

MICORRIZAS ARBUSCULARES E FÓSFORO EM JAMBU  
(*Acmella oleracea*) (L) R.K Jansen

**MARLENE EVANGELISTA VIEIRA**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY  
RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
MARÇO – 2017

MICORRIZAS ARBUSCULARES E FÓSFORO EM JAMBU  
(*Acmella oleracea*) (L) R.K Jansen

**MARLENE EVANGELISTA VIEIRA**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Marta Simone Mendonça Freitas

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
MARÇO – 2017

**FICHA CATALOGRÁFICA**  
Preparada pela Biblioteca do **CCTA / UENF**

042/2017

V657 Vieira, Marlene Evangelista.

Micorrizas arbusculares e fósforo em jambu (*Acmella oleracea*) (L) R.K Jansen / Marlene Evangelista Vieira. – Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

67 f.

Bibliografia: f. 58 - 67

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2017.

Orientadora: Marta Simone Mendonça Freitas.

1. Jambu – Crescimento. 2. Produção de Inflorescência. 3. Nutrientes Minerais 4. Óleos Essenciais. 5. Espilantol. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD – 633.88

# MICORRIZAS ARBUSCULARES E FÓSFORO EM JAMBU

(*Acmella oleracea*) (L) R.K Jansen

**MARLENE EVANGELISTA VIEIRA**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Aprovada em 30 de Março de 2017

Comissão Examinadora:

---

Prof. Ivo José Curcino vieira (D.Sc., Química Orgânica) – UENF

---

Prof<sup>a</sup>. Késsia Barreto Lima (D.Sc., Produção Vegetal) – FAETEC

---

Prof. Sérgio Antônio Lopes de Gusmão (D.Sc., Agronomia) – UFRA

---

Prof<sup>a</sup>. Marta Simone Mendonça Freitas (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF

Orientadora

À toda minha família pelo incentivo e confiança  
Dedico.

## AGRADECIMENTOS

Começo meus agradecimentos com uma frase que li, quando terminei a graduação, que dizia o seguinte: “A vontade de Deus nunca irá levá-lo aonde a graça dele não irá protegê-lo”. Por acreditar que isso realmente acontece, agradeço primeiramente a Deus pelo dom da minha vida e de todos da minha família, por ter nos proporcionado muita saúde. Também sou grata por ele ter colocado pessoas maravilhosas em meu caminho, pessoas que, sem dúvida, foram de suma importância para a realização desse sonho, dentre essas pessoas agradeço:

À minha mãe, Isabel Barbosa, minha rainha, por todos os ensinamentos de perseverança, bondade com o próximo. Pelo carinho e muita compreensão. Mãe, você é um exemplo a ser seguido. AMO-TE MUITO.

A todos os meus familiares, em especial aos meus irmãos e sobrinhos pela amizade, respeito e muito amor. Cada um de vocês tem um lugarzinho especial no meu coração. AMO MUITO VOCÊS.

A Rafael Azevedo, pelo companheirismo, incentivo, paciência e amor. Além disso, agradeço aos seus familiares, em especial, a Martinho Azevedo (*in memoriam*), Rubens Azevedo, Raimunda Azevedo e Lourdes Muniz, sou muito grata pela amizade e confiança.

À minha orientadora, Marta Freitas, pela orientação, compreensão, paciência e dedicação, assim como por ter me apresentado um pouco mais a respeito do mundo científico.

Aos técnicos de Laboratório, senhor José Accácio, Andrea Ritter e Marcio Alves, pela ajuda nas análises de nutrientes, microbiológica e química do meu trabalho. Agradeço também pela amizade vocês.

Ao professor Sergio Gusmão, por ter cedido as sementes de jambu.

Aos amigos do laboratório de Nutrição Mineral de Plantas, Thaisa, Diego, Ygor, Jéssica, Luciana, Laís, Diessily e Ariane, pela ajuda e amizade. Amigos, agradeço a Deus pela vida de vocês.

“Às meninas do Pará”, Deyse e Rozane, pelos momentos de conversas e de boa convivência.

Aos meus amigos “abençoados” pelos momentos de diversão e pela amizade.

Aos professores, por todo o conhecimento compartilhado.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), pela oportunidade de fazer o mestrado.

Enfim, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vi
ABSTRACT.....	viii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1. Jambu ... ..	3
2.2. Metabólicos Secundários .....	4
2.3. Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs) .....	6
2.4. Adubação fosfatada e FMAs .....	9
2.5. Fungos micorrízicos na produção metabólicos secundários .....	10
3. TRABALHOS.....	12
CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE INFLORESCÊNCIAS DE JAMBU INOCULADAS COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E DOSES DE FÓSFORO.....	12
FUNGOS MICORRIZICOS ARBUSCULAR E FÓSFORO NA COMPOSIÇÃO MINERAL E METABOLICOS SECUNDÁRIOS EM PLANTAS DE JAMBU .....	33
4. RESUMO E CONCLUSÕES .....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58



## RESUMO

VIEIRA, Marlene Evangelista. M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Março de 2017. Micorrizas arbusculares e Fósforo em jambu (*Acmella oleracea*) (L) R.K Jansen. Orientadora: Prof<sup>a</sup> Marta Simone Mendonça Freitas.

O jambu (*Acmella oleracea* L.) R.K.Jansen, é uma planta herbácea, da família asteracea, muito utilizada na culinária da região norte do Brasil e também na medicina popular. A baixa concentração dos nutrientes minerais nos solos tropicais é um dos problemas que mais limita o desenvolvimento das plantas; no entanto as associações com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são uma alternativa de manejo, que melhoram a absorção de nutrientes como o fósforo e ainda interferem em alguns parâmetros de qualidades das mesmas. Diante disso, objetivou-se avaliar, crescimento, produção de inflorescência, nutrição mineral, óleo essencial e produção de espilantol em plantas de jambu, inoculadas ou não com fungos micorrízicos arbusculares em diferentes doses fósforo no solo. O experimento foi realizado em casa de vegetação, em delineamento em blocos casualizados, esquema fatorial 3x4, com quatro repetições, sendo dois tratamentos microbiológicos: *Rhizophagus clarus* e *Claroideoglossum etunicatum*, além do controle (sem fungo), e quatro doses de fósforo (0, 30, 60, 90 mg kg<sup>-1</sup>). Aos 70 dias após a semeadura foram feitas as

análises morfo-agronômicas como: área foliar, número folhas, ramificações e inflorescências, bem como massa fresca e seca das folhas, ramificações e inflorescências, massa seca das raízes, porcentagem de colonização e dependência micorrízica, além da massa seca parte aérea, os conteúdos dos nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, Fe e Mn), dos fenóis totais, dos óleos essenciais e a porcentagem da área relativa do Espilantol. Plantas inoculadas com *R. clarus* e *C. etunicatum*, incrementaram 668% e 588% para número de folhas, 6532%; 3317% para Área foliar e 2232% e 1075% para massa seca da parte aérea, respectivamente, em relação as não inoculadas. Com a adição de 30mg kg<sup>-1</sup>, em associação com *R. clarus* obtiveram um incremento de 162% de massa seca das raízes, quando inoculadas com esse mesmo fungo incrementaram 4500%, 110% e 13,66%, na massa fresca das folhas, nas doses 0, 30 e 60 mg P kg<sup>-1</sup>, respectivamente, quando comparadas ao tratamento sem FMA. Os FMAs proporcionaram maior absorção de nutrientes na parte aérea das plantas. O conteúdo de óleos e a área relativa do espilantol aumentaram com a inoculação micorrízicas. Os fungos micorrízicos arbusculares e as doses de P influenciam positivamente nos conteúdos nutricionais, conteúdos de fenóis totais, conteúdos e qualidade dos óleos essenciais das plantas de *A. oleracea*. A utilização de FMAs no cultivo de jambu é uma alternativa capaz de proporcionar um maior crescimento das planta e melhorar a qualidade das mesmas.

Palavras-chave: crescimento, produção de inflorescência, nutrição mineral, óleos essenciais e espilantol

## ABSTRACT

VIEIRA, Marlene Evangelista: M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; March de 2017. Arbuscular mycorrhizae and phosphorus in jambu (*Acmella oleracea*) (L) R.K Jansen: Advisor: prof<sup>a</sup> Marta Simone Mendonça Freitas.

The jambu (*Acmella oleracea* L.) R.K.Jansen, is a herbaceous species, Asteraceae family, much used in the cuisine of the northern region of Brazil and also in popular medicine. The low concentration of mineral nutrients in tropical soils is one of the most limiting problems of plant development; however the associations with arbuscular mycorrhizal fungi (AMFs) are an alternative of management, that improve the absorption of nutrients like phosphorus and still interfere in some parameters of plant qualities. The objective of this study was to evaluate the growth, inflorescence production, mineral nutrition, essential oil and spilantol production in plants inoculated or not with arbuscular mycorrhizal fungi at different phosphorus doses in soil. The experiment was carried out in a greenhouse, in a randomized block design, 3x4 factorial scheme, with four replications, two microbiological treatments: *Rhizophagus clarus* and *Claroideoglossum etunicatum*, besides the control (without fungus), and four doses of phosphorus (0, 30, 60, 90 mg kg<sup>-1</sup>). At 70 days after sowing, morpho-agronomic analyzes were made, as leaf area, number of leaves, branches and inflorescences, as well as fresh and dry mass of leaves, dry mass of the roots, colonization percentage and mycorrhizal dependence, besides aerial dry mass,

nutrient contents (N, P, K, Ca, Mg, Fe and Mn), of total phenols, of essential oils and the percentage of the relative area of spilanthol. Plants inoculated with *R. clarus* and *C. etunicatum*, increased 668% and 588% for number of leaves, 6532%; 3317% for leaf area and 2232% and 1075% for shoot dry matter, respectively, in relation to those not inoculated. With the addition of 30mg kg<sup>-1</sup>, in association with *R. clarus* there was an increase in root dry mass by 162%, when inoculated with the same fungus increased 4500%, 110% and 13.66%, respectively, in fresh leaves at doses of 0, 30 and 60 mg P kg<sup>-1</sup>, respectively, when compared to treatment without AMF. The AMFs provide greater nutrient absorption in aerial part of the plants. The content of oils and the relative area of Spilanthol increased with mycorrhizal inoculation. Arbuscular mycorrhizal fungi and P doses positively influence the nutritional contents, total phenols, essential oil contents and spilanthol in plants of *A. oleracea*. The use of AMFs in the cultivation of jambu is an alternative able to provide a greater growth of the plant and to change the quality of the same.

**Keywords:** Growth, inflorescence production, mineral nutrition, essential oils and spilanthol

## 1. INTRODUÇÃO

O jambu (*Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen é uma planta herbácea, muito utilizada na região Norte do Brasil, principalmente no estado do Pará. A planta é usada como condimento nos famosos pratos típicos da região, dentre os mais consumidos pela população, destacam-se o pato no tucupi, tacacá, arroz paraense e pizza de jambu. Na medicina popular, suas folhas e flores são utilizadas na elaboração de infusões para tratamento de anemia, dor de dente e garganta, no tratamento de aftas, tuberculose e gripe (Cardoso e Garcia, 1997).

Muitos autores atribuíram às propriedades medicinais da *A. oleracea* ao espilantol, substância essa responsável pela ativação do sabor característico, que quando ingerido provoca na mucosa oral uma leve sensação de dormência. A planta possui em sua composição química, óleos essenciais, que segundo Lorenzi e Matos (2008) estão presentes em concentração de 0,7%, e a substância de maior importância econômica nos óleos é espilantol. A parte da planta com maior concentração do espilantol é a inflorescência, seguida pelas folhas e ramos, sendo essas as partes mais utilizadas para a extração do óleo essencial (Gusmão e Gusmão, 2013).

De acordo com Li-Chen et al. (2008), o estudo do espilantol vem se intensificando devido ao seu efeito anti-inflamatório e à possibilidade de ser uma substância utilizada no desenvolvimento de medicamentos. É importante destacar

outros efeitos que a planta possui, tais como: diurético (Ratnasooriya et al., 2004), anestésico (Ley et al., 2006), antiobesidade (Ekanem et al., 2007), analgésico e antipirético (Chakraborty et al., 2010) e atuação antiplasmódica contra *P. falciparum* (Mbeunkui et al., 2011).

Segundo Gobbo-Neto e Lopes (2007) os fatores genéticos, fisiológicos e ambientais possuem grande influência na biossíntese dos metabólicos secundários e, conseqüentemente, dos princípios ativos das plantas medicinais e aromáticas. Entre os fatores ambientais, a inoculação dessas plantas com os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e a adubação fosfatada podem influenciar na produção dos princípios ativos (Moreira e Siqueira, 2006; Kapoor et al., 2007), tanto por efeito do estado nutricional, quanto por resposta de defesa do hospedeiro à presença do fungo (Volpin et al., 1994). Os FMAs são capazes de formar os micélios externos e explorar um maior volume do solo, ou seja, expandindo o sistema radicular favorecendo maior absorção de nutrientes, como fósforo (P) (Moreira e Siqueira, 2006; Yao et al., 2008).

Além disso, alguns trabalhos demonstram a eficiência dos FMAs em maximizar a produção de metabólicos secundários e/ou absorção de nutrientes em diversas plantas medicinais ou aromáticas, como, por exemplo, em *Calendula officinalis* (Heitor et al., 2016), *Passiflora alata* Curtis (Riter Neto et al., 2014), *Anadenanthera colubrina* (Pedone-Bomfim, 2012), *Chlorophytum borivillianum* (Dave et al., 2011), *Wedilia chinensis* (Nisha e Rajeshkumar, 2010) e *Catharanthus roseus* (Ratti et al., 2010). Entretanto, trabalhos com *A. oleracea* associando FMAs e adubação fosfatada, são inexistentes na literatura brasileira, o que torna dessa forma muito importante os estudos dessa natureza, para que se possa chegar à padronização das concentrações dos princípios ativos, podendo também ser uma alternativa para otimizar a utilização de fertilizantes fosfatados. Diante disso objetivou-se nos presentes trabalhos avaliar: (i) o crescimento e produção de inflorescência de plantas de jambu inoculadas com FMAs e doses fósforo e (ii) o efeito da inoculação com FMAs em diferentes doses de P na nutrição mineral, na composição de óleos essenciais, no conteúdo de fenóis totais e na porcentagem relativa do espilantol em plantas de jambu.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Jambu

O jambu (*Acmella Oleracea* L.) R.K. Jansen é uma planta herbácea, da família Asteraceae, sua origem provável é a Amazônia tropical, principalmente a Amazônia Brasileira. Vale dizer que a espécie em questão é cultivada por pequenos produtores do Estado do Pará e é comercializada, principalmente nas feiras da capital do Estado e região metropolitana (Homma et al., 2014; Gusmão e Gusmão, 2013). Além disso, é conhecida em outras regiões do país como agrião-do-Pará, agrião-do-Brasil, jambuaçu, jambuarana, Agrião-do-mato, botão-de-ouro, erva-maluca, agrião-bravo (Poltronieri et al., 2000; Coutinho et al., 2006).

Gusmão e Gusmão (2013) relatam que o jambu é uma planta C<sub>3</sub>, semicarnosa, ramifica facilmente e, dependendo da densidade de cultivo e do nível de sombreamento, pode atingir cerca de 50 cm de altura. Além disso, possui raiz axial e apresenta intenso enraizamento secundário. Quando conduzidos em hortas, a floração inicia entre os 45 a 50 dias, após a germinação, com os primeiros aquênios amadurecendo aproximadamente aos 80 dias. O caule é rastejante, ramificado em dicásio, podendo formar raízes adventícias quando em contato com o solo. Sua propagação pode ser por semente e ou estaquia (Cardoso e Garcia, 1997).

A espécie *Acmella oleracea* [L] R.K. Jansen foi classificada em 1885, do gênero *Acmella*, além disso, pode também ser encontrada em citações com

nomes de classificações anteriores, tal como, *spilanthus oleracea* L. [1767] e *spilanthus acmella* var. *oleracea* [L.] C.B. Clarke ex Hook [1881]. Além de outras sinonímias, bem como, *Cotula pyretharia* L., *Pyrethrum spilanthus* Medik., *Spilanthus fusca* Lam (Lorenzi e Matos, 2008), *Bidens fervida* Lam, *Bidens fusca* Lam, *Isocarpa pyretharia* (L.) Cass, *Spilanthus radicans* Schrad. Ex D.C., *Spilanthus oleracea* var. *fusca* (Lam.) D.C. (Hind e Biggs, 2003; Borges, 2009 e Gusmão e Gusmão, 2013).

De acordo com Borges et al. (2013) o jambu é uma hortaliça bastante consumida na região Norte do país, principalmente no Estado do Pará, através dos pratos típicos, tais como, pato no tucupi, tacacá, arroz paraense, etc., sendo a sua maior demanda nos períodos festivos, como o círio de Nazaré e as festas de final de ano. Novos produtos são fabricados a partir da parte aérea da planta, como a pasta de alho condimentada (Oliveira et al., 2014).

Usada também na medicina popular como erva medicinal, pois de acordo com os ditos populares, suas folhas e flores podem ser recomendadas para elaboração de infusões no tratamento de anemia, dor de dente e garganta, além de antibióticos e anestésicos. Diversas atividades biológicas têm sido descritas para *A. oleracea*, como anestésico, anti-inflamatório, analgésico e antitérmico, anti-obesidade, diurético, antioxidante, antimutagênico, inseticida e bacteriostático (Chakraborty et al., 2004; Ratnasooriya et al., 2004; Ley et al., 2006; Wu et al., 2008; Chakraborty et al., 2010; Ferreira et al., 2014), entre outros. Em decorrência dessas propriedades, a planta tem despertado interesses por parte de pesquisadores e empresas de pesquisa na área da saúde e cosméticos.

## 2.2. Metabólicos Secundários

Os metabólicos secundários podem ser divididos em três rotas biossintéticas: os derivados do ácido chiquímico, derivados dos aminoácidos e os derivados do ácido mavelônico ou metil eritrol fosfatato (Taiz e Zeiger, 2013). Os derivados do ácido chiquímico são os flavonóides, cumarina, lignanas taninos, os quais possuem reconhecida atividade antioxidante, que está centrada na neutralização de radicais livres pelo deslocamento de elétrons do anel aromático,



formando radical mais estável, o que contribui para a diminuição do estresse oxidativo (Scalbert et al., 2005; Katz et al., 2011).

Os compostos terpenóides são derivados de isoprenóides via mevalonato ou metil eritrol fosfato, sintetizados a partir do acetil CoA. Os óleos essenciais fazem parte desse grupo e em sua maioria, são constituídos quimicamente de substâncias terpênicas e eventualmente de fenilpropanóides, acrescidos de moléculas menores, tais como, álcoois, ésteres, aldeídos e cetonas de cadeia curtas (Siani et al., 2000). São formados pelo metabolismo secundário das plantas, frequentemente sujeitos a fatores abióticos.

De acordo com Bizzo et al. (2009), os óleos essenciais podem ser extraídos, das folhas, flores, cascas, rizomas e frutos. Possui grande aplicação no setor de perfumaria, cosmética, alimentos e como coadjuvante em medicamentos. Esses usos estão relacionados com as diferentes propriedades que os óleos podem apresentar, tais como, atividade antioxidante, (Wannes et al., 2010), ação larvicida, (Rajkumar et al., 2010), atividade antitumoral, (Silva et al., 2008), fungicida, (Carmo et al., 2008). Podem ser extraídos através de várias técnicas, sendo os mais utilizados, a hidrodestilação, prensagem a frio, extração por solventes orgânicos, extração por alta pressão e extração por CO<sub>2</sub> supercrítico (Okoh et al., 2010).

Segundo Lorenzi e Matos (2008) os óleos essenciais do jambu possuem uma concentração em torno de 0,7% e elevado teor de espilantol (Figura 1). Além do espilantol a planta possui outros compostos majoritários, tais como,  $\beta$ -Myrceno (15,86%), Dictamnol (14,11%), Germacreno D (7,98%) e  $\beta$ -Pineno (7,79%) (Borges et al., 2014). Trabalhando com adubação orgânica e mineral, em *A. oleracea*, Borges et al. (2012) encontraram os seguintes compostos, *trans*-cariofileno, germacreno D, L-dodeceno e espatulenol. Além desses constituintes químicos, outros autores também descreveram outras substâncias, nas folhas e flores de *A. oleracea*, dentre as quais, aminoácidos (Mondal et al., 1998; Peiris et al., 2001), alcaloides (Peiris et al., 2001; Ratnasoorriya et al., 2004; Gerbino et al., 2016) e flavonóides (Chakraborty et al., 2010).

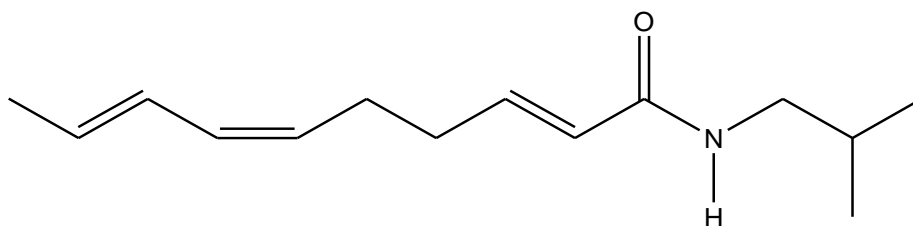


Figura 1. Estrutura química do espilantol (N-isobutilamidas)

O Espilantol é uma N alquilamida (N- isobutil-amida espilantol) obtida a partir das inflorescências e folhas da planta (Boonen et al., 2010). É responsável pelas propriedades anti-inflamatórias, antissépticas,

e anestésicas (Dias et al., 2012; Nomura et al., 2013). Foi descrito como um óleo viscoso, ardente, de coloração amarela pálida (Cavalcanti, 2008).

