

## NOTAS CIENTÍFICAS

### OCORRÊNCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E AZOTOBACTER PASPALI EM PASPALUM NOTATUM<sup>1</sup>

ELIZABETH YING CHU<sup>1</sup>, ARLENE MARIA GOMES OLIVEIRA<sup>2</sup>, TASSIO DRECH RECH<sup>3</sup>,  
ARMANDO TAPIA-HERNANDEZ<sup>4</sup>, MAURO AUGUSTO DE PAULA,  
ELIANA MARIA DA SILVA MONTEIRO e JOHANNA DÖBEREINER<sup>5</sup>

RESUMO - A ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e de *Azotobacter paspali* em *Paspalum notatum* cv. Batatais e a associação desta bactéria diazotrófica com os esporos dos FMAs nativos do solo foram verificadas em amostras de solo e planta coletadas em quatro áreas de gramado, localizadas no município de Itaguaí, RJ, câmpus da UFRRJ e Embrapa-CNPAB. *A. paspali* foi encontrada em solo rizosférico, e em rizomas, raízes e folhas de *P. notatum* cv. Batatais; a face inferior das folhas apresentou maior ocorrência de *A. paspali*; foram observadas altas porcentagens de colonização micorrízica e de densidade de esporos, com predominância do gênero *Glomus*; *A. paspali* não ocorreu na superfície ou dentro dos esporos de FMA.

#### OCCURRENCE OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI AND OF AZOTOBACTER PASPALI IN PASPALUM NOTATUM

ABSTRACT - Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and *Azotobacter paspali* in *Paspalum notatum* cv. Batatais and the association of this diazotrophic bacterium with indigenous AMF spores were verified in soil and plant samples collected in four different lawn areas, at the campus of UFRRJ and Embrapa-CNPAB, in the county of Itaguaí, RJ, Brazil. *A. paspali* was isolated from rhizosphere soil, rhizome, roots and leaves of *P. notatum* cv. Batatais; underleaf surface showed the greatest occurrence of *A. paspali*; high root colonization rate and spore density of AMF were found in root and soil samples of *P. notatum*, with predominance of the genus *Glomus*; *A. paspali* was not found neither inside nor on the surface of the AMF spores.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 20 de outubro de 1997.

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup>, M.Sc., Embrapa-Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (CPATU), Trav. Dr. Eneas Pinheiro S/N, Bairro do Marco, CEP 66095-100 Belém, PA. E-mail: beth@libnet.com.br

<sup>3</sup> Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup>, M.Sc., Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical (CNPMT), Caixa Postal 007, CEP 44380-000 Cruz das Almas, BA. E-mail: arlene@cnpmt.embrapa.br

<sup>4</sup> Eng. Agr., M.Sc., EPAGRI, Estação Experimental de Lages, Caixa Postal 181, CEP 88502-970 Lages, SC.

<sup>5</sup> Eng. Agr., M.Sc., Centro de Investigaciones Microbiológicas, Universidad Autónoma de Puebla, Apdo Postal 1622, Puebla, México.

<sup>6</sup> Eng. Agr., Dr., Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (CNPAB), CEP 23851-970 Seropédica, Itaguaí, RJ.

O estudo da associação de bactérias fixadoras de nitrogênio com gramíneas vem ganhando o interesse da pesquisa, dada a grande importância que essas plantas representam como fonte de alimentos básicos. Populações dessas bactérias associadas na rizosfera das plantas, com um mecanismo ainda não esclarecido, demonstram certa capacidade em selecionar o sítio na planta para se multiplicarem. A *Azotobacter paspali* se associa quase que exclusivamente com *Paspalum notatum* cv. Batatais, e se multiplica principalmente nas raízes da planta (Döbereiner, 1970), embora a atividade da nitrogenase tenha sido detectada também na rizosfera e rizoma, porém não nas folhas (Döbereiner et al., 1972).

A associação simbiótica entre planta e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) tem sido frequentemente relatada. Porém, a associação de FMA e outros microorganismos da rizosfera ainda é pouco estudada.

