



FERTBIO 2012

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

Atividade Micorrízica em Áreas de Agricultores Familiares no Norte de Minas Gerais

Sueli Gomes Fernandes⁽¹⁾; Cynthia Torres de Toledo Machado⁽²⁾; Itamar Garcia Ignácio⁽³⁾; Cícero Donizete Pereira⁽²⁾; Luiz Arnaldo Fernandes⁽⁴⁾

⁽¹⁾Eng. Agrônoma, mestre em Ciências Agrárias - Agroecologia. susuagro@yahoo.com.br. ⁽²⁾Pesquisadores, Laboratório de Micorrizas - Embrapa Cerrados. BR 020, Km 18, Planaltina, DF, CEP: 73310-970, Cx. Postal 08223. cynthia@cpac.embrapa.br; cicero.pereira@cpac.embrapa.br. ⁽³⁾Assistente, Laboratório de Micorrizas - Embrapa Agrobiologia. Rodovia BR 465, Km 7, Seropédica, RJ, CEP: 23890-000, Cx. Postal 74505. itamar@cnpab.embrapa.br. ⁽⁴⁾Professor, Instituto de Ciências Agrárias (ICA)/Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) - Campus Regional de Montes Claros. Av. Universitária, 1000, Bairro Universitário, Montes Claros, MG, CEP: 39404-547. larnaldo@nca.ufmg.br.

RESUMO – Propriedades agrícolas representativas da Comunidade Água Boa 2 em Rio Pardo de Minas (MG) foram caracterizadas quanto à ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), aspectos químicos e físicos dos solos. Para a avaliação da fertilidade, densidade de esporos, colonização radicular e teores de glomalina, foram coletadas amostras na profundidade de 0-20 cm, em quatorze subsistemas caracterizados como de baixo uso de insumos ou em transição agroecológica em abril de 2010. O potencial de inóculo micorrízico foi determinado através de bioensaio em casa de vegetação, disposto em delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições. A identificação das espécies de FMAs foi feita a partir de amostras de solo provenientes do bioensaio e culturas armadilha. Os subsistemas apresentaram boa diversidade de espécies que foram influenciadas pela baixa fertilidade das áreas e pelas plantas hospedeiras implantadas, que por sua vez influenciaram na densidade de esporos e no potencial de infecção radicular. Os teores de glomalina estiveram relacionados com características texturais e com a matéria orgânica dos solos. A partir desse estudo foi possível identificar a necessidade de incorporação de práticas adequadas de manejo dos solos dessas propriedades, como a adubação verde, a utilização de plantas de cobertura e a rotação de culturas, a fim de promover a fertilidade das áreas em todos os seus componentes.

Palavras-chave: Simbiose micorrízica, potencial de inóculo, práticas agroecológicas.

INTRODUÇÃO - Relações simbióticas e práticas agrícolas que diminuam a dependência de insumos externos e viabilizem a produtividade de sistemas agrícolas familiares são necessárias e demandam um manejo diferenciado do solo, das culturas e dos insumos, com enfoque agroecológico (Fernandes, 2011). Para tanto, estratégias que incluam processos biológicos naturais no solo como a micorriza, uma associação simbiótica, não patogênica, entre fungos benéficos e específicos do solo e raízes de plantas superiores podem

representar uma alternativa viável de manejo. Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) ocorrem naturalmente nos solos e são componentes naturais dos sistemas de produção agrícola. As raízes da maioria das plantas são colonizadas por esses fungos e, uma vez estabelecida, a micorriza arbuscular contribui no crescimento das mesmas, sobretudo em solos com baixos teores de nutrientes (Miranda, 2008).

Esse aspecto é importante em sistemas de produção familiar cujos solos são intensamente cultivados e apresentam baixa fertilidade. Portanto, a micorriza é um componente natural dos agroecossistemas, com papel fundamental na funcionalidade e sustentabilidade destes. Assim, o objetivo desse estudo foi caracterizar, qualitativa e quantitativamente, a população de FMAs em áreas cultivadas em propriedades de pequenos agricultores de uma comunidade no Território do Alto Rio Pardo (MG), relacionando a ocorrência e predominância desses fungos às espécies vegetais predominantes, às condições de fertilidade dos solos e ao manejo dos agroecossistemas.

MATERIAL E MÉTODOS - O presente trabalho foi realizado na Comunidade Água Boa 2, em Rio Pardo de Minas (MG) em 7 propriedades agrícolas cujos sistemas de produção caracterizam-se como sendo de baixo uso de insumos ou de base ecológica. A região é de transição entre os biomas Cerrado e Caatinga, com clima semiárido (médias de precipitação e temperatura de 890 mm/ano e 24° C, respectivamente) e altitude entre 820 a 1017 m.

