados em cada peneira} / 100 * \text{diâmetro médio entre a malha da peneira onde foi retido o agregado e da peneira imediatamente superior})$

Fórmula para determinação do diâmetro médio geométrico: $DMG = (\sum (\% \text{ agregados em cada peneira} * \text{LOG do diâmetro médio entre a malha da peneira onde foi retido o agregado e da peneira imediatamente superior}) / \text{soma das porcentagens de agregados retidos em todas as peneiras})^{10}$

Fórmula para determinação do índice de estabilidade dos agregados: $IEA = \text{Somatório da massa seca de agregados retidos nas peneiras } 0,25; 0,50 \text{ e } 1,00 \text{ mm} / \text{soma da massa seca de agregados retidos em todas as peneira}) * 100$

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e para as fontes de variação significativas a 5% pelo teste F realizou-se a análise de regressão. Foram apresentados no trabalho os gráficos que continham equações com coeficientes significativos, sendo as significâncias avaliadas pelo teste t a 10% de probabilidade. Realizou-se a análise de correlação de Pearson, considerando-se significativas as correlações a 5% de probabilidade. Classificaram-se as correlações de acordo com Jacques (2003) sendo, fraca (0,00 - 0,30), moderada (0,31 – 0,60), forte (0,61- 0,90) e muito forte (0,91 – 1,00).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a taxa de colonização micorrízica nas raízes da soja por fungos micorrízicos arbusculares, nos estádios R1, R4 e R8 e para o número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares no solo houve diferenças significativas para as fontes de variações doses de P_2O_5 e doses de formononetina e para interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina pelo teste F ($p<0,05$) (Quadro 3).

QUADRO 3. Resumo da análise de variância dos valores de taxa de colonização por fungos micorrízicos arbusculares nas raízes de soja nos estádios R1 (T1), R4 (T2), R8 (T3) e número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) no solo.

Fonte de variação	T1	T2	T3	Número de esporos de FMAs
Dose de P_2O_5 (P)	23,60*	18,53*	6,71*	10,57*
Dose de formononetina (F)	23,65*	3,00*	4,00*	34,59*
P x F	6,38*	16,65*	41,58*	24,07*
CV 1 (%)	4,78	6,69	11,74	10,16
CV 2 (%)	4,30	7,30	12,18	9,66

*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

A formononetina não alterou significativamente a taxa de colonização micorrízica na raiz da soja nos estádios R1 e R4 e o número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares no solo, quando utilizada na presença de 0; 17,5; 35 e 70 $kg\ ha^{-1}$ de P_2O_5 quando se analisou os coeficientes da equação de regressão pelo teste t ($p<0,1$). O fósforo não alterou significativamente a taxa de colonização micorrízica na raiz da soja nos estádios R1 e R8 e o número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares no solo, quando utilizado na presença de 0, 25, 50 e 100 $g\ ha^{-1}$ de formononetina, quando se analisou os coeficientes da equação de regressão pelo teste t ($p<0,1$).

Para a taxa de colonização micorrízica na raiz da soja no estádio R4, ocorreu alteração com aumento na dose de fósforo, na ausência da aplicação de formononetina (Figura 1). O modelo que melhor se ajustou aos dados foi o quadrático. Na análise de regressão não ocorreu efeito do fósforo na colonização micorrízica das raízes no estádio R4, quando utilizado na presença de 25, 50 e 100 $g\ ha^{-1}$ de formononetina, pois nenhum dos modelos testados se ajustou aos dados.

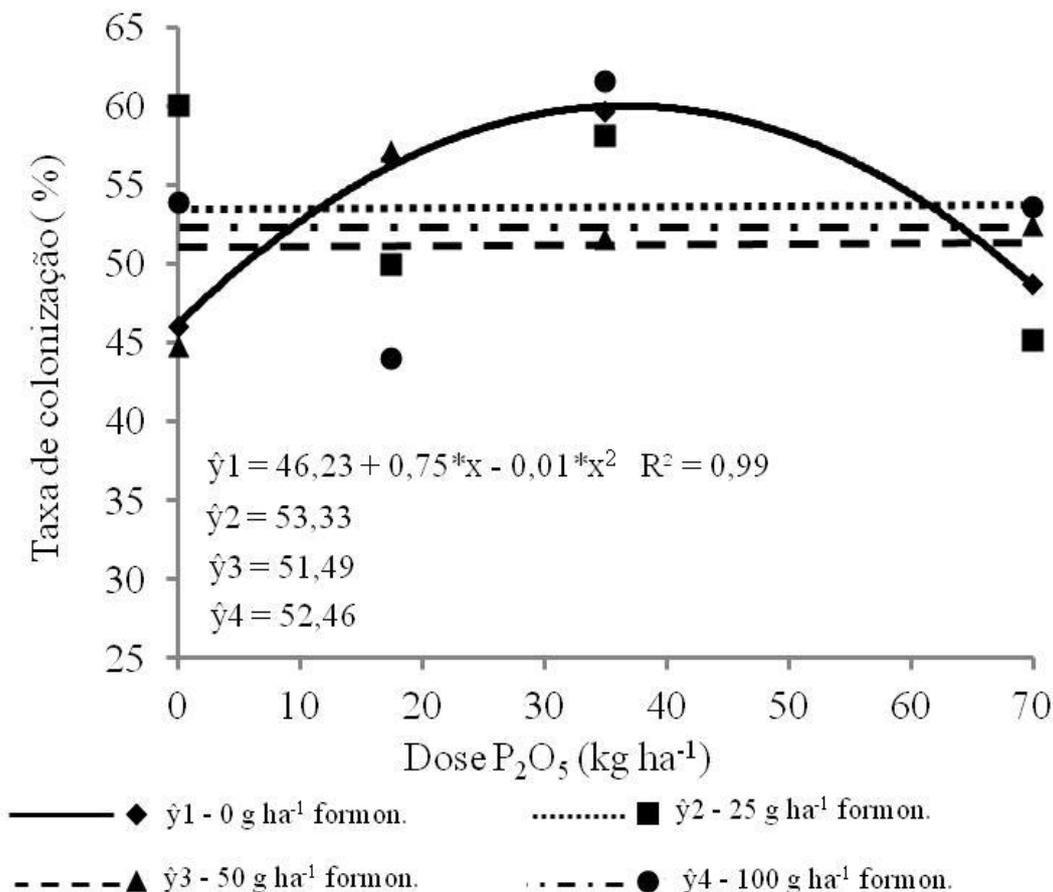


FIGURA 1. Taxa de colonização micorrízica nas raízes de soja no estágio R4, em função da aplicação de fósforo, em cada dose de formononetina. (*: Significativo a 5 % de probabilidade pelo teste t).

Na ausência da aplicação de formononetina, a dose de fósforo que proporcionou maior taxa de colonização micorrízica das raízes, estimada por meio da equação de regressão, foi 38 kg ha⁻¹ de P₂O₅, que resultou em colonização micorrízica de 60%. Assim, o fósforo aumentou em 22% a colonização micorrízica da raiz (46 para 60%), quando utilizado na ausência da aplicação de formononetina. Comportamento idêntico foi verificado por Hippler et al. (2011) que testaram quatro doses de fósforo, e inoculação e não inoculação com fungo micorrízico arbuscular nativo em amendoim, e verificaram que a colonização micorrízica radicular e eficiência micorrízica foram maiores na dose 60 mg kg⁻¹ de fósforo, observando resposta quadrática para o efeito do fósforo na colonização do amendoim.

Carneiro et al. (1998) citam que valores baixos de colonização micorrízica estão na faixa 20 a 49% e médios estão entre 50 a 79%. Considerando esses valores de referência, a utilização do fósforo até a dose 38 kg ha⁻¹ de P₂O₅, na ausência da formononetina, alterou a faixa de classificação da colonização

micorrízica da raiz da soja de baixa (46%) para média (60%). Mas, a partir da dose 38 kg ha⁻¹ de P₂O₅ houve redução na colonização micorrízica estimada, chegando a 48% na dose 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, na ausência da aplicação da formononetina, assim, voltando a ser classificada como baixa.

Observa-se que o fósforo não prejudicou a colonização micorrízica em comparação a testemunha sem fósforo. Um fato que contribuiu para esse efeito foi que as doses de fósforo utilizadas no experimento não ultrapassaram a recomendação para a cultura, que foi determinada em função da produtividade esperada e do teor de fósforo disponível no solo. Soma-se a isso, o fato do sistema radicular da soja ser pivotante, assim, possuir uma menor eficiência em absorver o fósforo do solo, como é citado por Souza et al. (2011). Fato observado por Nobrega et al. (2001) que concluíram que a aplicação do fósforo na soja estimulou a colonização micorrízica, segundo eles devido à soja ser uma planta com sistema radicular menos eficiente em absorção nutrientes, em comparação a braquiária. Neste contexto, provavelmente, o fósforo aplicado não foi suficiente para atingir teores na planta que prejudicassem a colonização micorrízica. Além disso, o Latossolo Vermelho distroférico, se caracteriza pela grande quantidade de argila do tipo 1:1, óxidos de ferro e óxidos de alumínio, que têm elevada capacidade de adsorver o fósforo, reduzindo a disponibilidade do fósforo aplicado no solo, assim, contribuindo para o menor efeito do fósforo na colonização micorrízica.

O aumento na colonização micorrízica arbuscular no estágio R4 na soja, com aumento na dose de fósforo, pode ser explicado, em parte, pela diferente exigência de fósforo em cada estágio fenológico, pois de acordo com Carrenho et al. (2010) o controle da micorrização pelo fósforo ocorre pela exigência deste macronutriente pela planta, que varia de acordo com o estágio fenológico, devido a diferenças no crescimento da planta.

Existem diferenças nas espécies de fungos micorrízicos arbusculares, em relação à tolerância do efeito negativo do fósforo na colonização micorrízica. Como constatado por Melloni et al. (2000) que compararam a colonização dos fungos micorrízico arbuscular das espécies *Glomus intraradices* e *Glomus etunicatam* em limão, sob diferentes doses de fósforo, e verificaram que o fósforo reduziu a colonização micorrízica por *Glomus intraradices* e não alterou para o *Glomus etunicatam*. Assim, os autores concluíram que a espécie *Glomus intraradices* é sensível ao fósforo e a espécie *Glomu etunicatum* tem maior tolerância ao fósforo.

As diferentes espécies de fungos micorrízicos arbusculares presentes no solo, com diferentes respostas às doses de fósforo testadas no experimento podem contribuir para a ausência de reposta e o estímulo à micorrização no estágio R4 devido à utilização do fósforo na soja.

A redução da colonização micorrízica na soja, no estágio R4, na ausência da formononetina, a partir da dose estimada de 38 kg ha^{-1} de P_2O_5 , provavelmente, deve-se ao efeito negativo do fósforo no desenvolvimento da micorrízica arbuscular, como afirmam Cardoso Filho et al. (1999) que citam que de maneira geral, solos com boa disponibilidade de fósforo causam redução na colonização micorrízica. Ressaltando que apesar da redução, mesmo na maior dose de fósforo utilizada no experimento (70 kg ha^{-1} de P_2O_5) na ausência da aplicação da formononetina, a colonização micorrízica foi maior que na testemunha sem fósforo (0 kg ha^{-1} de P_2O_5) na ausência da aplicação da formononetina.

Para taxa de colonização micorrízica na raiz da soja no estágio R8, ocorreu alteração com aplicação de formononetina na ausência da adubação fosfatada (figura 2). O modelo que melhor se ajustou aos dados foi o quadrático. A análise de regressão mostrou que não houve alteração significativa na colonização micorrízica da raiz com uso da formononetina, no estágio R6, quando utilizada na presença de $17,5$; 35 e 70 kg ha^{-1} de P_2O_5 , pois nenhum dos modelos testados ajustou-se aos dados.

