

INFLUÊNCIA DO SUBSTRATO E INOCULAÇÃO MICORRÍZICA NA PRODUÇÃO DE MUDAS DE *Colubrina glandulosa* Perkins

Rodrigo Camara¹, Ariovaldo Machado Fonseca Júnior¹, Ana Carolina Oliveira Sousa¹, Marcos Gervasio Pereira¹, Joel Quintino Oliveira Júnior¹

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Solos, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil - rcamara73@gmail.com; arjunior01@hotmail.com; acos.florestal@gmail.com; mgervasiopereira01@gmail.com; joelquintino@yahoo.com.br

Recebido para publicação: 13/02/2017 - Aceito para publicação: 03/11/2017

Resumo

A revegetação de áreas desmatadas de Mata Atlântica pode ser realizada com mudas de espécies florestais nativas inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Este trabalho objetivou avaliar o efeito de diferentes substratos, na ausência/presença de inoculação com FMA, sobre o crescimento e conteúdo nutricional de mudas de *Colubrina glandulosa* Perkins. As mudas foram produzidas em tubetes em casa de vegetação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 12 repetições/tratamento e oito tratamentos: T1 (20% esterco bovino + 80% terra), T2 (20% esterco bovino + 80% terra + FMA), T3 (20% esterco bovino + 60% terra + 20% areia), T4 (20% esterco bovino + 60% terra + 20% areia + FMA), T5 (20% esterco bovino + 60% terra + 20% vermiculita), T6 (20% esterco bovino + 60% terra + 20% vermiculita + FMA), T7 (20% esterco bovino + 60% terra + 10% areia + 10% vermiculita) e T8 (20% esterco bovino + 60% terra + 10% areia + 10% vermiculita + FMA). Aos 30, 65, 93 e 115 dias após a instalação do experimento, avaliou-se a altura (H) e diâmetro do coleto (DC). Aos 115 dias, avaliou-se a massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR), razão MSPA/MSR, taxa de colonização micorrízica da raiz (%COLRAIZ), Índice de Qualidade de Dickson (IQD), conteúdo de nutrientes (N, P, K) na parte aérea e raiz, e eficiência de absorção de nutrientes (N, P, K). Concluiu-se que o T8 é o mais recomendado, pois proporcionou a produção de mudas com elevados valores para a maioria das variáveis de crescimento e nutrição analisadas.

Palavras-chave: Fungos micorrízicos arbusculares; Mata Atlântica; recuperação de áreas degradadas.

Abstract

Effects of substrate and mycorrhizal inoculation on the production of seedlings of Colubrina glandulosa Perkins. Revegetation of deforested Atlantic Forest areas can be carried out with seedlings of native tree species inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). This study aimed to evaluate the effect of different substrates in the absence/presence of AMF inoculation on growth and nutritional content of *Colubrina glandulosa* Perkins seedlings. The seedlings were grown in plastic pots under greenhouse conditions. The experimental design was completely randomized with 12 repetitions/treatment and eight treatments: T1 (20% cattle manure + 80% soil horizon), T2 (20% cattle manure + 80% soil horizon + AMF), T3 (20% cattle manure + 80% soil horizon + 20% sand), T4 (20% cattle manure + 80% soil horizon + 20% sand + AMF), T5 (20% cattle manure + 60% soil horizon + 20% vermiculite), T6 (20% cattle manure + 60% soil horizon + 20% vermiculite + AMF), T7 (60% soil horizon A + 20% cattle manure + 10% sand + 10% vermiculite) e T8 (60% soil horizon A + 20% cattle manure + 10% sand + 10% vermiculite + AMF). At 30, 65, 93 and 115 days after the beginning of the experiment, we evaluated the height (H) and collar diameter (DC). At 115 days, we evaluated the dry matter of shoot (MSPA) and root (MSR), MSPA/MSR ratio, rate of roots colonization by mycorrhiza (% COLRAIZ), quality index of Dickson (IQD), nutrient content (N, P, K) in the shoot and root, besides uptake efficiency of nutrients (N, P, K). We recommend the treatment T8 because it provided the production of seedlings with high values of most of the growth and nutrition variables analyzed.

Keywords: Arbuscular mycorrhizal fungi; Atlantic Forest; land reclamation.

INTRODUÇÃO

A Floresta Atlântica é um *hot spot* para a conservação de biodiversidade, devido aos elevados endemismo e número de espécies ameaçadas de extinção (Joly *et al.*, 2014), além do fato de sua área remanescente atualmente ser equivalente a menos de 12% de sua área total original (Ribeiro *et al.*, 2009). Essa dinâmica de desmatamento ocorreu para atender ao desenvolvimento agropecuário, além da exploração madeireira (Mateus *et al.*, 2013). Como consequência, os remanescentes desse bioma são, em geral, fragmentos florestais muito pequenos (< 5 ha), que se apresentam em diferentes estágios sucessionais (Lana *et al.*, 2010) e

isolados entre si, o que afeta a composição de espécies (Metzger *et al.*, 2009) e processos ecossistêmicos (Pereira *et al.*, 2013).

Portanto, é necessário que se priorize a execução de programas de recuperação dessas áreas degradadas, o que pode ser feito por meio do plantio de mudas de espécies florestais nativas inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) (Colodete *et al.*, 2014). Em áreas de Mata Atlântica, a riqueza e diversidade desses microrganismos são elevadas (Bonfim *et al.*, 2013). Os FMAs associam-se, obrigatoriamente, às raízes das plantas hospedeiras, as quais fornecem energia para o metabolismo dos mesmos. Em troca, o volume de solo explorado pelas raízes colonizadas pelos FMAs é aumentado (Schiavo *et al.*, 2009). Dessa maneira, os FMAs potencializam a tolerância das plantas a *déficits* hídricos e proporcionam benefícios nutricionais e ganhos em crescimento (Carneiro *et al.*, 2016).

