



FERTBIO 2012

A responsabilidade socioambiental da pesquisa agrícola
17 a 21 de Setembro - Centro de Convenções - Maceió/Alagoas

Abundância de Fungos Micorrízicos Arbusculares e Biomassa Total Fúngica e Bacteriana de Solos Cultivados Com Cana de Açúcar

Odair Alberton⁽¹⁾; Adriana Pereira Aleixo⁽²⁾; Regiane Cristina Urcoviche⁽²⁾; Priscila Rosseto⁽³⁾; Glaciela Kaschuk⁽¹⁾; Mariangela Hungria⁽⁴⁾

⁽¹⁾Professor Titular; Instituto de Ciências Exatas, Agrárias, Tecnológicas e Geociências; Universidade Paranaense – UNIPAR, Praça Mascarenhas de Moraes, 4282, CEP 87502-210, Cx. Postal 224, Umuarama – PR, E-mail: odair@unipar.br; ⁽²⁾Mestranda em biotecnologia aplicada à agricultura; Instituto de Ciências Exatas, Agrárias, Tecnológicas e Geociências; Universidade Paranaense – UNIPAR, Praça Mascarenhas de Moraes, 4282, CEP 87502-210, Cx. Postal 224, Umuarama – PR; ⁽³⁾Estudante; Universidade Paranaense – UNIPAR, Praça Mascarenhas de Moraes, 4282, CEP 87502-210, Cx. Postal 224, Umuarama – PR; ⁽⁴⁾Pesquisadora; EMBRAPA – Soja, CEP 86001-970, Cx. Postal 231, Warta, Londrina – PR.

RESUMO – A cana de açúcar movimenta no Brasil cerca de R\$40 bilhões por ano com a produção e comercialização de açúcar e etanol. Os micro-organismos do solo têm são fundamentais no ciclo dos nutrientes, destacando os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs) no fornecimento de fósforo para as plantas. Os objetivos desse trabalho foram determinar os parâmetros quantitativos da microbiota do solo através da avaliação da abundância de esporos dos FMAs e biomassa total de fungos e bactérias utilizando a técnica de microscopia de Epifluorescência, em mata ciliar e em canaviais com diferentes manejos do solo. Foram selecionadas seis áreas no Estado de São Paulo e as amostras de solo foram coletadas nos períodos de outubro/novembro de 2010. A abundância de esporos dos FMAs junto ao manejo de cana de açúcar não apresentaram diferenças significativas. Houve aumento significativo do pH do solo nos solos manejados em relação com a mata ciliar. O baixo pH do solo não interferiu na comunidade dos FMAs e também não afetou na biomassa de fungos e bactérias. Foram observadas diferenças significativas no aumento para biomassa de bactérias e fungo+bactérias do solo no manejo com cana queimada, com aplicação de vinhaça e colheita mecanizada em relação à cana crua, sem vinhaça e colheita manual. Este é o primeiro estudo que se tem conhecimento realizado no Brasil utilizando a técnica de microscopia de epifluorescência para estimar a biomassa total de carbono de fungos e bactérias e os resultados apresentados aqui estão de coerentes com outros estudos da literatura. Desse modo a técnica é promissora e poderá ser utilizada em futuros estudos no Brasil.

Palavras-chave: Micorrizas, Manejo do solo, Biomassa microbiana do solo, Epifluorescência.

INTRODUÇÃO – A cana de açúcar (*Saccharum officinarum* L.) movimenta no Brasil cerca de 40 bilhões de reais por ano com a produção e comercialização de açúcar e etanol (MAPA, 2012). A cana tem grande importância econômica e sistemas de manejos que resultem em maior sustentabilidade agrícola, alterando

positivamente os componentes físicos, químicos e biológicos dos solos devem ser avaliados (Zambolim, 2000). Sendo assim, não podemos negligenciar a atividade e abundância de diferentes micro-organismos do solo, já que os mesmos constituem a parte viva e mais ativa da matéria orgânica do solo e realizam funções importantes através da ciclagem de nutrientes, atuando em vários níveis da cadeia trófica, com ênfase para o papel de decompositores e simbioses como os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) (Kaschuk et al. 2010a).

De fato, práticas de manejo de solo que estimulem a propagação de FMAs são muito mais efetivas para promover a produtividade das culturas do que a própria inoculação de FMAs (Kaschuk et al., 2010b).

Embora pouca estudada no Brasil, a relação fungos/bactérias do solo tem sido apontado como um ótimo indicador de mineralização e imobilização de nutrientes essenciais no solo, particularmente nitrogênio e fósforo (de Vries et al., 2006).