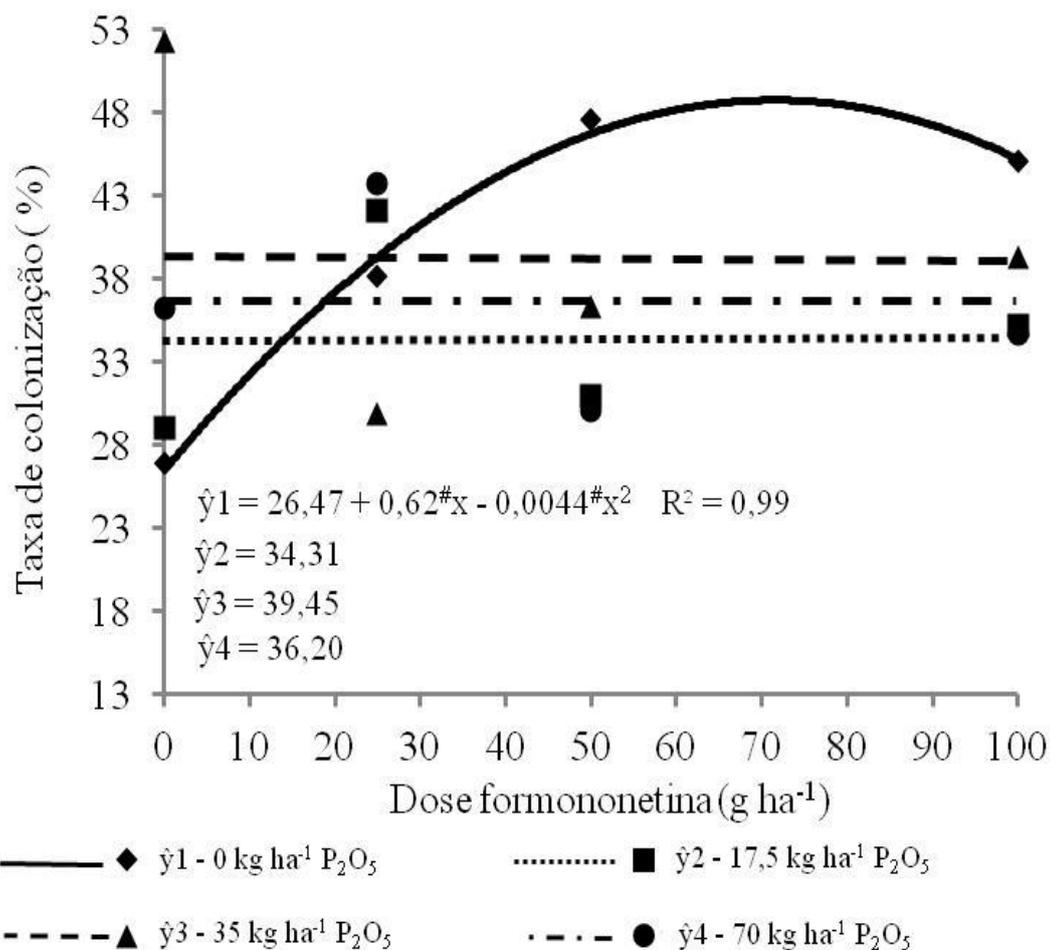


FIGURA 2. Taxa de colonização por fungos micorrízicos arbusculares em raízes de soja no estágio R8, em função da aplicação de formononetina, em cada dose de P₂O₅. (#: Significativo a 10% de probabilidade pelo teste t)

A maior taxa de colonização micorrízica na raiz, na ausência da adubação fosfatada, ocorreu na dose 72 g ha⁻¹ de formononetina, estimada por meio da equação de regressão, resultando em uma taxa de colonização micorrízica de 49%. Assim, a formononetina aumentou em 88% a colonização micorrízica (26 para 49%), quando utilizada na ausência da adubação fosfatada. Corroborando resultado apresentado neste experimento, Cordeiro et al. (2015) encontraram estímulo à colonização micorrízica em soja, em casa de vegetação, com aplicação de formononetina na dose 0,5 mg kg⁻¹ de semente.

A taxa de colonização micorrízica ajuda a quantificar a colonização do fungo micorrízico arbuscular na raiz da planta. Possivelmente, quanto maior a porcentagem de colonização micorrízica maior será os benefícios à planta e ao solo. Neste contexto, considerando a classificação da taxa de colonização micorrízica na raiz proposta por Carneiro et al. (1998) a utilização da formononetina na dose

estimada de 72 g ha⁻¹, na ausência do fósforo, não alterou a faixa de classificação, que se manteve classificada como baixa, mas proporcionou um grande aumento na colonização micorrízica.

De acordo com Moreira e Siqueira (2006) os mecanismos envolvidos no estímulo à colonização micorrízica causado pela formononetina ainda não estão definidos, mas diversos autores citam a atuação da substância como sinalizadora da presença da planta no solo, maior crescimento assimbiótico do fungo micorrízico arbusculares, maior número de ponto de entrada primário de infecção pelas hifas na raiz, maior número de pontos de entrada secundário de infecção pelas hifas na raiz e maior número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares no solo. A melhora nessas características aumenta a infecção da raiz pelo fungo micorrízico arbuscular, conseqüentemente, a colonização micorrízica. Além disso, especula-se que a formononetina aumenta o número de arbúsculos dos fungos micorrízicos arbusculares no interior das raízes das plantas, indicando aumento na atividade da simbiose. Acredita-se também, que a formononetina possa inibir a enzima peroxidase, reduzindo a ação contrária dessa enzima na colonização micorrízica das raízes.

Para densidade do solo, macroporosidade do solo, microporosidade do solo e porosidade total do solo na camada de 0,00 – 0,05 m, houve significância pelo teste F ($p < 0,05$) para as fontes de variações doses de P₂O₅ e doses de formononetina e para interação entre doses de P₂O₅ e doses de formononetina (Quadro 4).

QUADRO 4. Resumo da análise de variância dos valores de densidade do solo na camada 0,00 – 0,05 m (D 0-5), macroporosidade do solo na camada 0,00 – 0,05 m (Macro 0-5), microporosidade do solo na camada 0,00 – 0,05 m (Micro 0-5), porosidade total do solo na camada 0,00 – 0,05 m (P 0-5), após o cultivo de soja por dois anos consecutivos tratado com formononetina e sob diferentes doses de fósforo.

Fonte de variação	D 0-5	Macro 0-5	Micro 0-5	P 0-5
Dose de P ₂ O ₅ (P)	7,98*	4,07*	17,46*	16,93*
Dose de formononetina (F)	16,86*	12,38*	3,76*	5,23*
P x F	11,85*	6,17*	13,20*	9,07*
CV 1 (%)	5,47	21,22	8,81	2,97
CV 2 (%)	4,67	15,69	7,93	5,29

*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Para densidade do solo e porosidade total do solo, na camada de 0,05 – 0,10 m, houve significância pelo teste F ($p < 0,05$) para as fontes de variações doses

de P_2O_5 e doses de formononetina e para interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina (Quadro 5). Para macroporosidade do solo e microporosidade do solo na camada 0,05 – 0,10 m não houve resposta significativa para a fonte de variação doses de P_2O_5 , já para a fonte de variação doses de formononetina e para interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina houve resposta significativa pelo teste F ($p < 0,05$).

QUADRO 5. Resumo da análise de variância dos valores de densidade do solo na camada 0,05 – 0,10 m (D 5-10), macroporosidade do solo na camada 0,05 – 0,10 m (Macro 5-10), microporosidade do solo na camada 0,05 – 0,10 m (Micro 5-10), porosidade total do solo na camada 0,05 – 0,10 m (P 5-10), após o cultivo de soja por dois anos consecutivos tratado com formononetina e sob diferentes doses de fósforo.

Fonte de variação	D 5-10	Macro 5-10	Micro 5-10	P 5-10
Dose de P_2O_5 (P)	7,99*	1,77 ^{ns}	1,91 ^{ns}	4,67*
Dose de formononetina (F)	4,61*	12,03*	6,00*	9,40*
P x F	6,19*	8,17*	3,03*	9,24*
CV 1 (%)	3,15	12,84	7,77	3,36
CV 2 (%)	3,55	12,37	4,59	4,13

*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. ^{ns}: Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

A formononetina não alterou significativamente a densidade do solo e microporosidade do solo na camada 0,00 – 0,05 m e 0,05 – 0,10 m, e a porosidade total do solo na camada 0,05 – 0,10 m, quando utilizada na presença de 0; 17,5; 35 e 70 kg ha⁻¹ de P_2O_5 , quando se analisou os coeficientes da equação de regressão pelo teste t ($p < 0,1$). O fósforo não alterou significativamente a densidade do solo, microporosidade do solo, macroporosidade do solo e porosidade total do solo nas camadas 0,00 – 0,05 m e 0,05 – 0,10 m, quando utilizado na presença de 0, 25, 50 e 100 g ha⁻¹ de formononetina, quando se analisou os coeficientes da equação de regressão pelo teste t ($p < 0,1$).

Na camada 0,00 – 0,05 m houve alteração na macroporosidade do solo com aplicação da formononetina, na presença de 70 kg ha⁻¹ de P_2O_5 , sendo que o modelo que melhor se ajustou aos dados foi o quadrático (Figura 3). Na análise de regressão não ocorreu efeito da formononetina na macroporosidade do solo, quando utilizada na ausência da adubação fosfatada, e na presença de 17,5 e 35 kg ha⁻¹ de P_2O_5 , na camada 0,00 – 0,05 m, pois nenhum dos modelos testados se ajustou aos dados.

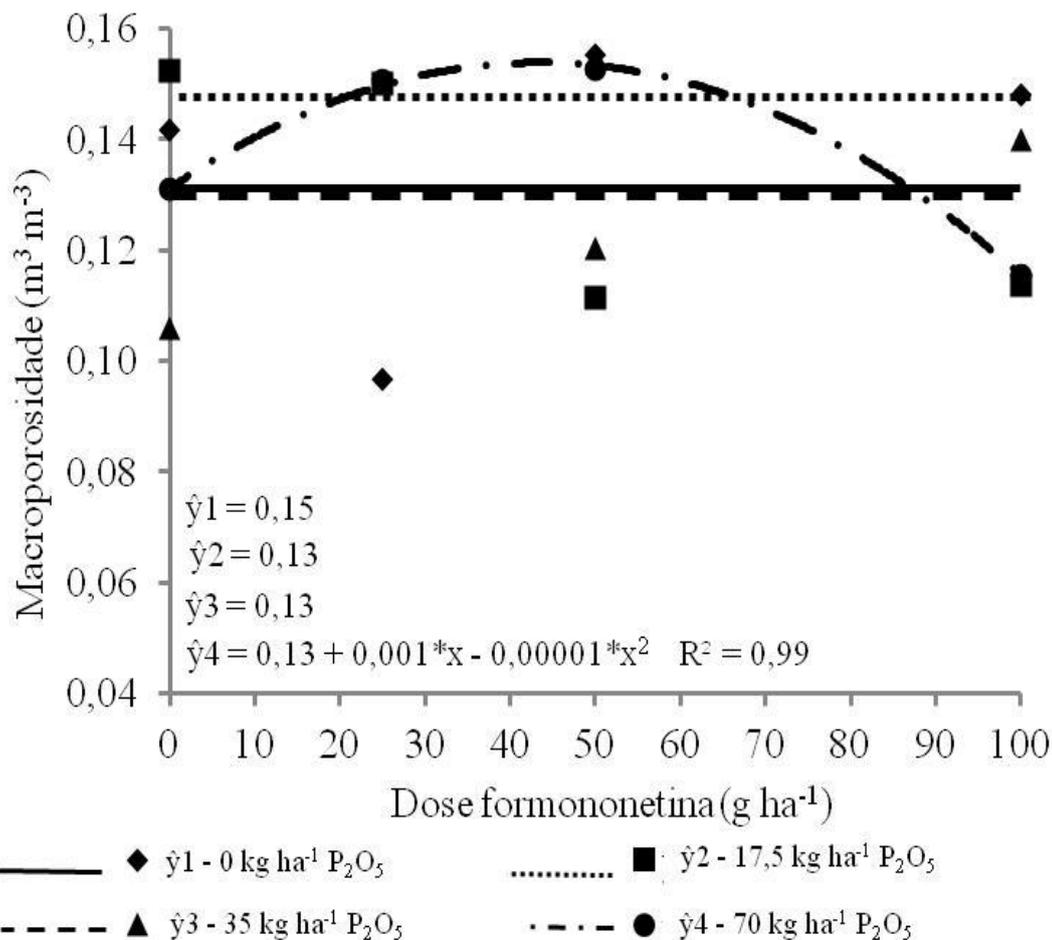


FIGURA 3. Macroporosidade do solo, na camada 0,00 – 0,05 m em função da aplicação de formononetina em soja, em cada dose de P_2O_5 . (*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t)

A maior macroporosidade do solo, na camada 0,00 – 0,05 m, na presença de 70 kg ha^{-1} de P_2O_5 , estimada por meio da equação de regressão, ocorreu na dose 48 g ha^{-1} de formononetina, resultando em uma macroporosidade de $0,16 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$. Assim, a formononetina aumentou em 23% a macroporosidade ($0,13$ para $0,16 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$), na camada 0,00 – 0,05 m, quando utilizada na presença de 70 kg ha^{-1} de P_2O_5 .