Com isto, os FMAs possuem relevante papel na sucessão vegetal e, ainda, contribuem para diminuir o emprego de fertilizantes químicos, que oneram e podem até inviabilizar a produção de mudas para a revegetação de áreas degradadas (Santos *et al.*, 2008). Contudo, dada a elevada diversidade de espécies arbóreas na Mata Atlântica, ainda são poucas as informações a respeito da produção de mudas de espécies florestais nativas micorrizadas. Neste contexto, encaixa-se a espécie *Colubrina glandulosa* Perkins, popularmente conhecida como saguaraji e pertencente à família Rhamnaceae. Essa árvore apresenta rápido crescimento e pode ser plantada a pleno sol, o que propicia a formação de um ambiente mais favorável para o posterior desenvolvimento das espécies que necessitam de maior sombreamento e são importantes para o avanço sucessional (Silva *et al.*, 2015). Dessa maneira, *Colubrina glandulosa* demonstra grandes possibilidades de emprego em programas de reflorestamento para a recuperação de áreas degradadas.

Em estudos de produção de mudas de espécies florestais com vistas à recuperação de áreas degradadas, também é de extrema importância que se investigue o efeito de diferentes formulações de substrato. O substrato proporciona a sustentação e nutrição das plantas, sendo que se deve priorizar os componentes que envolvam atributos físicos e químicos desejáveis para o crescimento das plantas (Danner *et al.*, 2007; Souza *et al.*, 2009; Dalanhol *et al.*, 2016). Com isto, pode-se desonerar os custos de produção de mudas de espécies florestais.

Este trabalho objetivou avaliar o efeito de diferentes tipos de formulação de substrato na ausência/presença de inoculação com FMAs, sobre o crescimento e conteúdo de nutrientes em mudas da espécie florestal *Colubrina glandulosa* Perk.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido sob condições de casa de vegetação em delineamento inteiramente casualizado com 12 repetições (mudas) por tratamento, totalizando 96 plantas e oito tratamentos. Os tratamentos se diferenciaram entre si com relação à proporção dos componentes misturados (terra de horizonte A, areia e vermiculita), com base no volume e na ausência/presença (-/+) de inoculação com FMAs. A fonte de matéria orgânica selecionada (esterco bovino de curral curtido) fez parte da constituição de todos os tratamentos com a mesma participação percentual (20%) em cada um deles (Tabela 1).

Tabela 1. Tratamentos (Trat) utilizados na produção de mudas de *Colubrina glandulosa* em casa de vegetação.
Table 1. Treatments used in the production of *Colubrina glandulosa* seedlings under greenhouse conditions.

Trat	Esterco bovino	Terra de horizonte A	Areia	Vermiculita	FMA*
------(%)-----					
T1	20	80	-	-	-
T2	20	80	-	-	+
T3	20	60	20	-	-
T4	20	60	20	-	+
T5	20	60	-	20	-
T6	20	60	-	20	+
T7	20	60	10	10	-
T8	20	60	10	10	+

* FMAs = fungos micorrízicos arbusculares: ausência (-) ou presença (+) de inóculo de FMAs.

A terra de horizonte A foi coletada na camada superficial (0 - 20 cm) de um Cambissolo Háplico localizado no terço médio de uma encosta no município de Pinheiral-RJ sob a cobertura da gramínea "braquiária". Esse material foi umedecido e autoclavado (temperatura de 120 °C, pressão de 1 atm, 1 hora) três vezes, com o intervalo de 4 dias entre cada autoclavagem. Após esse procedimento, apresentou as seguintes características químicas: pH em água (1:2,5), 4,9; P e K extraídos por Mehlich-1, 1,89 e 64 mg dm⁻³, respectivamente; Al, Ca e Mg trocáveis (KCl 1 mol L⁻¹), 1,21, 0,46 e 0,21 cmol_c dm⁻³, respectivamente.

As sementes de *Colubrina glandulosa* foram imersas em volume de ácido sulfúrico concentrado correspondente ao dobro do seu volume, em Becker de vidro, para a quebra da dormência (Brancalion *et al.*, 2011). Após 15 minutos, o conteúdo do Becker foi agitado com um bastão de vidro e, transcorridos 30 minutos, as sementes foram separadas e lavadas em peneira sob água corrente, por 10 minutos. Em seguida, secaram ao ar sobre papel-toalha em bancada de laboratório. Posteriormente, as sementes foram pré-germinadas em placas de Petri com papel de filtro e algodão, dentro de uma câmara de germinação (Demanda de Oxigênio Biológico) sob luz constante e temperatura de 28 °C por 5 dias. Quatro sementes germinadas foram inseridas num pequeno orifício de aproximadamente 1 cm em cada recipiente (tubetes plásticos com capacidade volumétrica de 280 mL) e cobertas com uma fina camada do respectivo substrato (Souza *et al.*, 2009).

Nos tratamentos de micorrização, aplicou-se 1 grama do inóculo micorrízico no momento da semeadura. O inóculo constituiu-se de solo contendo uma mistura de aproximadamente 50 esporos de três espécies diferentes de FMAs: *Rhizophagus clarum* Becker & Gerdemann, *Gigaspora margarita* Becker & Hall e *Dentiscutata heterogama* (Nicol & Gerd) Walker & Sanders. Quando as plântulas apresentaram um par de folhas definitivas, foi realizado o desbaste, deixando-se apenas uma planta mais vigorosa por tubete (Souza *et al.*, 2009).

O experimento foi conduzido no período de março de 2016 a junho de 2016. As variáveis altura (H) e diâmetro do coleto (DC) foram avaliadas com régua centimetrada e paquímetro digital, respectivamente, em quatro datas diferentes: aos 30, 65, 93 e 115 dias após a instalação do experimento (datas 1, 2, 3 e 4, respectivamente). Nessa última data, as mudas foram coletadas e fracionadas em parte aérea e raiz.

O sistema radicular foi lavado em água destilada e o excesso de umidade foi eliminado com papel absorvente. Desse material, separou-se uma alíquota (0,5 g) de raízes finas (<1,00 mm de diâmetro) localizadas junto ao substrato, em todos os tratamentos. O substrato foi conservado em etanol 50%. Em seguida, esta alíquota passou por clareamento e coloração (Grace & Stribley, 1991). Posteriormente, tal material foi lavado com água corrente e permaneceu coberto com solução de KOH a 2,5%, por 24 horas.