Amostragem e coleta de solo: Em abril de 2010, ao final do período chuvoso, amostras de solo foram coletadas em áreas das principais lavouras ou subsistemas de produção. As coordenadas geográficas coletadas por meio de receptores GPS. Cada subsistema foi dividido em 3 partes ou sub-áreas, segundo gradiente de declividade. Em cada uma dessas partes, coletou-se, aleatoriamente, 8 sub-amostras, na camada de 0-20 cm de profundidade, em pontos contidos dentro e fora da região de abrangência da rizosfera das espécies vegetais. As 8 sub-amostras de cada sub-área foram então homogeneizadas, dando origem a uma amostra composta de cada sub-área, que foram

destinadas às análises química e física do solo e à extração da glomalina. Seguindo esse mesmo padrão de amostragem, coletou-se solo apenas da porção rizosférica das plantas para avaliação de densidade de esporos e potencial de inóculo de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). As amostras foram encaminhadas aos Laboratórios de Análise de Solos do ICA/UFMG e de Micorrizas da Embrapa Cerrados, para a realização das análises químicas e físicas e de FMAs, respectivamente.

Determinação da densidade de esporos: As amostras de solo rizosférico foram peneiradas (malha de 2 mm) e destas foram retiradas duas subamostras de 50 ml para a extração e o isolamento dos esporos de FMAs por peneiramento úmido e centrifugação (Gerdemann e Nicolson, 1963). Após essa etapa os esporos foram observados e contados sob microscópio estereoscópico.

Determinação do potencial de inóculo micorrízico: O método utilizado foi o proposto por Moorman e Reeves (1979) denominado “potencial médio de infecção” (PMI), através de bioensaio em casa de vegetação. Duas replicatas de cada uma das três amostras de solo rizosférico das áreas foram acondicionadas em vasos de 600 cm³ onde foram colocadas 5 sementes de sorgo (*Sorghum bicolor*), usada como planta teste micotrófica. Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições. A irrigação foi feita com água destilada, conforme necessidade das plantas. Foram mantidas 3 plantas por vaso após o desbaste e a parcela experimental foi constituída das duas replicatas de cada amostra das 7 áreas. As plantas foram colhidas após 10 semanas e a porcentagem de infecção das raízes foi quantificada. As raízes foram coradas segundo método de Phillips e Hayman (1970) e a porcentagem de colonização foi determinada pelo método da interseção em placas sob microscópio estereoscópico (Giovanetti e Mosse, 1980).

Identificação das espécies de FMAs: Para identificação das espécies foram retiradas amostras do solo usado no bioensaio e solo proveniente de culturas armadilha. As culturas armadilha foram preparadas com o solo de cada área misturado com areia esterilizada na proporção de 1:1, usando como hospedeiros sorgo e estilosantes em vasos mantidos em casa de vegetação por 3 meses (Miranda, 2008). Os esporos provenientes do solo dos vasos armadilha foram extraídos conforme descrição anterior, contados e foram montados em lâminas com PVLG (álcool polivinílico em lactoglicerol) ou com reagente de Melzer e PVLG na proporção 1:1 e observados ao microscópio. A identificação das espécies foi realizada pelo técnico Itamar Garcia Ignácio no Laboratório de Micorrizas da Embrapa Agrobiologia, em Seropédica, RJ, optando-se por abordagem conservativa. Para tanto, foram consultados o Manual para Identificação de Fungos Micorrízicos Arbusculares (Schenck e Pérez, 1990), a página <http://invam.caf.wvu.edu> da Coleção Internacional de Fungos Micorrízicos Arbusculares (INVAM) e as páginas, consultadas em 17 e 18/11/2010: <http://www.agro.ar.szczecin.pl/~jblazkowski/>; <http://mycologia.org/cgi/content/full/98/2/286> e <http://mycorrhizas.info/vam.html>. A partir da distinção morfológica dos esporos por espécie, estimou-se a riqueza específica, por meio do Índice de Margalef ($D_{mg} = S$

$1/\ln N$), que estima a diversidade de espécies em cada tratamento, onde S é o número total de espécies e N o número total de esporos de FMAs (Stürmer e Siqueira, 2010). A frequência de ocorrência (FO) das espécies, que descreve a porcentagem de amostras a partir das quais uma espécie particular foi recuperada foi determinada e as espécies foram classificadas, conforme metodologia proposta por Zhang *et al.* (2004), em dominantes ($FO > 50\%$), muito comuns ($30\% < FO \leq 50\%$), comuns ($10\% < FO < 30\%$) e raras ($FO \leq 10\%$).