Em uma recente revisão sobre o Espilantol, Barbosa et al. (2016), listaram uma série de atividades biológicas que estão relacionadas a esse componente químico, incluindo, analgésico (Hind e Biggs, 2003; Wu et al., 2008; Dias et al., 2012; Sharma et al., 2012; Abeysiri et al., 2013; Prachayasittukul et al., 2013; Paulraj et al., 2013; Rios e Olivo, 2014 e Hajdu, 2014), anti-nociceptiva (Rios et al., 2007), antioxidante (Abeysiri et al., 2013), anti-inflamatório (Wu et al., 2008; Hernández et al., 2009; Dias et al., 2012), antimutagênico (Arriaga-Alba et al., 2013), antifúngico (Dubey et al., 2013), bacteriostático (Molina-Torres et al., 2004), inseticida (Kadir et al., 1989; Sharma et al., 2012.; Moreno et al., 2012), anti-larvicida, possuindo atividade contra *Aedes aegypti* (Ramsewak et al., 1999). Além de ser utilizado na área de higiene pessoal, em creme dental, devido à sua refrescância; em creme para pele, por descontrair microtensões da pele do rosto, evitando rugas (Hollanda, 2012).

### 2.3. Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs)

Segundo Moreira e Siqueira (2006), os micro-organismos são os seres vivos mais primitivos do mundo. Ao longo de seu processo evolutivo foram adquirindo características próprias e adaptabilidade para a coexistência de outros seres, estabelecendo, dessa forma, inúmeras relações. Dentre essas relações

destacam-se a simbioses entre plantas e micro-organismos heterotróficos, como as micorrizas, que por sua vez, são associações mutualísticas entre fungos e raízes. O primeiro a observar essas associações, em 1842, foi Nágelim, que fez a primeira descrição da associação fungo-raiz, ao que parece seria uma micorriza arbuscular, entretanto, essas só foram reconhecidas cientificamente pelo Alemão Bernard Frank em 1885, distinguindo entre micorrizas ectotróficas e endotróficas e desenvolveu estudos científicos sobre a anatomia, a ocorrência e benefícios dessas associações para as plantas. Recentemente as micorrizas foram definidas em: micorrizas arbusculares, arbutóides, monotropóides, ericóides, orquidóides, ectomicorrizas e ectendomicorrizas levando em consideração as características morfológicas, com a taxonomia fúngica, forma de colonização de tecidos radiculares e família do simbiote vegetal (Smith e Read, 2008).

Dentre as associações dos fungos simbióticos do solo e raízes de plantas, os chamados fungos micorrízicos arbusculares apresentam maior distribuição e ocorrência nas plantas formando associações mutualísticas com mais de 80% das mesmas (Schüßler et al., 2001; Smith e Read, 2008). Os FMAs são biotrófitos obrigatórios, sendo assim, para que complete seu ciclo de vida, precisam estar associados às raízes de plantas vivas (Moreira e Siqueira, 2006; Owen et al., 2015). Dessa maneira, as plantas lhe fornecem fotoassimilados resultantes da fotossíntese, em troca o fungo fornece às plantas uma melhor absorção dos nutrientes no solo, ocasionando assim, um estabelecimento mútuo entre ambos (Marshener e Dell, 1994; Parniske, 2008).

Além de fornecer um aumento na absorção dos nutrientes pelas plantas, Smith e Read (2008) citam outros benefícios que os FMAs, tais como, aumentar as defesas de seus hospedeiros contra fungos patogênicos, insetos, herbívoros, nematoides e melhorar a relação planta e água. Além das vantagens mencionadas, os FMAs têm melhorias na tolerância à seca (Augé, 2001; Jayne e Quigley, 2014), salinidade (Evelin et al., 2009; Porcel et al., 2012), contaminação por metais pesados (Garg e Chandel, 2010) e as condições adversas de pH do solo (Seguel et al., 2013; Roupael et al., 2015).

Para Camargo-Ricalde et al. (2012) a associação entre FMAs e as espécies vegetais pode ser um fator positivo, promotor da diversidade vegetal, uma vez que aumenta a sobrevivência, o crescimento e o desenvolvimento das

plantas, além de facilitar seu estabelecimento em condições de estresses ambientais.

Os FMAs, ainda que exista alguma variação estrutural, na sua maioria, são caracterizados pela presença de hifas intra-radulares (inter ou intracelulares), micélio extra-radular (hifas que conectam a raiz ao solo), os arbúsculos (hifas finamente ramificadas envolvidas na troca de nutrientes), e esporos formados no micélio extra-radular. Certas espécies de plantas, ainda podem formar estruturas intra-radulares, as vesículas, porção alargada da hifa que se enchem com lipídios, os chamados fungos micorrizicos vesicular-arbusculares (Peterson et al., 2004). De acordo com Siqueira et al. (2002), as vesículas são consideradas fontes de reservas, os esporos, responsáveis pela disseminação e sobrevivência dos micro-organismos, e os arbúsculos, considerados como estruturas características dos FMAs.

De acordo com Giovannetti et al. (2010), o processo de simbiose envolve uma sequência de eventos morfogênicos, tais como, germinação do esporo e crescimento pré-simbiótico do micélio, diferenciação e ramificação das hifas na presença de raízes hospedeiras, formação de oressório, colonização da raiz, desenvolvimento do arbúsculo, crescimento do micélio extra-radular e produção de esporo. No entanto é desconhecido o mecanismo exato que os esporos são impulsionados a germinar, sabe-se que sua extração do solo úmido é suficiente para desencadear a germinação (Moreira e Siqueira, 2006). Algumas pesquisas demonstram que a presença de exsudados de raízes que podem estimular a germinação dos esporos e ramificação das hifas que estão próximas às raízes do hospedeiro indicando a sensibilidade dos FMAs aos compostos presentes na rizosfera (Bécard e Piche, 1989; Harrison, 2005; Steinkellner et al., 2007).

Diante disso, os estudos com plantas medicinais em associação com os FMAs vêm demonstrando eficiência no desenvolvimento das mesmas. Nesse sentido, Karthikeyan et al. (2009) observaram que o crescimento, conteúdo de clorofila e proteínas totais foram superiores em quatro espécies de plantas medicinais (*Ocimum sanctum*, *Catharanthus roseus*, *Coleus forskholii* e *cymbopogon flexuosus*) inoculadas com *Glomus fasciculatum*, quando comparadas ao tratamento controle, sem fungo.

Trabalhando com duas espécies de FMAs (*Glomus mosseae* e *Acaulospora laevis*) isoladas e combinadas no desempenho de mudas

micropropagadas de *S. acmella* (*Acmella oleracea*), Yadav et al. (2012) observaram que altura da planta, número de ramificações, número de folhas, área foliar, produção de massa da matéria seca e teor de clorofila foram significativamente maiores nos tratamentos com plântulas inoculadas com os FMAs, em comparação as não inoculadas. Os autores relataram que o aumento do crescimento e sobrevivência das plântulas inoculadas com os FMAs, pode ser devido ao aumento na absorção de nutrientes no solo e que esta tecnologia pode ser aplicada para melhorar o desempenho do pós transplante de algumas plantas medicinais importantes que requerem cuidados de conservação. No entanto, trabalhos envolvendo a espécie *A. oleracea* associada à micorrizas arbuscular, utilizadas no Brasil, são escassos na literatura.

#### 2.4. Adubação fosfatada e FMAs

O Fósforo (P) é um macronutriente essencial para o metabolismo vegetal, pois desempenha importante função nos processos de respiração e fotossíntese e está presente em componentes estruturais das células, como nos fosfolipídios de membrana, nas moléculas de ácidos nucleicos e também em componentes metabólitos de transferência e armazenamento de energia, como ATP (Taiz e Zeiger, 2013; Marschner's, 2012). Em termos quantitativos, esse elemento é requerido em pequenas quantidades pelas plantas (Prado et al., 2005), porém é o que mais limita a produção das culturas, devido às fortes interações que esse nutriente apresenta com os constituintes do solo, uma vez que grande parte dele encontra-se adsorvido na superfície dos coloides ou precipitado com fosfato de cálcio, ferro e alumínio (Moreira e Siqueira, 2006) além do mais, a maior parte do P no solo se move até as raízes do vegetal por difusão, dificultando ainda mais a absorção do nutriente pela planta (Grant et al., 2001).

Os FMAs possuem inúmeros benefícios para as plantas hospedeiras, dentre esses, a de absorção de nutrientes, principalmente o fósforo (Rocha et al., 2012), um íon relativamente imóvel e insolúvel no solo, devido às interações bi e trivalentes com o solo, principalmente com os,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ , e  $\text{Al}^{3+}$  (Fitter et al., 2011), por formarem os micélios externos em torno das raízes, além de melhorar da zona de absorção radicular (Freitas et al., 2008). De acordo com Moreira e

Siqueira (2006), em solos muito deficientes em P, a aplicação de pequena quantidade desse elemento favorece a colonização e a esporulação dos FMAs.

Saggin-Júnior e Siqueira (1996) ressaltam a importância de determinar a dose de P para maximizar a produção ou a resposta das plantas, considerando que as doses P são diferenciadas para cada espécie de fungo e de planta. Esses autores citam também que, geralmente os maiores benefícios ocorrem em doses moderadas de P no solo, pois a aplicação elevada desse elemento aumentam os custos de produção, além de inibir a atuação dos FMAs.

Trabalhando com duas espécies de FMAs (*Rhizophagus clarus*, *Gigaspora margarita*) e doses de P (0 e 50 mg kg<sup>-1</sup>), em calêndula, Heitor et al. (2016) verificaram que na ausência de adubação fosfatada os incrementos promovidos pelos FMAs, no que diz respeito à produção dos capítulos florais, crescimento e massa seca das flores, foram superiores em relação ao tratamento controle (sem fungo). Além disso, demonstraram a capacidade dos FMAs em potencializar o crescimento e a produção de capítulos florais em plantas de calêndula em baixas doses de fósforo no solo.

Freitas et al. (2008), trabalhando com quatro espécies de fungos (*Rhizophagus clarus* e *Claroideoglossum etunicatum*, *Gigaspora margarita* e *Acaulospora scrobiculata*) e quatro doses de fósforo em *tanchagem* (*plantago major* L.), observaram que cada espécie de FMAs apresentou comportamento diferente, de acordo com a disponibilidade de P no solo. A maior porcentagem de colonização micorrízica foi encontrada nas espécies *G. clarum* (72,6%) e *G. margarita* (70,5%), quando não se utilizou adubação fosfatada, sendo que de uma maneira geral a porcentagem de colonização diminuiu com o incremento das doses de fósforo no substrato.

## 2.5. Fungos micorrízicos na produção metabólicos secundários

Os FMAs, além da contribuição na melhoria na nutrição das plantas, também agem como biorreguladores, interferindo no equilíbrio fito-hormonal das plantas, influenciando o desenvolvimento das mesmas e aliviando os efeitos das tensões ambientais, agindo como bioprotetores (Rouphael et al., 2015), levando não apenas o aumento de biomassa e produção, mas também a alteração em

diversos parâmetros de qualidade (Antunes et al., 2012). A produção das plantas com alto teor de metabólicos secundários (carotenoides, flavonoides e polifenóis) que atenda as demandas dos consumidores é um alvo principal dos pesquisadores devido aos seus efeitos de saúde (Rouphael et al., 2010).

Além dos benefícios proporcionados pelos micro-organismos na síntese de compostos fenólicos, entre as diferentes espécies de vegetais cultivadas em condições variadas do ambiente (Harrison, 2005; Taiz e Zeiger, 2013), eles ainda têm a capacidade de potencializar o valor nutricional e medicinal das plantas para o consumo humano (Parente et al., 2009; Hussain et al., 2012).

Durante o processo micorrízicos, mudanças fisiológicas ocorrem no hospedeiro, levando ao acúmulo de vários compostos resultantes do metabolismo secundário (Carlsen et al., 2008; Nell et al., 2009). Nesse sentido, Araim et al. (2009) observaram incrementos na massa seca e na concentração dos compostos fenólicos, tanto nas raízes quanto na parte aérea das plantas de *Echinacea purpúrea*, inoculadas com *Glomus intraradices*. Sendo de 200 e 67% superior para os teores de compostos apresentados na raiz, e na parte área, respectivamente, em relação às plantas não micorrizadas.

Ceccarelli et al. (2010), estudando a influência de diferentes espécies de FMAs, sobre a produção de compostos bioativos em plantas de alcachofra, observaram que o teor de fenóis totais nos tratamentos inoculados com *Glomus intraradices* e a mistura (*Glomus. mosseae*+*Glomus.intraradices*), apresentaram valores superiores aos obtidos pelas plantas submetidas à inoculação com *Glomus mosseae*.

Estudando o potencial de três FMAs (*Glomus fasciculatum*, *Glomus intraradices* e *Glomus mosseae*) em *Ocimum basilicum* (manjeriço) Zolfaghari et al. (2013) observaram aumento significativo na altura das plantas, produção de matéria fresca e seca, teor e rendimento de óleos essenciais, além de incrementos nos teores de linalol nos óleos essenciais, quando comparado com as plantas não inoculadas. Esses autores concluíram que os FMAs são importantes, como fonte alternativa, pois proporcionaram maior crescimento e uma produção dos óleos essenciais com qualidade para esta importante planta aromática.

### 3. TRABALHOS

#### CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE INFLORESCÊNCIAS DE JAMBU INOCULADAS COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E DOSES DE FÓSFORO

##### RESUMO

As associações das plantas com os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) aumentam o crescimento das mesmas em baixos teores de fósforo no solo, sendo dessa forma uma alternativa de manejo para a cultura do jambu (*Acmella oleracea* L.) R.K. Jansen, que por vez, suas folhas, ramos e flores são utilizados na culinária da região Amazônica. No Brasil não há estudos que relacione os FMAs e Fósforo em jambu. Nesse sentido, objetivou-se nesse trabalho avaliar o crescimento e produção de inflorescência de plantas de jambu inoculadas com FMAs e doses fósforo. Para isso, conduziu-se o experimento em casa de vegetação, em delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial 3x4, sendo dois FMAs: *Rhizophagus clarus* e *Claroideoglobus etunicatum* e o controle (sem fungo) e quatro doses de P (0, 30, 60 e 90mg kg<sup>-1</sup>) com quatro repetições. A coleta das plantas procedeu-se aos 70 dias da semeadura e foi avaliada a área foliar, o número, a massa fresca e seca das folhas, ramificações e inflorescência,



além da massa seca das raízes de plantas de jambu e a porcentagem da colonização micorrízica. As plantas inoculadas com os dois FMAs, quando cultivadas na ausência da adubação fosfatada foram significativamente maiores em comparação com as não inoculadas para as variáveis de crescimento. Em relação à porcentagem de colonização micorrízica o *R. clarus* mostrou-se maior, em relação ao fungo *C. etunicatum*. De maneira geral, a associação com o *R. clarus* promoveu maiores incrementos nas variáveis de crescimento em relação ao *C. etunicatum* em plantas de *A. oleracea* na dose 60 mg kg<sup>-1</sup>. No que se refere à produção de inflorescência, a inoculação com os FMAs proporciona incremento positivo para essa variável.

Palavras-chave: inoculação, adubação fosfatada, *Acmella oleracea* (L)

Abstracts: The associations of plants with Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMFs) increase their growth in low levels of phosphorus in the soil, being thus an alternative of management for the culture of jambu (*Acmella oleracea* L.) R.K. Jansen, wich in turn, its leaves, branches and flowers are used in the cuisine of the Amazon region. In Brazil the studies of AMFs in associations with jambu are inexistent. In this sense, the objective of this work was to evaluate the growth and production of inflorescence of jambu plants inoculated with AMFs and phosphorus doses. For this, the experiment was conducted in a greenhouse, in a randomized block design in a 3x4 factorial scheme, being two AMFs: *Rhizophagus clarus* and *Claroideoglomus etunicatum* and control (without fungus) and four doses of P (0, 30, 60 and 90mg kg<sup>-1</sup>) with four replicates. The plants were collected at 70 days after sowing and were evaluated the leaf area, number, fresh and dry mass of the leaves, branches and inflorescence, as well as the dry mass of the roots of jambu plants and the percentage of mycorrhizal colonization were evaluated. Plants inoculated with the two AMFs when grown in the absence of phosphate fertilization were significantly higher compared to those not inoculated for growth variables. In relation to the percentage of mycorrhizal colonization the *R. clarus* was greater in relation to the fungus *C. etunicatum*. In general, the association with *R. clarus* increased growth rates in relation to *C. etunicatum* in plants of *A. oleracea* at the

dose 60 mg kg<sup>-1</sup>. With regard to inflorescence production, inoculation with AMFs provides a positive increase for this variable.

Key words: Inoculation, phosphate fertilization, *Acmella oleracea* (L)

## INTRODUÇÃO

O jambu (*Acmella oleracea* (L). R.K. Jansen) é uma planta herbácea, muito utilizada na região Norte do Brasil, principalmente no estado do Pará. A matéria fresca da parte aérea das plantas de jambu é utilizada nos pratos típicos como pato no tucupi e o tacacá. Além disso, seu uso se popularizou em dezenas de restaurantes, sendo utilizada em pratos como arroz com jambu, pizza de jambu, pastel com jambu e na forma *in natura* em saladas cruas (Homma et al., 2014). Na medicina popular, suas folhas, ramos e flores são utilizados na elaboração de infusões para tratamento de anemia, malária, dor de dente e garganta, estomatite e afecções reumáticas. Esse potencial terapêutico é atribuído aos princípios ativos que a planta possui em especial o espilantol (Boonen et al., 2010; Gusmão e Gusmão, 2013). É importante destacar outros efeitos que a planta possui, tais como: diurético (Ratnasooriya et al., 2004), anestésico (Ley et al., 2006), antiobesidade (Ekanem et al., 2007), analgésico e antipirético (Chakraborty et al., 2010) e atuação antiplasmódica contra *P. falciparum* (Mbeunkui et al., 2011). A parte da planta com maior concentração do espilantol é a inflorescência, seguida pelas folhas e ramos, sendo essas as partes mais utilizadas para a extração do óleo essencial (Gusmão e Gusmão, 2013).

Em virtude de seu potencial terapêutico, plantas de jambu vêm despertando o interesse das indústrias farmacêuticas e de pesquisadores ligados à área da saúde (Coutinho et al., 2006). Portanto sua produção em larga escala se faz necessária e requer manejos agrônômicos eficientes. Sabe-se que vários fatores, tais como, condições climáticas, variações sazonais, locais de implantação, período de colheita e manejo agrônômico da cultura influenciam a produção e qualidade das plantas medicinais (Brant et al., 2008; Paulus et al., 2013; Schwerz et al., 2015).

Dentre os manejos agronômicos, as associações com fungos micorrizos vêm demonstrando resultados no crescimento de algumas plantas medicinais, como o trabalho de Rasouli-Sadaghiani et al. (2010). Esses autores trabalharam com três espécies de FMAs (*Claroideoglomus etunicatum*, *Glomus intraradices* e *Glomus fasciculatum*) associados à cultura do manjeriço (*Ocimum basilicum*) verificaram que as plantas inoculadas com os FMAs apresentaram maior peso seco da parte aérea e da raiz, bem como, maior área foliar, altura de planta e produção de ramos laterais, quando comparadas com as não inoculadas. Ao trabalhar com diferentes espécies de FMAs (*Rhizophagus clarus*, *Claroideoglomus etunicatum*, *Gigaspora margarita* e *Acaulospora scrobiculata*) e doses de P (0, 50, 100 e 200 mg kg<sup>-1</sup> de solo) em tanchagem (*Plantago major*), Freitas et al. (2008) verificaram que, na ausência da adubação fosfatada as plantas inoculadas com *R. clarus* e *G. margarita* apresentaram incremento na produção de matéria seca na parte aérea de 898 e 238% superior à produção obtida no tratamento sem inoculação.

Os FMAs auxiliam no crescimento e desenvolvimento das plantas e podem ser um fator positivo, promotor da diversidade vegetal, uma vez que aumentam a sobrevivência e facilitam estabelecimento em condições de estresses ambientais (Camargo-Ricalde et al., 2012). Podem ainda ser uma estratégia para o melhor aproveitamento do fósforo, uma vez que, a maior absorção desse nutriente é um dos benefícios que os FMAs possuem em relação às plantas (Rocha et al., 2012) evitando dessa forma, o uso excessivo de fertilizantes fosfatados nos solos tropicais e aumentando a produção das culturas.

O fósforo, por sua vez, é um macronutriente essencial para o metabolismo vegetal, desempenha importante função nos processos de respiração e fotossíntese, está presente em componentes estruturais das células, como nos fosfolipídios de membrana, nas moléculas de ácidos nucleicos e também em componentes metabólitos de transferência e armazenamento de energia, como ATP (Marschner's, 2012; Taiz e Zeiger, 2013). Nos solos tropicais, a concentração de P na solução do solo, geralmente é baixa devido à sua imobilização em decorrência das fortes interações que apresenta com os constituintes do solo (Araújo e Machado, 2006; Novais et al., 2007). Para solucionar a deficiência de P nos solos tropicais, frequentes aplicações de

fertilizantes fosfatados são necessárias, elevando assim, os custos em relação à produção (Reis et al., 2008).

Portanto, buscar uma estratégia para a produção em larga escala dessas plantas, aliada a uma elevada quantidade e qualidade de seus componentes químicos de interesse industrial é o objetivo básico para o mercado mundial (Tarraf et al., 2015). Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar o crescimento e produção de inflorescência de plantas de jambu inoculadas com FMAs em diferentes doses de fósforo.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação com cobertura de filme de polietileno de baixa densidade (100  $\mu\text{m}$ ) e tela Sombrite® 50%, na Unidade de Apoio a Pesquisa do Centro de Ciências e Tecnologia Agropecuárias, do Campus da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), localizada em Campos dos Goytacazes, RJ. O município situa-se na latitude 21°45' S, longitude 41° 20' W e possui altitude média de 11 m. As temperaturas mínima e máxima registradas durante a condução do experimento foram em média 18°C e 31°C, respectivamente.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados (DBC), em arranjo fatorial 3X4, com quatro repetições, sendo dois tratamentos microbiológicos: *Rhizophagus clarus* e *Claroideoglossum etunicatum*, além do controle (sem fungo) e quatro doses de Fósforo (0, 30, 60, 90  $\text{mg kg}^{-1}$ ), totalizando 48 parcelas. A unidade experimental foi composta por um vaso de plástico contendo 6 kg de solos, com cinco plantas.