Em seguida, as raízes foram lavadas novamente em água corrente e permaneceram imersas em H₂O₂ alcalina a 3% por aproximadamente 30 minutos. O material passou por nova lavagem com água corrente e foi coberto com HCl 1% por 24 horas. Removeu-se o HCl e, sem lavar, o material foi corado com solução de azul de metila. Por fim, as raízes foram armazenadas em solução ácida de glicerol claro até o momento da avaliação da taxa percentual do comprimento de raízes finas colonizadas por FMAs (%COLRAIZ), que ocorreu pelo método da interseção em placa quadriculada.

Avaliou-se a massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e a massa de matéria seca da raiz (MSR) após secagem em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C por 72 horas e pesagem em balança analítica de duas casas decimais. Com esses dados, calculou-se a razão MSPA/MSR. O Índice de Qualidade de mudas de Dickson (IQD), que varia de 0 a 1, foi estimado a partir da equação: $IQD = (MST / (H / DC) + (MSPA / MSR))$, em que MST = massa de matéria seca total das mudas. Após essa etapa, o material foi moído e as alíquotas foram submetidas à digestão sulfúrica (Tedesco *et al.*, 1995), para se quantificar os teores de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K). A partir do produto dos dados de massa de matéria seca e teor nutricional, calculou-se o conteúdo dos nutrientes na parte aérea e na raiz.

A eficiência de absorção de cada nutrientes (EAB) foi calculada por meio da equação proposta por Swiader *et al.* (1994): $EAB = (CONTPA + CONTR)/(MSR)$, em que CONTPA = conteúdo do nutriente na parte aérea; CONTR = conteúdo do nutriente na raiz; e MSR = massa de matéria seca da raiz. Assim, buscou-se avaliar a influência dos tratamentos sobre a capacidade da planta em extrair os nutrientes analisados do substrato, os quais são convertidos em massa de matéria seca.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste paramétrico LSD ($p < 0,05$), quando foi respeitada a premissa de homogeneidade das variâncias. Caso contrário, as médias foram comparadas pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). Essas análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa BioEstat, versão 5.3 (Instituto Mamirauá, Belém).

Análises multivariadas foram empregadas para auxiliar na interpretação do grande conjunto de dados obtidos, por meio da versão 2.17c do programa PAST. A partir do dendrograma gerado no agrupamento hierárquico (*cluster analysis*) pela distância de Bray-Curtis e com base no método da ligação simples (*single linkage method*), objetivou-se identificar possíveis similaridades entre os tratamentos. A análise dos componentes principais (*principal component analysis*) foi realizada com a finalidade de identificar as variáveis que se correlacionaram com os tratamentos. Em ambas essas análises, considerou-se os dados médios de todas as variáveis estudadas, com exceção de %COLRAIZ. No caso das variáveis H e D, calculou-se as respectivas médias entre as quatro datas de análise.

RESULTADOS

Na comparação entre os tratamentos testados, houve elevada variação nos resultados encontrados para as variáveis observadas. Dessa maneira, procurou-se identificar padrões gerais do efeito dos tratamentos, sobre o crescimento e estado nutricional das mudas de *Colubrina glandulosa*. De maneira geral, com relação à altura, T8 foi superior aos tratamentos T1, T3 e T4 nas quatro datas de avaliação, ao passo que T7 promoveu ganhos superiores médios em altura na comparação com T1, T3, T4 e T5, na Data 4 (Tabela 2). Não houve diferenças significativas entre T7 e T8 em nenhuma das datas de avaliação, sendo que, na média para as quatro datas de avaliação, estes dois tratamentos promoveram incrementos em altura, quando comparado com T1, T3 e T4, que não apresentaram diferenças significativas entre si.

Tabela 2. Valores de altura (H) e diâmetro do coleto (DC) de mudas de *Colubrina glandulosa* aos 30, 65, 93 e 115 dias após a instalação do experimento (datas 1, 2, 3 e 4, respectivamente), sob diferentes tratamentos (Trat) em casa de vegetação*.

Table 2. Mean values of height (H) and collar diameter of *Colubrina glandulosa* seedlings at 30, 65, 93 and 115 days after the experiment setup (dates 1, 2, 3 and 4, respectively), in different treatments (Trat) under greenhouse conditions*.

Trat	H (cm)					DC (mm)				
	Data 1	Data 2	Data 3	Data 4	Média	Data 1	Data 2	Data 3	Data 4	Média
T1	5,00 D	6,23 D	7,28 E	8,58 D	6,78 C	1,46 D	2,01 C	2,22 D	2,99 C	2,17 C
T2	8,11 ABC	9,33 ABC	9,91 ABCD	10,51 ABC	9,47 AB	2,13 ABC	2,54 AB	2,96 ABC	3,27 BC	2,73 B
T3	6,30 CD	7,80 CD	8,53 DE	9,40 CD	8,01 BC	1,84 BCD	2,20 BC	2,71 BCD	3,09 C	2,46 BC
T4	6,92 BCD	8,07 BCD	8,68 CDE	9,75 CD	8,36 BC	1,72 CD	2,15 BC	2,49 CD	3,04 C	2,35 BC
T5	7,61 ABC	8,97 ABC	9,48 ABCD	10,09 BCD	9,04 AB	2,17 ABC	2,89 A	3,49 A	3,84 A	3,10 A
T6	7,70 ABC	9,28 ABC	10,43 ABC	11,67 AB	9,77 AB	2,12 ABC	2,92 A	3,24 AB	3,95 A	3,06 A
T7	8,93 AB	9,98 AB	10,66 AB	11,84 A	10,35 A	2,40 AB	2,83 A	3,13 AB	3,55 AB	2,98 AB
T8	9,18 A	10,30 A	10,93 A	11,94 A	10,59 A	2,48 A	2,96 A	3,34 AB	3,87 A	3,16 A

*Valores obtidos a partir da média de 12 réplicas/tratamento. Valores seguidos de letras diferentes, na coluna, indicam diferença significativa entre os tratamentos, pelo teste paramétrico LSD ou não-paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). T1: 20% esterco bovino + 80% terra horizonte A; T2: 20% esterco bovino + 80% terra horizonte A + FMA; T3: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% areia; T4: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% areia + FMA; T5: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% vermiculita; T6: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% vermiculita + FMA; T7: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 10% areia + 10% vermiculita; T8: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 10% areia + 10% vermiculita + FMA.