Na camada 0,05 – 0,10 m houve alteração nos valores de macroporosidade do solo com aplicação da formononetina, na ausência da adubação fosfatada e na presença de 35 kg ha^{-1} de P_2O_5 , e os modelos que melhor se ajustaram aos dados foram o quadrático e linear, respectivamente (Figura 4). Não ocorreu alteração na macroporosidade do solo, quando utilizada na presença de $17,5$ e 70 kg ha^{-1} de P_2O_5 , na camada 0,05 – 0,10 m, pois nenhum dos modelos testados ajustou-se aos dados.

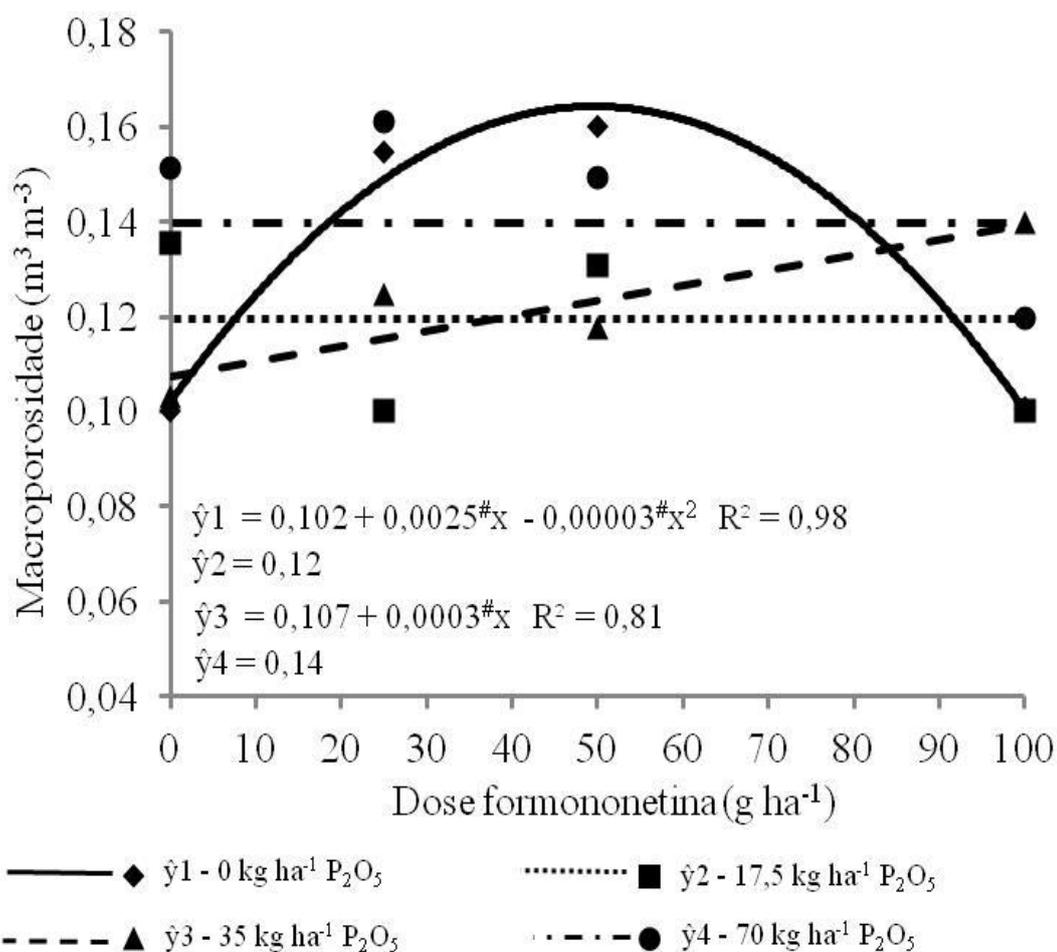


FIGURA 4. Macroporosidade do solo, na camada 0,05 – 0,10 m em função da aplicação de formononetina em soja, em cada dose de P₂O₅. (#: Significativo a 10% de probabilidade pelo teste t)

A maior macroporosidade do solo, na camada 0,05 – 0,10 m, na ausência da adubação fosfatada, estimada por meio da equação de regressão, ocorreu na dose 42 g ha⁻¹ de formononetina, resultando em uma macroporosidade de 0,15 m³ m⁻³. Assim, a formononetina aumentou em 50% a macroporosidade do solo (0,10 para 0,15 m³ m⁻³), na camada 0,05 – 0,10 m, quando utilizada na ausência da adubação fosfatada.

A maior macroporosidade do solo, na camada 0,05 – 0,10 m, na presença de 35 kg ha⁻¹ de P₂O₅, estimativa por meio da equação de regressão, ocorreu na dose 100 g ha⁻¹ de formononetina, resultando em uma macroporosidade de 0,14 m³ m⁻³. Assim, a formononetina aumentou em 27% a macroporosidade do solo (0,11 para 0,14 m³ m⁻³), na camada 0,05 – 0,10 m, quando utilizada na presença de 35 kg ha⁻¹ de P₂O₅.

A porosidade total do solo, na camada 0,00 – 0,05 m, aumentou com aplicação da formononetina na presença de 17,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e o modelo que melhor se ajustou aos dados foi o linear (Figura 5). Na análise de regressão a formononetina não alterou a porosidade total, quando utilizada na ausência da adubação fosfatada, e na presença de 35 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, na camada 0,00 – 0,05 m, pois nenhum dos modelos testados se ajustou aos dados.

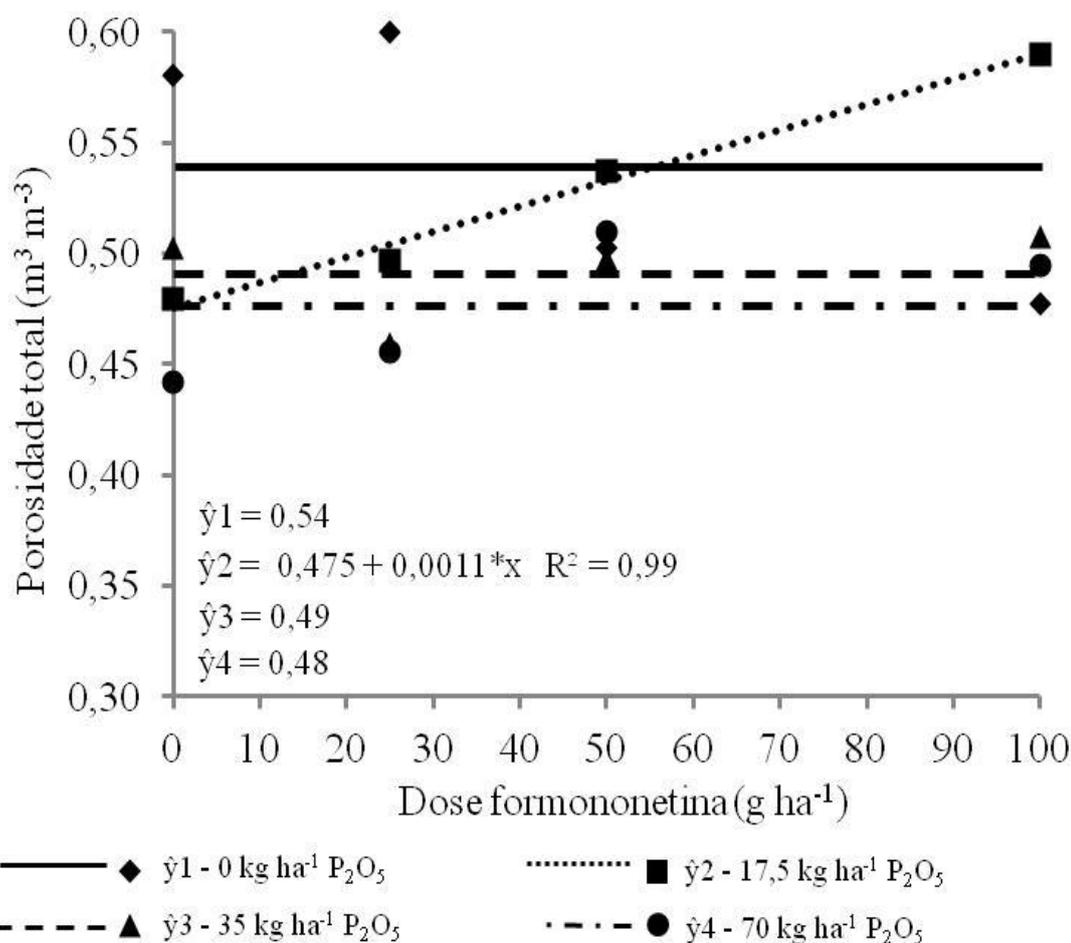


FIGURA 5. Porosidade total do solo, na camada 0,00 – 0,05 m em função da aplicação de formononetina em soja, em cada dose de P₂O₅. (*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t)

A maior porosidade total do solo, na camada 0,00 – 0,05 m, na presença de 17,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅, estimada por meio da equação de regressão, ocorreu na dose 100 g ha⁻¹ de formononetina, resultando em porosidade total de 0,59 m³ m⁻³. Assim, a formononetina aumentou em 23% a porosidade total do solo (0,48 para 0,59 m³ m⁻³), na camada 0,00 – 0,05 m, quando utilizada na presença de 17,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅.

A maior macroporosidade do solo e porosidade total do solo pode estar ligada ao estímulo à micorrização na soja causada pela formononetina, pois os fungos micorrízicos arbusculares podem contribuir para o aumento na macroporosidade do solo e porosidade do solo devido a sua ação na formação e estabilização dos agregados do solo, como é relatado por Silva et al. (2006a) que citam que o diâmetro e a estabilidade dos agregados do solo são um dos atributos físicos que influenciam a porosidade do solo.

Os fungos micorrízicos arbusculares têm ação direta na formação dos agregados do no solo, conseqüentemente, na macroporosidade e porosidade total do solo, através da ação das suas hifas e pela ação cimentante da proteína do solo relacionado à glomalina, conforme constatado por Gonzales Chaves et al. (2004) Reforçando a hipótese do efeito da melhoria na colonização micorrízica melhorar a porosidade do solo, foi observada no presente trabalho, correlação moderada positiva ($r=0,40$) e significativa a 5% entre taxa de colonização na raiz da soja, no estágio R4, e macroporosidade do solo na camada de 0,05 – 0,10 m.