O solo utilizado para a condução do experimento foi coletado na profundidade de 0-20 cm, na unidade do colégio agrícola, localizado na mesma cidade, peneirado em malha de 2 mm e misturado com areia na proporção de 1:1 (v/v). Na sequência, foi esterilizado em autoclave (121°C por uma hora) por duas vezes, a fim de eliminar os fungos nativos do mesmo. As características químicas do solo após esterilização foram:  $\text{pH}(\text{H}_2\text{O}) = 4,5$ ;  $\text{S-SO}_4 = 19 \text{ mg kg}^{-1}$ ;  $\text{P} = 6 \text{ mg kg}^{-1}$ ;  $\text{K} = 1,7 \text{ mmolc kg}^{-1}$ ;  $\text{Ca} = 9,20 \text{ mmolc/ kg}^{-1}$ ;  $\text{Mg} = 12,1 \text{ mmolc kg}^{-1}$ ;  $\text{Al} = 3,4$

mmolc kg<sup>-1</sup>; H+Al=34,8 mmolc kg<sup>-1</sup>; Na = 1,4 mmolc kg<sup>-1</sup>; C = 4,9 g kg<sup>-1</sup>; MO = 8,45 g kg<sup>-1</sup>; CTC = 59,2 mmolc kg<sup>-1</sup>; SB = 24,4 mmolc kg<sup>-1</sup>; v = 41%; m = 12%; Fe = 156,66 mg kg<sup>-1</sup>; Cu = 0,71 mg kg<sup>-1</sup>; Zn = 2,09 mg kg<sup>-1</sup>; Mn = 59,22 mg kg<sup>-1</sup> e B = 1,1 mg kg<sup>-1</sup>.

A calagem foi realizada conforme o cálculo adotado pela Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais (5ª aproximação), utilizando-se calcário dolomítico. Após 30 dias da aplicação do calcário, as doses de P foram aplicadas ao solo, seguindo a referência de Rodrigues et al. (2014). Utilizou-se como fonte de fósforo KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O. A correção dos teores de Potássio (K) foi feita com KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e com K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Na sequência, o solo foi transferido para os vasos, onde permaneceram incubados por 30 dias. Em seguida, foi realizada a análise de P no solo em todos os tratamentos, com o extrator Mehlich<sup>-1</sup>, obtendo-se os seguintes valores: 6, 19, 25 e 35 mg kg<sup>-1</sup> correspondentes às doses de P aplicadas (0, 30, 60 e 90 mg kg<sup>-1</sup>), respectivamente, o pH do solo, após a correção foi de 5,9. Durante a condução do experimento foram feitas três aplicações de 20 mg de nitrogênio por kg de solo na forma de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>.

Dois espécies de FMAs, *Rhizophagus clarus* Nicolson & Schenck e *Claroideoglomus etunicatum* Becker & Gerd, provenientes do banco de inóculo do setor de microbiologia do solo do Laboratório de Solos da UENF, foram multiplicadas em associação com milho (*Zea mays*) no período de 90 dias, cultivadas em vasos com capacidade de 5 kg com substrato previamente esterilizados. As sementes de milho ficaram submersas em solução de hipoclorito a 0,5% por 15 minutos, para serem desinfestadas e, posteriormente, lavadas com água desionizada por quatro vezes consecutivas. Após 90 dias, as partes aéreas foram cortadas e os vasos cobertos com sacos de papel, mantidos sem irrigação por um mês, de modo a facilitar a esporulação dos fungos. Na sequência, a mistura do solo, contendo as raízes colonizadas e esporos dos FMAs, foi conservada em câmara fria a 4°C até a execução do experimento.

As sementes de jambu utilizadas no experimento foram oriundas do estado do Pará, produzidas na Universidade Federal Rural da Amazônia. Para a condução do experimento, quinze sementes de jambu, previamente esterilizadas com solução de hipoclorito a 0,5%, por 15 minutos, foram semeadas diretamente nos vasos de 6 kg, contendo o solo esterilizado e adubado com os nutrientes

necessários e as doses de P. No momento da semeadura, 120 cm<sup>3</sup> do inóculo (mistura do solo, esporos, fragmentos de raízes colonizadas e hifas) de cada espécie de fungo, foi aplicado a uma profundidade de 2 a 3 cm nos vasos. Vale ressaltar que a extração dos esporos de cada espécie de FMAs foi feito por meio da metodologia de peneiramento úmido (Gerdemann e Nicolson, 1963). E a quantidade de esporos em cada inóculo foi de 1088/50 mL de solo e 3135/50 mL de solo para *R. clarus* e *C. etunicatum*, respectivamente. O tratamento controle não recebeu FMAs, nem doses de Fósforo. É importante destacar que nos tratamentos que não receberam FMAs, foram utilizados 120 cm<sup>3</sup> do solo esterilizado destinado à multiplicação dos inóculos. Após 20 dias da germinação foi realizado o debaste das mudas, deixando-se cinco plantas por vaso. Durante condução do experimento as plantas foram irrigadas com água desionizada.

As plantas foram coletadas entre 7 e 9h da manhã aos 70 dias, após a semeadura, período em que as mesmas estavam na fase reprodutiva (Gusmão e Gusmão, 2013) e divididas em: parte aérea e raiz. Na parte aérea, foram feitas as análises morfo-agronômicas, tais como, área foliar determinada em um aparelho medidor de área foliar, modelo licor 3100, assim como número de folhas, ramificações e inflorescências. A massa fresca das folhas, ramificações e inflorescências foram determinadas em balança de precisão. Posteriormente, as amostras foram acondicionadas em saco de papel e colocadas em estufas devidamente identificadas e submetidas à secagem com circulação forçada de ar à 40°C (Borges et al., 2012), para a determinação da massa seca das partes da planta, foi utilizando uma balança de precisão.

Concomitantemente, as raízes foram lavadas com água corrente com auxílio de peneiras diferentes para cada tratamento microbiológico, de modo que, não houvesse contaminação dos FMAs e também perdas de raízes. Após esse procedimento, aproximadamente, 3g de raízes finas foram separadas e armazenadas em etanol 50% para a determinação da colonização micorrízica, seguindo metodologia descrita por Grace e Stribley (1991) adaptada com KOH 5% a 90°C por 10 minutos, água oxigenada alcalina (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) por 15 minutos, colocadas em HCl a 5% por 5 minutos e, em seguida, colocadas no azul de tripano 0,05% por 10 minutos, à 90°C. Após a coloração, foram distribuídos 10 segmentos de raízes em lâminas com auxílio de uma pinça e adicionou-se algumas gotas de glicerol ácido sobre as mesmas essas foram cobertas por uma

lamínula. Em seguida, foram levadas ao microscópio ótico para que fosse observada a presença de estruturas pertinentes aos FMAs, com os procedimentos descritos por Giovanetti e Moose (1980). O restante das raízes foi acondicionado em saco de papel e colocado para secar em estufas de circulação forçada de ar a 40°C para então, determinar a massa seca das mesmas.

Os dados experimentais obtidos foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa SANEST (Zonta et al., 1984). Para os dados quantitativos, aplicou-se a análise de regressão polinomial, e, por sua vez, para os dados qualitativos, utilizou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação significativa para as doses de P e os FMAs inoculados em plantas de jambu, para as variáveis: Área Foliar (AF), números de folhas (NF) e de ramificações (NR) (Tabela 1), massa fresca das folhas (MFF) e das ramificações (MFR), além da massa Seca das raízes (MSRA) (Tabela 2) e a colonização micorrízica (Tabela 3).

Na ausência da adubação fosfatada, as plantas inoculadas com o *R. clarus* e com o *C. etunicatum* foram estatisticamente superiores às plantas do tratamento sem inoculação para as variáveis NF e NR, apresentando incremento de 668% e 588% para NF e 651% e 433% para NR, respectivamente (Tabela 1). Porém, não houve diferença significativa entre os dois FMAs estudados para as duas variáveis supracitadas na mesma dose. Com a adição de 30 mg de P, a variável NR não apresentou diferença significativa entre as plantas inoculadas e não inoculadas (Tabela 1). O mesmo aconteceu com a variável NF, quando inoculada com *R. clarum* cultivada na mesma dose, não apresentou diferença estatística em relação ao controle. No entanto, a inoculação das plantas com *C. etunicatum* incrementou 49,9% desse parâmetro comparado às plantas não inoculadas.

Tabela 1. Efeitos das doses de P e da inoculação com FMAs no número de folhas (NF), número de ramificações (NR) e área foliar (AF) em plantas de Jambu (*A. oleracea*) aos 70 dias após a semeadura.

DOSE de P mg kg <sup>-1</sup>	FUNGO	NF	IR <sub>F</sub> %	NR	IR <sub>F</sub> %	AF cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup>	IR <sub>F</sub> %
0	Sem FMA	4,11 b	-	1,00 b	-	4,5 c	-
	<i>R. clarus</i>	31,55 a	668	7,51 a	651	295,8 a	6532
	<i>C. etunicatum</i>	28,27 a	588	5,33 a	433	152,4 b	3317
30	Sem FMA	49,05 b	-	11,13 a	-	259,9 b	-
	<i>R. clarus</i>	60,58 b	-	13,69 a	-	643,4 a	148
	<i>C. etunicatum</i>	73,55 a	49,9	12,81 a	-	685,4 a	164
60	Sem FMA	76,59 b	-	15,58 c	-	905,9 ab	-
	<i>R. clarus</i>	103,16 a	34,7	25,00 a	60,5	1.007 a	-
	<i>C. etunicatum</i>	84,33 b	-	21,75 b	39,6	762,6 b	-
90	Sem FMA	87,36 a	18	21,66 a	70	945,8 a	6,5
	<i>R. clarus</i>	73,60 b	-	17,79ab	-	693,1 b	-
	<i>C. etunicatum</i>	79,33ab	-	12,75 b	-	769,5 ab	-
CV%		10,69		22,53		18,45	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de tukey a nível de 5% de probabilidade dentro de cada dose de P. incremento relativo à inoculação com FMA [IRF% = 100(x-y)/y, sendo x: número ou área foliar da planta inoculada e y: número ou área foliar da planta controle (não inoculada).

Destaca-se que, com a adição de 60 mg kg<sup>-1</sup>, as plantas inoculadas com *R. clarus* incrementaram 34,7% e 60,5% de NF e NR, respectivamente, em relação às não inoculadas. Ainda na dose 60 mg kg<sup>-1</sup>, quando comparadas às plantas cultivadas na ausência dos fungos, as plantas inoculadas com *C. etunicatum* incrementaram 39,6% de NR, entretanto para NF não houve diferença significativa. Na dose 90 mg kg<sup>-1</sup>, as plantas não inoculadas obtiveram um incremento de 18% para NF, quando inoculadas com o *R. clarus* e 70% de NR quando as plantas foram inoculadas com o *C. etunicatum* (Tabela 1). Kiriacheck et al. (2009) relatam que o P é nutriente inorgânico que mais afeta o desenvolvimento dos FMAs, controlando principalmente a taxa de crescimento fúngico intrarradicular, além de afirmarem que, geralmente, em altas concentrações de P no solo a colonização é inibida, e em baixas concentrações favorecem a colonização intrarradicular.

A área foliar (AF) das plantas de jambu inoculadas com *R. clarus*, apresentou um incremento de 6532%, 148%, nas doses 0 e 30mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente, quando comparadas às plantas do tratamento sem FMA, nas mesmas doses (Tabela 1). Entretanto, as plantas cultivadas na dose 90 mg kg<sup>-1</sup> e inoculadas com *R. clarus* apresentaram menores valores de área foliar, quando



comparadas às plantas sem inoculação. Plantas de jambu cultivadas nas doses 60 e 90 mg kg<sup>-1</sup> e inoculadas com *C. etunicatum* não apresentaram diferenças estatísticas em relação ao tratamento controle. No entanto, as plantas inoculadas com *R. clarus* incrementaram 32% na área foliar, quando comparadas às inoculadas com *C. etunicatum* e cultivadas na dose 60 mg.kg<sup>-1</sup>. Ainda para esse parâmetro, quando inoculadas com *C. etunicatum* cultivadas na dose 30 mg kg<sup>-1</sup> obtiveram um incremento de 164%, comparadas ao tratamento sem inoculação. Entretanto, para essa dose, não houve diferença significativa entre os tratamentos com fungo para a variável em questão.

Na ausência da adubação fosfatada, as plantas inoculadas com o *C. etunicatum* foram estatisticamente superiores ao tratamento sem fungo, apresentando um incremento de 3317% na AF. O Fósforo é um elemento essencial para o desenvolvimento das plantas, no entanto é um limitador do crescimento das mesmas, devido à sua baixa solubilidade e mobilidade no solo (Balzergue et al., 2011). Nesse sentido, Oliveira e Carvalho (2011) relataram que as associações com FMA são um fator primordial para o aumento da absorção de P pelas plantas, principalmente em ambientes deficientes desse nutriente.

Em relação à massa fresca das folhas (MFF), plantas de jambu inoculadas com *R. clarus* incrementaram 4500% e 110% , nas doses 0 e 30 mg P kg<sup>-1</sup>, respectivamente, em relação ao tratamento sem FMA. Entretanto, plantas cultivadas na dose 90 mg kg<sup>-1</sup>, inoculadas com *R. clarus* apresentaram valores estatisticamente inferior de MFF, quando comparadas ao tratamento sem inoculação (31,8%) (Tabela 2). Quando cultivadas nas maiores doses (60 e 90 mg kg<sup>-1</sup>) em associação com *C. etunicatum* não diferiram do tratamento sem inoculação. Por sua vez, na dose 30 mg kg<sup>-1</sup>, plantas inoculadas com *C. etunicatum* apresentaram um incremento de 69,2% na MFF, comparadas às plantas do tratamento sem inoculação. Quando cultivadas na ausência da adubação fosfatada e inoculadas com *C. etunicatum* incrementaram 1828,6% de MFF em relação ao do tratamento sem Fungo. Quando comparados os tratamentos microbiológicos, plantas inoculadas com *R. clarus* e cultivadas nas doses 30 e 90 mg kg<sup>-1</sup>, não diferiram estatisticamente entre si. Entretanto, plantas cultivadas na ausência da adubação fosfatada e na dose 60 mg kg<sup>-1</sup>, apresentaram incremento de 132 e 36% (Tabela 2), respectivamente, em relação às plantas associadas com o *C. etunicatum*.

Tabela 2. Efeitos das doses de P e da inoculação com FMAs sobre massa fresca das folhas (MFF), massa fresca das ramificações (MFR) e massa seca das raízes (MSRA) em plantas de Jambu (*A. oleracea*) aos 70 dias após a semeadura.

DOSE de P mg kg <sup>-1</sup>	FUNGO	MFF g planta <sup>-1</sup>	IR <sub>F</sub> %	MFR g planta <sup>-1</sup>	IR <sub>F</sub> %	MSRA g planta <sup>-1</sup>	IR <sub>F</sub> %
0	Sem FMA	0,14 c	-	0,00 b	-	0,00 b	-
	<i>R. clarus</i>	6,44 a	4500	5,15 a	-	0,20 a	-
	<i>C. etunicatum</i>	2,70 b	1828,6	2,00 a	-	0,11 a	-
30	Sem FMA	7,99 c	-	12,17 a	-	0,21 b	-
	<i>R. clarus</i>	16,80 a	110	15,11 a	-	0,55 a	162
	<i>C. etunicatum</i>	13,52 b	69,2	13,14 a	-	0,34 b	-
60	Sem FMA	17,35 ab	-	17,56ab	-	0,46 a	-
	<i>R. clarus</i>	19,72 a	-	20,41 a	-	0,46 a	-
	<i>C. etunicatum</i>	14,46 b	-	15,00 b	-	0,47 a	-
90	Sem FMA	17,03 a	31,8	18,71 a	31	0,43 a	-
	<i>R. clarus</i>	12,93 b	-	14,29 b	-	0,35 a	-
	<i>C. etunicatum</i>	15,24 ab	-	15,31ab	-	0,42 a	-
CV%		16,71		16,79		26,21	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de tukey ao nível de 5% de probabilidade dentro de cada dose de P. Incremento relativo à inoculação com FMA [IR<sub>F</sub>% = 100(x-y)/y], sendo x: a massa da planta inoculada e y: a massa da planta controle (não inoculada).

Nesse sentido Cavalcante et al. (2009) relataram que as diferenças observadas entre os tratamentos microbiológicos podem, estar relacionadas à eficiência simbiótica, sendo, por sua vez, influenciadas pelos genótipos da planta, estruturas dos fungos, além das condições climáticas (temperatura) que cada fungo terá nas variações nos limites e nas faixas ótimas de temperatura para a germinação dos esporos e extensão dos micélios externo.

Nas doses 30 e 60 mg kg<sup>-1</sup>, não houve diferença significativa entre as plantas inoculadas e não inoculadas para MFR (Tabela 2). Entretanto, na ausência da adubação fosfatada, plantas inoculadas com os FMAs foram estatisticamente superiores ao tratamento controle para esse parâmetro. Além disso, com adição de 60 mg kg<sup>-1</sup> no que diz respeito às plantas associadas com *R. clarus*, essas obtiveram um incremento de 36% de MFR em relação ao tratamento com *C. etunicatum*. Ressalta-se que plantas cultivadas na dose 90 mg P kg<sup>-1</sup> e não inoculadas obtiveram um incremento 31% no que se refere às plantas inoculadas com *R. clarus*.

Nas doses 60 e 90 mg kg<sup>-1</sup> não houve diferença significativa entre as plantas inoculadas e não inoculadas para a variável massa seca das raízes (MSRA) (Tabela 2). Com a adição de 30 mg kg<sup>-1</sup>, em associação com *R. clarus*

obtiveram um incremento de 162% de MSRA comparadas às do tratamento sem fungo, nesse sentido, Moreira e Siqueira (2006) relatam que, em solos muito deficientes em P, a aplicação de pequena quantidade desse elemento favorece a colonização e a esporulação dos FMAs. No entanto, as plantas inoculadas com *C. etunicatum* não apresentaram diferença significativa para essa variável quando cultivadas na ausência da adubação fosfatada e na dose 30 mg kg<sup>-1</sup>. Por outro lado, plantas associadas com *R. clarus* e cultivadas na ausência da adubação fosfatada, apresentaram valores estatisticamente superiores, quando comparadas às sem inoculação.

Na ausência da adubação fosfatada, a espécie *R. clarus*, apresentou maior porcentagem de colonização micorrízica nas plantas de jambu com 92,5% das raízes colonizadas, apesar de que, o número de esporos nessa espécie foi menor (1088/50 mL de solo), em relação ao *C. etunicatum* (3135/50 mL de solo). O Fungo *C. etunicatum* apresentou uma colonização micorrízica 75% (Tabela 3). Ainda que a espécie *C. etunicatum* tenha apresentado baixa colonização micorrízica em relação ao *R. clarus*, as duas espécies proporcionaram incremento nas variáveis de crescimento das plantas de jambu, quando comparadas às sem inoculação e cultivadas na ausência da adubação fosfatada. Com exceção das variáveis MFF e AF que apresentaram maiores valores quando inoculadas com *R. clarus*, as demais variáveis demonstradas nas Tabelas 1 e 2, foram estatisticamente iguais para as duas espécies analisadas. Assim, Heitor et al. (2016) trabalhando com *R. clarus* e *G. margarita* associados às raízes de calêndula e cultivada na ausência de P, observaram que a colonização micorrízica foi de 87,5%. 77,5%, respectivamente. E essas mesmas espécies de fungos proporcionaram incrementos no número e massa seca dos capítulos florais de calêndula.

Tabela 3. Efeitos das doses de P e da inoculação com FMAs sobre a colonização micorrízica (%) em plantas de Jambu (*A. oleracea*) aos 70 dias após a sementeira.

DOSE de P mg kg <sup>-1</sup>	FUNGO	Colonização micorrízica %
0	Sem FMA	0,0 c
	<i>R.clarus</i>	92,5 a
	<i>C. etunicatum</i>	75,0 b
30	Sem FMA	0,0 b
	<i>R.clarus</i>	77,5 a
	<i>C. etunicatum</i>	67,5 a
60	Sem FMA	0,0 b
	<i>R.clarus</i>	67,5 a
	<i>C. etunicatum</i>	57,5 a
90	Sem FMA	0,0 b
	<i>R.clarus</i>	47,5 a
	<i>C. etunicatum</i>	47,5 a
CV%		17,07

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de tukey ao nível de 5% de Probabilidade dentro de cada dose de P

Russomano et al. (2008) Trabalhando com essas duas espécies de FMAs (*R.clarus* e *C.etunicatum*) e duas espécies vegetais alecrim e manjeriço, encontraram resultados de porcentagem de colonização micorrízica diferentes para os tratamentos. Em plantas de manjeriço, a associação com *R. clarus* apresentou maior porcentagem de colonização micorrízica 79,72%, enquanto que plantas de Alecrim apresentaram maiores porcentagens de colonização micorrízica quando inoculadas com *C. etunicatum* 85,21%. Entretanto, os resultados de altura de plantas, massa fresca de raiz e massa seca da parte aérea as plantas de manjeriço e alecrim inoculadas com *R. clarus* foram estatisticamente superiores as inoculadas com *C. etunicatum*.

É importante ressaltar que, nas raízes das plantas de jambu coletadas sem inoculação e cultivadas nas respectivas doses de P (0, 30, 60 e 90 mg kg<sup>-1</sup>) (Tabela 3) não foram encontradas estruturas de FMAs. E observou-se também, que a colonização micorrízica para os dois FMAs foi decrescendo com o aumento das doses de P (Tabela 3).