As mudas produzidas em T8 apresentaram valores médios significativamente maiores de diâmetro do coleto, na comparação com T1, T3 e T4 em três datas de avaliação (Tabela 2). No tratamento T6, observou-se maiores valores médios de diâmetro do coleto em relação aos mesmos tratamentos T1, T3 e T4 em duas datas de avaliação. Em T5, o crescimento em diâmetro das mudas foi maior àquele verificado em T1 em três datas de avaliação, e na comparação com T3 e T4 em duas datas de avaliação. Não houve diferenças significativas entre T5, T6 e T8 em nenhuma das datas de avaliação. Na média para as quatro datas de avaliação, T5, T6 e T8 promoveram incrementos médios em diâmetro em relação a T1, T3 e T4, os quais não se diferenciaram entre si em três datas de avaliação e na média calculada entre as quatro datas de avaliação.

Os maiores valores médios de MSPA foram observados nos tratamentos T6 e T8, que não se diferenciaram entre si, em relação a T1 e T4, que também não apresentaram diferenças significativas entre si (Tabela 3). Com relação à MSR das mudas, o tratamento T8 proporcionou ganhos significativamente maiores àqueles verificados sob os tratamentos T1, T2, T3, T4 e T6, cujos valores não se diferenciaram entre si. Os maiores valores da razão MSPA/MSR foram verificados nos tratamentos T1, T3 e T4, que não se diferenciaram significativamente entre si, e os menores, nos tratamentos T5, T7 e T8, que também não apresentaram diferenças significativas entre si.

De acordo com os valores médios de ID, os tratamentos T5, T7 e T8 foram responsáveis pela produção de mudas com maior qualidade na comparação com T1, T2, T3 e T4, cujos valores médios não foram significativamente diferentes entre si (Tabela 3). No que se refere ao %COLRAIZ, o valor em T4 foi significativamente maior ao verificado em T2, T6 e T8, que não se diferenciaram significativamente entre si. Nos tratamentos em que não houve inoculação, não ocorreu a colonização radicular por FMAs.

Os valores médios do conteúdo de N variaram entre 195,71 e 399,29 mg planta⁻¹ para a parte aérea, e entre 130,38 e 268,67 mg planta⁻¹ para a raiz (Tabela 4). Tais valores foram comparativamente maiores, em relação aos conteúdos médios dos demais nutrientes analisados. Já a variação do conteúdo médio de P foi menor na parte aérea (26,68 a 43,51 mg planta⁻¹) e na raiz (15,95 a 47,80 mg planta⁻¹). No caso do K, o conteúdo variou de 64,29 a 83,65 mg kg⁻¹ na parte aérea, e de 89,25 a 359,21 mg planta⁻¹ no sistema radicular das plantas.

Com relação ao N na parte aérea das plantas, o maior conteúdo médio foi verificado no T2 em relação aos verificados nos tratamentos T1, T4, T5, T6, T7 e T8 (Tabela 4). Na raiz, os tratamentos T1, T2, T3 e T4 não se diferenciaram significativamente entre si e proporcionaram os maiores incrementos no conteúdo de N na comparação com os demais tratamentos (T5, T6, T7 e T8).

Tabela 3. Valores de massa de matéria seca de parte aérea (MSPA), massa de matéria seca de raiz (MSR), razão massa de matéria seca de parte aérea/raiz (MSPA/MSR), índice de qualidade de Dickson (ID) e taxa de colonização micorrízica (%COLRAIZ) de mudas de *Colubrina glandulosa* 115 dias após a instalação do experimento em casa de vegetação*.

Table 3. Mean values of shoot dry matter (MSPA), root dry matter (MSR), shoot dry matter/root dry matter ratio (MSPA/MSR), Dickson quality index (ID), and mycorrhizal colonization rate (%COLRAIZ) of *Colubrina glandulosa* seedlings 115 days after the experiment setup in different treatments (Trat) under greenhouse conditions*.

Trat	MSPA ---(g planta ⁻¹) ---	MSR	MSPA/MSR	ID	%COLRAIZ
T1	0,94 C	0,41 D	2,56 A	0,26 C	0
T2	1,07 BC	0,52 D	2,09 AB	0,30 C	20 B
T3	1,19 ABC	0,60 CD	2,40 A	0,36 BC	0
T4	0,90 C	0,35 D	2,41 A	0,21 C	39 A
T5	1,20 AB	0,90 AB	1,40 CD	0,52 A	0
T6	1,50 A	0,83 BC	1,76 BC	0,47 AB	19 B
T7	1,24 AB	0,99 AB	1,29 D	0,49 A	0
T8	1,44 A	1,21 A	1,41 CD	0,53 A	18 B

*Valores obtidos a partir da média de 12 réplicas/tratamento. Valores seguidos de letras diferentes, na coluna, indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste paramétrico LSD ou não-paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). T1: 20% esterco bovino + 80% terra horizonte A; T2: 20% esterco bovino + 80% terra horizonte A + FMA; T3: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% areia; T4: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% areia + FMA; T5: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% vermiculita; T6: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% vermiculita + FMA; T7: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 10% areia + 10% vermiculita; T8: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 10% areia + 10% vermiculita + FMA.

Os maiores valores médios do conteúdo de P na parte aérea ocorreram em T2, T3 e T4, que não se diferenciaram significativamente entre si, ao passo que os menores valores foram observados em T6, T7 e T8 (Tabela 4). Já na raiz, os maiores incrementos no conteúdo de P ocorreram sob os tratamentos T5, T6, T7 e T8, que não se diferenciaram entre si, enquanto os menores conteúdos foram observados nos demais tratamentos (T1, T2, T3 e T4).

Tabela 4. Valores médios do conteúdo de nutrientes (N, P e K) na parte aérea e raiz de mudas de *Colubrina glandulosa*, aos 115 dias após a instalação do experimento em casa de vegetação*.

Table 4. Mean values of nutrient content (N, P and K) in the shoot and root of *Colubrina glandulosa* seedlings, at 115 days after experiment setup in different treatments (Trat) under greenhouse conditions*.