Além disso, a possibilidade da maior produção de hifas dos fungos micorrízicos arbusculares e desenvolvimento de plantas tratadas com formononetina podem aumentar a matéria orgânica do solo. Como constatado por Borie et al. (2008) que citam que os fungos micorrízicos arbusculares são predominante na biomassa do solo, sendo responsável por mais de 50% do comprimento total de hifas fúngicas no solo e até 30% da biomassa microbiana no solo, e por Rillig et al. (2001) que citam que a proteína do solo relacionada à glomalina pode representar até 4% do carbono orgânico do solo. Também relacionado à matéria orgânica do solo, existe a possibilidade de maior produção de matéria seca em plantas com maior estímulo à micorrização, como constatado por Silva et al. (2006) em soja inoculada com fungo micorrízico arbuscular. O maior aporte de matéria orgânica no solo pode aumentar a produção de matéria orgânica do solo que benéfica à formação e agregação do solo, como afirma Azevedo e Dalmolin (2006) que citam que solos com teores adequados de matéria orgânica geralmente são bem estruturados. Assim, favorecendo aumento na macroporosidade do solo e porosidade total do solo.

A formononetina por estimular a micorrização pode aumentar a atividade de outros microrganismos do solo que se relacionam com a micorriza arbuscular e também devido a maior deposição de matéria orgânica no solo por meio da maior produção de hifas de fungos micorrízicos arbusculares e de massa seca de plantas,

pois a matéria orgânica é fonte de energia para o crescimento dos microrganismos do solo. Esses microrganismos podem ser benéficos à porosidade do solo, pois de acordo com Tisdall e Oades (1982) devido à ação cimentante dos seus polissacarídeos, eles possuem elevada atuação na formação e estabilização dos agregados do solo maiores que 0,25 μm . A formação de agregados maiores e estáveis favorece a macroporosidade e porosidade total do solo.

Para o diâmetro médio geométrico dos agregados do solo e índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,00 - 0,05 m, houve diferença significativa para as fontes de variações doses de P_2O_5 e doses de formononetina e para a interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina, pelo teste F ($p < 0,05$) (Quadro 6). Para o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo na camada 0,00 - 0,05 m, houve diferença significativa para a fonte de variação doses de P_2O_5 e para a interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina, pelo teste F ($p < 0,05$), mas não houve resposta para a fonte de variação doses de formononetina.

QUADRO 6. Resumo da análise de variância dos valores de diâmetro médio ponderado dos agregados do solo na camada 0,00 - 0,05 m (DMP 0-5), diâmetro médio geométrico dos agregados do solo na camada 0,00 - 0,05 m (DMG 0-5) e índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,00 - 0,05 m (IEA 0-5), após o cultivo de soja por dois anos consecutivos tratado com formononetina e sob diferentes doses de fósforo.

Fonte de variação	DMP 0-5	DMG 0-5	IEA 0-5
Dose de P_2O_5 (P)	19,91*	10,90*	10,99*
Dose de formononetina (F)	1,09 ^{ns}	12,11*	4,41*
P x F	6,95*	16,52*	3,48*
CV 1 (%)	7,52	9,49	1,58
CV 2 (%)	7,08	8,95	1,66

*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. ^{ns}: Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Para diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, diâmetro médio geométrico dos agregados do solo e índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,05 - 0,10 m, houve diferença significativa para as fontes de variações doses de P_2O_5 e doses de formononetina, e para a interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina, pelo teste F ($p < 0,05$) (Quadro 7).

QUADRO 7. Resumo da análise de variância dos valores de diâmetro médio ponderado dos agregados do solo na camada 0,05 – 0,10 m (DMP 5-10), diâmetro médio geométrico dos agregados do solo na camada 0,05 – 0,10 m (DMG 5-10) e índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,05 – 0,10 m (IEA 5-10), após o cultivo de soja por dois anos consecutivos tratado com formononetina e sob diferentes doses de fósforo.

Fonte de variação	DMP 5-10	DMG 5-10	IEA 5-10
Dose de P ₂ O ₅ (P)	13,77*	33,48*	63,94*
Dose de formononetina (F)	22,73*	28,63*	20,28*
P x F	8,39*	35,01*	21,94*
CV 1 (%)	6,73	8,38	1,13
CV 2 (%)	7,27	8,16	1,67

*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

A formononetina não alterou significativamente o diâmetro médio geométrico dos agregados do solo nas camadas 0,00 – 0,05 m e 0,05 – 0,10 m, e o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo e o índice de estabilidades dos agregados do solo na camada 0,00 – 0,05 m, quando utilizada na presença de 0; 17,5; 35 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, quando se analisou os coeficientes da equação de regressão pelo teste t (p<0,1). O fósforo não alterou significativamente o diâmetro médio geométrico dos agregados do solo e o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo nas camadas 0,00 – 0,05 m e 0,05 – 0,10 m, quando utilizado na presença de 0, 25, 50 e 100 g ha⁻¹ de formononetina, quando se analisou os coeficientes da equação de regressão pelo teste t (p<0,1).

O diâmetro médio ponderado dos agregados do solo na camada 0,05 – 0,10 m foi alterado com aplicação da formononetina, na presença de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e o modelo que melhor se ajustou aos dados foi o quadrático (Figura 6). Na análise de regressão não houve efeito da aplicação da formononetina no diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, quando utilizada na ausência da adubação fosfatada, e na presença de 17,5 e 35 kg ha⁻¹ de P₂O₅, pois nenhum dos modelos testados ajustou-se aos dados.

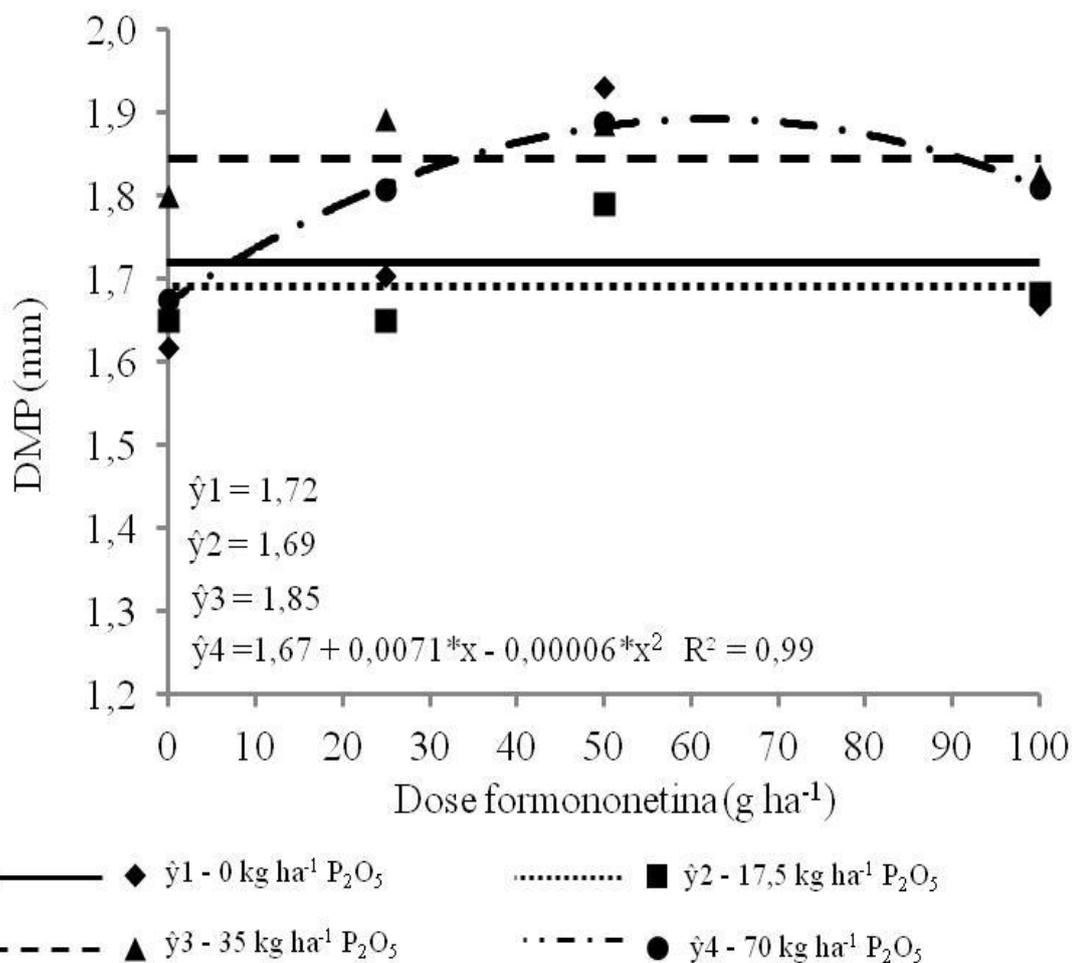


FIGURA 6. Diâmetro médio ponderado (DMP), na camada 0,05 – 0,10 m em função da aplicação de formononetina em soja, em cada dose de P_2O_5 . (*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t)

O maior diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, na camada 0,05 – 0,10 m, na presença de 70 kg ha^{-1} de P_2O_5 , estimado por meio da equação de regressão, ocorreu na dose 60 g ha^{-1} de formononetina, resultando em um diâmetro médio ponderado de 1,88 mm. Assim, a formononetina aumentou em 13% o diâmetro médio ponderado (1,67 para 1,88 mm), na camada 0,05 – 0,10 m, quando utilizada na presença de 70 kg ha^{-1} de P_2O_5 .

A formononetina como estimulante à micorrização, pode explicar parte do aumento no diâmetro médio ponderado dos agregados do solo devido a maior colonização nas raízes pelos fungos micorrízicos arbusculares, que pode proporcionar melhora na formação dos agregados do solo. Isso ocorre, pois de acordo com Gonzales Chaves et al. (2004) as hifas dos fungos micorrízicos arbusculares e a proteína do solo relacionada à glomalina participam da aderência e cimentação de partículas do solo, assim, aumentando o número de partículas do solo

unidas e a estabilidade entre elas, desta forma, aumentando seu diâmetro. Corroborando com a hipótese de que a maior colonização micorrízica proporciona aumento no diâmetro médio ponderado, observou-se correlação fraca positiva ($r=0,26$) e significativa a 5% entre taxa de colonização micorrízica no estágio R1 e diâmetro médio ponderado dos agregados do solo na camada de 0,00 – 0,05 m. Observou-se correlação fraca positiva ($r=0,28$) e significativa a 5% entre taxa de colonização micorrízica no estágio R1 e diâmetro médio ponderado dos agregados do solo na camada de 0,05 – 0,10 m. Houve também correlação moderada positiva ($r=0,36$) e significativa a 5% entre taxa de colonização micorrízica no estágio R8 e diâmetro médio ponderado dos agregados do solo na camada de 0,05 – 0,10 m.

Alguns trabalhos mostram a importância da micorriza arbuscular no diâmetro médio ponderado dos agregados. Como, Peng et al. (2013) e Bedini et al. (2009) avaliando a inoculação com fungo micorrízico arbuscular, verificaram que os valores de diâmetro médio ponderado correlacionam-se positivamente com o comprimento total das hifas dos fungos micorrízicos arbusculares e teor de proteína do solo relacionada à glomalina.

Além disso, a maior colonização micorrízica, que a formononetina proporciona, pode aumentar os valores de matéria orgânica do solo, devido a maior produção de hifas de fungos micorrízicos arbusculares, maior produção de glomalina do solo relacionado à glomalina e pelo maior acúmulo de massa pelas plantas. O aumento na matéria orgânica do solo é muito importante para o aumento no diâmetro dos agregados do solo, conforme citam Loss et al. (2011) e Wick et al. (2009) que observaram que em decorrência do maior aporte de material vegetal obteve-se maiores valores de diâmetro médio ponderado.