Não houve interação significativa entre as doses de P e os FMAs utilizados no experimento para a variável, número, massa fresca e seca das inflorescências (Tabela 4). Independente da dose de P utilizada, plantas

inoculadas com *R. clarus* e *C. etunicatum* apresentaram um incremento de 32% e 27,95%, respectivamente, para a variável número de inflorescência (NI), quando comparadas às plantas do tratamento sem fungo (Tabela 4). No entanto, não apresentaram diferença estatística entre as espécies de FMAs para essa variável. Para o fator dose, essa variável apresentou uma regressão quadrática, com valor máximo de inflorescência na dose estimada de 89 mg kg<sup>-1</sup> (Figura 1A).

Tabela 4. Efeito dos FMAs, nas variáveis: Número de inflorescência (NI), Massa Fresca das Inflorescências (g planta<sup>-1</sup>) (MFI) e Massa Seca das Folhas (g planta<sup>-1</sup>) (MSF) em plantas de Jambu (*A. oleracea*) aos 70 dias após a semeadura.

FUNGO	NI	IR <sub>F</sub> %	MFI g planta <sup>-1</sup>	IR <sub>F</sub> %	MSF g planta <sup>-1</sup>	IR <sub>F</sub> %
Sem fungo	5,26 b	-	1,35 b	-	1,26 b	-
<i>R. clarus</i>	6,95 a	32	1,89 a	40	1,54 a	22
<i>C. etunicatum</i>	6,73 a	28	1,83 ab	-	1,42 ab	-
CV%	24,98		33,06		21,68	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de tukeya nível de 5% de probabilidade, dentro de cada dose de P. Incremento relativo à inoculação com FMA [IR<sub>F</sub>% = 100(x-y)/y, sendo x: número e massa da planta inoculada e y: número e massa da planta controle (não inoculada)].

Independente das espécies de FMAs utilizadas, a massa fresca das inflorescências (MFI) apresentou uma regressão linear com o aumento das doses de P. O tratamento que não recebeu a adubação fosfatada obteve 0,12 g, e as plantas cultivadas na maior dose (90mg kg<sup>-1</sup>) obtiveram 2,83 g planta<sup>-1</sup> (Figura 1B). Em associação com *R. clarus*, as plantas apresentaram um incremento de 40% em relação ao tratamento sem FMA (Tabela 4). Já as inoculadas com *C. Etunicatum* não diferiram do tratamento controle (Tabela 4). Trabalhando com duas espécies de FMAs (*R. clarus* e *G. margarita*) e doses de P, em calêndula, Heitor et al. (2016) verificaram que, na ausência de adubação fosfatada, os incrementos promovidos pelos FMAs, no que diz respeito à produção dos capítulos florais e massa seca das flores, foram superiores em relação ao tratamento controle (sem fungo). Segundo esses autores, os resultados obtidos demonstraram a capacidade dos FMAs em potencializar o crescimento e a produção de capítulos florais em plantas de calêndula em baixas doses de fósforo no solo. Além disso, Rodrigues et al. (2014), trabalhando com doses de P em

jambu observaram valores máximos de massa fresca e seca das flores na dose 75 kg ha<sup>1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

A variável massa seca das inflorescências (MSI) apresentou diferença significativa apenas para as doses de P, apresentando regressão linear com o aumento das doses. Na ausência da adubação fosfatada obteve-se 0,013 g planta<sup>-1</sup>, enquanto que a maior dose (90 mg kg<sup>-1</sup>) apresentou um valor de 0,36 g planta<sup>-1</sup> (Figura 1C)

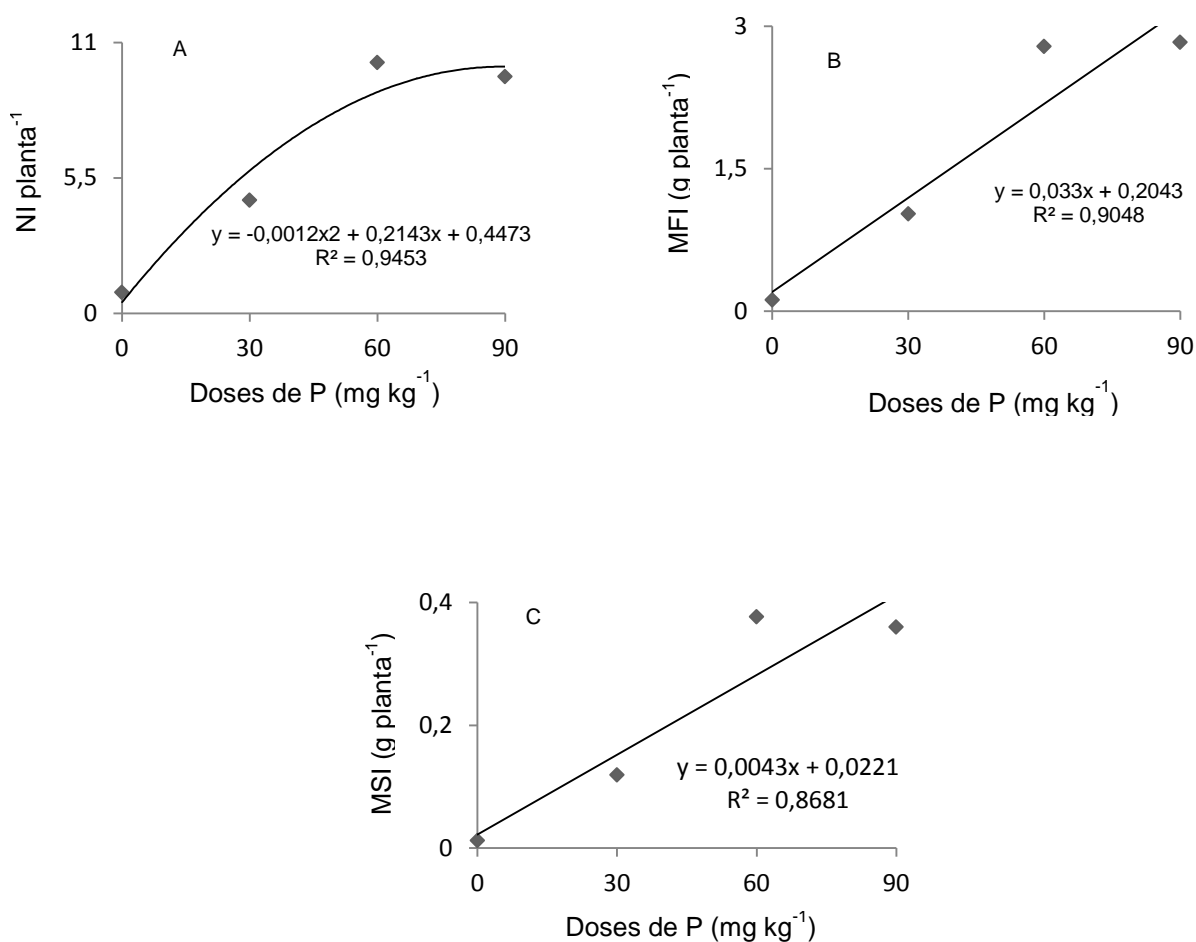


Figura 1. Efeitos das doses de Fósforo nas variáveis, número de inflorescência (NI), massa fresca da inflorescência (MFI) e massa seca das inflorescências (MSI) (C) em plantas de Jambu (*A. oleracea*) aos 70 dias após a semeadura.

Na dose estimada 61,9 mg de P kg<sup>-1</sup> obteve-se maiores valores de massa seca das folhas de plantas de jambu, independente dos FMAs utilizados (Figura 2A). Quando inoculadas com *R. clarus*, às plantas de jambu incrementaram 22% de massa seca das folhas, em relação as plantas não inoculadas com fungo. Para as inoculadas com *C. etunicatum*, não diferiram das plantas dos tratamentos sem fungo e das inoculadas com *R. clarus* (Tabela 4). A variável massa seca das ramificações apresentou efeito significativo para as doses de P (Figura 2B), os valores desse variável, por sua vez, apresentaram uma regressão quadrática com ponto máximo na dose estimada 81mg kg<sup>-1</sup> (Figura 2B). John (2011) relata que na China, os ramos, as folhas e as inflorescências são comercializados secos e existem diversos pratos considerados iguarias que incluem a erva, eventualmente usada também para suavizar pimentas muito ardidas.

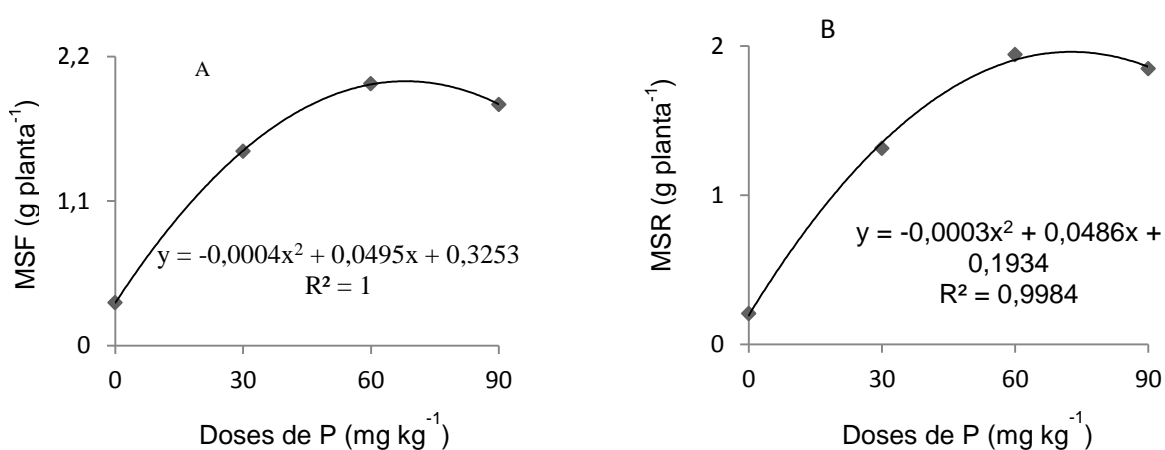


Figura 2. Efeitos das doses de fósforo nas variáveis, massa seca das folhas e massa seca das ramificações em plantas de Jambu (*A. oleracea*) aos 70 dias após a semeadura.

É notória a eficiência dos fungos micorrizicos arbusculares para a produção da parte aérea e da raiz de plantas de jambu em pequenas quantidades de fósforo. Diversos trabalhos com plantas medicinais e aromáticas vêm demonstrando essa eficiência dos FMAs, dentre os quais, destacam-se os trabalhos de Arango et al. (2012) com hortelã-pimenta e de Karagiannidis et al. (2011) com plantas de orégano e hortelã. Em plantas de hortelã-pimenta foi

observado aumento na área foliar, massa fresca e seca das folhas e do caule de plantas inoculadas com *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices* e *Glomus intraradices*, em relação às não inoculadas. Em plantas de orégano e hortelã utilizando dois isolados de *C. etunicatum* e um de *Glomus lamellosum*, observaram aumento significativo no crescimento das plantas. Rasouli-Sadaghiani et al. (2010) estudando três tratamentos microbiológicos (*Glomus fasciculatum*, *Glomus etunicatum*, *Glomus intraradices*) e o controle sem FMAs em *Ocimum basilicum* (manjeriço), observaram que as plantas micorrizadas apresentaram maior massa seca da parte aérea e da raiz, altura da planta, além do número de ramos, em relação às plantas não micorrizadas.

Trabalhando com duas espécies de FMAs no desenvolvimento de mudas micropropagadas de *Acmella oleracea*, Yadav et al. (2012) observaram que altura da planta, número de ramificações, número de folhas, área foliar, produção de massa da matéria seca e teor de clorofila foram significativamente maiores nos tratamentos com plântulas inoculadas com os FMAs em comparação as plantas não inoculadas. Os autores relataram que o aumento do crescimento e sobrevivência das plântulas inoculadas com os FMAs pode ser devido ao aumento na absorção de nutrientes no solo e que esta tecnologia pode ser aplicada para melhorar o desempenho do pós transplante de algumas plantas medicinais importantes que requerem cuidados em relação à conservação.

## CONCLUSÕES

A utilização de fungos micorrízicos arbusculares no cultivo de jambu é uma alternativa capaz de proporcionar um maior crescimento das plantas. De maneira geral, a associação com o *R. clarus* promove maiores incrementos nas variáveis de crescimento em relação ao *C. etunicatum* em plantas de *A. oleracea* na dose 60 mg kg<sup>-1</sup>, cultivadas nas condições de casa de vegetação. A inoculação com os FMAs proporciona incremento na produção de inflorescência.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arango, M.C., Ruscitti, M.F., Ronco, M.G., Beltrano, J. (2012) Mycorrhizal fungi inoculation and phosphorus fertilizer on growth, essential oil production and nutrient uptake in peppermint (*Mentha piperita* L.). *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, v.14, n.4, p.692-699.
- Araújo, A. P; Machado, C.T.T. (2006) Fósforo: in Fernandes, M.S. (ed) *Nutrição mineral de plantas*. Viçosa, MG: Sociedade brasileira Ciência do solo, p. 253- 280.
- Balzerque, C., Puech-Pagès, V., Bécard, G. & Rochange, S. F. (2011). The regulation of arbuscular mycorrhizal symbiosis by phosphate in pea involves early and systemic signaling events. *Journal of Experimental Botany*. 62, 1049–1060.
- Boonen, J.; Baert, B.; Roche, N.; Burvenich, B.; de Spiegelerr B. (2010) LC–MS profiling of N-alkylamides in *Spilanthes acmella* extract and the transmucosal behaviour of its main bio-active spilanthol. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53 243–249 p.
- Borges, L.S., Vieira, M.A.R., Marques, M.O.M., Vianello, F., Lima, G.P.P. (2012) Influence of Organic and Mineral Soil Fertilization on Essential Oil of *Spilanthes oleracea* cv Jambuarana. *Am. J. Plant Physiol.*, 7(3): 135-142.
- Brant R.S, Pinto J.E.B.P., Bertolucci S.K.V., Albuquerque, C.J.B. (2008) Teor do óleo essencial de cidrão (*Aloysia triphylla* (L' Hérit) Britton Verbenaceae) em função da variação sazonal. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 10: 83-88.
- Camargo-Ricalde, S.L., Montañó, N.M., Rosamera, C.J.D.L., Arias, S.A.M. (2012) Micorrizas: una gran unión debajo del suelo. *Revista Digital Universitaria* v.13, n.7. p 1-8.
- Cavalcante, U.M.T, Goto, B.T., Maia, L.C. (2009) Aspectos da simbiose Micorrízica Arbusculares. *Anais da academia pernambucana de ciências agrônômicas*, Recife, vols 5 e 6, p.180-208.
- Chakraborty, A., Devi, R.K.B., Sanjebam, R., Khumbong, S., Thokchom, I.S. (2010) Preliminary studies on local anesthetic and antipyretic activities of *Spilanthes acmella* Murr. in experimental animals models. *Indian J. Pharmacology*, n42, p. 277-279.
- Coutinho, D.F., Agra, M.F., Basílio, I.J.L.D.; Barbosa-Filho, J.M. (2006) Morphoanatomical study of the leaves of *Ocotea duckei* Vattimo (Lauraceae). *Revista Brasileira Farmacognosia*, Paraná, v. 16, p. 537-544, 2006.

- Ekanem A.P., Wang, M., Simon, J.E., Moreno, D.A. (2007) Antiobesity properties of two African plants (*Aframomum melegueta* and *Spilanthes acmella*) by pancreatic lipase inhibition. *Phytotherapy Research*. 21, 1253–1255.
- Freitas, M.S.M., Martins, M.A., Carvalho, A.J.C. (2008) Produção de biomassa e teores de macronutrientes da tanchagem (*Plantago major* L.) em resposta a adubação fosfatada e micorrizas arbusculares. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.10, n.3, p.31-37.
- Gerdemann, J. W., Nicolson, T. H. (1963) Spores of mycorrhizal *Endogone* extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 46.235-244.
- Giovannetti, M., Mosse, B. (1980) An evaluation of techniques for measuring VA mycorrhizal infection in roots. *The New Phytologist*. 84 (3): 489-500.
- Grace, C., Stribley, P. (1991) A safer procedure for routine staining of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research*, 95 (10): 1160-1162.
- Gusmão, M.T.A., Gusmão, S.A.L. (2013) *Jambu da Amazônia [Acmella oleracea (L.) R.K. Jansen]: características gerais, cultivo convencional, orgânico e hidropônico*. Belém: Universidade Federal Rural da Amazônia, 135p.
- Heitor L.C Freitas M.S.M., Brito V.N., Carvalho A.J.C., Martins M.A. (2016). Crescimento e produção de capítulos florais de calêndula em resposta à inoculação micorrizica e fósforo. *Horticultura Brasileira*, 34: 026-030.
- Homma, A.K.O., Sanches, R.S., Menezes, A.J.E.A., Gusmão, S.A.L. (2014) Etnocultivo do Jambu para abastecimento da cidade de Belém, Estado do Pará: Homma, A.K.O (ed) *Estrativismo vegetal na Amazônia história, ecologia, economia e domesticação*. Brasília: Empresa Brasileira de pesquisa Agropecuária- EMBRAPA, Distrito Federal, p. 329-343.
- John, L. (2011) Tucupi, tacacá e tá na cara. Disponível em: <<http://planetasustentavel.abril.com.br/blog/biodiversa>. Acesso em: 16 de janeiro de 2016.
- Karagiannidis, N., Thomidis, T., Lazari, D., Panou-Filothou, E., Karagiannidou, C. (2011) Effect of three Greek arbuscular mycorrhizal fungi in improving the growth, nutrient concentration, and production of essential oils of oregano and mint plants. *Scientia Horticulturae*, v. 129, p. 329 – 334.
- Kiriachek, S.G., Azevedo, L.C.B.de., Peres, L.E.P., Lambais, M.R. (2009) Regulação do desenvolvimento das micorrizas arbusculares. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 33: 1-16.
- Ley, J. P., Krammer, G., Looft, J.; Reinders, G.; Bertram, H. J. (2006) Structure activity relationships of trigeminal effects for artificial and naturally occurring alkamides related to spilanthol. *Flavour Science: Recent Advances and Trends*. p. 21-24.

- Marschner, P. (2012) *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Third Edition. Academic Press, 651p.
- Mbeunkui, F.; Grace, M. H.; Lategan, C.; Smith, P. J.; Raskin, I. Lila, M. A. (2011) Isolation and identification of antiplasmodial N-alkylamides from *Spilanthes acmella* flowers using centrifugal partition chromatography and ESI-IT-TOF-MS. *Journal of Chromatography B*, v. 879, p. 1886-1892.
- Moreira, F.M.S., Siqueira, J.O. (2006) *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. 2º ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 729p.
- Novais, R.F., Smyth, T.J., Nunes, F.N. (2007) Fosforo. in Novais, R.F., Alvarez V, V.H., Barros, N.F., Fontes, R.L.F., Cantarutti, R.B., Neves, J.C.L. (eds) *Fertilidade do solo*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, MG, p. 471 – 550.
- Oliveira, P. C., Carvalho, J. C. R. (2011) Rizosferas de árvores acumuladoras de fósforo na Amazônia Brasileira. *Universitas Scientiarum*, Bogotá, v.16, n.2, p.111-118.
- Paulus D; Valmorbida R; Toffoll E; Nava GA. (2013) Teor e composição química de óleo essencial de cidró em função da sazonalidade e horário de colheita. *Horticultura Brasileira* 31: 203-209.
- Rasouli-Sadaghiani, M.; Hassani, A.; Barin, M.; Danesh, Y. R.; Sefidkon, F. (2010) Effects of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi on growth, essential oil production and nutrients uptake in basil. *Journal of Medicinal Plants Research*, v. 4, p. 2222-2228.
- Ratnasooriya, W. D, Pieris, K. P. P., Samaratinga, U., Jayakody, J. R. A. C. (2004) Diuretic activity of *Spilanthes acmella* flowers in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v.91, n.2-3, p.317-320.
- Reis, E.F., Carneiro, M.A.C., Douglas, O., Rotta, A., Sousa, M.Y. (2008) Absorção de fósforo em dozes genótipos de milho inoculados com fungo micorrízico arbuscular em solo de cerrado. *Ciência Rural* 38(9): 2441-2447.
- Rocha, F., Muraoka, T Scaramuzza, W.L.M.P., Scaramuzza, Jose. (2012) Eficiência de Forageiras e Efeito da Micorriza na Absorção de Fósforo Menos Disponível do Solo. *Uniciências*, v. 16, n. 1, p. 17-24.
- Rodrigues, D.S., Camargo, M.S., Nomura, E.S., Garcia, V.A., Correa, J.N., Vidal, T.C.M. (2014) Influencia da adubação com nitrogênio e fósforo na produção de Jambu, *Acmella oleracea* (L) R.K. Jansen. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.16, n.1, p.71-76.
- Russomanno, O.M.R., Kruppa, P.C., Minihoni, M.T.A. (2008) Influência de fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de plantas de alecrim e manjerição. *Arq. Inst. Biol.* v.75, n.1, p.37-43.

- Schwerz, L., Caron, B.O., Manfron, P.A., Schmidt, D., Elli, E. F. (2015) Biomassa e teor de óleo essencial em *Aloysia triphylla* (l'hérit) Britton submetida a diferentes níveis de reposição hídrica e à variação sazonal das condições ambientais. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.17, n.4, p.631-641.
- Taiz, L., Zeiger, E. (2013) *Fisiologia Vegetal*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 918p.
- Tarraf, W.,Ruta, C., De Cillis, F., Tagarelli, A., Tedone, L., De Mastro, G. (2015) Effectsof Mycorrhizaon Growth and Essential Oil Production in Selected Aromatic Plants. *Italian Journal of Agronomy*, vol. 10. No 3.
- Yadav, K., Singh, N., Aggarwal, A. (2012) Arbuscular Mycorrhizal Technology for the Growth Enhancement of Micropropagated *Spilanthes acmella* Murr. *Plant Protect. Sci.*, Vol. 48, 2012, No. 1: 31–36.
- Zonta, E. P; Machado A.A.; Silveira Júnior P. (1984) Sistema de análises estatísticas para microcomputadores (SANEST). Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 151p.

## FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E FÓSFORO NA COMPOSIÇÃO MINERAL E METABÓLICOS SECUNDÁRIOS EM PLANTAS DE JAMBU

### RESUMO

As associações com fungos micorrízicos além de melhorar a absorção de nutrientes como o fósforo, interferem em alguns parâmetros de qualidade das plantas. *A. oleracea*, muito utilizada na culinária da região Norte do Brasil e também na medicina popular, possui uma substância responsável pelas diversas atividades medicinais das plantas, o espilantol. Diante disso, objetivou-se avaliar o efeito da inoculação com FMAs em diferentes doses de P na nutrição mineral, na composição de óleos essenciais, no conteúdo de fenóis totais e na porcentagem de área relativa do espilantol em plantas de jambu. Para isso, conduziu-se o experimento em casa de vegetação, em delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial 3x4, sendo dois FMAs: *Rhizophagus clarus* e *Claroideoglossum etunicatum* e o controle (sem fungo) e quatro doses de P (0, 30, 60 e 90 mg kg<sup>-1</sup>) com quatro repetições. As plantas foram colhidas na fase de reprodução, aos 70 dias após a semeadura. Verificou-se porcentagem de colonização de 92,5% e 75% para *R. clarus* e *C. etunicatum*, respectivamente, na qual também proporcionaram incremento na massa seca da parte aérea de 2232% e 1075%, nos conteúdos de P 3666% e 3408%, de Mg 1739% e 1542%,

de K 3093% e 1682%, de Ca 2024% e 1137%, de Mn 1464% e 797% e de Fe 2674% e 1090%, inoculadas com *R. clarus* e *C. etunicatum*, respectivamente em relação às plantas não inoculadas com os FMAs. A dependência micorrízica foi maior quando as plantas foram cultivadas na ausência da adubação fosfatada para as duas espécies. Os FMAs proporcionam aumento significativo nos conteúdos de fenóis totais e na área relativa do Espilantol, principalmente nas menores doses de P.

Palavras-chaves: inoculação, nutrição mineral, óleo essencial, espilantol, polifenóis

Abstract: The associations with mycorrhizal fungi, in addition to improving the absorption of nutrients such as phosphorus and still interfere with some parameters of plant quality, among these the *A. oleracea*, widely used in the cuisine of the Northern region of Brazil and also in popular medicine, has one substance, spilanthol, responsible for the various medicinal activities of plants. The objective of this study was to evaluate the effect of inoculation with AMF in different doses of P in mineral nutrition, composition of essential oils, total phenols and percentage of relative area of spilanthol in jambu plants. For this, the experiment was conducted in a greenhouse, in a randomized block design in a 3x4 factorial scheme, two AMFs: *Rhizophagus clarus* and *Claroideoglossum etunicatum* and control (no fungus) and four doses of P (0, 30, 60 and 90 mg kg<sup>-1</sup>) with four replicates. The plants were collected at the reproduction stage, 70 days after sowing. There was a colonization percentage of 92.5% and 75% for *R. clarus* and *C. etunicatum*, respectively, in which they also provided an increase in the aerial part dry mass of 2232% and 1075%, in the contents of P 3666% and 3408%, Mg 1739% and 1542%, K 3093% and 1682%, Ca 2024% and 1137 %, Mn 1464% and 797%, and Fe 2674% and 1090%, inoculated with *R. clarus* and *C. etunicatum*, respectively in relation to the plants not inoculated with the AMFs. The mycorrhizal dependence was higher when the plants were cultivated in the absence of phosphate fertilization for both species. AMFs provided a significant

increase in the contents of total phenols and in the relative area of spilanthol, mainly in the lower doses of P.

Keywords: Inoculation, mineral nutrition, essential oil, espilantol, polyphenols

## INTRODUÇÃO

O jambu (*Acmella oleacea* (L.) R.K. Jansen) é uma planta herbácea, da família Asteraceae, muito utilizada como condimento de alguns pratos típicos da região Norte do Brasil. Usada também na medicina popular para o tratamento de alguns males, tais como: dor de garganta, dente e tratamento de anemia (Gusmão e Gusmão, 2013). Por isso, a planta vem ganhando destaque na pesquisa e diversas atividades biológicas têm sido descritas para *A. oleracea*, tais como anestésico, anti-inflamatório, analgésico e antitérmico, anti-obesidade, diurético, antioxidante, antimutagênico, inseticida e bacteriostático (Chakraborty et al., 2004; Ratnasooriya et al., 2004; Ley et al., 2006; Wu et al., 2008; Chakraborty et al., 2010; Ferreira et al., 2014). Essas atividades são atribuídas aos diferentes constituintes químicos que a planta possui, dentre eles o espilantol. Segundo Lorenzi e Matos (2008), os óleos essenciais das plantas de jambu possuem uma concentração em torno de 0,7%, com elevado teor de Espilantol (N-alquilamida). Além disso, ressalta-se que a planta possui alcaloides (Gerbino et al., 2016), flavonoides (Chakraborty et al., 2010) e outros.

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), além de contribuírem na melhoria da nutrição das plantas, também agem como biorreguladores, que interferem no equilíbrio fito-hormonal das plantas, de modo a influenciar o desenvolvimento das mesmas e a aliviar os efeitos das tensões ambientais agindo deste modo como bioprotetores (Rouphael, et al., 2015), levando não apenas ao aumento de biomassa e produção, mas também a alteração em diversos parâmetros de qualidade (Antunes et al., 2012). A produção das plantas com alto teor de metabólicos secundários tais como carotenoides, flavonoides e

polifenóis, tem sido o alvo principal dos pesquisadores, devido aos seus efeitos na saúde (Rouphael et al., 2010).

Os FMAs formam micélios entorno das raízes e um dos principais benefícios à planta hospedeira é melhorar a zona de absorção radicular através das hifas, melhorando dessa forma a absorção de nutrientes, principalmente o fósforo (Rocha et al., 2012), que é um íon relativamente imóvel e insolúvel no solo, devido às interações bi e trivalentes que faz com o solo, principalmente com os íons  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ , e  $\text{Al}^{3+}$  (Fitter et al., 2011).

Alguns trabalhos demonstram a eficiência dos FMAs em maximizar a produção desses metabólicos secundários e/ou absorção de nutrientes em diversas plantas medicinais, como, por exemplo, em *Calendula officinalis* (Heitor et al., 2016), *Passiflora alata* Curtis (Riter Neto et al., 2014), *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan (Pedone-Bomfim, 2012), *Chlorophytum borivillianum* (Dave et al., 2011), *Wedilia chinensis* (Nisha e Rajeshkumar, 2010) e *Catharanthus roseus* (Ratti et al., 2010). Entretanto, trabalhos com *A. oleracea* associando FMAs e adubação fosfatada são inexistentes na literatura brasileira, tornando, dessa forma, muito importante os estudos dessa natureza para que se possa chegar à padronização das concentrações dos princípios ativos, bem como pode ser uma alternativa para otimizar o uso de fertilizantes fosfatados. Dessa forma, objetivou-se no presente trabalho avaliar o efeito da inoculação com FMAs em diferentes doses de P na nutrição mineral, a composição de óleos essenciais, no conteúdo de fenóis totais e na porcentagem de área relativa do espilantol em plantas de jambu.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação com cobertura de filme de polietileno de baixa densidade (100  $\mu\text{m}$ ) e tela Sombrite® 50%, na Unidade de Apoio a Pesquisa do Centro de Ciências e Tecnologia Agropecuárias, do Campus da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), localizada em Campos dos Goytacazes, RJ. O município situa-se na



latitude 21°45' S, longitude 41° 20' W e possui altitude média de 11 m. As temperaturas mínima e máxima registradas durante a condução do experimento foram em média 18°C e 31°C, respectivamente.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados (DBC), em arranjo fatorial 3X4, com quatro repetições, sendo dois tratamentos microbiológicos: *Rhizophagus clarus* e *Claroideoglossum etunicatum*, além do controle (sem fungo), e quatro doses de Fósforo (0, 30, 60, 90 mg kg<sup>-1</sup>), totalizando 48 parcelas. A unidade experimental foi composta por um vaso de plástico contendo 6 kg de solo, com cinco plantas.

O solo utilizado para a condução do experimento foi coletado na profundidade de 0-20 cm, na unidade do Colégio Agrícola, localizado na mesma cidade, peneirado em malha de 2 mm e misturado com areia na proporção de 1:1 (v/v). Na sequência, foi esterilizado em autoclave (121°C por uma hora) por duas vezes, a fim de eliminar os fungos nativos do mesmo. As características químicas do solo após esterilização foram: pH(H<sub>2</sub>O)=4,5; S-SO<sub>4</sub>=19 mg kg<sup>-1</sup>; P=6 mg kg<sup>-1</sup>; K=1,7 mmolc kg<sup>-1</sup>; Ca=9,20mmolc/ kg<sup>-1</sup>; Mg=12,1 mmolc kg<sup>-1</sup>; Al=3,4 mmolc kg<sup>-1</sup>; H+Al=34,8 mmolc kg<sup>-1</sup>; Na=1,4 mmolc kg<sup>-1</sup>; C=4,9 g kg<sup>-1</sup>; MO=8,45 g kg<sup>-1</sup>; CTC=59,2 mmolc kg<sup>-1</sup>; SB=24,4mmolc kg<sup>-1</sup>; v=41%; m=12%; Fe=156,66 mg kg<sup>-1</sup>; Cu=0,71 mg kg<sup>-1</sup>; Zn=2,09 mg kg<sup>-1</sup>; Mn=59,22 mg kg<sup>-1</sup> e B=1,1 mg kg<sup>-1</sup>.

A calagem foi realizada conforme o cálculo adotado pela Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais (5ª aproximação), utilizando-se calcário dolomítico. Após 30 dias da aplicação do calcário, as doses de P foram aplicadas ao solo, seguindo a referência de Rodrigues et al. (2014). Utilizou-se como fonte de fósforo KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O. A correção dos teores de Potássio (K) foi feita com KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e com K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Na sequência, o substrato foi transferido para os vasos, onde permaneceram incubados por 30 dias. Em seguida, foi realizada a análise de P no solo em todos os tratamentos, com o extrator Mehlich<sup>-1</sup>, obtendo-se os seguintes valores: 6, 19, 25 e 35 mg kg<sup>-1</sup> correspondentes, respectivamente, às doses de P aplicadas (0, 30, 60 e 90 mg kg<sup>-1</sup>), o pH do solo, após a correção foi de 5,9. Durante a condução do experimento foram feitas três aplicações de 20mg de nitrogênio por kg de solo na forma de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>.

Duas espécies de FMAs, *Rhizophagus clarus* Nicolson & Schenck e *Claroideoglossum etunicatum* Becker & Gerd, provenientes do banco de inóculo do

setor de microbiologia do solo do Laboratório de Solos da UENF, foram multiplicados em associação com milho (*Zea mays*) no período de 90 dias, cultivados em vasos com capacidade de 5kg com substrato previamente esterilizados. As sementes de milho ficaram submersas em solução de hipoclorito a 0,5% por 15 minutos, para serem desinfestadas e, posteriormente, lavadas com água desionizada por quatro vezes consecutivas. Após 90 dias, as partes aéreas foram cortadas e os vasos cobertos com sacos de papel, mantidos sem irrigação por um mês, de modo a facilitar a esporulação dos fungos. Na sequência, a mistura do solo, contendo as raízes colonizadas e esporos dos FMAs, foi conservada em câmara fria a 4°C até a execução do experimento.

As sementes de jambu utilizadas no experimento foram oriundas do estado do Pará, produzidas na Universidade Federal Rural da Amazônia. Para a condução do experimento, quinze sementes de jambu, previamente esterilizadas com solução de hipoclorito a 0,5%, por 15 minutos, foram semeadas diretamente nos vasos de 6 kg, contendo o substrato esterilizado e adubado com os nutrientes necessários e as doses de P. No momento da semeadura, 120 cm<sup>3</sup> do inóculo (mistura do solo, esporos, fragmentos de raízes colonizadas e hifas) de cada espécie de fungo, foi aplicado a uma profundidade de 2 a 3 cm nos vasos. Vale ressaltar que a extração dos esporos de cada espécie de FMAs foi feito por meio da metodologia de peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson 1963). E a quantidade de esporos em cada inóculo foi de 1088/50 mL de solo e 3135/50 mL de solo para *R. clarus* e *C. etunicatum*, respectivamente. O tratamento controle não recebeu FMAs, nem doses de fósforo. É importante destacar que nos tratamentos que não receberam FMAs, foram utilizados 120 cm<sup>3</sup> do solo esterilizado destinado à multiplicação dos inóculos. Após 20 dias da germinação foi realizado o desbaste das mudas, deixando-se cinco plantas por vaso. Durante condução do experimento, as plantas foram irrigadas, com água desionizada.

As plantas foram coletadas no período de 7 e 9h da manhã aos 70 dias, após a semeadura, período em que as mesmas estavam na fase reprodutiva (Gusmão e Gusmão, 2013). Posteriormente, o material vegetal foi acondicionado individualmente em sacos de papel devidamente identificados e submetidas à secagem em estufa com circulação forçada de ar à 40°C (Borges et al., 2012). Após a secagem, foi determinada a massa seca da parte aérea. Essas foram trituradas em moinhos de facas do tipo Wiley e armazenadas em frascos

hermeticamente fechados e identificados. Posteriormente, foram determinados os teores de N, P, K, Mg, Ca, Fe, Mn. Para a determinação dos teores de N, as amostras foram submetidas à digestão sulfúrica pelo método de Nessler (Jackson, 1965). E os demais nutrientes mencionados foram submetidos à digestão com HNO<sub>3</sub> concentrado e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em sistema de digestão aberta e quantificados em plasma (ICPE-9000) da marca Shimadzu® (Peters, 2005).

Concomitantemente, as raízes foram lavadas com água corrente com auxílio de peneiras diferentes para cada tratamento microbiológico, de modo que não houvesse contaminação dos FMAs e também perdas de raízes. Após esse procedimento, aproximadamente, 3 g de raízes finas foram separadas e armazenadas em etanol 50% para a determinação da colonização micorrízica, seguindo metodologia descrita por Grace e Stribley (1991) adaptada com KOH 5% a 90°C por 10 minutos, água oxigenada alcalina (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) por 15 minutos, colocadas em HCl a 5% por 5 minutos e, em seguida, colocadas no azul de tripano 0,05% por 10 minutos, à 90°C. Após a coloração, foram distribuídos 10 segmentos de raízes em lâminas com auxílio de uma pinça; adicionou-se algumas gotas de glicerol ácido sobre as mesmas e, posteriormente, cobertas por uma lamínula. Em seguida, foram levadas ao microscópio ótico para que fosse observada a presença de estruturas pertinentes aos FMAs, com os procedimentos descritos por Giovanetti e Moose (1980).

A dependência micorrízica foi determinada a partir da massa seca da parte aérea, de acordo com o seguinte cálculo: massa seca de plantas micorrizadas menos massa seca de plantas não micorrizadas, dividido por massa seca de plantas micorrizadas e multiplicado por 100 (Plenchette et al., 1983) para cada dose de P utilizada (0, 30, 60 e 90 mg kg<sup>-1</sup>).

Para a determinação dos fenóis totais, foi utilizada a metodologia descrita por Anderson e Ingram (1993), com os seguintes procedimentos: pesou-se 0,375 g da massa seca da parte aérea das plantas sendo extraídos com metanol (50%) em banho-maria (80°C) por uma hora. Na sequência o material foi filtrado e após esse procedimento, adicionou-se 0,2 mL da amostra, 7,3 mL de água desionizada, 0,5 mL de Folin-Dennis e 2 mL de carbonato de sódio a 17%. Após 20 minutos, a leitura foi realizada em espectrofotômetro Specord®, em absorvância 760nm e os resultados foram expressos g kg<sup>-1</sup>.

Para a extração dos óleos essenciais foram feitos, previamente, diversos

testes, a fim de ajustar a metodologia de Borges et al. (2012). Utilizou-se em média 5g de massa seca da parte aérea moída e submetidas à hidrodestilação em aparelho de Clevenger, equipado com balão de 2 L, contendo 1,2 L de água destilada. O tempo de extração foi de 90 minutos contados a partir da condensação da primeira gota. Para a purificação do óleo essencial, o hidrolato foi separado da fase aquosa por partição líquido-líquido em funil de separação, realizando a lavagem com 15 mL de diclorometano. Em seguida o hidrolato e o solvente foram coletados em frascos de vidros devidamente pesados e identificados e deixados em temperatura ambiente até a total evaporação do solvente, sob a capela de exaustão de gases. Sequencialmente, os frascos de vidro com os óleos foram pesados em balança analítica e pela diferença calculou-se a massa dos óleos e, posteriormente, mantidos sob refrigeração até o momento da análise química. A partir da massa dos óleos foi determinado o teor, expresso em porcentagem massa/ massa (g de óleos por 100 g de massa seca da parte aérea).

Para a determinação da análise química dos óleos essenciais de jambu, as amostras foram pesadas e diluídas com hexano e injetadas em Cromatógrafo Gasoso acoplado a Espectrômetro de Massas (GCMS- Shimadzu QP5050A), com as seguintes condições: coluna capilar DB-5 de 30m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro e 0,25 $\mu$ m espessura), com temperatura de 220°C no injetor e 240°C no detector, com temperatura inicial 100°C até 280°C. A identificação das substâncias foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados contido no aparelho de CG/EM.

Os dados experimentais obtidos foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa SANEST (Zonta et al., 1984). Para os dados quantitativos, aplicou-se a análise de regressão polinomial, e, por sua vez, para os dados qualitativos, utilizou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1, estão expressos os dados de massa seca da parte aérea e da colonização micorrízica. Observa-se efeito das interações entre as espécies de fungos e as doses de P, para essas duas variáveis.

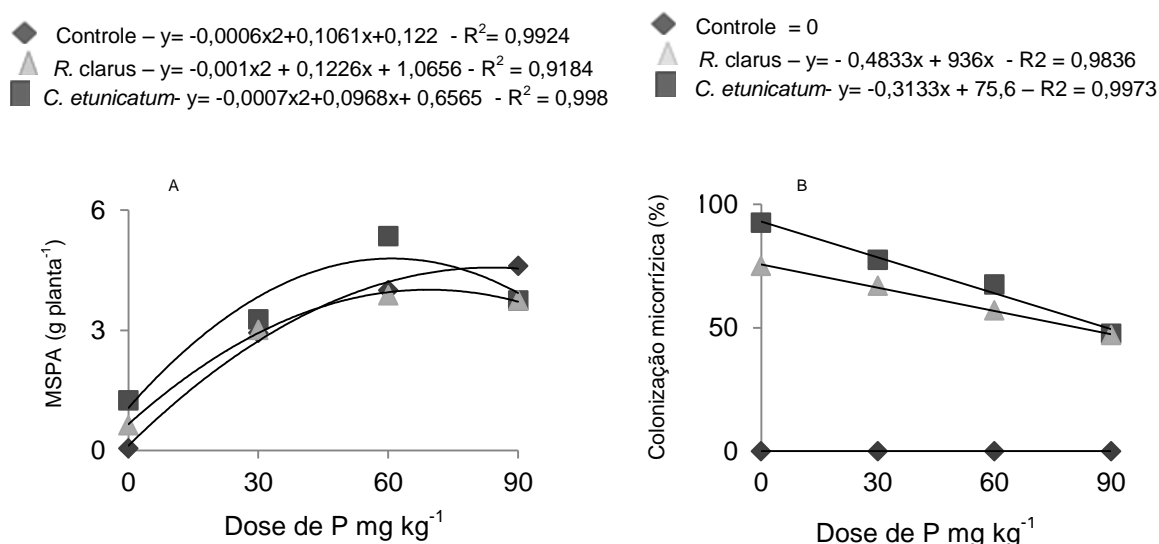


Figura 1. Efeitos das doses de P e da inoculação com FMAs sobre massa seca da parte aérea (MSPA) (g planta<sup>-1</sup>) e a colonização micorrízica (%) em plantas de Jambu (*A. oleracea*) aos 70 dias após a semeadura.

Quando não se utilizou a adubação fosfatada, as plantas inoculadas com *R. clarus* e *C. etunicatum* apresentaram um incremento na massa seca da parte aérea de 2232% e 1075%, respectivamente em relação às plantas não inoculadas com os FMAs (Figura 1A). Nesse sentido, Freitas et al. (2008) trabalhando com diferentes espécies de FMAs e doses de P em tanchagem verificaram que, na ausência da adubação fosfatada, as plantas inoculadas com *R. clarus* e *G. margarita* apresentaram incremento na produção de matéria seca na parte aérea correspondente à 898% e 238%, respectivamente em relação à obtida no tratamento sem inoculação. Heitor et al. (2016) observaram incremento de 20,9% e 18,3% da massa seca da parte aérea em plantas de calêndula cultivadas na ausência de adubação fosfatada e associadas com *G. margarita* e *R. clarus*, respectivamente, em relação as plantas não inoculadas.

Verificou-se regressão quadrática, tanto para as plantas inoculadas quanto para não inoculadas com produções máximas de massa seca da parte aérea (4,81; 4,82 e 4,0 g planta<sup>-1</sup>) obtidas nas doses estimadas 88,4; 61,3 e 69,1 mg kg<sup>-1</sup>, para os tratamentos sem inoculação, *R. clarus* e *C. etunicatum* (Figura 1A), respectivamente.