Trat	N			P			K		
	----- (mg planta ⁻¹) -----								
	Parte aérea			Raiz			EAB(K)		
	----- (mg g ⁻¹) -----								
T1	339,50 BC	36,27 AB	77,90 AB	268,67 A	20,76 B	109,68 D	420,75 A	3,78 BC	40,91 C
T2	428,75 A	42,46 A	79,11 AB	259,21 A	21,12 B	98,03 D	489,49 A	3,88 ABC	33,71 CD
T3	399,29 AB	39,07 A	64,29 C	263,83 A	15,95 B	89,25 D	517,18 A	3,09 C	28,04 D
T4	345,63 BC	43,51 A	67,31 C	249,83 A	19,83 B	89,70 D	405,29 A	4,30 ABC	28,72 D
T5	226,04 DE	33,65 AB	83,65 AB	173,00 B	43,57 A	188,83 C	172,66 B	7,54 A	72,07 BC
T6	284,08 CD	26,68 B	74,27 BC	182,88 B	40,67 A	278,36 B	249,99 B	5,03 AB	98,86 AB
T7	210,00 E	28,82 B	81,69 A	130,38 B	38,67 A	290,63 AB	132,84 B	5,44 AB	111,17 AB
T8	195,71 E	26,95 B	80,48 A	152,00 B	47,80 A	359,21 A	151,91 B	6,27 A	137,80 A

*Valores obtidos a partir da média de 12 réplicas/tratamento. Valores seguidos de letras diferentes, na coluna, indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste paramétrico LSD ou não-paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). T1: 20% esterco bovino + 80% terra horizonte A; T2: 20% esterco bovino + 80% terra horizonte A + FMA; T3: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% areia; T4: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% areia + FMA; T5: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% vermiculita; T6: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% vermiculita + FMA; T7: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 10% areia + 10% vermiculita; T8: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 10% areia + 10% vermiculita + FMA.

No que se refere ao conteúdo de K, os maiores valores na parte aérea foram encontrados nas mudas produzidas em T7 e T8, sem diferenças significativas entre si quando comparado com T3, T4 e T6 (Tabela 4). Na raiz, o tratamento T8 também proporcionou incrementos significativos no conteúdo médio de K em relação a T1, T2, T3, T4, T5 e T6.

Com relação à influência dos tratamentos sobre a eficiência de absorção dos nutrientes pelas plantas, houve variação entre os nutrientes. A eficiência de absorção do N pelas plantas foi significativamente maior nos tratamentos T1, T2, T3 e T4, os quais não se diferenciaram entre si quando comparado com T5, T6, T7 e T8 (Tabela 4). No caso do P, a eficiência de absorção foi maior nos tratamentos T5 e T8, sem diferenças significativas entre si em relação a T1 e T3. A maior eficiência de absorção de K foi observada nas plantas produzidas nos tratamentos T5, T6 e T7, cujos valores médios não se diferenciaram significativamente entre si, na comparação com T1, T2, T3, T4 e T5.

O dendrograma obtido a partir da análise multivariada de agrupamento hierárquico demonstrou que os tratamentos testados dividiram-se em dois grandes grupamentos. Os tratamentos T1, T2, T3 e T4 formaram um grande grupamento à esquerda da figura 1, que apresentou maior similaridade entre si. Na mesma figura, pode-se observar que o outro grupamento, que se posicionou à direita, foi formado pela reunião dos demais tratamentos (T5, T6, T7 e T8), os quais apresentaram elevada similaridade entre si. Dentro de cada grupamento, observou-se uma maior similaridade entre os tratamentos T2 e T3 e, no outro extremo, entre os tratamentos T7 e T8.

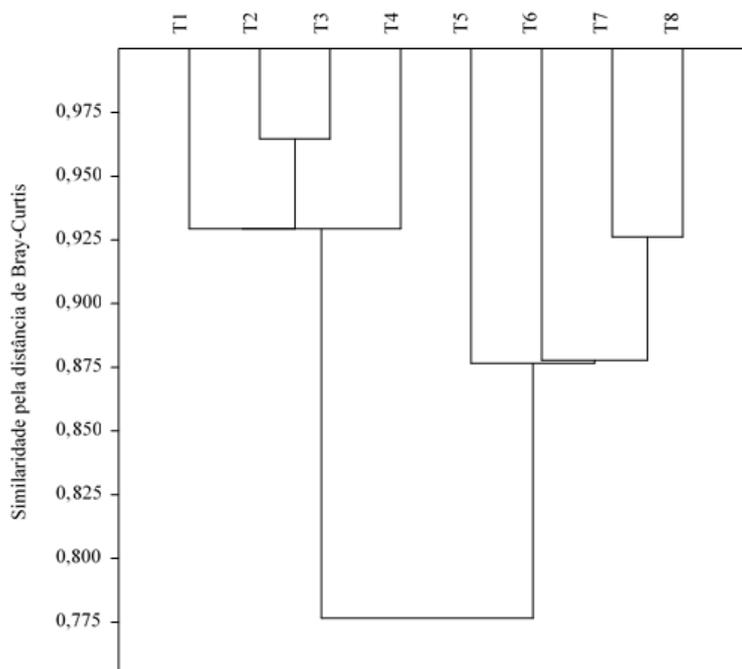


Figura 1. Dendrograma de similaridade dos tratamentos testados (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8) na produção de mudas de *Colubrina glandulosa*, na presença/ausência de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em casa de vegetação. T1: 20% esterco bovino + 80% terra horizonte A; T2: 20% esterco bovino + 80% terra horizonte A + FMA; T3: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% areia; T4: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% areia + FMA; T5: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% vermiculita; T6: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% vermiculita + FMA; T7: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 10% areia + 10% vermiculita; T8: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 10% areia + 10% vermiculita + FMA.