Determinação de proteína facilmente extraível – glomalina (GFE): A extração de glomalina foi realizada seguindo a metodologia de Wright e Upadhyaya (1996). Amostras de solo foram pesadas e secas em estufa à 60° C por 48 horas. Em seguida pesou-se 1 g de solo em tubos Falcon com capacidade para 50 ml, em replicatas. Adicionou-se 8 ml de tampão citrato de sódio 20 mM, pH 7,0, a cada tubo, que foram autoclavados por 30 minutos a 121° C. Em seguida os frascos foram centrifugados a 5000 rpm por 10 minutos. Para determinar a concentração de GFE, pipetou-se 100 µL do extrato em tubo de ensaio, adicionando 2 ml do reagente de Bradford aos tubos. Após esse procedimento os tubos foram levados para agitação em vórtex, aguardando-se 10 minutos para iniciar leitura de absorbância em espectrofotômetro a 595 nm.

Análises estatísticas: Os dados de contagem de esporos dos FMAs foram transformados em $[\log(x+1)]$ e os de porcentagem de colonização em $\arcsin(x/100)^{0,5}$ antes das análises estatísticas. As médias da densidade de esporos, porcentagem de colonização e teor de glomalina foram submetidas à análise de variância e comparação de médias pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Correlações entre as determinações de FMAs e atributos químicos e físicos do solo foram feitas por meio do coeficiente de correlação de Pearson e teste t.

RESULTADOS E DISCUSSÃO – Um total de 31 espécies de FMAs foram recuperadas de 42 amostras de solo provenientes das 7 propriedades. Destas, 10 foram identificadas como espécies pertencentes à família *Acaulosporaceae*, 1 espécie não conhecida da família *Ambisporaceae*, 1 da família *Archeosporaceae*, 10 espécies da família *Glomeraceae* e 9 da família *Gigasporaceae*. Os gêneros *Acaulospora*, *Glomus* e *Scutellospora* representaram 84% de todas as espécies, cuja ocorrência foi registrada na maioria dos cultivos. A mandioca foi o cultivo sob o qual se observou o maior número de espécies. *Acaulospora scrobiculata* ocorreu em todos os cultivos, exceto na cana da propriedade 1. Nove espécies foram identificadas uma única vez em um ou outro cultivo.

A heterogeneidade de espécies encontradas nas áreas amostradas pode se justificar pela característica de transição entre Cerrado e Caatinga. Há que se considerar, entretanto, a influência das espécies hospedeiras cultivadas na seletividade dos FMAs. A maior frequência de algumas espécies pode ser devido à adaptação das mesmas ao ambiente rizosférico das plantas hospedeiras implantadas nos subsistemas.

O índice de Margalef, que estimou a riqueza de espécies, mostrou maior representatividade, embora baixa

(Stürmer e Siqueira, 2010), nos subsistemas de cana (1,68) e mandioca (1,55) de uma mesma propriedade.

A predominância de *Acaulospora* e *Glomus* corrobora o que foi observado em outros sistemas tropicais (Souza *et al.*, 2003; Sturmer e Siqueira, 2006; Zangaro *et al.*, 2007; Sturmer e Siqueira, 2010), demonstrando adaptação a solos com variações nos teores de seus atributos e resistência a perturbações ambientais (Carrenho, 1998).

Seis espécies apresentaram maior frequência, sendo identificadas em quase todas as amostras analisadas: *Acaulospora scrobiculata*, *Glomus etunicatum*, *Glomus macrocarpum*, *Gigaspora sp.*, *Scutellospora heterogama* e *Scutellospora fulgida*, ocorrendo em 13; 12; 12; 10; 10 e 12 cultivos, respectivamente. *Acaulospora scrobiculata*, *Glomus etunicatum*, *Glomus macrocarpum* foram classificadas como espécies dominantes, ocorrendo em respectivamente, 8, 7 e 6 cultivos. Elas são citadas como as mais comuns em áreas de cerrado (Miranda, 2008).

A densidade de esporos a partir das amostras originais das áreas, bem como a porcentagem de infecção radicular e os teores de glomalina encontram-se na Tabela 1. O milho foi o subsistema sob o qual o número de esporos foi maior (397/50 ml solo), enquanto o menor número foi identificado na área com plantio de mandioca (26 esporos/50 ml solo).