Para a colonização micorrízica (Figura 1B) observou-se regressão linear

decrecente com o aumento das doses de P, para os dois FMAs utilizados. Na ausência da adubação fosfatada, a porcentagem de colonização foi 92,5 e 75% para os tratamentos microbiológicos com *R. clarus* e *C. etunicatum*, respectivamente. A porcentagem micorrízica foi caindo com o aumento das doses de P, na maior dose utilizada ( $90 \text{ mg kg}^{-1}$ ) a porcentagem para os dois FMAs foi de 42,5%. Nesse sentido Moreira e Siqueira (2006) relataram que, em solos muito deficientes de P, uma pequena adição do nutriente favorece a colonização e a esporulação, porém podem ser inibidas com doses elevadas desse nutriente. E relatam ainda que as altas concentrações de P não tornam as plantas menos suscetível à colonização, apenas a reduzem, o que foi observado no presente trabalho. Segundo esses mesmos autores, existem algumas hipóteses que explicam essa inibição da colonização, dentre elas, a atividade da fosfatase, que, em condições de baixas concentrações de P, as plantas exibem elevada atividade de fosfatase nas raízes, as quais formam dímero com as lectinas, inativando-as e proporcionando o crescimento do fungo nas raízes, entretanto em altas concentrações de P, as atividades da fosfatase seriam baixas, deixando dessa forma as lectinas livres pra bloquear a penetração do fungo e conseqüentemente reduzindo a colonização.

Os conteúdos de fósforo, magnésio (Mg), cálcio (Ca), potássio (K), Manganês (Mn) e ferro (Fe), na parte aérea das plantas de jambu foram influenciados pelos tratamentos com os FMAs e pelas doses de P, havendo interação entre os fatores (Figura 2).

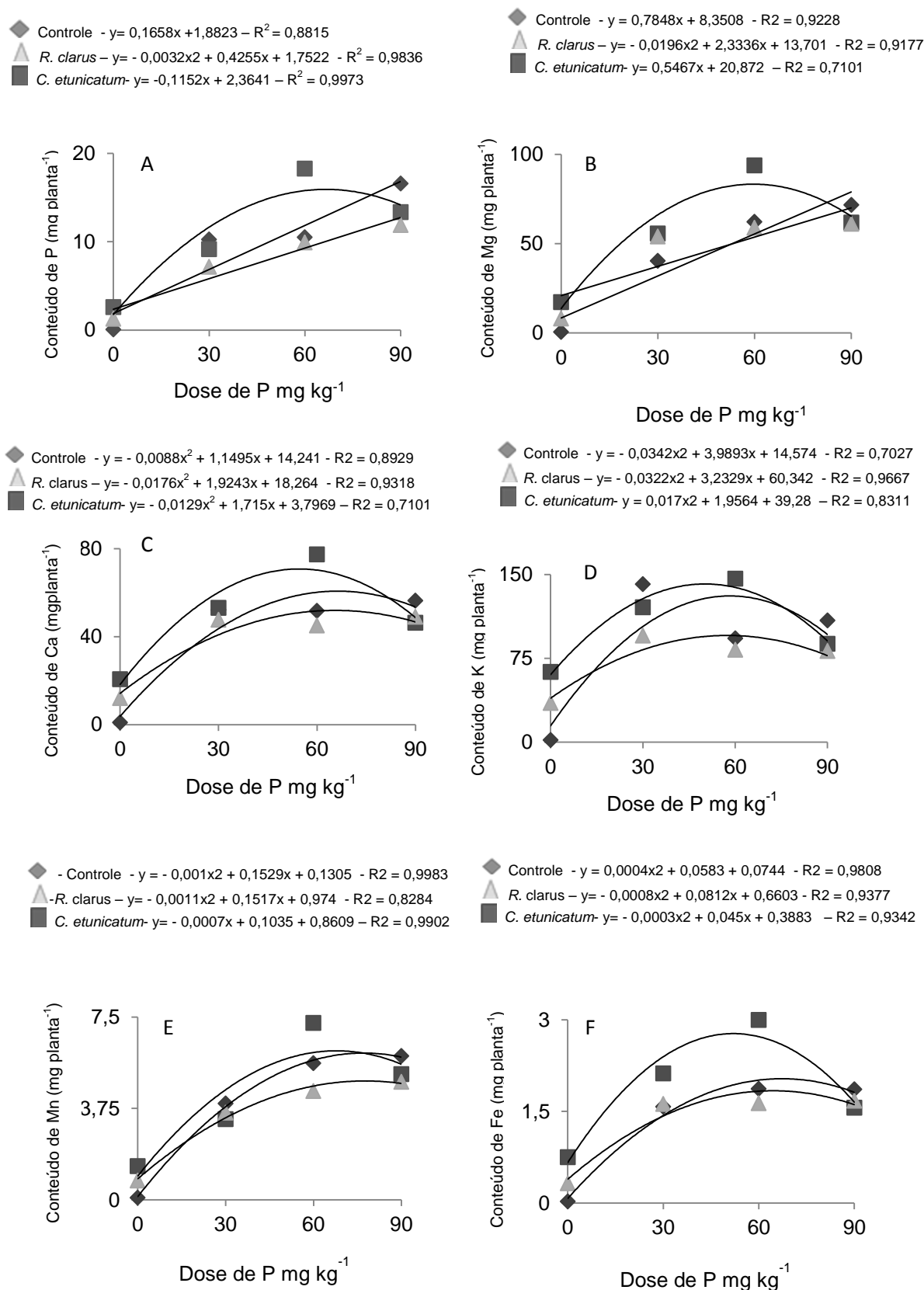


Figura 2. Efeitos das doses de P e da inoculação com FMAs sobre os conteúdos de P, K, Ca, Mg, Mn e Fe em plantas de Jambu (*A. oleracea*) aos 70 dias após a semeadura.

Na ausência da adubação fosfatada, os conteúdos de P (Figura 2A) apresentaram incremento de 3666%; 3408% e de Mg 1739%, 1542% (Figura 2B) para as espécies *R. clarus* e *C. etunicatum*, respectivamente, quando comparados ao tratamento sem inoculação. Para as plantas inoculadas com o *R. clarus* observou-se a equação da regressão quadrática, com ponto máximo nas doses estimadas 66,5 e 59,5 mg kg<sup>-1</sup> para P e Mg. Para os tratamentos com *C. etunicatum* e sem inoculação houve maior acúmulo destes nutrientes na parte aérea das plantas com o aumento das doses P. Riter Neto et al.(2014) observaram incremento de 3278%, 2978% e 3385% para o conteúdo de P na parte aérea de *Passiflora alata* Curtis inoculados *C. etunicatum*, *G. intraradices* e a combinação entre estas espécies cultivadas na ausência da adubação fosfatada. E de acordo com Marschner e Dell (1994) Os FMAs podem proporcionar aumentos estimados em até 80% na absorção de fósforo.

Os conteúdos de Ca e K (Figura 2C e 2D) para todos os tratamentos microbiológicos e os sem FMAs apresentaram regressão quadrática, com conteúdo máximo nas doses estimadas de 54,7; 66,5; 65,33 mg kg<sup>-1</sup> (Ca) e 50,2; 57,5; 58,3 mg kg<sup>-1</sup> (K) para *R. clarus*, *C. etunicatum* e o sem FMAs, respectivamente. Quando não se utilizou a adubação fosfatada, as plantas inoculadas com os FMAs promoveram incremento positivo no conteúdo desses nutrientes com 2024%; 1137% de Ca e 3093%; 1682% de K, para *R. clarus* e *C. etunicatum*, respectivamente. Sendo assim, observa-se a eficiência dos FMAs em acumular esses nutrientes nas plantas de jambu.

Quando não foi utilizada a adubação fosfatada, os FMAs incrementaram os conteúdos de Mn e Fe na parte das plantas de jambu (Figura 2E e 2F) em relação ao tratamento sem fungo. Os incrementos foram de 1464; 797% para o Mn e 2674; 1090% para o Fe, para as espécies *R. clarus* e *C. etunicatum*, respectivamente. Provavelmente essa maior absorção pode estar relacionado à maior colonização micorrízica nesses tratamentos (Figura 1B). Todos os tratamentos microbiológicos provocaram efeitos quadráticos nos conteúdos desses dois micronutrientes, com conteúdo máximo nas doses estimadas em 68,9; 73,9 e 76,5 mg kg<sup>-1</sup> para Mn e 50,8; 75 e 72,8 mg kg<sup>-1</sup> para o Fe, inoculadas com *R. clarus*, *C. etunicatum* e o tratamento sem inoculação, respectivamente.



Não houve diferença significativa entre os tratamentos inoculados com as duas espécies de FMAs para o conteúdo de N na parte aérea das plantas de jambu, cultivadas na ausência da adubação fosfatada, solo com  $6 \text{ mg kg}^{-1}$  (Tabela 1). As plantas do tratamento controle (sem FMAs e sem adubação fosfatada) não se desenvolveram e, por isso, não houve material vegetal suficiente para fazer análise do conteúdo de N. Entretanto, quando cultivadas na dose  $90 \text{ mg kg}^{-1}$ , as plantas sem inoculação apresentaram incremento de 30,5 e 44,7, respectivamente, quando comparados as inoculadas com *R. clarus* e *C. etunicatum*. Ainda nesse sentido, quando cultivadas na dose  $30 \text{ mg kg}^{-1}$  as plantas do tratamento sem fungo incrementaram 33%, em relação às inoculadas com *C. etunicatum*. Por outro lado, as plantas cultivadas na dose  $60 \text{ mg kg}^{-1}$  e inoculadas com o *R. clarus* apresentaram incremento de 72% e 45,4% em relação às inoculadas com o *C. etunicatum* e as sem inoculação, respectivamente. A equação da regressão e  $R^2$  para o *R. clarus* e *C. etunicatum* seguiu modelo quadrático e representada pelas seguintes equações  $y = -0,0422x^2 + 4,5857x + 44,27$ ,  $R^2 = 0,9453$  e  $y = -0,0238x^2 + 2,8652x + 31,443$ ,  $R^2 = 0,9429$ , nessa ordem (*R. clarus* e *C. etunicatum*). Para as plantas inoculadas com *R. clarus*, o máximo conteúdo de N ( $168,8 \text{ mg planta}^{-1}$ ) foi na dose estimada de  $54,3 \text{ mg kg}^{-1}$  e para as inoculadas com *C. etunicatum* ( $117,7 \text{ mg planta}^{-1}$ ), na dose estimada  $60 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Figura 1. Efeitos das doses de P e da inoculação com FMAs sobre os conteúdos de N ( $\text{mg Planta}^{-1}$ ) em plantas de jambu (*A. oleracea*) aos 70 dias após a semeadura.

Fungo	Dose de P ( $\text{mg kg}^{-1}$ de solo)			
	0	30	60	90
	Conteúdo de N ( $\text{mg planta}^{-1}$ )			
Sem FMA	-	140,6 a	125,1 b	145,05 a
<i>R. clarus</i>	48,2 a	127,9 ab	182,4 a	111,13 b
<i>C. etunicatum</i>	26,9 a	105,7 b	106,0 b	100,2 b
CV%	13,4			

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de tukey a nível de 5% de probabilidade.

Para todos os nutrientes, com a inoculação observou-se que o *R. clarus* incrementou maior conteúdo, isso foi refletido nos dados de massa seca da parte aérea e é provável que aumento da absorção desses nutrientes esteja relacionado com aumento da disponibilidade de P, mesmo nas plantas micorrizadas e cultivadas na dose 0 mg kg<sup>-1</sup>. Segundo Moreira e Siqueira (2006) plantas micorrizadas possuem maior capacidade de absorção e por isso acumulam maiores quantidades de macro e micronutrientes. Ainda segundo esses autores nas raízes micorrizadas, as hifas e micélios externos crescem e aumentam a área de exploração do solo e permitem a absorção de nutrientes fora da zona de esgotamento que surge ao redor das raízes em função da maior absorção. Diversos trabalhos demonstram a eficiência dos FMAs na absorção dos nutrientes pelas plantas, dentre os quais, Karagiannidis et al. (2011) observaram aumento nos conteúdos de N, P, Ca, Mg, B, Zn, Fe e Cu em plantas de orégano e hortelã, Moreira et al. (2015) nos conteúdos de N, P, K Ca e Mg em plantas de abacaxi imperial, Ortas (2012) nas concentrações de P, Zn em plantas de pimenta verde e milho e Freitas et al. (2008) melhorias no acúmulo de N, P e K em plantas de tanchagem.

Plantas inoculadas com *R. clarus* apresentaram maiores índices de dependência micorrízica (Figura 2). Quando não utilizou adubação fosfatada, a dependência micorrízica para essa espécie foi de 95,7%. No entanto nas doses 30 e 60 mg kg<sup>-1</sup>, a dependência foi de 10,3% e 25,2% respectivamente. Porém, na maior dose (90mg kg<sup>-1</sup>) as plantas de jambu não apresentaram dependência para esse FMA. Por outro lado, plantas de jambu inoculadas *C.etunicatum*, na ausência da adubação fosfatada, apresentaram dependência micorrízica de 91,5% (Figura 3). Quando cultivadas na dose 30mg kg<sup>-1</sup>, a dependência micorrízica foi de 2,5%. Nas maiores doses de P, (60 e 90mg kg<sup>-1</sup>) o jambu apresentou dependência negativa para esse fungo. Nesse sentido, Hippler e Moreira (2013) trabalhando com duas espécies de FMAs (*Glomus rósea* e *R. clarus*) e quatro doses de P (0, 75, 150 e 225 mg kg<sup>-1</sup>) em amendoazeiro observaram que a espécie *G. rosea* apresentou valores de dependência micorrízica entre 40 e 37% nas concentrações de P 0 e 75 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Nas demais doses, as plantas apresentaram dependência negativa para a espécie em questão. Por outro lado, plantas micorrizadas com

*R. clarus* apresentaram dependência micorrízica de 27% na dose 0 mg kg<sup>-1</sup> de P. Nas demais doses, o amendoizeiro não apresentou dependência positiva.

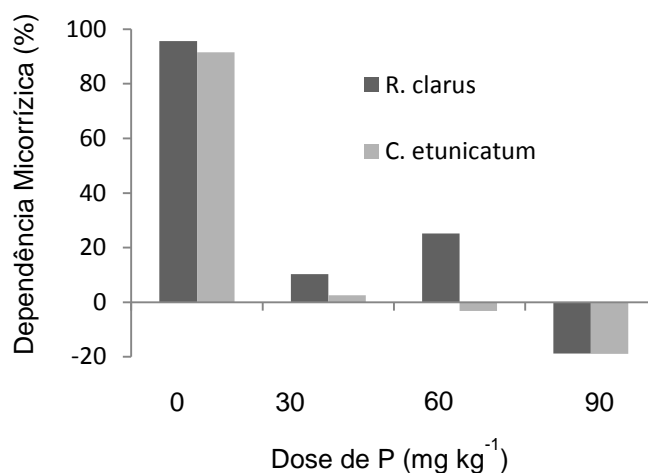


Figura 3. Dependência Micorrízica na produção de matéria seca de plantas micorrizadas de jambu (*A. oleracea*) em relação às diferentes doses de P aos 70 dias após a semeadura.

Para os dois FMAs utilizados, a dependência micorrízica foi diminuindo com o aumento das doses de P, isso pode estar relacionado, segundo Melloni et al, (2000), com a quantidade de micélio externo produzido, na qual consumiria maior quantidade de fotoassimilados, dessa forma, levaria um menor desenvolvimento da planta hospedeira.

É notória a dependência micorrízica das plantas de jambu em níveis baixos de P no solo para ambas as espécies de FMAs. É importante observar, quando não se utilizou FMA e Fósforo, as plantas de jambu tiveram o seu desenvolvimento comprometido, apresentando valores de massa seca de 0,054 g planta<sup>-1</sup>, enquanto que, as plantas inoculadas com *R. clarus* e *C. etunicatum*, a produção foi de 1,3 e 0,63 g planta<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 2). Assim, a inoculação com os FMAs pode ser uma alternativa para a produção da cultura do jambu. É importante ressaltar que para dependência micorrízica o *R. clarus* mostrou-se mais eficiente, quando as plantas foram cultivadas até as doses que proporcionaram maior produção de massa seca da parte aérea.

As plantas do tratamento sem a inoculação com os FMAs e na ausência da adubação fosfatada apresentaram crescimento muito limitado, e sua sobrevivência foi comprometida. Desta forma, não houve material vegetal suficiente para determinar conteúdos de fenóis totais, conteúdo de óleo e consequentemente, a área do espilantol (Tabela 2).

Tabela 2. Efeitos das doses de P e da inoculação com FMAs conteúdo de fenóis totais ( $\text{mg planta}^{-1}$ ), conteúdo de óleos essenciais ( $\text{mg planta}^{-1}$ ) e a porcentagem relativa de área do Espilantol em plantas de Jambu (*A. oleracea*) aos 70 dias após a semeadura.

Doses de P $\text{mg kg}^{-1}$	FMAs	Conteúdo de Fenóis totais ( $\text{mg planta}^{-1}$ )	Conteúdo de Óleos essenciais ( $\text{mg.planta}^{-1}$ )	espilantol (%)
0	Controle	-	-	-
	<i>G. clarus</i>	14,8 a	0,1 a	2,4 a
	<i>C. etunicatum</i>	8,2 b	0,03 b	nd
30	Controle	27,3 a	0,23 a	0,27 b
	<i>G. clarus</i>	35,4 a	0,22 a	2,03 a
	<i>C. etunicatum</i>	35,9 a	0,20 a	1,09 ab
60	Controle	48,4 b	0,30 a	0,76 c
	<i>G. clarus</i>	64,3 a	0,34 a	2,68 b
	<i>C. etunicatum</i>	52,1 b	0,30 a	5,2 a
90	Controle	56,9 a	0,38 a	4,4 a
	<i>G. clarus</i>	50,3 ab	0,24 b	3,7 a
	<i>C. etunicatum</i>	46,4 b	0,23 b	5,2 a
Cv%		14,6	3,9	30,04

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de tukey a nível de 5% de probabilidade dentro de cada dose.

Para conteúdo de fenóis totais na parte aérea de plantas de jambu, na ausência de aplicação de fósforo no solo, os tratamentos com os FMAs diferiram entre si. Plantas inoculadas com *R. clarus* apresentaram incremento de 80,5% na parte aérea das plantas em relação às inoculadas com *C. etunicatum*. O mesmo aconteceu com as cultivadas na dose  $60 \text{ mg kg}^{-1}$ . Quando inoculadas com *R. clarus*, incrementaram 23% e 33% em relação as inoculadas com *C. etunicatum* e não inoculadas, respectivamente. Estudando a influência de diferentes espécies de FMAs, em estufa e no campo na produção de compostos bioativos em plantas de alcachofra, Ceccarelli et al. (2010) observaram que o

conteúdo de fenóis totais nos tratamentos inoculados apresentaram valores superiores aos obtidos pelas plantas sem inoculação.

Quando cultivadas na dose  $30 \text{ mg kg}^{-1}$  de P, as plantas não apresentaram diferença significativa entre as inoculadas e não inoculadas. Entretanto, quando cultivadas na maior dose estudada ( $90 \text{ mg kg}^{-1}$ ) os FMAs não foram eficientes em acumular fenóis totais na parte aérea de plantas de jambu, o tratamento sem inoculação incrementou 13% e 22%, respectivamente em relação às inoculadas com *R. clarus* e *C. etunicatum*. Assim, Moreira e Siqueira, (2006) relataram que os maiores benefícios dos FMAs ocorrem em doses moderadas de P no solo, pois a aplicação em altas concentrações desse nutriente inibe a atuação dos FMAs. Estando de acordo com os dados do presente trabalho. A maior dose inibiu a eficiência dos FMAs, haja vista que, quando as plantas foram inoculadas, as doses, nas quais se obteve maior conteúdo de fenóis totais na parte aérea das plantas, foram estimadas em  $68,6 \text{ mg kg}^{-1}$  com conteúdo de fenol  $57,3 \text{ mg planta}^{-1}$  ( $y = -0,0096x^2 + 1,3163x + 12,24$ ,  $R^2 = 0,9027$ ) e  $68,3 \text{ mg kg}^{-1}$  de P com conteúdo de  $51,03 \text{ mg planta}^{-1}$  ( $y = 0,0093x^2 + 1,271x + 7,68$ ,  $R^2 = 0,9953$ ) para os fungos *R. clarus* e *C. etunicatum*, respectivamente.

Os conteúdos de óleos essenciais da parte aérea das plantas de jambu cultivadas nas doses de P ( $30$  e  $60 \text{ mg kg}^{-1}$ ) não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos microbiológicos. Já na maior dose ( $90 \text{ mg kg}^{-1}$ ), o tratamento sem inoculação foi mais eficiente na produção desses óleos, incrementando 58 e 65% em relação as plantas inoculadas com *R. clarus* e *C. etunicatum*, respectivamente. Porém, quando cultivadas na ausência da adubação fosfatada, a comparação foi entre os FMAs que apresentaram diferenças significativas entre os mesmos, logo as inoculadas com *R. clarus* incrementaram 233% em relação às inoculadas com o *C. etunicatum*. Freitas et al. (2004) observaram incremento de 483% e 600% no conteúdo de óleos essenciais em plantas *Mentha arvensis* inoculadas com *R. clarus* e *C. etunicatum*, respectivamente, em relação às plantas não inoculadas com FMAs. Para o presente trabalho, quando as plantas foram inoculadas, as doses, que proporcionaram maiores conteúdos de óleos essenciais ( $0,31$  e  $0,27 \text{ mg planta}^{-1}$ ) foram estimadas nas doses ( $60,8$  e  $59,3 \text{ mg kg}^{-1}$ ) de acordo com a equação da regressão ( $y = -6E-05x^2 + 0,0073x + 0,089$ ,  $R^2 = 0,9168$  e  $y = -7E-$

$05x^2+0,0083x+0,025$ ,  $R^2 = 0,9873$ ), para as plantas inoculadas com *R. clarus* e *C. etunicatum*, respectivamente.