Figure 1. Dendrogram of similarity of the tested treatments (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8) in the production of *Colubrina glandulosa* seedlings, in the presence/absence of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) under greenhouse conditions. T1: 20% cattle manure + 80% soil A horizon; T2: 20% cattle manure + 80% soil A horizon + AMF; T3: 20% cattle manure + 60% soil A horizon + 20% sand; T4: 20% cattle manure + 60% soil A horizon + 20% sand + AMF; T5: 20% cattle manure + 60% soil A horizon + 20% vermiculite; T6: 20% cattle manure + 60% soil A horizon + 20% vermiculite + AMF; T7: 20% cattle manure + 60% soil A horizon + 10% sand + 10% vermiculite; T8: 20% cattle manure + 60% soil A horizon + 10% sand + 10% vermiculite + AMF.

A análise multivariada dos componentes principais indicou a separação entre as áreas estudadas por meio da relação entre o componente principal 1 (eixo 1) e o componente principal 2 (eixo 2). Os tratamentos T1, T2, T3 e T4 ficaram agrupados na porção esquerda do eixo 1 (valores negativos), o que explicou 81,41% da variabilidade dos resultados (Figura 2). Por outro lado, os tratamentos T5, T6, T7 e T8 agruparam-se na porção

direita do eixo 1 (valores positivos). Com isso, esses dois grupos de tratamentos proporcionaram respostas contrastantes para as mudas de *Colubrina glandulosa*.

O eixo 2, que explicou 7,57% da variabilidade dos dados, também contribuiu para a separação entre os tratamentos testados (Figura 2). Enquanto T3, T6 e T8 se localizaram na porção superior (valores positivos) do eixo 2, os demais tratamentos (T1, T2, T4, T5 e T7) agruparam-se na porção inferior (valores negativos) do referido eixo. A variabilidade total dos dados explicada pela análise de componentes principais foi igual a 88,98%.

A figura 2 indicou a correlação de determinadas variáveis analisadas com alguns tratamentos. Grande parte das variáveis consideradas, tais como altura, diâmetro do coleto, massa seca de parte aérea, massa seca de raiz, índice de qualidade de Dickson, conteúdo de potássio na raiz e eficiência de absorção de potássio, correlacionaram-se com T8. Já os valores médios de conteúdo de nitrogênio na raiz, eficiência de absorção de nitrogênio e razão massa de matéria seca de parte aérea/raiz apresentaram-se correlacionados com o tratamento T3. O valor médio do conteúdo de fósforo na parte aérea correlacionou-se com ambos os tratamentos T2 e T4. Os valores médios de conteúdo de fósforo na raiz e de potássio na parte aérea estiveram correlacionados com T7, ao passo que a eficiência de absorção de fósforo, com T5. Em contrapartida, a variável conteúdo de nitrogênio na parte aérea não se correlacionou com nenhum tratamento e nenhuma variável correlacionou-se com T1 e T6.

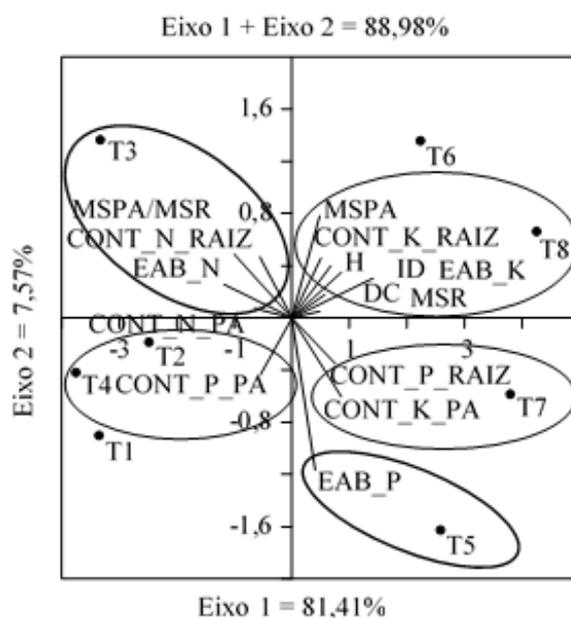


Figura 2. Análise dos componentes principais do efeito dos tratamentos testados (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8) sobre o crescimento e nutrição de mudas de *Colubrina glandulosa* na presença/ausência de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em casa de vegetação. T1: 20% esterco bovino + 80% terra horizonte A; T2: 20% esterco bovino + 80% terra horizonte A + FMA; T3: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% areia; T4: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% areia + FMA; T5: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% vermiculita; T6: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 20% vermiculita + FMA; T7: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 10% areia + 10% vermiculita; T8: 20% esterco bovino + 60% terra horizonte A + 10% areia + 10% vermiculita + FMA. H: altura; DC: diâmetro do coleto; MSPA: massa de matéria seca de parte aérea; MSR: massa de matéria seca de raiz (MSR); razão massa de matéria seca de parte aérea/raiz (MSPA/MSR); índice de qualidade de Dickson (ID); CONT_K_PA: conteúdo de potássio na parte aérea; CONT_N_PA: conteúdo de nitrogênio na parte aérea; CONT_P_PA: conteúdo de fósforo na parte aérea; CONT_K_RAIZ: conteúdo de potássio na raiz; CONT_N_RAIZ: conteúdo de nitrogênio na raiz; CONT_P_RAIZ: conteúdo de fósforo na raiz; EAB_K: eficiência de absorção de potássio; EAB_N: eficiência de absorção de nitrogênio; EAB_P: eficiência de absorção de fósforo.

Figure 2. Principal component analysis of the effect of the treatments (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8) on the growth and nutrition of *Colubrina glandulosa* seedlings in the presence/absence of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) under greenhouse conditions. T1: 20% cattle manure + 80% soil A horizon; T2: 20% cattle manure + 80% soil A horizon + AMF; T3: 20% cattle manure + 60% soil A horizon + 20% sand; T4: 20% cattle manure + 60% soil A horizon + 20% sand + AMF; T5: 20% cattle manure + 60% soil A horizon + 20% vermiculite; T6: 20% cattle manure + 60% soil A horizon + 20% vermiculite + AMF; T7: 20% cattle manure + 60% soil A horizon + 10% sand + 10% vermiculite; T8: 20% cattle manure + 60% soil A horizon + 10% sand + 10% vermiculite + AMF. H: height; DC: collar diameter; MSPA: shoot dry matter; MSR: root dry matter;

MSPA/MSR: shoot dry matter/root dry matter ratio; ID: Dickson quality index; CONT_K_PA: content of potassium in shoot; CONT_N_PA: content of nitrogen in shoot; CONT_P_PA: content of phosphorus in shoot; CONT_K_RAIZ: content of potassium in root; CONT_N_RAIZ: content of nitrogen in root; CONT_P_RAIZ: content of phosphorus in root; EAB_K: uptake efficiency of potassium; EAB_N: uptake efficiency of nitrogen; EAB_P: uptake efficiency of phosphorus.