Contudo, o presente trabalho teve com objetivo determinar mudanças quantitativas da microbiota do solo através dos FMAs e a relação da biomassa total de fungo/bactéria do solo em mata ciliar e seis áreas canavieiras sob diferentes manejos do solo.

MATERIAL E MÉTODOS – Foram selecionadas seis áreas canavieiras sob diferentes manejos e mata ciliar no Estado SP, nos municípios de Novo Horizonte e Presidente Prudente (Tabela 1). As amostras de solo foram fornecidas pela EMBRAPA-Soja e coletadas nos períodos de out/nov de 2010.

As amostras de solo foram cuidadosamente homogeneizadas, peneiradas (4 mm) e armazenadas em saco plástico a 4 °C.

A determinação do pH do solo foi realizada conforme Nogueira e Souza (2005) em solução de CaCl₂.

A densidade de esporos de FMAs foi determinada por peneiramento úmido em malha de 0,710 mm e 0,053 mm conforme Gerdemann e Nicolson (1963). Os esporos extraídos foram transferidos para placa de Petri e

contados sob microscópio estereoscópio (40x).

A biomassa de fungos e bactérias do solo foi determinada conforme Bloem e Vos (2004). O comprimento das hifas foi estimado por microscopia de epifluorescência (400x) e biomassa de fungos foi calculada conforme Bloem e Vos (2004).

A biomassa de bactérias foi estimada por microscopia de epifluorescência (400x) e calculada conforme equações descritas por Bloem e Vos, (2004).

As médias de cada manejo foram comparadas entre si utilizando a análise de variância – ANOVA e pelo teste de Duncan ($\alpha \leq 0,05$) utilizando o programa estatístico SPSS versão 16.0 para Windows.

RESULTADOS E DISCUSSÃO – O pH do solo influencia a capacidade das plantas de absorver nutrientes do solo. O pH do solo diferiu significativamente entre os manejos do solo (Tabela 2), variando entre 4,52-5,44 (Tabelas 3 e 4).

Estudos relataram que o pH do solo afeta os FMAs e controla a disponibilidade de nutrientes que irá determinar a distribuição das espécies de micorrizas (Moreira et al., 2003).

Os gêneros de FMAs que predominam nas localidades estudadas foram: gênero *Glomus* spp e *Gigaspora* spp (Colozzi-Filho e Nogueira, 2007).

Os FMAs são de ocorrência generalizada nos sistemas agrícolas e representam um elo fundamental de ligação entre as plantas e o solo; e qualquer abordagem de sustentabilidade agrícola que não considerar esta simbiose é incompleta (Siqueira et al., 2010).

A abundância de esporos dos FMAs não diferiu significativamente (Tabela 2). Em estudos realizados na Austrália, observou-se pouca resposta da cultura da cana de açúcar a micorrização com *Glomus* spp quando comparada com outras culturas decorrente a grande quantidade de fertilizantes químicos, principalmente fosfáticos, o que inibe a colonização micorrízica das raízes (Kelly et al., 2001). Porém, Soria et al (2001) observou que mudas micropropagadas de cana de açúcar aumentou crescimento e sobrevivência quando colonizadas com FMAs. Paula et al., 1991) encontraram 18 espécies de FMAs na forma de esporos e indicações de que a prática da queima do canavial antes da colheita pode reduzir a diversidade micorrízica.

Métodos acurados e confiáveis para estimar a biomassa microbiana do solo são essenciais para quantitativamente avaliar seu papel em funções tais como: decomposição, ciclos de nutrientes, cadeia alimentar e agregação do solo (Newel, 1992). Neste estudo, foi utilizando a técnica de microscopia de epifluorescência, até então, inédita no Brasil para estimar a biomassa total de fungos e bactérias do solo e os resultados encontrados são coerentes com outros estudos já publicados na literatura (Tabela 5).

A biomassa fúngica total do solo está diretamente ligada à cadeia trófica, a partir da ANOVA (Tabela 2) observou-se que não houve efeito significativo ($p > 0,05$) quando comparado a diversos manejos do solo e a mata ciliar.

A atividade e biomassa de bactérias no solo é um dos fatores que ocasionam transformações nos processos biogeoquímicos e pode utilizado como bioindicadores da qualidade do solo, que em desequilíbrio pode causar redução da produtividade agrícola. Observamos diferenças significativas na biomassa de bactérias do solo somente na Usina em Novo Horizonte (Tabelas 2 e 3).