Já foi observada a presença de bactérias na superfície das hifas, nos esporos e no citoplasma dos esporos de FMA (Azcón, 1989), e dessa associação resultou a intensificação dos efeitos benéficos de micorrização (Ho, 1988; Azcón, 1989), o aumento da colonização micorrízica, e a esporulação de *Glomus clarum* (Paula et al., 1991). Embora a constante associação de FMA e bactérias diazotróficas seja relatada em culturas de batata-doce (Paula et al., 1993), cana-de-açúcar (Boddey et al., 1990), festuca (Ho, 1988) e sorgo-sacarina (Pacovsky et al., 1985), a associação de FMA e *A. paspali* em *P. notatum* ainda não foi estudada.

O presente trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de *A. paspali* e FMA em *P. notatum* cv. Batatais e a associação desta bactéria diazotrófica com os esporos de FMAs nativos.

Foram coletadas amostras de solo e plantas de *Paspalum notatum* cv. Batatais, no município de Itaguaí, RJ, no câmpus da UFRRJ e Embrapa-CNPAB. Em áreas homogêneas de 5 x 5 m, foram retiradas três amostras de quatro blocos de solo com 20 x 20 x 10 cm.

O isolamento da *A. paspali* foi feito no solo, solo de rizosfera, água de lavagem de raízes (rizoplano), folhas, rizomas e raízes, onde foi utilizado o meio proposto por Döbereiner et al. (1972), com adição de 1 g de CaCO<sub>3</sub> e 17 g de ágar por litro de meio de cultura. Foram incubadas, ainda, a face inferior ou superior de folhas de *P. notatum* cv. Batatais, provenientes de locais completamente expostos a insolação e a locais sombreados. Foi avaliada a taxa de redução do acetileno das colônias de *A. paspali*, por cromatografia gasosa.

A avaliação da ocorrência de FMA, foi feita em 50 g de cada amostra de solo, por contagem de esporos, conforme método descrito por Gerdemann & Nicolson, modificado por Lopes et al. (1983), e por identificação de esporos. Em amostras de 0,3 g de raízes finas de *P. notatum* cv. Batatais foram determinadas as porcentagens de colonização de raízes pelo método de Giovanetti & Mosse (1980).

Para observação da associação de bactérias e FMAs, os esporos, inteiros ou macerados, extraídos do solo, foram colocados em placas-de-petri contendo meio específico para *A. paspali*. A identificação das colônias de bactérias então desenvolvidas foi realizada pela observação microscópica.

*A. paspali* foi encontrada na rizosfera, no rizoplano, na raiz, nos rizomas e nas folhas de *P. notatum* cv. Batatais. Foi observada, pela primeira vez, a ocorrência de *A. paspali* em folhas de *P. notatum* cv. Batatais.

Todas as amostras em que a presença de *A. paspali* foi identificada deram origem a isolados com capacidade de reduzir o acetileno; a taxa de redução do acetileno (ARA) variou de 24 a 176 nm C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/h/3 colônias. Döbereiner et al. (1972) detectaram ARA em solo rizosférico, rizoplano, raiz e rizoma de *P. notatum*, mas não nas folhas.

Como as amostras do citado trabalho foram coletadas em períodos diferentes do ano e passaram por períodos de refrigeração e transporte prolongado, as amostras de folhas sofreram, possivelmente, maiores alterações, por serem mais vulneráveis às mudanças ambientais.

A ocorrência de *A. paspali* foi constante nas faces inferiores das folhas, independentemente da luminosidade. Além de ser uma fonte de fornecimento de carboidratos para fixação biológica de N, a face inferior das folhas oferece proteção contra a incidência direta dos raios solares. A formação de colônias, em amostras onde apenas os pêlos entraram em contato com o meio de cultura, evidenciou a presença de *A. paspali* nos tricomas das folhas.

As colônias formadas a partir das folhas foram praticamente puras, o que mostra predominância de *A. paspali* nas folhas de *P. notatum* cv. Batatais.

Não houve formação de colônias na região da placa-de-petri onde o corte da folha entrava em contato com o meio de cultura, o que evidencia a ausência da bactéria dentro da planta.

O número de esporos de FMA recuperado variou de 160 a 556 esporos/50 g de amostra de solo com uma média de 408 esporos. As espécies de FMA identificadas foram: *Glomus occultum*, *Glomus etunicatum*, *Glomus* spp., *Acaulospora spinosa*, *Acaulospora* spp., *Scutellospora heterogama* e *Gigaspora* spp., sendo o gênero *Glomus* predominante.