Tisdall e Oades (1982) afirmam que para agregados com diâmetro maiores que 0,25 μm , os fatores que mais contribuem para sua formação são agentes temporários e transientes, dentre eles temos os polissacarídeos oriundos de microrganismos do solo, que atuam principalmente pelo seu efeito cimentante. Como Hungria et al. (2009) citam que o aumento da atividade microbiana está ligado à deposição de material orgânico no solo e colonização micorrízica, pode-se inferir que a formononetina por melhorar a colonização micorrízica, conseqüentemente, a liberação de substâncias pelas micorrizas no solo e deposição de matéria orgânica no solo por meio das hifas dos fungos micorrízicos arbusculares e matéria seca de

plantas podem ter efeito sinérgico aos microrganismos do solo, que podem atuar no aumento no diâmetro ponderado dos agregados do solo.

O índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,00 – 0,05 m aumentou com aplicação de fósforo na presença de 100 g ha⁻¹ de formononetina (Figura 7). O modelo que melhor se ajustou aos dados foi o linear. Na análise de regressão o fósforo não alterou o índice de estabilidade dos agregados do solo na ausência de formononetina e na presença de 25 e 50 g ha⁻¹ de formononetina, na camada 0,00 – 0,05 m, pois nenhum dos modelos testados se ajustou aos dados.

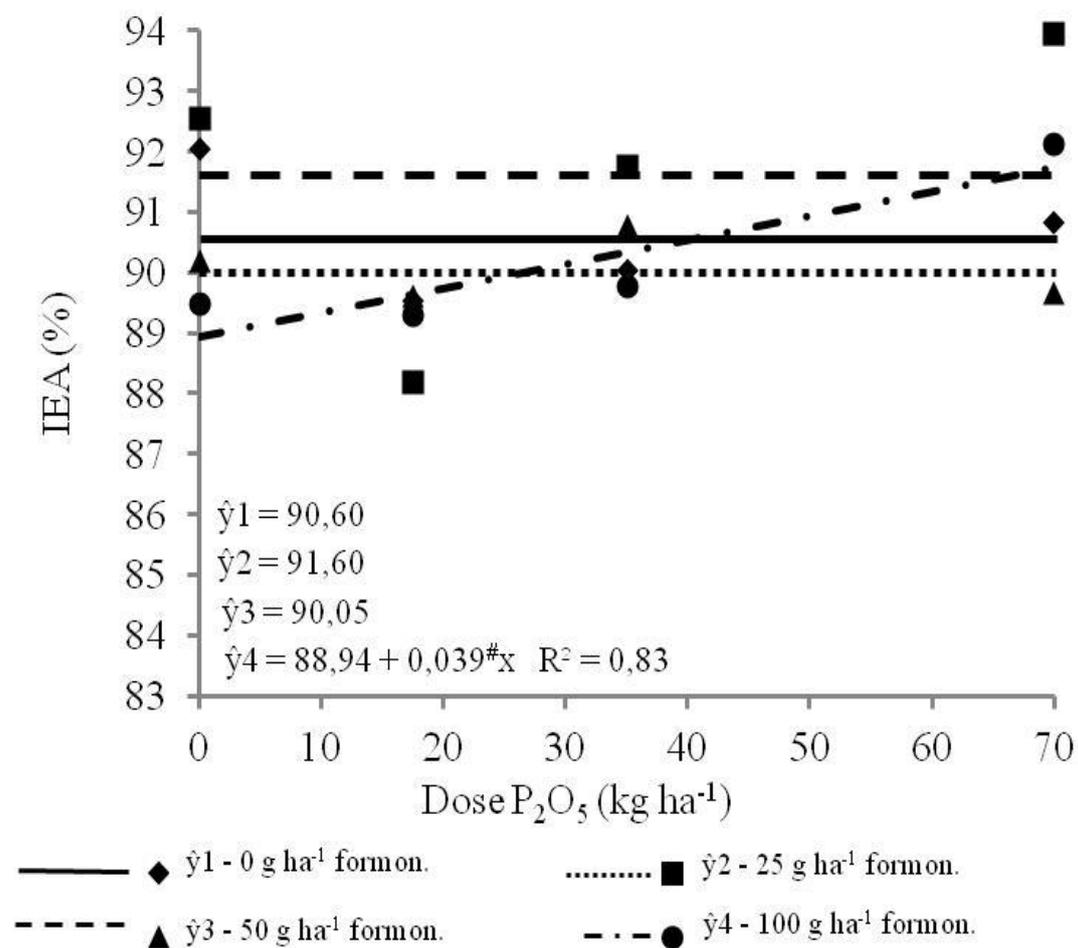


FIGURA 7. Índice de estabilidade dos agregados do solo (IEA), na camada 0,00 – 0,05 m em função da aplicação de fósforo em soja, em cada dose de formononetina. (#: Significativo a 10% de probabilidade pelo teste t).

O maior índice de estabilidade dos agregados do solo, na camada 0,00 – 0,05 m, na presença de 100 g ha⁻¹ de formononetina, estimado por meio da equação de regressão, ocorreu na dose 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, resultando em um índice de estabilidade dos agregados de 92%. Assim, o fósforo aumentou em 2% o índice de

estabilidade dos agregados (90 para 92%), na camada 0,00 – 0,05 m, quando utilizado na presença de 100 g ha⁻¹ de formononetina.

O índice de estabilidade dos agregados, na camada 0,05 – 0,10 m, foi influenciado pelas doses de fósforo na presença de 25 g ha⁻¹ de formononetina (Figura 9). O modelo que melhor se ajustou aos dados foi o quadrático. Na análise de regressão o fósforo não alterou o índice de estabilidade dos agregados, quando utilizado na ausência da formononetina e presença de 50 e 100 g ha⁻¹ de formononetina, pois nenhum dos modelos testados se ajustou aos dados.

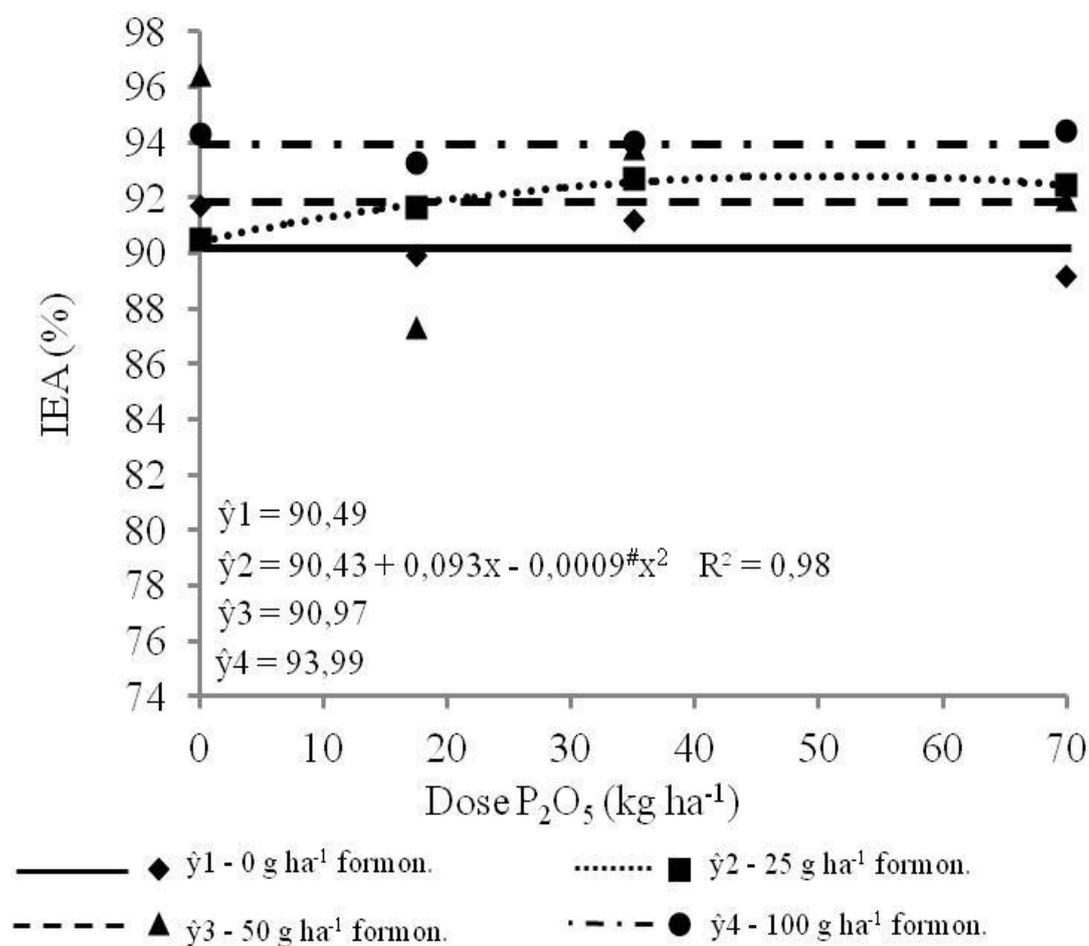


FIGURA 9. Índice de estabilidade dos agregados do solo (IEA), na camada 0,05 – 0,10 m em função da aplicação de fósforo em soja, em cada dose de formononetina. (#: Significativo a 10% de probabilidade pelo teste t).

O maior índice de estabilidade dos agregados do solo, na camada 0,05 – 0,10 m, na presença de 25 g ha⁻¹ de formononetina, estimada por meio da equação de regressão, ocorreu na dose 52 kg ha⁻¹ de P₂O₅, que resultou em um índice de estabilidade dos agregados de 93%. Assim, o fósforo aumentou em 3% o índice de

estabilidade dos agregados (90 para 93%), na camada 0,05 – 0,10 m, quando utilizado na presença de 25 g ha⁻¹ de formononetina.

O índice de estabilidade dos agregados do solo na camada 0,05 – 0,10 m foi influenciado pela aplicação da formononetina, na presença de 35 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e os modelos que melhor se ajustaram aos dados foram o quadrático e linear, respectivamente (Figura 8). Na análise de regressão a formononetina não alterou o índice de estabilidade dos agregados do solo, quando utilizada na ausência da adubação fosfatada e na presença de 17,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅, na camada 0,05 – 0,10 m, pois nenhum dos modelos testados ajustou-se aos dados.

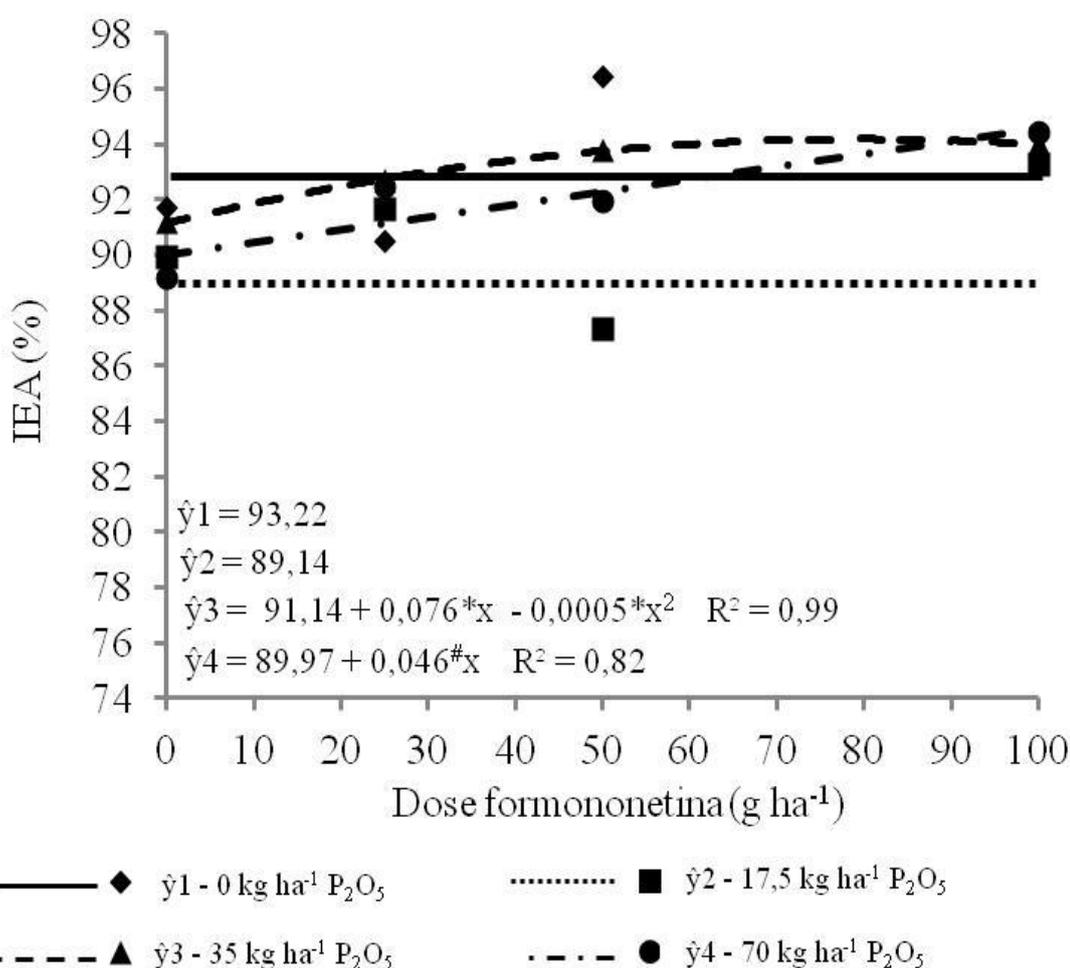


FIGURA 8. Índice de estabilidade dos agregados do solo (IEA), na camada 0,05 – 0,10 m, em função da aplicação de formononetina em soja, em cada dose de P₂O₅. (* e #: Significativo a 5 e 10% de probabilidade pelo teste t)