A presença de bactérias diazotróficas estimula os FMAs (Reis et al., 1999). Após levantamento de campo, Reis et al. (1999), verificaram que além de *Acetobacter diazotrophicus* no tecido das plantas de cana, também constataram a presença dessa bactéria no interior de esporos de FMA o que pode facilitar estimular a colonização micorrízica.

Os resultados da biomassa total de fungos e bactérias de solo, biomassa total de fungos mais bactérias do solo e razão entre biomassa total de fungos e bactérias do solo deste estudo estão dentro dos valores descritos na literatura (de Vries et al., 2006), sendo este, o primeiro estudo realizado no Brasil utilizando a técnica de microscopia de epifluorescência para estimar a biomassa total de carbono de fungos e bactérias do solo. Desse modo a técnica é promissora e poderá ser utilizada em estudo futuros no Brasil para esta finalidade.

CONCLUSÕES - Houve aumento significativo do pH do solo nos solos manejados em relação com a mata ciliar.

Independente do tipo de manejo do solo, a abundância de esporos de FMAs não foi alterada.

Foram observadas diferenças significativas no aumento para biomassa de bactérias e fungo+bactérias do solo no manejo com cana queimada, com aplicação de vinhaça e colheita mecanizada em relação à cana crua, sem vinhaça e colheita manual.

Este é o primeiro estudo, em que se tem conhecimento realizado no Brasil, utilizando a técnica de microscopia de epifluorescência para estimar a biomassa total de carbono de fungos e bactérias do solo. Os resultados encontrados estão de coerentes com os da literatura, podendo ser recomendada a técnica para futuros estudos.

Estudos mais aprofundados são necessários para conhecimento dos efeitos em relação ao tipo de manejo, no qual, estimulem a propagação dos FMAs sendo essenciais na sustentabilidade agrícola, diminuindo o uso de fertilizantes fosfatados.

AGRADECIMENTOS - Os autores agradecem a Fundação Araucária e a Universidade Paranaense – UNIPAR pelos os recursos financeiros para a execução deste estudo. A Regiane agradece a CAPES pela bolsa de estudos e Odair Alberton agradece à Fundação Araucária o apoio à participação deste evento.

REFERÊNCIAS

BLOEM, J.; VOS, A. Fluorescent staining of microbes for total direct counts. In: KOWALCHUK, G.A.; DE BRUIJN, F.J.; HEAD, I.M.; AKKERMANS, A.D.; VAN ELSAS, J.D. (Ed.) 2ª ed. v. 402. **Molecular Microbial Ecology Manual**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands. p. 861–874, 2004.

COLOZZI-FILHO, A.; NOGUEIRA, M.A. Micorrizas arbusculares em plantas tropicais: café, mandioca e cana-de-açúcar. In: SILVEIRA, A.P.D.; FREITAS, S.S. (Ed.) **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. IAC, Campinas-SP. p. 39-56, 2007.

de VRIES, F.T.; HOFFLAND, E.; van EKEREN, N.; BRUSSAARD, L.; BLOEM, J. Fungal/bacterial ratios in grassland with contrasting nitrogen management. **Soil Biol. Biochem.**, 38: 2092-2103, 2006.

GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **T. Brit Mycol Soc.**, 46: 235-246, 1963.

GRISI, B.M.; GRAY, T.R.G. Comparação dos métodos de fumigação, taxa de respiração em resposta à adição de glucose e conteúdo de ATP para estimar a biomassa microbiana dos solos. **R. Bras. Ci. Solo**, 10: 109-115, 1986.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: Lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biol. Biochem.**, 42: 1-13, 2010a.

KASCHUK, G.; LEFFELAAR, P.A.; GILLER, K.E.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M.; KUYPER, T.W. Responses of legumes to rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi: A meta-analysis of potential photosynthate limitation of symbioses. **Soil Biol. Biochem.**, 42: 125-127, 2010b.

KELLY, R.M.; EDWARDS, D.G.; THOMPSON, J.P.; MAGAREY, R.C. Responses of sugarcane, maize, and soybean to phosphorus and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Aust. J. Agr. Res.**, 52: 731-743, 2001.

LAMBAIS, M.R.; CARDOSO, E.J.B.N. Germinação de esporos e o crescimento do tubo germinativo de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em diferentes concentrações de alumínio. **R. Bras. Ci. Solo**, 13: 151-154, 1989.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cana-de-açúcar**. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cana-de-acucar>>. Acesso em, 19 de abril de 2012.

MOREIRA, S.M., TRUFEM, S.F.B; GOMES, C.S.M; CARDOSO, E.J.B.N. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Mycorrhiza**, 13: 211-215, 2003.