O milho é uma cultura dependente da micorrização e multiplicadora desses fungos (Miranda e Miranda, 2001), o que provavelmente favoreceu a quantidade de esporos encontrados na área. A mandioca é uma espécie ainda mais dependente que o milho (Miranda, 2008), por possuir sistema radicular formado por raízes grossas e poucas ramificações, que, entretanto, pode não favorecer a multiplicação dos esporos.

Os solos da maioria dos subsistemas avaliados promoveram, na planta teste, colonização micorrízica estatisticamente semelhante, sendo que todos os subsistemas apresentaram taxa inferior a 50%. O guandu e o feijão foram as culturas sob as quais se observou o maior e menor potencial de infecção, respectivamente.

Ainda que a contagem de esporos e a determinação do potencial médio de infecção tenham mostrado pequeno potencial de inóculo dos FMAs nas áreas, percebe-se que a associação micorrízica nessas condições limitantes de fertilidade e sem aplicação de adubos ou corretivos é importante para manutenção da produtividade das lavouras. Deve-se considerar que as áreas são cultivadas intensamente e a retirada de nutrientes dos sistemas ocorre de forma mais intensa do que a reposição dos mesmos. Os baixos níveis de fertilidade encontrados nessas áreas podem aumentar a dependência das plantas à associação micorrízica, porém, níveis mínimos de nutrientes são necessários para promover a associação simbiótica (Miranda, 2008). Neste caso, os teores muito baixos de alguns nutrientes podem ter sido fator limitante.

Ao manejar os sistemas de produção para favorecer a simbiose micorrízica, recomenda-se utilizar plantas dependentes da micorriza arbuscular no processo de rotação, ou que essas sejam certamente usadas no cultivo seguinte ao cultivo de plantas menos ou não dependentes da associação (Miranda e Miranda, 2004). O manejo

utilizado no subsistema de milho, onde se obteve o maior número de esporos, no qual são intercalados milho, feijão e guandu consorciados entre si, pode ser um exemplo disso. Provavelmente a quantidade de esporos na área tenha sido favorecida por essas culturas consideradas altamente dependentes da micorrização.

Quanto à glomalina facilmente extraível, houve diferença estatística para os diferentes subsistemas avaliados. A área com cana da propriedade 2 apresentou o maior teor (1,811 mg g⁻¹ solo), enquanto que o menor teor (0,758 mg g⁻¹ solo), foi observado no subsistema caracterizado pelo cultivo do milho e pousio na mesma propriedade (Tabela 1).

Atributos físicos e teores de matéria orgânica dos solos estão relacionados à quantidade de glomalina (Wright e Upadhyaya, 1996; 1998; Rilling *et al.*, 2003; Purin, 2005). Esta proteína é componente importante da matéria orgânica e participa da agregação dos solos. Os baixos teores de glomalina observados neste estudo parecem relacionar-se com os teores médios de matéria orgânica e a textura predominantemente arenosa dos solos.

CONCLUSÕES - Os subsistemas avaliados apresentam boa diversidade de espécies de FMAs, cuja ocorrência é influenciada pela adaptação das espécies do microsimbionte às condições de baixa fertilidade dos solos e especificidade às plantas hospedeiras. Entretanto, os solos possuem baixo potencial de inóculo e, tanto a densidade de esporos como o potencial de infecção radicular são influenciadas pelas espécies vegetais mais micotróficas. Os teores de glomalina são baixos e se relacionam com os teores de matéria orgânica e características texturais dos solos. Faz-se necessário promover o aumento da população de FMAs nas áreas de modo a garantir a produtividade dos solos.

AGRADECIMENTOS - Aos agricultores da Comunidade Água Boa 2 e aos pesquisadores da Embrapa Cerrados, João Roberto Correia e Marina de Fátima Vilela.

REFERÊNCIAS

- CARRENHO, R. **Influência de diferentes espécies de plantas hospedeiras e fatores edáficos no desenvolvimento de fungos micorrízicos (FMA)**. Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, 1998. 226p. (Tese de Doutorado).
- FERNANDES, S.G. **Fertilidade do solo e atividade micorrízica em áreas de agricultores familiares no norte de Minas Gerais**. Montes Claros, Universidade Federal de Minas Gerais, 2011. 74p. (Dissertação de Mestrado).
- GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. W. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **T. Brit. Mycol. Soc.**, 46:235-244, 1963.
- GIOVANETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytol.**, 84:489-500, 1980.
- MIRANDA, J. C. C. de. **Micorriza arbuscular: ocorrência e manejo**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. 169p.