Estudando o potencial de três FMAs (*Glomus fasciculatum*, *Glomus intraradices* e *Glomus mosseae*) em *Ocimum basilicum* (manjerição) Zolfaghari et al. (2013), observaram aumento significativo no teor e no rendimento de óleos essenciais, quando comparado com as plantas não inoculadas.

As análises dos óleos essenciais da parte aérea das plantas de jambu, analisadas pela cromatografia gasosa, apresentaram interação significativa entre os tratamentos microbiológicos e as doses de P (Tabela 2). Na ausência da adubação fosfatada, não foram identificadas a presença da molécula do espilantol, nas plantas inoculadas com o *C. etunicatum* talvez possa estar relacionado com o conteúdo de óleos essenciais, que por sua vez, foi relativamente baixo nesse tratamento. Entretanto, quando inoculadas com *R. clarus* a área relativa do Espilantol foi 2,4% do total da porcentagem de área relativa das substâncias encontradas. É importante ressaltar que o tratamento controle (sem FMAs e sem dose P) não foi analisado por falta de material vegetal.

Quando cultivadas na dose  $30 \text{ mg kg}^{-1}$ , as partes aéreas das plantas inoculadas proporcionaram um incremento de 652% na porcentagem de área relativa do espilantol, quando inoculadas com *R. clarus*, em relação as plantas não inoculadas. Entretanto, quando cultivadas, na dose  $60 \text{ mg kg}^{-1}$ , as plantas inoculadas com *C. etunicatum* diferiram das inoculadas *R. clarus* e das sem inoculação, com incremento de 94 e 584%, respectivamente. E as inoculadas com *R. clarus*, por sua vez, incrementaram 253% em relação às não inoculadas. Esses dados demonstram a eficiência dos FMAs em promoverem a qualidade dos óleos essenciais de jambu até essa dose, pois quando cultivadas nas doses  $90 \text{ mg kg}^{-1}$  de P, não apresentaram diferença significativas entre os tratamentos microbiológicos e os não inoculados com FMAs.

É conhecido que parte das plantas de jambu acumulam diferentes quantidades do princípio ativo que provoca, na mucosa oral, uma leve sensação de dormência, o espilantol. Dessa forma, Vulp et al. (2007) analisando caules, folhas e flores observaram, valores de porcentagem de área relativa diferentes para cada parte com: 0,1%; ,1,46% e 15,16% (caule, folhas e flores), nessa ordem. Essa pode ser uma das explicações para valores baixos de área relativa

do Espilantol do presente trabalho, já que Borges et al. (2014) analisando os óleos essenciais de jambu em CG (cromatografia Gasosa), não identificaram o espilantol nas folhas da planta. Borges et al. (2012), analisando folhas e inflorescência das plantas de jambu em cultivo orgânico e mineral, em duas épocas de coleta, observaram que a porcentagem da área relativa ao Espilantol foi identificada apenas nas inflorescências com valores de 3,7% e 4,09% no cultivo orgânico, primeira e segunda coleta, nessa ordem e, 2,53% e 3,84% em cultivo mineral, na primeira e segunda coleta, respectivamente. Ressalta-se que os autores não identificaram o espilantol, nas folhas, para todos os tratamentos.

## CONCLUSÕES

1. Os fungos micorrízicos arbusculares e as doses de P influenciam positivamente nos conteúdos nutricionais, fenóis totais, conteúdos e a qualidade dos óleos essenciais das plantas de *A. oleracea*.

2. Na ausência da adubação fosfatada, as espécies de FMAs utilizadas no presente trabalho apresentam benefícios na nutrição mineral das plantas de *A. oleracea*.

3. As espécies de FMAs utilizadas proporcionam aumento significativo no acúmulo dos nutrientes da parte aérea das plantas de *A. oleracea* até a dose  $60 \text{ mg kg}^{-1}$ .

4. As plantas de jambu, quando cultivadas na ausência da adubação fosfatada, são extremamente dependentes da colonização micorrízica. A espécie *R. clarus* responde positivamente todos as variáveis analisados, quando cultivadas na ausência da adubação fosfatada.

5. A espécie *C. etunicatum* proporciona aumento na porcentagem de área relativa do espilantol na dose  $60 \text{ mg kg}^{-1}$ , na parte aérea das plantas de jambu.

6. Os FMAs tiveram pouco influência no conteúdo de óleos essenciais na parte aérea de plantas de jambu.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- Anderson, J. M., Ingram, J. S. I. (1993) *Tropical soil biology and fertility: a handbook of methods*. 2ed. Wallingford: CAB International.
- Antunes, P., Franken, P., Schwarz, D., Rillig, M., Cosme, M., Scott, M., Hart, M., (2012) Linking soil biodiversity and human health: do arbuscular mycorrhizal fungi contribute to food nutrition. In: Wall, D.H., Bardgett, R.D., Behan-Pelletier, V., Herrick, H., Jones, J.E., Ritz, K., Six, J., Strong, D.R., van der Putten, W.H. (Eds.), *Soil Ecology and Ecosystem Services*. Oxford University Press, New York, NY, pp. 153–172.
- Borges, L.S., Nunes, K.N.M., Jacques, R.A., Lima, G.P.P. (2014) Perfil cromatográfico do óleo essencial de jambu identificados por cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas. *Cultivando o saber*, Volume 7 - n°3, p. 254 – 266.
- Borges, L.S., Vianello, F.; Marques, M.O.M.; Lima, Giuseppina P. P. (2012) Influence of Organic and Mineral Soil Fertilization and Essential Oil of *Spilanthes oleracea*. *American Journal of Plant Physiology*.
- Ceccarelli, N., Curadi, M., Martelloni, L., Sbrana, C., Picciarelli, P., Giovannetti, M. (2010) Mycorrhizal colonization impacts on phenolic content and antioxidant properties of artichoke leaves and flower heads two years after field transplant. *Plant Soil*, 335: 311-323p.
- Chakraborty, A., Devi, R.K.B., Rita, S.; Sharatchandra, K., Singht, T. I. (2004) Preliminary studies on antiinflammatory and analgesic activities of *Spilanthes acmella* in experimental animal models. *Indian J. Pharmacology*, n46, p. 148-150.
- Chakraborty, A., Devi, R.K.B., Sanjebam, R., Khumbong, S., Thokchom, I.S. (2010) Preliminary studies on local anesthetic and antipyretic activities of *Spilanthes acmella* Murr. in experimental animals models. *Indian J. Pharmacology*, n 42, p. 277-279.
- Dave, S., Jayashankar, D., Tarafdar, J.C. (2011) Effect of vesicular arbuscular mycorrhizae on growth and saponin accumulation in *Chlorophytum borivilianum*. *Science Asia*. 37. p-165–169.
- Ferreira, D.M., da Silva L.M., Mendes D.A.G.B., Cabrini D.A., Nascimento A.M., Iacomini M., Cipriani T.R., Santos A.R.S., Werner M.F.P., Baggio C.H. (2014) Rhamnogalacturonan from *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen: Gastroprotective and Ulcer Healing Properties in Rats. *PLoS One*. 9 (1).



- Fitter, A.H., Helgason, T., Hodge, A. (2011) Nutritional exchanges in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: implications for sustainable agriculture. *Fungal Biol. Rev.* 25, 68–72.
- Freitas, M.S.M., Martins, M.A., Vieira, I.J.C. (2004) Produção e qualidade de óleos essenciais de *Mentha arvensis* em resposta à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 39 (9): 887-894.
- Freitas, M.S.M., Martins, M.A., Carvalho, A.J.C. (2008) Produção de biomassa e teores de macronutrientes da tanchagem (*Plantago major* L.) em resposta a adubação fosfatada e micorrizas arbusculares. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.10, n.3, p.31-37.
- Gerbino, A., Schena G., Milano S., Milella L., Barbosa A.F., Armentano F., Procino G., Svelto M., Carmosino M. (2016) Spilanthol from *Acmella Oleracea* Lowers the Intracellular Levels of cAMP Impairing NKCC2 Phosphorylation and Water Channel AQP2 Membrane Expression in Mouse Kidney. *PLoS One*. 11 (5).
- Gerdemann, J. W., Nicolson, T. H. (1963) Spores of mycorrhizal *Endogone* extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 46.235-244.
- Giovannetti, M., Mosse, B. (1980) An evaluation of techniques for measuring VA mycorrhizal infection in roots. *The New Phytologist*. 84 (3): 489-500.
- Grace, C., Stribley, P. (1991) A safer procedure for routine staining of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research*, 95 (10): 1160-1162.
- Gusmão, M.T.A., Gusmão, S.A.L. (2013) *Jambu da Amazônia [Acmella oleracea (L.) R.K. Jansen]: características gerais, cultivo convencional, orgânico e hidropônico*. Belém: Universidade Federal Rural da Amazônia, 135p.
- Heitor, LC., Freitas, M.S.M., Brito, V.N., Carvalho, A.J.C., Martins, M.A. (2016). Crescimento e produção de capítulos florais de calêndula em resposta à inoculação micorrízica e fósforo. *Horticultura Brasileira*, 34: 026-030.
- Hippler, F.W.R., Moreira, M. (2013) Dependência micorrízica do amendoineiro sob doses de fósforo. *Bragantia*, Campinas, v. 72, n. 2, p.184-191.
- Jackson, M.L. (1965) *Soil chemical analysis*. Prentice Hall, 498p.
- Karagiannidis, N., Thomidis, T., Lazari, D., Panou-Filothou, E., Karagiannidou, C. (2011) Effect of three Greek arbuscular mycorrhizal fungi in improving the growth, nutrient concentration, and production of essential oils of orégano and mint plants. *Scientia Horticulturae*, v. 129, p. 329 – 334
- Ley, J. P., Krammer, G., Looft, J., Reinders, G., Bertram, H. J. (2006) Structure activity relationships of trigeminal effects for artificial and naturally

- occurring alkaloids related to spilanthol. *Flavour Science: Recent Advances and Trends*. p. 21-24.
- Lorenzi, H., Matos F.J.A. (2008) Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2.ed.. Nova Odessa, SP: *Instituto Plantarum*. 544 p.
- Marschner, H., Dell, B. (1994) Nutrient uptake in mycorrhiza. *Plant and Soil*, 159: 89-102.]
- Moreira, B.C., Mendes, F.C., Mendes, I.R., Paula, T.A., Prates Junior, P. Salomão, L.C.C., Stürmer, S.L., Otoni, W.C., A. Guarçoni, A.M., Kasuyaa, M.C.M. (2015) The interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and *Piriformospora indica* improves the growth and nutrient uptake in micropropagation-derived pineapple plantlets. *Scientia Horticulturae*. 197, p.183–192.
- Moreira, F.M.S., Siqueira, J.O. (2006) *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. 2º ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 729p.
- Nisha, M.C., Rajeshkumar, S. (2010) Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrition of *Wedelia chinensis* (Osbeck) Merril. *Indian Journal of Science and Technology*, 3 (6): 676-678.
- Ortas, I. (2012) Do maize and pepper plants depend on mycorrhizae in terms of phosphorus and zinc uptake? *J. Plant Nutr.*, 35 (2012), pp. 1639-1656.
- Pedone-Bonfim, M.V.L. (2012) *Tecnologia Micorrízica E P na maximização da Produção De Compostos Bioativos Com Potencial Medicinal Em Mudanças De Angico-Preto (Anadenanthera Colubrina (Vell.) Brenan)*. Tese (Mestrado em Biologia de Fungos) – Recife- PE, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, 40p.
- Peters, J.B. (2005) Wisconsin procedures for soil testing, plant analysis and feed e forage analysis: Plant analysis. Department of Soil Science, college of agriculture and life sciences, University of Wisconsin-Extension, Madison. [https://uwlax.soils.wisc.edu/wpcontent/uploads/sites/17/2015/09/plant\\_ic\\_p.pdf](https://uwlax.soils.wisc.edu/wpcontent/uploads/sites/17/2015/09/plant_ic_p.pdf)> Acesso em 24/02/2016.
- Plenchette, C., Fortin, J.A., Furlan, V. (1983) Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. *Plant Soil*, 70:199-209, 1983.
- Ratnasooriya, W. D, Pieris, K. P. P., Samarantunga, U., Jayakody, J. R. A. C. (2004) Diuretic activity of *Spilanthus acmella* flowers in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v.91, n.2-3, p.317-320.
- Ratti, N., Verma, H. N., Gautam, S. P. (2010) Effect of *Glomus* species on physiology and biochemistry of *Catharantus roseus*. *Indian Journal of Microbiology* 50: 355-360.

- Riter Netto, A.F., Freitas M.S.M., Martins, M.A., Carvalho, A.J.C., Vitorazi Filho, J.A. (2014) Efeito de fungos micorrízicos arbusculares na bioprodução de fenóis totais e no crescimento de *Passiflora alata* Curtis. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.16, n.1, p.1-9.
- Rocha, F., Muraoka, T., Scaramuzza, W.L.M.P., Scaramuzza, J. (2012) Eficiência de Forrageiras e Efeito da Micorriza na Absorção de Fósforo menos disponível do Solo. *Uniciências*, v. 16, n. 1, p. 17-24.
- Rodrigues, D.S., Camargo, M.S., Nomura, E.S., Garcia, V.A., Correa, J.N., Vidal, T.C.M. (2014) Influencia da adubação com nitrogênio e fósforo na produção de Jambu, *Acmella oleracea* (L) R.K. Jansen. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.16, n.1, p.71-76.
- Rouphael, Y., Dietmar Schwarz, D., Krumbeinb, A., Collac, G. (2010) Impact of grafting on product quality of fruit vegetables. *Scientia Horticulturae*, 127 (2010) 172–179
- Rouphael, Y., Frankenb, P., Schneider, C., Schwarz D., Giovannetti, M., Agnolucci, M., De Pascalea, S., Bonini, P., Colla, G. (2015) Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 196, p. 91–108.
- Vulpi, T.S., Morais, C.P.M., Trindade, A.P.F., Lima, M.C.H.P., Velozo, L.S.M. Kaplan, M.A. (2007) Análise do óleo essencial dos diferentes órgãos de *Acmella ciliata* Kunth (Asteraceae). *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 5, p. 1128-1130, Suplemento 2.
- Wu, L., Fan, N., Lin, M., Chu, I., Huang, S., Hu, C., Han, S. A. (2008) Anti-inflammatory effect of spilanthol from *Spilanthes acmella* on murine macrophage by downregulating LPS-induced inflammatory mediators. *J. agric. Food Chem.* v. 56, p. 2341–2349.
- Zolfaghari, M., Nazeri, V., Sefidkon, F., Rejali F. (2013) 'Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and essential oil content and composition of *Ocimum basilicum* L. *Iranian Journal of Plant Physiology*. 3 (2), 643-650.
- Zonta, E. P; Machado A.A.; Silveira Júnior P. (1984) *Sistema de análises estatísticas para microcomputadores (SANEST)*. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 151p.

### 3. RESUMO E CONCLUSÕES

O jambu (*Acmella oleracea* L.) R.K.Jansen é uma planta herbácea, da família asteracea, muito utilizada na culinária da região Norte do Brasil e também na medicina popular. A baixa concentração dos nutrientes minerais nos solos tropicais é um dos problemas que mais limita o desenvolvimento das plantas; no entanto as associações com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são uma alternativa de manejo que melhoram a absorção de nutrientes como o fósforo e ainda interferem em alguns parâmetros de qualidades das plantas. Diante disso, objetivou-se avaliar, o crescimento e produção de inflorescência, nutrição mineral e produção de espilantol em plantas de inoculadas ou não com Fungos Micorrízicos Arbusculares em diferentes doses fósforo no solo. O experimento foi realizado em casa de vegetação, em delineamento em blocos ao casualizados, esquema fatorial 3x4, com quatro repetições, sendo dois tratamentos microbiológicos: *Rhizophagus clarus* e *Claroideoglobus etunicatum*, além do controle (sem fungo), e quatro doses de Fósforo (0, 30, 60, 90 mg kg<sup>-1</sup>). Aos 70 dias após a semeadura foram feitas as análises morfo-agronômicas área foliar, número folhas, ramificações e inflorescências, bem como massa fresca e seca das folhas, ramificações e inflorescências, massa seca das raízes, porcentagem de colonização e dependência micorrízica, além da massa seca parte aérea, os conteúdos dos nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, Fe e Mn), dos fenóis totais, dos óleos essenciais e a porcentagem da área relativa do Espilantol. Plantas inoculadas

com *R. clarus* e *C. etunicatum*, incrementaram 668% e 588% para número de folhas, 6532%; 3317% para Área foliar e 2232% e 1075% para massa seca da parte aérea, respectivamente, em relação as não inoculadas. Com a adição de 30mg kg<sup>-1</sup>, em associação com *R. clarus* obtiveram um incremento de 162% de massa seca das raízes, quando inoculadas com esse mesmo fungo incrementaram 4500%, 110% e 13,66%, na massa fresca das folhas, nas doses 0, 30 e 60 mg P kg<sup>-1</sup>, respectivamente, quando comparadas ao tratamento sem FMA. Os FMAs proporcionaram maior absorção de nutrientes na parte aérea das plantas. O conteúdo de óleos e a área relativa do Espilantol aumentaram com a inoculação micorrízica. A utilização de FMAs no cultivo de jambu é uma alternativa capaz de proporcionar um maior crescimento das plantas. Os fungos micorrízicos arbusculares e as doses de P influenciam positivamente nos conteúdos nutricionais, fenóis totais, conteúdos e a qualidade dos óleos essenciais das plantas de *A. oleracea*. Na ausência da adubação fosfatada, as espécies de FMAs utilizadas no presente trabalho apresentam benefícios na nutrição mineral das plantas de *A. oleracea*. As espécies de FMAs utilizadas proporcionam aumento significativo no acúmulo dos nutrientes da parte aérea das plantas de *A. oleracea* até a dose 60 mg kg<sup>-1</sup>. As plantas de jambu, quando cultivadas na ausência da adubação fosfatada, são extremamente dependentes da colonização micorrízica. A espécie *R. clarus* responde positivamente todos os parâmetros analisados, quando cultivadas na ausência da adubação fosfatada. A espécie *C. etunicatum* proporciona aumento na porcentagem de área relativa do espilantol na dose 60 mg kg<sup>-1</sup>, na parte aérea das plantas de jambu e os FMAs tiveram pouco influência no conteúdo de óleos essenciais na parte aérea de plantas de jambu.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abeyasiri, G.R.P.I., Dharmadasa, R.M., Abeysinghe, D.C., Samarasinghe, K. (2013) Screening of phytochemical, physico-chemical and bioactivity of different parts of *Spilantes acmella* Murr (Asteraceae), a natural remedy for toothache. *Ind.Crop. Prod.* 50, 852–856.
- Alonso, J. (2008) Fitomedicina: curso para profissionais da área de saúde. São Paulo: Pharmabooks.
- Antunes, P., Franken, P., Schwarz, D., Rillig, M., Cosme, M., Scott, M., Hart, M., (2012) Linking soil biodiversity and human health: do arbuscular mycorrhizal fungi contribute to food nutrition. In: Wall, D.H., Bardgett, R.D., Behan-Pelletier, V., Herrick, H., Jones, J.E., Ritz, K., Six, J., Strong, D.R., van der Putten, W.H. (Eds.), *Soil Ecology and Ecosystem Services*. Oxford University Press, New York, NY, pp. 153–172.
- Araim, G., Saleem, A., Arnason, J.T., Charest, C. (2009) Root colonization by an arbuscular mycorrhizal (AM) fungus increases growth and secondary metabolism of Purple Coneflower, *Echinacea purpurea* (L.) Moench. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 57 (6): 2255-2258.
- Araújo, M.E.M. (2005) *Química Analítica aplicada aos produtos naturais. Departamento de química e bioquímica*. Faculdade de Ciências de Lisboa. Lisboa, 60p.
- Arriaga-Alba, M., Rios, M.Y., Déciga-Campos, M. (2013) Antimutagenic properties of affinin isolated from *Heliopsis longipes* extract. *Pharm. Biol.* 51, 1035–1039p.
- Augé, R.M., (2001) Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11, p.3–42.

- Barbosa A.F., Carvalho M.G., Smith R.E., Sabba-Srur A.U.O. (2016) Sphilitol: occurrence, extraction, chemistry and biological activities. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*.v 26 128–133p.
- Bécard, G., Piche, Y. (1989) Fungal growth stimulation by CO<sub>2</sub> and root exudates in vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Applied and Environmental Microbiology*, 55 (9): 2320-2325.
- Bizzo, H.R., Hovell A.M.C., Rezende, C.M. (2009) Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. *Química Nova*, 32(3):588-594.
- Boonen J., Baert B., Burvenich C., Blonde E.L.P, Saeger S., Spiegeleer B. (2010) LC-MS Profiling of Nalkylamides in *Spilanthes acmella* extract and the transmucosal behaviour of its main bioactive spilanthol, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 53(3): 243-249p.
- Borges, L.S. (2009) *Biomassa, teores de nutrientes, espilantol e atividade antioxidante em plantas de jambu (acmella ciliata kunth) sob adubações mineral e orgânica*. Tese (Mestrado em Agronomia - Horticultura) – Botucatu – SP, Universidade Estadual Paulista “Julio De Mesquita Filho” Faculdade De Ciências Agrônômicas Câmpus De Botucatu – UNESP, 108P.
- Borges, L.S., Guerrero, A.C., Goto, R., Lima, G.P.P. (2013) Produtividade e acúmulo de nutrientes em plantas de jambu, sob adubação orgânica e mineral. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 34, n. 1, p. 83-94.
- Borges, L.S., Nunes, K.N.M., Jacques, R.A., Lima, G.P.P. (2014) Perfil cromatográfico do óleo essencial de jambu identificados por cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas. *Cultivando o saber*, Volume 7- n°3, p. 254–266.
- Borges, L.S., Vieira, M.A.R., Marques, M.O.M., Vianello, F., Lima, G.P.P. (2012) Influence of Organic and Mineral Soil Fertilization on Essential Oil of *Spilanthes oleracea* cv Jambuarana. *Am. J. Plant Physiol.*, 7(3): 135-142.
- Camargo-Ricalde, S.L., Montañó, N.M., Rosamera, C.J.D.L., Arias, S.A.M. (2012) Micorrizas: una gran unión debajo del suelo. *Revista Digital Universitaria* v.13, n.7. p 1-8.
- Cardoso, M. O., Garcia, L. C. (1997) Jambu (*Spilanthes oleracea* L) In: Cardoso, M. O. (Org.). *Hortaliças não convencionais da Amazônia*. Embrapa-CPAA, Manaus, p. 134-140.
- Carlsen, S.C.K., Understrup, A., Fomsgaard, I.S., Mortensen, A.G., Ravnskov, S. (2008) Flavonoids in roots of white clover: interaction of arbuscular mycorrhizal fungi and a pathogenic fungus. *Plant and Soil*, 302 (1-2): 33-43.