NEWEL, S.Y. Estimating fungal biomass and productivity in decomposing litter. In: **The fungal community: its organization and role in the ecosystem**. New York: Dekker. 1992. p. 521-561.

NOGUEIRA, A.R.A.; SOUZA, G.B. **Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos**. São Carlos – SP. EMBRAPA pecuária sudeste, 2005. 334p.

PAULA, M.A.; REIS, V.M.; DÖBEREINER, J. Interactions of *Glomus clarum* with *Acetobacter diazotrophicus* infection on sweet potato (*Ipomoea batatas*) sugarcane (*Saccharum* ssp.) and sweet sorghum (*Sorghum vulgare*). **Biol. Fert. Soils.**, 11: 111-115, 1991.

REIS, V.M.; PAULA, M.A.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de micorrizas arbusculares e da bactéria diazotrófica *Acetobacter diazotrophicus* em cana de açúcar. **Pesq. Agropec. Bras.**, 34: 1933-1941, 1999.

SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA, 2010. 716p.

SORIA, A.E.M.; REYES, E.C.; OCCEQUERA, A.Z.; PEREIRA, M.C. Micorrización de plantas micropropagadas de cana de açúcar (*Saccharum officinarum*). **Agricultura técnica**. 61: 436-443, 2001.

Tabela 1 - Descrição dos locais de amostragem utilizados neste estudo.

| Usina São José da Estiva, Novo Horizonte – SP. | |
|--|--|
| Trat. | Descrição |
| 01 | - Cana crua, convencional, com aplicação de vinhaça e colheita manual; - Tipo de Solo: Latossolo Vermelho-Amarelo, eutrófico, textura grossa; - Fertilização: 5 ton ha ⁻¹ em 04/2008. |
| 02 | - Cana crua, convencional, sem aplicação de vinhaça e colheita manual; - Tipo de Solo: Latossolo Vermelho-Amarelo, álico, textura grossa; - Calagem: Calcário dolomítico 2 ton ha ⁻¹ em 01/2008; - Gessagem: 0,16 ton ha ⁻¹ em 09/2010. |
| 03 | - Cana queimada, com aplicação de vinhaça e colheita mecanizada; - Tipo de Solo: Latossolo Vermelho-Amarelo, álico, textura grossa. |
| Mata ciliar - Localização (GPS): S21°29.374' W049°12.359'; Data de amostragem: 07/10/2010; | |
| Usina Alto Alegre, Presidente Prudente – SP. | |
| 01 | - Cana crua, convencional, com aplicação de vinhaça e colheita mecanizada; - Tipo de Solo: Argissolo vermelho típico textura arenosa/média; - Gessagem: 1,0 ton ha ⁻¹ em 2010. |
| 02 | - Cana crua, convencional, com aplicação de vinhaça e colheita manual; - Tipo de Solo: Argissolo Vermelho típico textura argilosa/média; - Calagem: Calcário dolomítico 0,4 ton ha ⁻¹ em 2010; - Gessagem: 2,0 ton ha ⁻¹ em 2010. |
| 03 | - Cana crua, convencional, com aplicação de vinhaça e colheita manual; - Tipo de Solo: Argissolo vermelho típico textura arenosa/média; - Fertilização (Super S triplo): 0,23 ton ha ⁻¹ em 2010; - Calagem: Calcário dolomítico 0,5 ton ha ⁻¹ em 2010; - Gessagem: 2,0 ton ha ⁻¹ em 2010. |
| Mata ciliar - Localização (GPS): S21°50.34' W051°15.96'; Data de amostragem: 09/11/2010; | |

Tabela 2 - Análise de variância – ANOVA (um critério – *one-way*) do pH do solo medido em solução de CaCl₂; densidade de esporos (n° g⁻¹ de solo seco) de FMAs; biomassa total de fungos do solo (µg C g⁻¹ de solo seco); da biomassa total de bactérias do solo (µg C g⁻¹ de solo seco); biomassa total de fungos e bactérias do solo (F+B) (µg C g⁻¹ de solo seco); e razão entre biomassa total de fungos e bactérias do solo (F/B) da Usina São José da Estiva, Novo Horizonte e Usina Alto Alegre, Presidente Prudente – SP.