O maior índice de estabilidade dos agregados do solo, na camada 0,05 – 0,10 m, na presença de 35 kg ha⁻¹ de P₂O₅, estimado por meio da equação de

regressão, ocorreu na dose 76 g ha^{-1} de formononetina, resultando em um índice de estabilidade dos agregados de 94%. Assim, a formononetina aumentou em 3% o índice de estabilidade dos agregados (91 para 94%), na camada 0,05 – 0,10 m, quando utilizada na presença de 35 kg ha^{-1} e P_2O_5 .

O maior índice de estabilidade dos agregados do solo, na camada 0,05 – 0,10 m, na presença de 70 kg ha^{-1} de P_2O_5 , estimado por meio da equação de regressão, ocorreu na dose 100 g ha^{-1} de formononetina, resultando em um índice de estabilidade dos agregados de 95%. Assim, a formononetina aumentou em 5% o índice de estabilidade dos agregados (90 para 95%), na camada 0,05 – 0,10 m, na presença de 70 kg ha^{-1} de P_2O_5 .

O maior índice de estabilidade dos agregados do solo devido à aplicação da formononetina e pela adubação fosfatada pode ser explicada pelo estímulo à micorrização na raiz da soja. Muitos trabalhos publicados relatam efeito benéfico dos fungos micorrízicos arbusculares na estabilidade dos agregados do solo, por exemplo, Salton et al. (2008) que destacam a participação das hifas dos fungos micorrízicos arbusculares na estabilidade dos agregados do solo, pois a micorrizosfera é um local de intensa agregação, que aumenta a estabilidade dos agregados. Fato similar ao observado por Caravaca et al. (2006) que verificaram aumento significativo na estabilidade dos agregados, seis meses após a inoculação de um combinado de espécies de fungos micorrízicos arbusculares e atribuem esse fato, em parte, ao efeito físico de suas hifas e efeito cimentante de seus exudados. Resultado idêntico ao apresentado por Vilela et al. (2012) que atribuiu a elevação do índice de estabilidade dos agregados, em parte, à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares no solo.

Além disso, a proteína do solo relacionada à glomalina presente nas hifas e esporos dos fungos micorrízicos arbusculares também é atuante na estabilização dos agregados do solo. No presente trabalho foi observada correlação moderada positiva ($r=0,45$) e significativa a 5% entre proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível e índice de estabilidade dos agregados do solo na camada de 0,05 – 0,10 m. Rillig (2004) também cita que existe relação entre a quantidade de proteína do solo relacionada à glomalina e os agregados estáveis do solo. Neste contexto, os fatores que beneficiam a produção desta proteína podem melhorar a agregação do solo. Assim, devido ao estímulo à micorrização proporcionada pela

formononetina e pelo fósforo, pode existir um aumento no teor da proteína do solo relacionada à glomalina no solo que beneficiou a estabilidade dos agregados do solo.

A proteína do solo relacionada à glomalina possui características que proporcionam a ela, uma elevada capacidade de melhorar a agregação do solo, destacando-se a sua insolubilidade em água (BEDINI et al., 2009), efeito cimentante (TRUBER, 2013), alta resistência à mineralização no solo (RILLIG et al., 2001; ZHU e MILLER, 2003) e correlação positivamente com carbono orgânico do solo conforme relatos de Silva et al. (2012) e He et al. (2010).

A formononetina e o fósforo podem aumentar o acúmulo de matéria orgânica do solo, pois eles estimularam a micorrização, conseqüentemente, ocorreu maior produção de hifas, esporos e exudados, e também por proporcionarem maior acúmulo de massa pela planta, no caso da formononetina essa maior acúmulo ocorre pela melhoria na colonização micorrízica. Como constatado por Silva et al. (2006) que verificaram que a produção de massa seca aumentou com a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em soja. A matéria orgânica do solo é um importante agente cimentante das partículas minerais e orgânicas do solo, dessa forma aumentando a estabilidade dos agregados. Corroborando essa hipótese, Vieira (2010) cita que a prática da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares é benéfica, promovendo o crescimento de plantas, aumentando o estoque de carbono e, conseqüentemente, a estabilidade dos agregados.

O fósforo e a formononetina podem beneficiar a comunidade microbiana do solo devido ao estímulo à micorrização e ao maior acúmulo de matéria orgânica no solo. Fato que pode ter contribuído para a melhoria na estabilidade dos agregados do solo, pois de acordo com Vieira (2010) e Salton et al. (2008) a comunidade microbiana apresenta forte efeito agregante em função dos produtos gerados de seus metabolismos, conferindo maior estabilidade aos agregados. Reforçando essa hipótese, Hungria et al. (2009) verificaram que o aumento da atividade microbiana está ligado à colonização micorrízica e Vieira (2010) cita que a matéria orgânica é fonte energética para a atividade microbiana. Esse fato é relatado por Vilela et al. (2012) que observaram que a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares aumentou em 9,4% a estabilidade dos agregados do solo, sendo sua contribuição mais evidente em solo não esterilizado em comparação ao esterilizado, ou seja, onde os microrganismos do solo estavam preservados, demonstrando um efeito sinérgico

entre os fungos micorrízicos arbusculares introduzidos e a comunidade microbiana nativa.

Para teor de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível houve diferença significativa para interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina, pelo teste F ($p < 0,05$) (Quadro 8). Para as fontes de variações doses de P_2O_5 e doses de formononetina não houve resposta significativa. Para teor de proteína do solo relacionada à glomalina total houve diferença significativa para as fontes de variações doses de P_2O_5 e doses de formononetina e para interação entre doses de P_2O_5 e doses de formononetina, pelo teste F ($p < 0,05$).

QUADRO 8. Resumo da análise de variância dos teores de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível (GFE) e proteína do solo relacionada à glomalina total (GT), na camada de 0,00 - 0,20 m, após o cultivo de soja por dois anos consecutivos tratado com formononetina e sob diferentes doses de fósforo.

Fonte de variação	GFE	GT
Dose de P_2O_5 (P)	2,36 ^{ns}	19,45*
Dose de formononetina (F)	2,54 ^{ns}	43,68*
P x F	21,26*	9,92*
CV 1 (%)	7,00	13,10
CV 2 (%)	4,84	15,45

*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. ^{ns}: Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

A formononetina não alterou significativamente o teor de proteína do solo relacionada à glomalina total, quando utilizada na presença de 0; 17,5; 35 e 70 $kg\ ha^{-1}$ de P_2O_5 , quando se analisou os coeficientes da equação de regressão pelo teste t ($p < 0,1$). O fósforo não alterou o teor de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível, quando utilizado na presença de 0, 25, 50 e 100 $g\ ha^{-1}$ de formononetina, quando se analisou os coeficientes da equação de regressão pelo teste t ($p < 0,1$).

O teor de proteína do solo relacionado à glomalina facilmente extraível, na camada 0,00 – 0,20 m, foi influenciado pela aplicação da formononetina, na presença de 35 $kg\ ha^{-1}$ de P_2O_5 , sendo o modelo que melhor se ajustou aos dados o quadrático (Figura 10). Na análise de regressão a formononetina não alterou o teor de proteína do solo relacionado à glomalina facilmente extraível, quando utilizada na ausência da adubação fosfatada e na presença de 17,5 e 70 $kg\ ha^{-1}$ de P_2O_5 , pois nenhum dos modelos testados se ajustou aos dados.

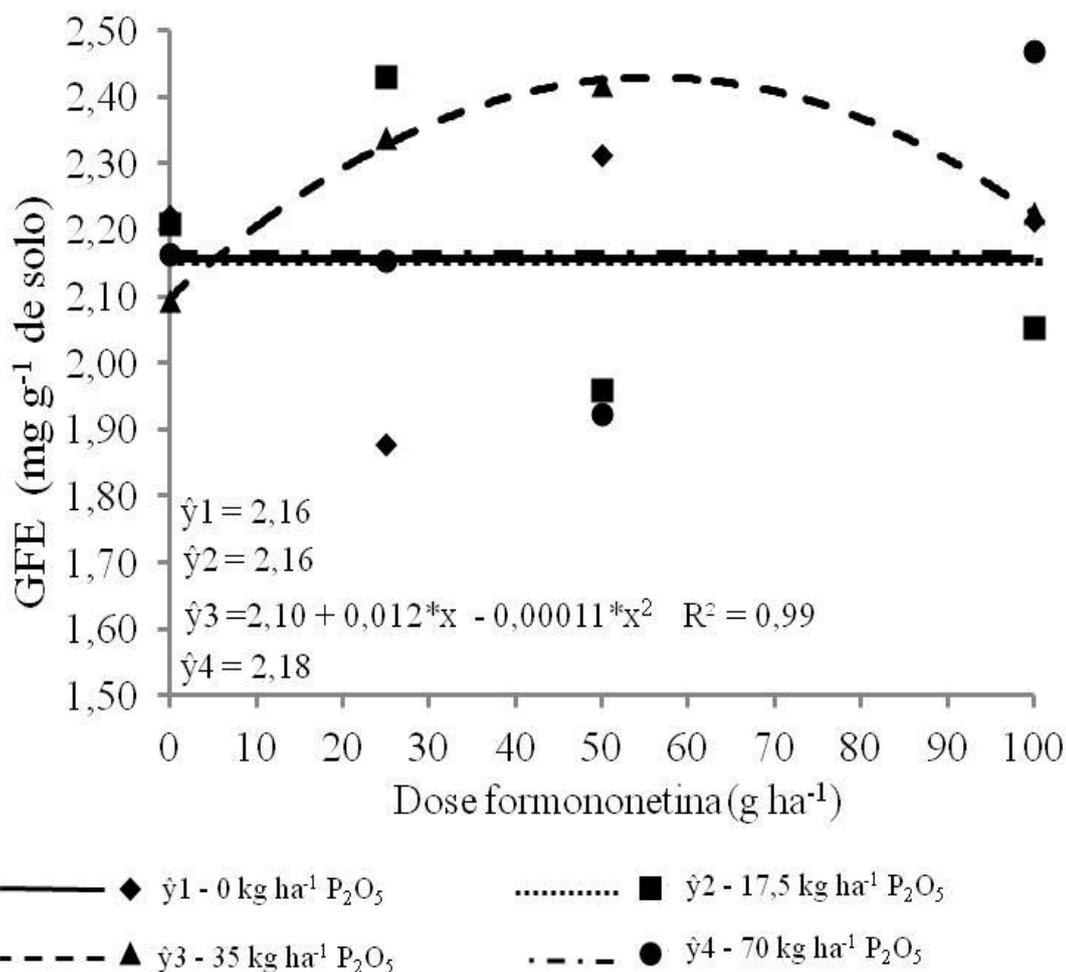


FIGURA 10. Proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível (GFE) em função da aplicação de formononetina em soja, em cada dose de P_2O_5 . (*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t)

O maior teor de proteína do solo relacionado à glomalina facilmente extraível, na presença de 35 kg ha^{-1} de P_2O_5 , estimado por meio da equação de regressão, ocorreu na dose 55 g ha^{-1} de formononetina, resultando em um teor de proteína do solo relacionado à glomalina facilmente extraível de $2,42 \text{ mg g}^{-1}$. Assim, a formononetina aumentou em 17% o teor de proteína do solo relacionado à glomalina facilmente extraível ($2,10$ para $2,42 \text{ mg g}^{-1}$ de solo), quando utilizada na presença de 35 kg ha^{-1} de P_2O_5 .