DISCUSSÃO

O conjunto de resultados levantados demonstrou que apenas a inoculação com FMAs não foi suficiente para a obtenção de mudas de *Colubrina glandulosa* com características superiores em condições de casa de vegetação. Isto porque, entre todos os tratamentos testados, não houve um destaque no desempenho das mudas inoculadas na comparação com as mudas não-inoculadas, independentemente da composição do substrato. A ausência do impacto positivo da inoculação com FMAs sobre mudas de espécies arbóreas pode ser devido à presença de elevadas concentrações de nutrientes, principalmente fósforo, que é promovida pela adubação dos substratos e diminui ou impede a colonização radicular por FMAs (Souza *et al.*, 2009; Lima *et al.*, 2015; Dalanhol *et al.*, 2016). Acredita-se que esse resultado tenha ocorrido no presente estudo, em função de uma provável elevada disponibilidade de nutrientes no substrato promovida pela adição de esterco bovino de curral curtido.

Contudo, T8, que conjugou a formulação do substrato com areia e vermiculita, além da inoculação das mudas com FMAs, foi o tratamento mais indicado, pois proporcionou a produção de mudas com elevados valores para a maioria das variáveis de crescimento e nutrição analisadas. Os FMAs promovem o incremento em altura, diâmetro e massa de matéria seca de mudas de espécies florestais produzidas em casa de vegetação (Lima *et al.*, 2015). Esse fato é decorrente de benefícios nutricionais proporcionados pelos FMAs às plantas, com o aumento do volume de solo explorado pelo sistema radicular das plantas micorrizadas (Schiavo *et al.*, 2009).

Schiavo *et al.* (2009) observaram que mudas de *Acacia mangium* Willd. e *Sesbania virgata* (Cav.) Pers., quando inoculadas com FMAs em condições de casa de vegetação, apresentaram incrementos nos conteúdos na parte aérea de N e P, além de Zn, na comparação com as mudas que não receberam o inóculo (Schiavo *et al.*, 2009). Em mudas de *Anadenanthera macrocarpa* Benth. Bren produzidas em casa de vegetação, os conteúdos de N e P foram significativamente maiores na parte aérea das plantas que foram inoculadas com FMAs quando comparado com aquelas que não receberam o inóculo (Santos *et al.*, 2008).

A importância da presença conjugada de areia e vermiculita na composição do substrato provavelmente se deveu à promoção de condições mais equilibradas de aeração e retenção de umidade. A areia aumenta a aeração do substrato, que é primordial para os FMAs, uma vez que tais microrganismos são aeróbicos (Gomide *et al.*, 2014). Esse foi, provavelmente, o motivo pelo qual a taxa de colonização micorrízica de raízes foi maior nas mudas no T4, no qual a participação percentual de areia foi maior (20%), na comparação com os demais tratamentos em que ocorreu a inoculação (T2 e T6, ambos com 0% de areia, e T8, com 10% de areia). Na Restinga da Marambaia, RJ, a densidade de esporos de FMA diminuiu conforme aumentou a saturação hídrica do solo em fragmentos florestais periodicamente inundáveis (Camara *et al.*, 2016). Sob baixa oxigenação do solo, pode ocorrer até mesmo o desaparecimento de FMAs (Miranda; Miranda, 1997). A ausência de colonização radicular por FMAs nos tratamentos em que não houve aplicação do inóculo demonstrou a efetividade do procedimento de esterilização do substrato.

Já a vermiculita é uma argila e, portanto, o seu emprego é responsável por aumentar a capacidade de absorção e retenção de água no substrato, fato este que é benéfico para o metabolismo das plantas (Dousseau *et al.*, 2008). Embora a inoculação com propágulos do FMA *Glomus etunicatum* tenha possibilitado o aumento da altura, diâmetro do caule e massa de matéria seca da parte aérea de mudas de maracujá (*Passiflora edulis*) em casa de vegetação, esse efeito somente foi verificado quando a vermiculita foi empregada na constituição do substrato (Silva *et al.*, 2001). Danner *et al.* (2007) observaram que a presença de vermiculita proporcionou o incremento em altura, diâmetro do caule, área foliar e massa de matéria seca da parte aérea em mudas de jaboticabeira (*Myrciaria cauliflora* Berg), em comparação com o substrato em que este componente foi substituído pela areia.

CONCLUSÕES

- O emprego conjunto de areia, vermiculita e inoculação com fungos micorrízicos arbusculares na formulação do tratamento T8 (60% terra de horizonte A + 20% esterco bovino + 10% areia + 10% vermiculita + inoculação com fungos micorrízicos) proporcionou a produção de mudas de *Colubrina glandulosa* com elevados valores para a maioria das variáveis de crescimento e nutrição analisadas.

- A análise multivariada de agrupamento hierárquico demonstrou que a presença/ausência de areia foi um fator relevante para a individualização dos tratamentos entre si, assim como a participação percentual de vermiculita, independentemente da inoculação com fungos micorrízicos.