| Causa de variação | Variável | #G.L. | #Q.M. | F | p |
|---------------------------------|-----------------------|-------|-----------|-------|---------------|
| Novo Horizonte – SP | | | | | |
| Tratamentos | pH | 3 | 0,687 | 5,418 | 0,002* |
| | N° de esporos | 3 | 21,347 | 0,879 | 0,457 |
| | Biomassa de fungos | 3 | 318,592 | 1,268 | 0,293 |
| | Biomassa de bactérias | 3 | 31050,496 | 6,770 | 0,000* |
| | F+B | 3 | 34460,697 | 6,599 | 0,001* |
| | F/B | 3 | 0,011 | 1,229 | 0,307 |
| Presidente Prudente – SP | | | | | |
| Tratamentos | pH | 3 | 1,267 | 6,725 | 0,001* |
| | N° de esporos | 3 | 18,780 | 1,110 | 0,352 |
| | Biomassa de fungos | 3 | 21,719 | 0,099 | 0,960 |
| | Biomassa de bactérias | 3 | 4830,073 | 0,970 | 0,413 |
| | F+B | 3 | 4489,955 | 0,809 | 0,494 |
| | F/B | 3 | 0,012 | 1,370 | 0,260 |

#G.L. = Grau de liberdade; Q.M. = Quadrado médio. *Valores de p em negrito são significativos (p ≤ 0,05).

Tabela 3 - Valores médios (± erro padrão) de pH do solo medido em solução de CaCl₂; densidade de esporos (n° g⁻¹ de solo seco) de FMAs; biomassa total de fungos do solo (µg C g⁻¹ de solo seco); da biomassa total de bactérias do solo (µg C g⁻¹ de solo seco); biomassa total de fungos e bactérias do solo (F+B) (µg C g⁻¹ de solo seco); e razão entre biomassa total de fungos e bactérias do solo (F/B) da Usina São José da Estiva, Novo Horizonte – SP⁽¹⁾.

| Trat. | N° de amostras | pH | N° de esporos | Biomassa de fungos | Biomassa de bactérias | F+B | F/B |
|-------------|----------------|-----------|---------------|--------------------|-----------------------|--------------|-------------|
| 01 | 08 | 5,32±0,06 | 11,36±2,1 | 24,75±3,0 | 234,04±29,5 | 258,79±30,32 | 0,115±0,019 |
| | | A | A | A | AB | AB | A |
| 02 | 39 | 5,33±0,06 | 10,96±0,5 | 30,59±3,0 | 178,12±9,54 | 208,71±11,11 | 0,181±0,015 |
| | | A | A | A | B | B | A |
| 03 | 16 | 5,44±0,09 | 13,07±4,1 | 37,35±3,5 | 263,47±18,2 | 300,82±16,91 | 0,163±0,027 |
| | | A | A | A | A | A | A |
| Mata ciliar | 04 | 4,64±0,20 | 13,42±4,1 | 29,77±1,4 | 238,5±46,03 | 268,28±46,34 | 0,138±0,023 |
| | | B | A | A | AB | AB | A |

⁽¹⁾Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem significativamente (p ≤ 0,05) pelo teste de Duncan.

Tabela 4 - Valores médios (± erro padrão) de pH do solo medido em solução de CaCl₂; densidade de esporos (n° g⁻¹ de solo seco) de FMAs; biomassa total de fungos do solo (µg C g⁻¹ de solo seco); da biomassa total de bactérias do solo (µg C g⁻¹ de solo seco); biomassa total de fungos e bactérias do solo (F+B) (µg C g⁻¹ de solo seco); e razão entre biomassa total de fungos e bactérias do solo (F/B) da Usina Alto Alegre, Presidente Prudente – SP⁽¹⁾.

| Trat. | N° de amostras | pH | N° de esporos | Biomassa de fungos | Biomassa de bactérias | F+B | F/B |
|--------------|----------------|-----------|---------------|--------------------|-----------------------|--------------|------------|
| 01 | 08 | 5,14±0,16 | 9,68±1,8 | 32,46±5,2 | 212,18±29,8 | 244,67±28,52 | 0,199±0,05 |
| | | A | A | A | A | A | A |
| 02 | 16 | 5,01±0,08 | 9,62±0,9 | 32,23±3,7 | 248,93±12,8 | 281,15±14,18 | 0,132±0,02 |
| | | A | A | A | A | A | A |
| 03 | 28 | 4,52±0,09 | 11,7±0,8 | 31,55±2,9 | 226,86±13,8 | 258,41±14,89 | 0,149±0,01 |
| | | B | A | A | A | A | A |
| Mata ciliar. | 16 | 4,84±0,10 | 10,9±0,9 | 34,06±3,4 | 209,17±18,9 | 243,23±19,77 | 0,181±0,02 |
| | | AB | A | A | A | A | A |

⁽¹⁾Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem significativamente (p ≤ 0,05) pelo teste de Duncan.