- MIRANDA, J. C. C.; MIRANDA, L. N. **Dependência micorrízica de diferentes culturas anuais, adubos verdes e pastagens em solos de Cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2004. 4p. (Embrapa Cerrados. Comunicado Técnico, 114).
- MIRANDA, J. C. C.; MIRANDA, L. N. **Seleção e recomendação de uso de espécies de fungos micorrízicos arbusculares**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2001. 3p. (Embrapa Cerrados. Comunicado Técnico, 52).
- MOORMAN, T.; REEVES, S. B. The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid west. II. A bioassay to determine the effect of land disturbance on endomycorrhizal populations. *Am. J. Bot.*, 66:14-18. 1979.
- PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *T. Brit. Mycol. Soc.*, 55:158-161, 1970.
- PURIN, S. **Fungos micorrízicos arbusculares: atividade, diversidade e aspectos funcionais em sistemas de produção de maçã**. Lages, Universidade do Estado de Santa Catarina, 2005. 147p. (Dissertação de Mestrado).
- RILLIG, M. C.; RAMSEY, P. W.; MORRIS, S.; PAUL, E. A. Glomalin, an arbuscular-mycorrhizal fungal soil protein, responds to land-use change. *Plant Soil*, 253:293-299, 2003.
- SCHENK, N. C.; PÉREZ, Y. **Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi**. Gainesville: Synergistic Publications, 1990. 245p.
- SOUZA, R. G.; MAIA, L. C.; SALES, M. F.; TRUFEM, S. F. B. Diversidade e potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares em área de caatinga, na Região de Xingo, Estado de Alagoas, Brasil. *Rev. Bras. de Bot.*, 26:49-60, 2003.
- STURMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Brazilian ecosystems. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (eds.). **Soil Biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems**. CABI, Oxfordshire, p.206-236, 2006.
- STÜRMER, L. S.; SIQUEIRA, J. O. Species richness and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi across distinct land uses in Western Brazilian Amazon. *Mycorrhiza*, 21:255-267, 2010.
- WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil*, 198: 97-107, 1998.
- WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Sci.*, 161:1-12, 1996.
- ZANGARO, W.; NISHIDATE, F. R.; VANDRESEN, J.; ANDRADE, G.; NOGUEIRA, M. A. Root mycorrhizal colonization and plant responsiveness are related to root plasticity, soil fertility and successional status of native woody species in southern Brazil. *J. Trop. Ecol.*, 23: 53-62, 2007.

Tabela 1 - Potencial de inóculo micorrízico e glomalina facilmente extraível (GFE) de áreas sob diferentes cultivos em propriedades agrícolas da comunidade Água Boa 2, em Rio Pardo de Minas, MG.

Propriedades, lavouras avaliadas e caracterização dos sistemas de produção ⁽¹⁾	Estimativas de potencial de inóculo micorrízico ⁽²⁾			
	Densidade de esporos nas amostras originais (nº/50 ml solo)	Potencial médio de infecção (% de infecção radicular)	Glomalina (GFE) (mg g ⁻¹)	
1 (TA)	Milho	397 a	21,9 a	1,213 b
	Cana	94 b	29,8 a	1,350 b
	Café	66 c	21,3 a	1,471 b
2 (TA)	Cana	93 b	23,5 a	1,811 a
	Milho e pousio	131 b	33,4 a	0,758 d
	Mandioca	127 b	33,0 a	0,818 d
	Mandioca e abacaxi	93 b	26,4 a	0,889 d
3 (TA)	Feijão	45 c	15,1 a	1,315 b
	Mandioca	26 c	31,1 a	0,996 c
	Guandu	49 c	45,2 a	0,884 d
4 (LEIA)	Mandioca	36 c	38,9 a	1,342 b
5 (LEIA)	Milho e mandioca	72 c	32,0 a	1,217 c
6 (LEIA)	Feijão catador	56 c	30,7 a	1,271 b
7 (TA)	Guandu e mandioca	30 c	29,0 a	1,212 b
CV (%)		22,27	32,04	9,04

⁽¹⁾ TA: Transição para sistemas agroecológicos; LEIA: agricultura de baixo uso de insumos externos. ⁽²⁾ Dados originais, análises estatísticas realizadas com dados transformados em log (x+1) para contagem de esporos e em arc sen (x/100)^{0,5} para a % de infecção radicular. Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, p ≤ 5%.