REFERÊNCIAS

- BONFIM, J. A.; VASCONCELLOS, R. L. F.; STÜRMER, S. L.; CARDOSO, E. J. B. N. Arbuscular mycorrhizal fungi in the Brazilian Atlantic forest: a gradient of environmental restoration. **Applied Soil Ecology**, Netherlands, v. 71, p. 7-14, 2013.
- BRANCALION, P. H. S.; MONDO, V. H. V.; COELHO, A. D. L. Escarificação química para a superação da dormência de sementes de saguaraí-vermelho (*Colubrina glandulosa* Perk. - Rhamnaceae). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 119-124, 2011.
- CAMARA, R.; PEREIRA, M. G.; SILVA, C. F.; PAULA, R. R.; SILVA, E. M. R. Fungos micorrízicos arbusculares em dois fragmentos florestais de Restinga periodicamente inundável em Marambaia, RJ. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 23, n. 1, p. 33-42, 2016.
- CARNEIRO, R. F. V.; CARDOZO JÚNIOR, F. M.; ARAÚJO, A. S. F.; MATOS FILHO, C. H. A.; SOUSA, R. F. Atributos dos fungos micorrízicos arbusculares como indicadores de áreas degradadas e em recuperação. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 2, p. 61-69, 2016.
- COLODETE, C. M.; DOBBS, L. B.; RAMOS, A. C. Aplicação das micorrizas arbusculares na recuperação de áreas impactadas. **Natureza on line**, Santa Teresa, v. 12, n. 1, p. 31-37, 2014.
- DALANHOL, S. J.; NOGUEIRA, A. C.; GAIAD, S.; KRATZ, D. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares e da adubação no crescimento de mudas de *Eugenia uniflora* L., produzidas em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 38, n. 1, p. 117-128, 2016.
- DANNER, M. A.; CITADIN, I.; FERNANDES JUNIOR, A. A.; ASSMANN, A. P.; MAZARO, S. M.; SASSO S. A. Z. Formação de mudas de jabuticabeira (*Plinia* sp.) em diferentes substratos e tamanhos de recipientes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, p. 179-182, 2007.
- DOUSSEAU, S.; ALVARENGA, A. A.; ARANTES, L. O.; OLIVEIRA, D. M.; NERY, F. C. Germinação de sementes de tanchagem (*Plantago tomentosa* Lam.): influência da temperatura, luz e substrato. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 438-443, 2008.
- GOMIDE, P. H. O.; SILVA, M. L. N.; SOARES, C. R. F. S.; CARDOSO, E. V.; CARVALHO, F.; LELA, P. L.; MARQUES, R. M.; STÜRMER, S. L. Arbuscular mycorrhizal fungi in vegetation types in the Pantanal of Nhecolândia, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 38, p. 1114-1127, 2014.
- GRACE, C.; STRIBLEY, D. P. A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Mycological Research**, Cambridge, v. 95, n. 10, p. 1160-1162, 1991.
- JOLY, C. A.; METZGER, J. P.; TABARELLI, M. Experiences from the Brazilian Atlantic Forest: ecological findings and conservation initiatives. **New Phytologist**, Lancaster, v. 204, n. 3, p. 459-473, 2014.
- LANA, J. M.; SOUZA, A. L.; MEIRA NETO, J. A. A.; SOARES, V. P.; FERNANDES FILHO, E. I. Análise dos estágios de sucessão de áreas de Mata Atlântica sob a influência de plantações florestais, Vale do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 34, n. 4, p. 733-743, 2010.
- LIMA, K. B.; RITER NETTO, A. F.; MARTINS, M. A.; FREITAS, M. S. M. Crescimento, acúmulo de nutrientes e fenóis totais de mudas de cedro-australiano (*Toona ciliata*) inoculadas com fungos micorrízicos. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 25, n. 4, p. 853-862, 2015.
- MATEUS, F. A.; MIRANDA, C. M.; VALCARCEL, R.; FIGUEIREDO, P. H. A. Estoque e capacidade de retenção hídrica da serrapilheira acumulada na restauração florestal de áreas perturbadas na Mata Atlântica. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 20, n. 3, p. 336-343, 2013.
- METZGER, J. P.; MARTENSEN, A. C.; DIXO, M.; BERNACCI, L. C.; RIBEIRO, M. C.; TEIXEIRA, A. M. G.; PARDINI, R. Time-lag in biological responses to landscape changes in a highly dynamic Atlantic forest region. **Biological Conservation**, Netherlands, v. 142, n. 6, p. 1166-1177, 2009.
- MIRANDA, J. C. C.; MIRANDA, L. N. Micorriza arbuscular. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. **Biologia**

dos solos dos Cerrados. Planaltina: Embrapa-Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC), 1997. p. 69-132.

PEREIRA, G. H. A.; PEREIRA, M. G.; ANJOS, L. H. C.; AMORIM, T. A.; MENEZES, C. E. G. Decomposição da serrapilheira, diversidade e funcionalidade de invertebrados do solo em um fragmento de Floresta Atlântica. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 5, p. 1317-1327, 2013.

RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; MARTENSEN, A. C.; PONZONI, F. J.; HIROTA, M. M. The Brazilian Atlantic Forest: how much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, Netherlands, v. 142, n. 6, p. 1141-1153, 2009.

SANTOS, D. R.; COSTA, M. C. S.; MIRANDA, J. R. P.; SANTOS, R. V. Micorriza e rizóbio no crescimento e nutrição em N e P em mudas de angico-vermelho. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 1, p. 76-82, 2008.

SCHIAVO, J. A.; MARTINS, M. A.; RODRIGUES, L. A. Avaliação nutricional de mudas de *Acacia mangium*, *Sesbania virgata* e *Eucalyptus camaldulensis* inoculadas com fungos micorrízicos, em casa-de-vegetação e em cava de extração de argila. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 4, p. 701-707, 2009.

SILVA, R. P.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V. Influência de diversos substratos no desenvolvimento de mudas de maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, p. 377-381, 2001.

SILVA, K. A.; MARTINS, S. V.; MIRADA NETO, A.; CAMPOS, W. H. Semeadura direta com transposição de serapilheira como metodologia de restauração ecológica. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 39, n. 5, p. 811-820, 2015.

SWIADER, J. M.; CHYAN, Y.; FREIJ, F. G. Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. **Journal of Plant Nutrition**, London, v. 17, n. 10, p. 1687-1699, 1994.

SOUZA, R. C.; PEREIRA, M. G.; GIÁCOMO, R. G.; SILVA, E. M. R.; MENEZES, L. F. T. Produção de mudas micorrizadas de *Schinus terebinthifolius* Raddi. em diferentes substratos. **Floresta**, Curitiba, v. 39, n. 1, p. 197-206, 2009.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análise de solo, plantas e outros materiais.** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2 ed. 1995, 147 p. (Boletim técnico, 5).