O teor de proteína do solo relacionada à glomalina total, na camada $0,00 - 0,20 \text{ m}$ foi alterado com aplicação de fósforo na soja, na presença de 50 g ha^{-1} de formononetina (Figura 11). O modelo que melhor se ajustou aos dados foi o quadrático. Na análise de regressão o fósforo não alterou o teor de proteína do solo relacionada à glomalina total quando utilizado na ausência da aplicação da

formononetina e na presença de 25 e 100 g ha⁻¹ de formononetina, pois nenhum dos modelos testados se ajustou aos dados.

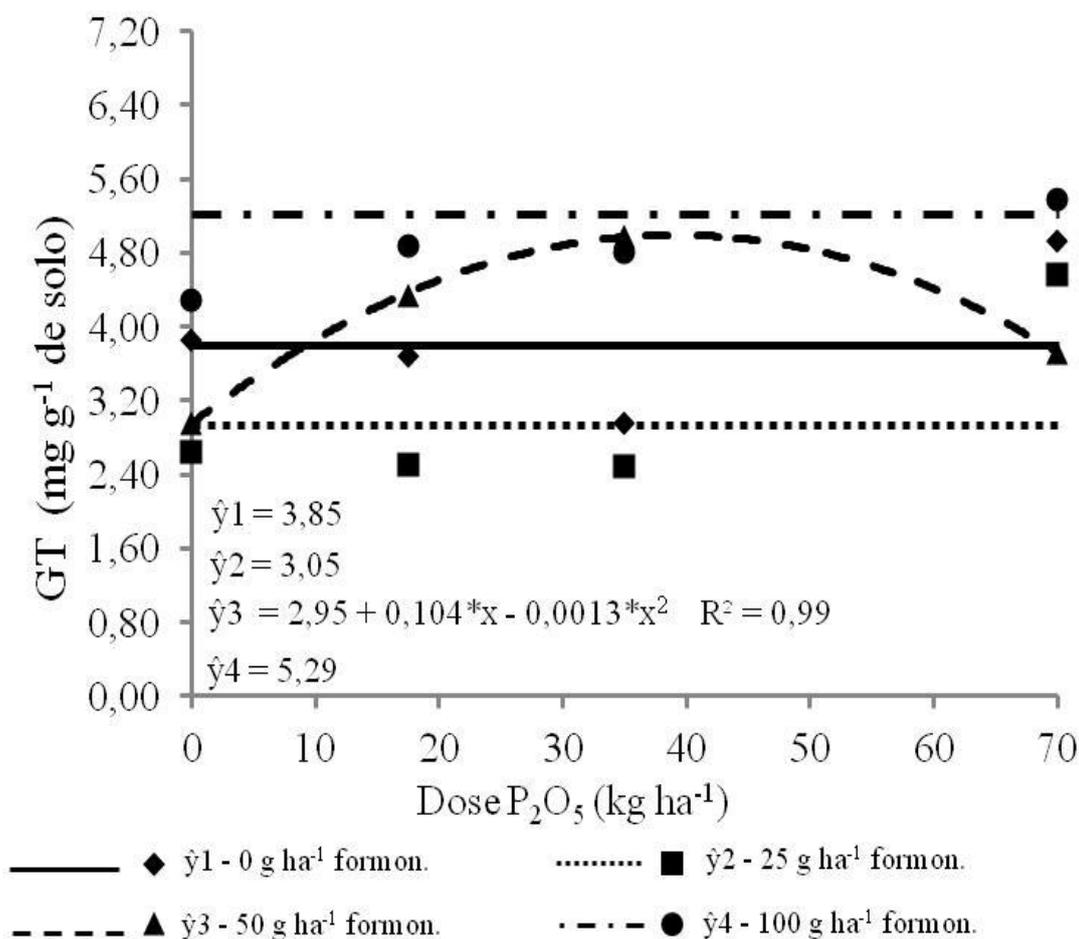


FIGURA 11. Proteína do solo relacionada à glomalina total (GT) em função da aplicação de fósforo em soja, em cada dose de formononetina. (*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t)

O maior teor de proteína do solo relacionada à glomalina total, na presença de 50 g ha⁻¹ de formononetina, estimado por meio da equação de regressão, ocorreu na dose 40 kg ha⁻¹ de P₂O₅, resultando em um teor de proteína do solo relacionada à glomalina total de 5,00 mg g⁻¹ de solo. Assim, o fósforo aumentou em 70% o teor de proteína do solo relacionada à glomalina total (2,95 para 5,00 mg g⁻¹ de solo), quando utilizado na presença de 50 g ha⁻¹ de formononetina.

Os valores médios de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível em função da aplicação da formononetina variaram de 2,16 a 2,18 mg g⁻¹ e de proteína do solo relacionada à glomalina total em função da aplicação de fósforo variaram de 3,05 a 5,28 mg g⁻¹. Em comparação aos dados

apresentados por Angelini et al. (2012) em Latossolo Vermelho distroférico, cultivado com cana-de-açúcar no município de Dourados-MS, esses valores são, de maneira geral, maiores para a proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível, pois esses autores encontraram valores médios entre 1,11 a 1,97 mg g⁻¹ de solo, e menores para a proteína do solo relacionada à glomalina total, pois esses autores encontraram valores médios entre 5,9 a 8,4 mg g⁻¹ de solo.

Os teores de proteína do solo relacionada à glomalina são determinados pelos fatores que afetam a sua produção e decomposição (RILLIG, 2004), dentre eles, tem-se os fatores que podem afetar o crescimento dos fungos micorrízicos arbusculares (TRESSEDER e CROSS, 2006). Assim, o estímulo à micorrização pela formononetina e pelo fósforo, observados no presente trabalho, podem contribuir para o aumento no teor desta proteína no solo. Contribuindo para essa hipótese, Vilela et al. (2012) verificaram que a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares, que pode aumentar a colonização micorrízica, promoveu aumento médio de 43% no teor de proteína do solo relacionada à glomalina total no solo. Também relacionado ao efeito do crescimento do fungo micorrízico arbuscular no teor de proteína do solo relacionada à glomalina, Driver et al. (2005) citam que mais de 80% da desta proteína encontra-se nas hifas e esporos dos fungos micorrízicos arbusculares. Da mesma forma, Peng et al. (2013) encontraram correlação entre comprimento de hifas de fungos micorrízicos arbusculares e teor de proteína do solo relacionado a glomalina facilmente extraível. Fato idêntico foi observado por Silva (2006) que sugere que a maior produção de hifas dos fungos micorrízicos arbusculares contribuem para o aumento no teor de proteína do solo relacionado à glomalina.

A maior atividade dos microrganismos e fauna do solo também pode contribuir para o maior teor de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível no solo. Fato constatado por Silva et al. (2013) que citam que a maior abundância e diversidade de organismos da fauna do solo também ajudam a explicar os maiores teores desta proteína no solo. Nesse contexto, Moreira e Siqueira (2006) também citam que a micorrização pode contribuir para o aumento na atividade dos microrganismos e fauna de solo. Assim, a ação estimulatória da formononetina na micorriza arbuscular pode contribuir para maior atividade de microrganismos do solo, que atuam na decomposição das hifas dos fungos micorrízicos arbusculares,

consequentemente, aumentando o teor de proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível.

O fósforo é um nutriente essencial para o desenvolvimento de todos os seres vivos, assim, ele pode favorecer os microrganismos e a fauna do solo, devido adequado crescimento das plantas que proporcionam maior produção de matéria orgânica para o solo, ou seja, maior fonte de energia e nutrientes para que os microrganismos e fauna do solo tenham maior crescimento populacional e atividade decompositora da matéria orgânica. Portanto, aumentando a decomposição das hifas e esporos dos fungos micorrízicos arbusculares que libera mais proteína do solo relacionada à glomalina total no solo.

De maneira geral, observa-se que a aplicação da formononetina melhorou a porosidade do solo, o diâmetro e estabilidade dos agregados do solo, e os maiores ganhos ocorreram em doses próximas à recomendada do estimulante (50 g ha^{-1}) ou superiores. Além disso, esses benefícios ocorreram em ambas às camadas de solo estudadas. Esse resultado se deve, em parte, ao estímulo à micorrização proporcionado pela formononetina, que pode favorecer maior desenvolvimento de fungos micorrízicos arbusculares, aumentando, assim, o efeito direto das suas hifas e proteína do solo relacionada à glomalina na formação e estabilização dos agregados do solo. Reforçando a hipótese da contribuição da proteína do solo relacionada à glomalina, verificou-se aumento no seu teor com aplicação da formononetina. Além disso, o maior desenvolvimento das micorrizas arbusculares e plantas podem contribuir para maior fornecimento de matéria orgânica do solo, que também pode influenciar positivamente a porosidade e a agregação do solo e fornecer energia e nutrientes aos microrganismos do solo que também contribuem com a melhoria do solo.

Quanto ao fósforo, seu efeito benéfico na estabilidade dos agregados do solo ocorreu em ambas às camadas de solo estudadas. Possivelmente, esse efeito ocorreu pelo maior desenvolvimento das plantas quando adubadas com fósforo e maior atuação de microrganismos, dentre eles, os fungos micorrízicos arbusculares, pois se verificou aumento na produção de proteína do solo relacionado à glomalina total e colonização micorrízica com uso do fósforo. Provavelmente, as doses de fósforo utilizadas no experimento não foram suficientes para reduzir a colonização micorrízica, pois a dose máxima de fósforo utilizada está dentro da recomendada para a cultura, o solo possui uma elevada capacidade de adsorver fósforo, reduzindo

sua disponibilidade, e a soja possui uma menor eficiência em absorção fósforo da solução do solo.

CONCLUSÕES

A aplicação do fósforo até doses recomendadas para a cultura e da formononetina na cultura da soja melhoram a colonização micorrízica e a produção de proteína do solo relacionada à glomalina, que proporcionam benéficos a estabilidade dos agregados do solo, no caso de fósforo, e na porosidade o solo, formação e estabilização dos agregados do solo, no caso da formononetina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELINI, G. A. R.; SAGGIN JUNIOR, O. J.; BALIEIRO, F. C.; FRANCO, A. A. Manejo da palha da cana-de-açúcar altera os teores de glomalina de Latossolo Vermelho do Cerrado, em Dourados (MS). In: SEMANA CIENTÍFICA JOHANNA DOBEREINER, 11., 2011, Seropédia. **Anais eletrônico...**, Seropédia, EMBRAPA Agroecologia. Disponível em: <<http://ojs.cnpab.embrapa.br/index.php/scjd/article/view/813>>. Acesso em: 10 set. 2015.

AZEVEDO, A. C.; DALMOLIN, R. S. D. **Solos e Ambiente: uma introdução**. 2. ed. Santa Maria: Editora Pallotti, 2006. 100p.