- Carmo, E.S., Lima, E.O., Souza, E.L. (2008) The potential of *origanum vulgare* L. (Lamiaceae) essential oil in inhibiting the growth of some food-related aspergillus species. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 39, n.2, p. 362-367.
- Cavalcante, V.M.S. (2008) *Extração de espilantol de Spilanthus acmella* var. *oleracea* com dióxido de carbono supercítico. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Campinas - SP, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 165p.
- Ceccarelli, N., Curadi, M., Martelloni, L., Sbrana, C., Picciarelli, P., Giovannetti, M. (2010) Mycorrhizal colonization impacts on phenolic content and antioxidant properties of artichoke leaves and flower heads two years after field transplant. *Plant Soil*, 335: 311-323p.
- Chakraborty, A., Devi, R.K.B., Rita, S.; Sharatchandra, K., Singht, T. I. (2004) Preliminary studies on antiinflammatory and analgesic activities of *Spilanthus acmella* in experimental animal models. *Indian J. Pharmacology*, n46, p. 148-150.
- Chakraborty, A., Devi, R.K.B., Sanjebam, R., Khumbong, S., Thokchom, I.S. (2010) Preliminary studies on local anesthetic and antipyretic activities of *Spilanthus acmella* Murr. in experimental animals models. *Indian J. Pharmacology*, n42, p. 277-279.
- Coutinho, D.F., Agra, M.F., Basílio, I.J.L.D., Barbosa-Filho, J.M. (2006) Morphoanatomical study of the leaves of *Ocotea duckei* Vattimo (Lauraceae Lauroideae). *Revista Brasileira Farmacognosia*, Paraná, v. 16, p. 537-544, 2006.
- Dave, S., Jayashankar, D., Tarafdar, J.C. (2011) Effect of vesicular arbuscular mycorrhizae on growth and saponin accumulation in *Chlorophytum borivilianum*. *Science Asia*. 37. p-165–169.
- Dias, A.M.A, Santos P., Seabra I.J., Junior R.N.C., Braga M.E.M., Sousa H.C. (2012) Spilanthol from *Spilanthus acmella* flowers, leaves and stems obtained by selective supercritical carbon dioxide extraction. *Journal of Supercritical Fluids*. 61: 62–70p.
- Dubey, S., Maity, S., Singh, M., Saraf, S.A., Saha, S. (2013) Phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Spilanthus acmella*: a review. *Adv. Pharmacol. Sci.*, Article ID 423750, p 1-9.
- Ekanem A.P., Wang, M., Simon, J.E., Moreno, D.A. (2007) Antiobesity properties of two African plants (*Aframomum meleguetta* and *Spilanthus acmella*) by pancreatic lipase inhibition. *Phytotherapy Research*. 21, 1253–1255.
- Evelin, H., Kapoor, R., Giri, B. (2009) Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. *Annals of Botany*. 104, 1263–1280.



- Ferreira, D.M., da Silva, L.M., Mendes, D.A.G.B., Cabrini D.A., Nascimento A.M., Iacomini M., Cipriani T.R., Santos A.R.S., Werner M.F.P., Baggio C.H. (2014) Rhamnogalacturonan from *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen: Gastroprotective and Ulcer Healing Properties in Rats. *PLoS One*. 9 (1).
- Fitter, A.H., Helgason, T., Hodge, A. (2011) Nutritional exchanges in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: implications for sustainable agriculture. *Fungal Biol. Rev.* 25, 68–72.
- Freitas, M.S.M.; Martins, M.A.; Carvalho, A.J.C. (2008) Produção de biomassa e teores de macronutrientes da tanchagem (*Plantago major* L.) em resposta a adubação fosfatada e micorrizas arbusculares. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.10, n.3, p.31-37.
- Garg, N., Chandel, S. (2010) Arbuscular mycorrhizal networks: process and functions. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 30, 581–599.
- Gerbino A., Schena G., Milano S., Milella L., Barbosa A.F., Armentano F., Procino G., Svelto M., Carmosino M. (2016) Spilanthol from *Acmella oleracea* Lowers the Intracellular Levels of cAMP Impairing NKCC2 Phosphorylation and Water Channel AQP2 Membrane Expression in Mouse Kidney. *PLoS One*. 11 (5).
- Giovannetti, M., Avio, L., Sbrana, C. (2010) Fungal Spore Germination and Pre-symbiotic Mycelial Growth – Physiological and Genetic Aspects. In: Koltai, H., Kapulnik, Y. (eds) *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Second Edition. Springer, p. 3-32.
- Gobbo-Neto, L., Lopes, N.P. (2007) Plantas Mediciniais: Fatores De Influência No Conteúdo De Metabólitos Secundários. *Quimica Nova*, Vol. 30, No. 2, p.374-381.
- Grant, C. A., Flaten, D. N.; Tomasiewicz, D. J.; Sheppard, S. C.A. (2001) importância do fósforo no desenvolvimento inicial da planta. *Informações Agronômicas*, Piracicaba, *Instituto Potafós*, n. 95, p.16.
- Gusmão, M.T.A., Gusmão, S.A.L. (2013) *Jambu da Amazônia [Acmella oleracea (L.) R.K. Jansen]: características gerais, cultivo convencional, orgânico e hidropônico*. Belém: Universidade Federal Rural da Amazônia, 135p.
- Hajdu, A. (2014) An Ethnopharmacological Survey Conducted in the Bolivian Amazon, and Identification of N-alkylamides and Lignans from *Lepidium meyenii* and *Heliopsis helianthoides* var. *scabra* with Effects on the Central Nervous System. University of Szeged, Szeged, Hungary.
- Harrison, M.J. (2005) Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual Review of Microbiology*, 59: 19-42.
- Heitor, LC., Freitas, M.S.M., Brito, V.N., Carvalho, A.J.C., Martins, M.A. (2016). Crescimento e produção de capítulos florais de calêndula em resposta à inoculação micorrízica e fósforo. *Horticultura Brasileira*, 34: 026-030.

- Hernández, I., Márquez, L., Martínez, I., Dieguez, R., Delporte, C., Prietoa, S., MolinaTorres, J., Garrido, G. (2009) Anti-inflammatory effects of ethanolic extract and alkamides-derived from *Heliopsis longipes* roots. *J. Ethnopharmacol.* 124, 649–652.
- Hind, N., Biggs, N. (2003) *Acmella oleracea*: compositae. *Curtis's Botanical Magazine*, v. 20, n. 1, p. 31-39.
- Hollanda, E. (2012) O efeito anestésico do jambu na coleção da Natura. Disponível: <http://brasileiros.com.br/2012/03/o-efeito-anestesico-do-jambu-nacolecao-da-natura>. Acessado em 08/02/2017.
- Homma, A.K.O., Sanches, R.S., Menezes, A.J.E.A., Gusmão, S.A.L. (2014) Etnocultivo do Jambu para abastecimento da cidade de Belém, Estado do Pará. In: Homma, A.K.O (ed) *Estrativismo vegetal na Amazônia história, ecologia, economia e domesticação*. Brasília: Empresa Brasileira de pesquisa Agropecuária- EMBRAPA, Distrito Federal, p. 329-343.
- Hussain, I., Khader, J.A., Noor, S., Ullah, R., Talha, M., Badrullah, Ahmed, M. (2012) Study on the medicinal plant *Calandula officinalis*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6 (13): 973-978.
- Jacobson, M. (1957) The Structure of espilantol. *Chemistry and Industry*, v. 12, p. 50-51.
- Jayne, B., Quigley, M. (2014) Influence of arbuscular mycorrhiza on growth and reproductive response of plants under water deficit: a meta-analysis. *Mycorrhiza* 24, 109–119.
- Kadir, H.A., Zakaria, M.B., Kechil, A.A., Azirun, M.S. (1989) Toxicity and electrophysiological effects of *Spilanthes acmella* Murr. extracts on *Periplaneta americana* L. *Pest. Sci.* 25, 329–335.
- Kapoor, R., Chaudhary, V., Bhatnagar, A.K. (2007). Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua* L. *Mycorrhiza*. 17(7), 581-587.
- Karthikeyan, B., Joe, M.M., Jaleel, C.A. (2009) Response of some medicinal plants to vesicular arbuscular mycorrhizal inoculations. *Journal Scientific Research*, 1 (2), 381-386.
- Katz D.L., Doughty, K., Ali, A. (2011) Cocoa and chocolate in human health and disease. *Antioxidants& Redox Signaling*. 2011; 15(10): 2779-2811.
- Ley, J. P., Krammer, G., Looft, J.; Reinders, G.; Bertram, H. J. (2006) Structure activity relationships of trigeminal effects for artificial and naturally occurring alkamides related to spilanthol. *Flavour Science: Recent Advances and Trends*. p. 21-24.
- Li-chen, W., Nien-chu, F., Ming-hui, L., Inn-ray, C., Shu-jung, H., Ching-yuan, H., Shangyu, H. (2008) Anti-inflammatory Effect of Spilanthol from *Spilanthes acmella* on Murine Macrophage by DownRegulating LPS-

- Induced Inflammatory Mediators. *Journal Agric. Food Chemistry*. v. 56, p. 2341–2349.
- Lorenzi H., Matos F.J.A. (2008) Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2.ed.. Nova Odessa, SP: *Instituto Plantarum*. 544 p.
- Marschner, H., Dell, B. (1994) Nutrient uptake in mycorrhiza. *Plant and Soil*, 159: 89-102.
- Marschner, P. (2012) Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press. Third Edition., 651p.
- Mbeunkui, F., Grace, M. H., Lategan, C., Smith, P. J., Raskin, I., Lila, M. A. (2011) Isolation and identification of antiplasmodial N-alkylamides from *Spilanthes acmella* flowers using centrifugal partition chromatography and ESI-IT-TOF-MS. *Journal of Chromatography B*, v. 879, p. 1886-1892.
- Molina-Torres, J., Salazar-Cabrera, C.J., Armenta-Salinas, C., Ramírez-Sánchez, E. (2004) Fungistatic and bacteriostatic activities of alkaloids from *Heliopsis longipes* roots: affinin and reduces amides. *J. Agric. Food Chem.* 52, p. 4700–4704.
- Mondal, A. K., Parui, S., Mandal, S. (1998) Analysis of the free amino acid content in pollen of nine Asteraceae species of known allergenic activity. *Annual Agriculture and Environment Medicine*, v. 5, p. 17–20
- Moreira, F.M.S., Siqueira, J.O. (2006) *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. 2º ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 729p.
- Moreno, S.C., Carvalho, G.A., Picanc, o, M.C., Morais, E.G.F., Pereira, R.M. (2012) Bioactivity of compounds from *Acmella oleracea* against *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) and selectivity to two non-target species. *Pest Manag. Sci.* 68, p.386–393.
- Nell, M., Vötsch, M., Vierheilig, H., Steinkellner, S., Zitterl-Eglseer, K., Franz, C., Novak, J. (2009) Effect of phosphorus uptake on growth and secondary metabolites of garden sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of the Science of food and Agriculture*, 89: p.1090-1096.
- Nisha, M.C., Rajeshkumar, S. (2010) Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrition of *Wedelia chinensis* (Osbeck) Merril. *Indian Journal of Science and Technology*, 3 (6): 676-678.
- Nomura E.C., Rodrigues M.R., da Silva C.F., Hamm L.A., Nascimento A.M., de Souza LM, Cipriani T.R., Baggio C.H., Werner M.F. (2013) Antinociceptive effects of ethanolic extract from the flowers of *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen in mice. *J Ethnopharmacol.* 150(2): p.583-589.
- Okoh, O. O., Sadimenko, A. P., Afolayan, A. J. (2010) Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L.

obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Food Chemistry*, v. 120, p. 308-312.

- Oliveira, D.C.R., Soares, E.K.B., Fernandes, H.R., Brasil, S.N.S. (2014) Elaboração e caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de pasta de alho condimentada com jambú (*Spilantes oleraceae* L.) desidratado. *Scientia Plena*, v.10, n.01.
- Owen, D., Williams, A.P., Griffith, G.W., Withers, P.J.A. (2015) Use of commercial bio-inoculants to increase agricultural production through improved phosphorus acquisition *Appl. Soil Ecol.*, 86, p. 41–54.
- Parente, L.M.L., Silva, M.S.B., Brito, L.A.B., Lino-Júnior, R.S., Paula, J.R., Trevenzol, L.M.F., Zatta, D.T., Paulo, N.M. (2009) Efeito cicatrizante e atividade antibacteriana da *Calendula officinalis* L. cultivada no Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, 11 (4): 383-391.
- Parniske, M. (2008) Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *nature reviews microbiology*. V6, p. 763-775.
- Paulraj, J., Govindarajan, R., Palpu, P. (2013) The genus *Spilanthes* ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacological properties: a review. *Adv. Pharmacol. Sci.* 1-22 p.
- Pedone-Bonfim, M.V.L. (2012) *Tecnologia Micorrízica E P Na Maximização Da Produção De Compostos Bioativos Com Potencial Medicinal Em Mudanças De Angico-Preto (Anadenanthera Colubrina (Vell.) Brenan)*. Tese (Mestrado em Biologia de Fungos) – Recife- PE, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, 40p.
- Peiris, K. P. P., Silva, G.K.J., Ratnasooriya, W. D. (2001) Analgesic activity of water extract of *Spilanthes acmella* flowers on rats. *Journal of Tropical Medicinal Plants*, v. 2, p. 201-204.
- Peterson, R.L., Massicotte, H.B., Melville, L.H. (2004) *Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology*. *National Research Council of Canada*, 173p.
- Poltronieri, M. C., Muller, N. R. M. E Poltronieri, L. S. (2000) Recomendações para produção de Jambu: Cultivar Nazaré. *Embrapa – Circular Técnica*, n. 11.
- Porcel, R., Aroca, R., Ruiz-Lozano, J.M. (2012) Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi. *Agron. Sustain. Dev.* 32, 181–200.
- Prachayasittukul, V., Prachayasittukul, S., Ruchiwarat, S., Prachayasittukul, V. (2013) High therapeutic potential of *Spilanthes acmella*: a review. *Excli J.* 12, 291–312.
- Prado, R.M., Vale, D.W.do. Romualdo, L.M. (2005) Fósforo na nutrição e produção de mudas de maracujazeiro. *Acta Scientiarum Agronomy*, 27 (3): 493-498.

- Rajkumar, S.; Jebanesan, A. (2010) Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena dentata* (Willd) M. Roam. (Rutaceae) against the chikungunya vector, *Aedes aegypti* Linn. (Diptera: Culicidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, v. 13, p. 107-109.
- Ramsewak, R.S., Erickson, A.J., Nair, M.G. (1999) Bioactive N-isobutylamides from the flower buds of *Spilanthes Acmella*. *Phytochemistry* 51, 729–732.
- Ratnasooriya, W. D, Pieris, K. P. P., Samaratunga, U., Jayakody, J. R. A. C. (2004) Diuretic activity of *Spilanthes acmella* flowers in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v.91, n.2-3, p.317-320.
- Ratti, N., Verma, H. N., Gautam, S. P. (2010) Effect of *Glomus* species on physiology and biochemistry of *Catharantus roseus*. *Indian Journal of Microbiology* 50: 355-360.
- Regadas, R. P. (2008) *Efeito do jambu (Acmella oleracea) sobre a função sexual masculina e Feminina*. Tese (mestrado em cirurgião) Fortaleza – CE, Universidade Federal do Ceará – UFC, 70p.
- Rios, M.R., Olivo, H.F. (2014) Natural and synthetic alkylamides: applications in pain therapy. In: Atta-Ur-Rahman (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier, New York, p. 79–118.
- Rios, M.Y., Aguilar-Guadarrama, A.B., Gutierrez, M.D. (2007) Analgesic activity of affinin, an alkalamide from *Heliopsis longipes* (Compositae). *J. Ethnopharmacol.*
- Riter Netto, A.F., Freitas M.S.M., Martins, M.A., Carvalho, A.J.C., Vitorazi Filho, J.A. (2014) Efeito de fungos micorrízicos arbusculares na bioprodução de fenóis totais e no crescimento de *Passiflora alata* Curtis. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.16, n.1, p.1-9.
- Rocha, F., Muraoka, T., Scaramuzzaa, W.L.M.P., Scaramuzza, J. (2012) Eficiência de Forageiras e Efeito da Micorriza na Absorção de Fósforo menos disponível do Solo. *Uniciências*, v. 16, n. 1, p. 17-24.
- Rouphael, Y., Dietmar Schwarz, D., Krumbeinb, A., Collac, G. (2010) Impact of grafting on product quality of fruit vegetables. *Scientia Horticulturae*, 127 (2010) 172–179
- Rouphael, Y., Frankenb, P., Schneider, C., Schwarz D., Giovannetti, M., Agnolucci, M., De Pascalea, S., Boninif, P., Colla, G. (2015) Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 196, p. 91–108.
- Saggin Junior, O.J., Siqueira, J.O. (1996) Micorrizas arbusculares em cafeeiro. In: Siqueira, J.O. (Ed.). *Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas*. Lavras: UFLA: DCS/ DCF, p. 203-254.
- Scalbert A., Johnson I.T., Saltmarsh M. (2005) Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am J Clin Nutr.* 81: p. 215S-217S.

- Schüßler, A., Shwarzott, D., Walker, C. (2001) A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105 (12): 1413-1421.
- Seguel, A., Cumming, J.R., Klugh-Stewart, K., Cornejo, P., Borie, F. (2013) The role of arbuscular mycorrhizas in decreasing aluminium phototoxicity in acidic soils: a review. *Mycorrhiza* 23, 167–183.
- Sharma, A., Kumar, V., Rattan, R.S., Kumar, N., Singh, B. (2012) Insecticidal toxicity of spilanthol from *Spilanthus acmella* Murr. Against *Plutella xylostella* L. *Am. J. Plant Sci.* 3, p.1568–1572.
- Siani A.C., Sampaio, A.L.F., Sousa M.C., Henriques M.G.M.O., Ramos, M.F.S. (2000) Óleos essenciais - potencial antiinflamatório. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento* 16: 38-43.
- Silva, S.L., Char, J. S., Figueiredo, P.M.S., Yano, T. (2008) Cytotoxic evaluation of essential oil from *Casearia sylvestris* Sw on human cancer cells and erythrocytes. *Acta Amazônica*. v. 38, n. 1.
- Siqueira, J.O., Lambais, M.R., Sturmer, S.L. (2002) Fungos micorrízicos arbusculares. *Biotecnologia da Ciência e Desenvolvimento*, 25: 12- 21.
- Smith, S.E., Read, D.J. (2008) *Mycorrhizal Symbiosis*. 3<sup>o</sup> ed. Califórnia: Academic Press, 605p.
- Steinkellner, S., Lenzemo, V., Langer, I., Schweiger, P., Khaosaad, T., Toussaint, J., Vierheilig, H. (2007) Flavonoids and strigolactones in root exudates as signals in symbiotic and pathogenic plant-fungus interactions. *Molecules*, 12: 1290-1306.
- Taiz, L., Zeiger, E. (2013) *Fisiologia Vegetal*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 918 p.
- Vizzoto, M.; Krolow, A.C.; Weber, G.E.B. (2010) *Metabólitos Secundários Encontrados em Plantas e sua Importância*. Documentos 316. Pelotas: Embrapa Clima Temperado.
- Volpin, H., Elkind, Y., Okon, Y., Kapulnik, Y. (1994) A vesicular arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus intraradix*) induces a defense response in alfalfa roots. *Plant Physiology*, v.104, p.683-689.
- Wannes, W.A., Mhamdi, B., Sriti, J., Jemia, M.B., Ouchikh, O., Hamdaoui, G., Kchouk, M.E., Marzou, B. (2010) Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. *Food and Chemical Toxicology*, v. 48, p. 1362-1370.
- Wu, L., Fan, N., Lin, M., Chu, I., Huang, S., Hu, C., Han, S. A. (2008) Anti-inflammatory effect of spilanthol from *Spilanthus acmella* on murine macrophage by downregulating LPS-induced inflammatory mediators. *J. agric. Food Chem.* v. 56, p. 2341–2349.

- Yadav, K., Singh, N., Aggarwal, A. (2012) Arbuscular Mycorrhizal Technology for the Growth Enhancement of Micropropagated *Spilanthes acmella* Murr. *Plant Protect. Sci.*, Vol. 48, 2012, No. 1: 31–36.
- Yao, Q., Zhu, H.H., Hu, Y.L., Li, LQ. (2008) Differential influence of native and introduced arbuscular mycorrhizal fungi on growth of dominant and subordinate plants. *Plant Ecology*. 196: 261-268.
- Zolfaghari, M., Nazeri, V., Sefidkon, F., Rejali F. (2013) 'Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and essential oil content and composition of *Ocimum basilicum* L. *Iranian Journal of Plant Physiology*. 3 (2), 643-650.