Foram verificadas, também, elevadas taxas de colonização micorrízica nas amostras de raízes de *P. notatum* cv. Batatais, variando de 56% a 86%, com uma média de 69%. Miller et al. (1979) encontraram número relativamente alto de esporos de FMA no solo de cerrado, onde foi cultivado *P. notatum* cv. Batatais. *Glomus macrocarpum* e *G. mosseae* foram as duas espécies com maior ocorrência, e a taxa de colonização foi de 49%, em média. No Estado de Minas Gerais, Siqueira et al. (1989) recuperaram, de 50 mL de solo sob *Paspalum* spp., uma média de 61 esporos de FMA, predominando a espécie *Entrophospora colombiana*. A taxa de colonização variou de 31 a 56%, com média de 41%.

As bactérias diazotróficas já foram isoladas dos esporos de cinco espécies de FMAs (Tillak, 1989). Em cultura de batata-doce, Paula et al. (1991) observaram a presença de *Azospirillum lipoferum*, *Klebsiella* sp. e *A. diazotrophicus* dentro dos esporos de *Glomus clarum*.

Neste trabalho não foi observada a formação de colônias de *A. paspali* a partir de esporos de FMA inteiros ou macerados. Como os esporos foram extraídos do solo não-rizosférico, a possibilidade de estarem associados a bactérias diazotróficas é relativamente menor. Durante a identificação de FMA, foi observada a constante presença de uma bactéria de célula pequena, na

superfície e dentro de esporos. Novos estudos devem ser realizados, com a utilização de outros meios seletivos.

### REFERÊNCIAS

- AZCÓN, R. Selective interaction between free-living rhizosphere bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.21, n.5, p.639-644, 1989.
- BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S.; DÖBEREINER, J.; REIS, V.M. Fixação biológica de nitrogênio em cana-de-açúcar. *Alcool & Açúcar*, São Paulo, v.10, n.53, p.12-21, 1990.
- DÖBEREINER, J. Further research on *Azotobacter paspali* and its variety specific occurrence in the rhizosphere of *Paspalum*. *Flügge Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde (Abteilung 2)*, Alemanha, v.124, p.233-230, 1970.
- DÖBEREINER, J.; DAY, J.M.; DART, P.J. Nitrogenase activity and oxygen sensitivity of the *Paspalum notatum*-*Azotobacter paspali* association. *Journal of General Microbiology*, London, v.71, p.103-116, 1972.
- GIOVANETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular infection in roots. *New Phytologist*, Oxford, v.84, p.489-500, 1980.
- HO, I. Interaction between VA-mycorrhizae fungus and *Azotobacter* and their combined effects on growth of tall fescue. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.105, p.291-293, 1988.
- LOPES, E.S.; OLIVEIRA, E.; DIAS, R.; SHENCK, N.C. Occurrence and distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in coffee (*Coffea arabica* L.) plantations in Central São Paulo State, Brazil. *Turrialba*, San José, v.33, n.4, p.417-422, 1983.
- MILLER, R.H.; CARDOSO, E.J.B.N.; CARDOSO, C.D.N. Some observations on mycorrhizal infection of tropical forage legumes and grasses in Brazil. *Summa Phytopathology*, Piracicaba, v.5, n.3, p.168-172, 1979.
- PACOVSKY, R.S.; FALLER, G.; PAUL, E.A. Influence of soil on the interactions between endomycorrhizae and *Azospirillum* in sorghum. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.17, p.523-531, 1985.
- PAULA, M.A.; REIS, V.M.; DÖBEREINER, J. Interactions of *Glomus clarum* with *Acetobacter diazotrophicus* in infection of sweet potato (*Ipomoea batatas*), sugarcane (*Sorghum vulgare*). *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, v.11, p.111-115, 1991.
- PAULA, M.A.; SIQUEIRA, J.O.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares e de bactérias diazotróficas em batata-doce. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v.17, p.349-356, set./dez. 1993.
- SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI FILHO, A.; OLIVEIRA, E. de. Ocorrência de micorriza vesículo-arbuscular em agroecossistemas do Estado de Minas Gerais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.24, n.12, p.1499-1506, 1989.
- TILLAK, K.V.B.R.; LI, C.Y.; HO, I. Occurrence of nitrogen-fixing *Azospirillum* in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.116, n.2, p.286-288, 1989.

## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

1. São aceitos para publicação trabalhos técnico-científicos originais, resultantes de pesquisa de interesse agropecuário, ainda não publicados nem encaminhados a outra revista para o mesmo fim.

2. Uma vez aceitos, os trabalhos não poderão ser reproduzidos, mesmo parcialmente, sem o consentimento expresso da revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB).

3. São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos. Contudo, o Editor, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias.

4. Na elaboração dos originais deverão ser atendidas as normas abaixo:

a) Os trabalhos devem ser apresentados em duas cópias impressas em espaço duplo, em papel branco fosco com tinta preta ou azul escuro e com margens de 2 cm por todos os lados; o texto será corrido, sem intercalação de tabelas e figuras, que, feitas em folhas separadas, serão anexadas ao final do trabalho; para as REFERÊNCIAS, ABSTRACT e relação das legendas das figuras serão iniciadas folhas novas, mesmo que haja espaço na anterior; as folhas, ordenadas em texto, legendas, tabelas e figuras, serão numeradas seqüencialmente. Após as correções sugeridas pela Assessoria Científica, o autor deverá retornar à editoria da revista uma cópia definitiva da versão corrigida, acompanhada de uma cópia em disquete nos programas MICROSOFT WORD 5.0 FOR DOS, MICROSOFT WORD 5.5 FOR DOS ou MICROSOFT WORD 2.0/6.0 FOR WINDOWS, e uma cópia impressa com tinta negra ou azul escura;

b) o resumo e o abstract devem conter, no máximo, 200 palavras cada;

c) no rodapé da primeira página deverão constar a qualificação profissional principal e o endereço postal completo do(s) autor(es);

d) as referências bibliográficas serão normalizadas de acordo com as "Normas para Referenciação Bibliográfica e Catalogação Referenciada para o Sistema de Informação Técnico-Científica da Embrapa". Essa publicação é uma adaptação da NB-66, da "Comissão de Estudos de Documentação da ABNT", de 1986; e da NBR 6023, da ABNT, de agosto/1989.

Os exemplos a seguir constituem os casos mais comuns, fornecidos como modelo.

Exemplificação:

### ARTIGOS DE PERIÓDICOS:

CARVALHO, L.P. de; MOREIRA, J. de A.N. Correlações fenótipas envolvendo períodos de floração e rendimento em diferentes linhagens de algodoeiro herbáceo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.25, n.7, p.983-990, jul. 1990.

### LIVROS:

CRUCIANI, D.E. *A drenagem na agricultura*. São Paulo: Nobel, 1980. 333p.

### TRABALHOS DE CONGRESSOS:

OLIVEIRA, F.A. de. Evapotranspiração, índice de área foliar e desenvolvimento radicular do arroz (*Oryza sativa* L.) sob irrigação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 9., 1979, Campina Grande. *Anais...* Campina Grande: UFPB/CCT, 1980. p.145-150.

e) É norma da revista não citar trabalhos extraídos de resumos e abstracts, trabalhos no prelo e comunicação pessoal.

5. As *figuras* (gráficos, desenho, mapas ou fotografias) deverão ser apresentadas em tamanho maior do que aquele em que deverão ser impressas; para assegurar a nitidez após a redução para o tamanho de uma página (15 cm x 20 cm) ou tamanhos menores; todos os elementos da figura serão calculados em escala adequada; parte alguma da figura será datilografada; a chave das convenções adotadas será incluída na área da figura; evitar-se-á a colocação de título na figura, quando esse possa fazer parte da legenda; na remessa dos trabalhos deverá ser preferido o uso de envelopes, para não danificar as figuras com grampos. Fotografias não devem ser montadas, mas apenas colocadas em envelopes.

6. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em TÍTULO, RESUMO, ABSTRACT, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS E DISCUSSÃO, CONCLUSÕES, AGRADECIMENTOS e REFERÊNCIAS.

7. Outros pormenores para confecção de trabalhos a serem enviados à PAB são fornecidos por requisição dos interessados, pelo Editor da Revista.

8. Os autores receberão 20 separatas do seu artigo publicado. Os pesquisadores e/ou Centros de pesquisas que desejarem receber separatas, deverão avisar à Editora, com antecedência, e assumir o compromisso de pagar o custo das cópias solicitadas.