BEDINI, S.; PELLEGRINO, E.; AVIO, L.; PELLEGRINI, S.; BAZZOFFI, P.; ARGESE, E.; GIOVANNETTI, M. Changes in soil aggregation and glomalin-related soil protein content as affected by arbuscular mycorrhizal fungal species *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 1491-1496, 2009.

BORIE, F.; RUBIO, R.; MORALES, A. Arbuscular mycorrhizal fungi and soil aggregation. **Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal**, v. 8, p. 9-18, 2008.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

CARAVACA, F.; ALGUACIL, M. M.; AZCÓN, R.; ROLDÁN, A. Formation of stable aggregate in rhizosphere soil of *Juniperus oxycedrus*: Effect of AM fungi and organic amendments. **Applied Soil Ecology**, v. 33, p. 30-38, 2006.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; CARVALHO, D.; BOTELHO, S.; ORIVALDO JÚNIOR, J. S. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas nativas de ocorrência no sudeste do Brasil. **Cerne**, v. 4, p. 129-145, 1998.

CARRENHO, R.; COSTA, S. M. G.; BALOTA, E. L.; COLOZZI FILHO, A. Fungos micorrízicos arbusculares em agroecossistemas brasileiros In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: Editora UFLA, 2010. p. 215-250.

CASTRO FILHO, C. MUZILLI, O. PODANOSCHI, A. L. Estabilidade dos agregados e sua relação com o teor de carbono orgânico num Latossolo Roxo distrófico, em função de sistemas de plantio, rotações de culturas e métodos de preparo das amostras. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 22, p. 527-538, 1998.

CLAESSEN, M. E. C.; BARRETO, W. O.; PAULA, J. L.; DUARTE, M. N. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 1997. 212 p.

CORDEIRO, M. A. S.; FERREIRA, D. A.; PAULINO, H. B.; SOUZA, C. R. F.; SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. Mycorrhization stimulant based in formononetin associated to fungicide and doses of phosphorus in soybean in the Cerrado. **Bioscience Journal**, v. 31, p. 1062-1070, 2015.

COSTA, C. M. C.; MAIA, L. C.; CAVALCANTE, U. M. T.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de dois genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 893-901, 2001.

DECHEN, A. N.; NACHTIGALL, G. R. Elementos requeridos à nutrição de plantas. In: NOVAIS, R. F.; ALVARES V., V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (ed.). **Fertilidade do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 91-132.

DONAGEMMA, G. K.; CAMPOS, S. V. B.; CALDERANO, S. B.; TEIXEIRA, W. G.; VIANA, J. H. M. (org.). **Manual de métodos de análise de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA-Serviço Nacional de Levantamento e Conservação do Solo, 2011. 230p.

DRIVER, J. D.; HOLBEN, W. E.; RILLIG, M. C. Characterization of glomalin as hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, p. 101-106, 2005.

EMBRAPA SOJA. **Tecnologias de produção de soja - região central do Brasil 2011**. Londrina: EMBRAPA SOJA, 2010. 247p.

GERDEMANN, J. W.; NICHOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **British Mycological Society Transactions**, v. 446, p. 235-344, 1963.

GIOVANETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular arbuscular mycorrhizal infection roots. **New Phytologist**, v. 84, p. 489-500, 1980.

GONZALES-CHAVEZ, M. C. A.; GUTIERREZ-CASTORENA, M. C.; WRIGHT, S. Hongos micorrízicos arbusculares en la agregación del suelo y su estabilidad. **Terra Latinoamericana**, v. 22, p. 507-514, 2004.

HE, X.; LI, Y.; ZHAO, L. Dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalina in the rhizosphere of *Artemisia ordosica* Krasch. In Mu Us Sandland, China. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, p. 1313-1319, 2010.

HIPPLER, F. W. R.; MOREIRA, M.; DIAS, N. M. S.; HERMAMM, E. R. Fungos micorrízicos arbusculares nativos e doses de fósforo no desenvolvimento do amendoim RUNNER IAC 8861. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, p. 605-610, 2011.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; BRANDÃO JÚNIOR, O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R. A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, v. 42, p. 288-296, 2009.

JACQUES, S. M. C. **Bioestatística: princípios e aplicações**. Porto Alegre: Artemed, 2003. 255p

KEMPER, W. D.; ROSENAU, R. C. Aggregate stability and size distribution. In: KLUTE, A. (org.). **Methods of soil analysis. Part I. Physical and mineralogical methods**. Madison: Soil Science Society of America, 1986. p. 425-442.

KOHLER, J.; CARAVACA, F.; AGUACIL, M. M.; ROLDÀN, A. Elevated CO₂ increases the effect of an arbuscular mycorrhizal fungus and a plant-growth-promoting rhizobacterium on structural stability of a semiarid agricultural soil under drought conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 1710-1716, 2009.

LETEY, J. Relationship between soil physical properties and crop productions. **Advance in Soil Science**, v. 1, p. 277-294, 1985.

LIMA, J. M.; ANDERSON, S. J.; CURI, N. Phosphate induced clay dispersion as related to aggregate size and composition in Hapludoxs. **Soil Science Society of America Journal**, v. 64, p. 892-897, 2000.

LOSS, A.; PEREIRA, M. G.; GIÁCOMO, S. G.; PERIN, A.; ANJOS, L. H. C. Agregação, carbono e nitrogênio em agregados do solo sob plantio direto com integração lavoura pecuária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46 p. 1269-1276, 2011.

MELLONI, R.; NOGUEIRA, M. A.; FREIRE, V. F.; CARDOSO, E. J. B. N. Fósforo adicionado e fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e nutrição mineral de limoeiro-cravo [*Citrus limonia* (L.) osbeck]. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 767-775, 2000.

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

NAIR, M. G.; SAFIR, G. N.; SIQUEIRA, J. O. Isolation and identification of vesicular-arbuscular mycorrhiza stimulatory compounds from clover (*Trifolium repens*) roots. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, p. 434-439, 1991.

NOBREGA, J. C. A.; LIMA, J. M.; CURI, N.; SIQUEIRA, J. O.; MOTTA, P. E. F. Fosfato e micorriza na estabilidade de agregados em amostras de Latossolos cultivados e não cultivados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 11, p. 1425-1435, 2001.

NOVAIS, C. B.; SIQUEIRA, J. O. Aplicação de formononetina na colonização e esporulação de fungos micorrízicos em braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 496-502, 2009.

PENG, S.; GUO, T.; LIU, G. The effects of arbuscular mycorrhizal hyphal networks on soil aggregations of purple soil in southwest China. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 57, p. 411-417, 2013.

RILLIG, M. C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 28, p. 355-363, 2004.

RILLIG, M. G.; WRIGHT, S. F.; NICHOLS, K. A.; SCHMIDT, W. F.; TORN, M. S. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. **Plant and Soil**, v. 233, p. 167-177, 2001.

ROSIER, C. L.; HOYE, A. T.; RILLIG, M. C. Glomalin-related soil protein: Assessment of current detection and quantification tools. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, p. 2205-2211, 2006.

SALTON, J. C.; MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; BOENI, M.; CONCEIÇÃO, P. C.; FABRICIO, A. C.; MACEDO, M. C. M.; BROCH, D. L. Agregação e estabilidade de agregado do solo em sistemas agropecuários em Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 11-21, 2008.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; CUNHA, T. J. F.; OLIVEIRA, J. B. **Sistemas brasileiros de classificação de solos**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA Solos, 2013. 353p.

SILVA, C. F.; MARTINS, M. A.; SILVA, E. M. R.; PEREIRA, M. G.; CORREIA, M. E. F. Influência do sistema de plantio sobre atributos dendrométricos e fauna edáfica, em área degradada pela extração de argila. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, p. 1742-1751, 2013.

SILVA, C. F.; ARAÚJO, J. L. S.; SILVA, E. M. R.; PEREIRA, M. G.; FREITAS, M. S. M.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; MARTINS, M. A. Fungos micorrízicos arbusculares e proteína do solo relacionada à glomalina em área degradada por extração de argila e revegetada com eucalipto e acácia. **Ciência Florestal**, v. 22, p. 749-761, 2012.

SILVA, A. C.; SANTOS, J. B.; KASUYA, M. C. M.; SILVA, A. A.; MANABE, A. Micorrização e épocas de dessecação de *Brachiaria brizantha* no desenvolvimento da soja. **Planta Daninha**, v. 24, p. 271-277, 2006.

SILVA, M. A. S.; MAFRA, A. L.; ALBUQUERQUE, J. A.; ROSA, J. D.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Propriedades físicas e teor de carbono orgânico de um Argissolo Vermelho sob distintos sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 329-337, 2006a.

SILVA, F. S. B. **Fase assimbiótica, produção, infectividade e efetividade e fungos micorrízicos arbusculares em substrato com adubos orgânicos**. 2006. 284 f. Tese (Doutorado em Biologia de Fungos). Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE.

SILVA, R. B.; LIMA, J. M.; DIAS JUNIOR, M. S.; SILVA, F. A. M. Alterações de propriedades físicas e hídricas de um Latossolo Vermelho distrófico pela adsorção de fósforo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, p. 791-798, 2001.

SILVA, R. B.; LIMA, J. M.; DIAS JUNIOR, M. S. Efeito da adsorção de fosfato em parâmetros físicos e na compressibilidade de solos tropicais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 219-226, 1999.

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

SILVA JÚNIOR, J. P.; SIQUEIRA, J. O. Aplicação de formononetina sintética ao solo como estimulante da formação de micorriza no milho e na soja. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 9, p. 33-39, 1997.

SOUZA, F. A.; GOMES, E. A.; VASCONCELOS, M. J. V.; SOUZA, M. S. **Micorrizas Arbusculares: Perspectivas para aumento da eficiência de aquisição de fósforo (P) em poaceae – gramíneas**. Sete Lagoas: Embrapa milho sorgo, 2011. 32 p.

TISDALL, J. M.; OADES, J. M. Organic matter and water-stable aggregates in soil. **Journal of Soil Science**, v. 33, p.141-163, 1982.

TRESEDER, K. K.; CROSS, A. Global distributions of arbuscular mycorrhizal fungi. **Ecosystems**, v. 9, p. 305-316, 2006.

TRUBER, P. V. **Agregação do solo e ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em sistemas de rotação de culturas**. 2013. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP

VIEIRA, L. L. **Influência de atributos físicos, químicos e microbiológicos na agregação de solos sob diferentes sistemas de uso, em Maria da Fé, MG**. 2010. 61f. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Itajubá, Itajubá-MG.

VILELA, L. A. F.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; PAULINO, B. H.; SIQUEIRA, J. O.; SANTOS, V. L. S.; CARNEIRO, M. A. C. Arbuscular mycorrhizal fungus in microbial activity and aggregation of a Cerrado Oxisol in crop sequence. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, p. 34-42, 2014.

VILELA, L. A. F.; CARNEIRO, M. A. C.; SANTOS, V. L. S.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; BARCELOS, J. G. E.; BARROS, J. Fungos micorrízicos arbusculares, atividade microbiana e estabilidade de agregados de um Latossolo Vermelho de Cerrado. **FERTBIO**, 2012, Maceió. **Resumo expandido...**, Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2012.

WICK, A. F.; INGRAM, L. J.; STAHL, P. D. Aggregate and organic matter dynamics in reclaimed soils as indicated by stable carbon isotopes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 201-209, 2009.

WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v. 198, p. 97-107, 1998.

ZHU, Y. G.; MILLER, R. M. Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil – plant systems. **Trends Plant Science**, v. 8, p. 407- 409, 2003.

CONCLUSÕES GERAIS

A aplicação do fósforo até doses recomendadas para as culturas do milho e da soja, e da formononetina no milho e na soja melhoram a colonização micorrízica, que proporcionam benefícios a porosidade do solo, formação e estabilidade dos agregados do solo, principalmente na camada 0,00 – 0,05 m.