



FERTBIO 2012

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

Glomalina e Número de Esporos de Fungos Micorrízicos Arbusculares no Cultivo de Milho em Sucessão a Plantas de Cobertura

Cynthia Torres de Toledo Machado⁽¹⁾; Cícero Donizete Pereira⁽¹⁾; Patricia Rodrigues Coimbra Floriano⁽²⁾; Luana Ramos Passos Ribeiro⁽³⁾; Arminda Moreira de Carvalho⁽¹⁾

⁽¹⁾Pesquisadores, Embrapa Cerrados. BR 020, Km 18, Planaltina, DF, CEP 73310-970, CP 08223. cynthia@cpac.embrapa.br; cicero.pereira@cpac.embrapa.br; arminda@cpac.embrapa.br ⁽²⁾ Assistente, Laboratório de Micorrizas – Embrapa Cerrados. BR 020, Km 18, Planaltina, DF, CEP 73310-970, CP 08223. patricia.coimbra@cpac.embrapa.br ⁽³⁾ Aluna do curso de graduação em Gestão do Agronegócio, Universidade de Brasília (UnB), Campus de Planaltina. Área Universitária, 01, Vila Nossa Senhora de Fátima, Planaltina, DF, CEP: 73001-970. luanarpr01@gmail.com.

RESUMO – Os fungos micorrízicos arbusculares têm ocorrência generalizada na maioria dos ecossistemas brasileiros, tanto naturais como cultivados. Sua grande importância está relacionada à maior disponibilização de nutrientes e água para as plantas, sendo um componente microbiológico essencial dos agroecossistemas. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de plantas de cobertura e fertilização nitrogenada na ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em latossolo vermelho de Cerrado, cultivado com milho em sistema plantio direto (SPD). Os resultados obtidos mostram que não houve interação entre plantas de cobertura e fertilização nitrogenada em relação ao teor de glomalina facilmente extraível e número de esporos na cultura do milho. O número médio de esporos não variou com a espécie de planta de cobertura utilizada, mesmo nas parcelas onde o milho foi cultivado em sucessão ao nabo forrageiro (planta não micotrófica). Para o teor de glomalina facilmente extraível, maiores teores foram obtidos utilizando-se mucuna preta e crotalária juncea como plantas de cobertura. Menores teores dessa proteína foram obtidos em parcelas onde a braquiária ruziziensis foi utilizada como planta de cobertura antecedendo o cultivo do milho.

Palavras-chave: Glomerosporos; glomalina facilmente extraível; adubação verde; plantio direto.

INTRODUÇÃO - Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são considerados o tipo de micorriza mais comum na natureza e se associam com cerca de 90% das famílias de plantas terrestres (Brundrett, 2009). Esses fungos são aliados importantes das plantas terrestres por promoverem melhor desenvolvimento e maior adaptação dessas às condições de estresses, principalmente por aumentar a absorção de nutrientes e água, tendo grande importância econômica devido a associação a grande maioria das espécies de culturas importantes, colonizando a maioria dos solos agrícolas (Miranda, 2008; Parniske, 2008). Berbara et al (2006) afirmam que a contribuição das hifas extra-radulares não se limita à sua biomassa ou a aumentos na capacidade de plantas em mobilizar nutrientes. Elas também são responsáveis pela exsudação (ou incorporação em suas paredes celulares, bem como de

esporos) de glicoproteínas denominadas glomalinas. Esta proteína constitui um importante componente de estoque de carbono do solo (Nichols e Wright, 2006) além de estar associada à estabilidade de agregados e fertilidade do solo (Wright e Upadhyaya, 1998; Nichols e Wright, 2005).

Nos agroecossistemas, Carrenho et al. (2002) afirmam, que a associação entre FMAs e plantas sofre forte interferência de diversos fatores bióticos e abióticos que alteram os processos e os efeitos da colonização radicular nas plantas. Ainda segundo esses autores, as práticas agrícolas, como o preparo mecânico do solo, o manejo das culturas (monocultivos, cultivos múltiplos, adensados e outros) e os tratamentos culturais (adubações e aplicação de defensivos) também promovem alterações significativas nos componentes físicos, químicos e biológicos do solo, alterando qualitativa e quantitativamente tanto a comunidade de FMAs como o efeito destes nas plantas.

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de plantas de cobertura e fertilização nitrogenada na ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em latossolo vermelho de Cerrado cultivado com milho em sistema plantio direto.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo e coleta do solo: O experimento foi conduzido em Latossolo Vermelho argiloso, na área experimental da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF. Foram semeadas as seguintes espécies vegetais para cobertura do solo: Feijão-bravo-do-ceará (*Canavalia brasiliensis*), guandu (*Cajanus cajan*), mucuna-preta (*Mucuna aterrima*), crotalária juncea (*Crotalaria juncea*), milheto (*Pennisetum glaucum*), sorgo (*Sorghum bicholor*), braquiária ruziziensis (*Brachiaria ruziziensis*), trigo (*Triticum aestivum*) e nabo forrageiro (*Raphanus sativus*). A testemunha foi ausência de culturas em sucessão ao milho (vegetação espontânea). As plantas de cobertura foram semeadas diretamente sobre os restos culturais de milho, em março de 2010 e o milho em sucessão no sistema de plantio direto (SPD), em novembro de 2010. As amostras de solo foram coletadas na profundidade de 0-10 cm, em março de 2011, quando a área estava cultivada com milho em sucessão às plantas de cobertura, com e sem aplicações de nitrogênio (N) em cobertura. O

delineamento experimental foi em blocos ao acaso com os tratamentos distribuídos em parcelas subdivididas com três repetições. As parcelas foram representadas pelas áreas das plantas de cobertura e as subparcelas constituídas pela aplicação e não aplicação do nitrogênio em cobertura à cultura de milho. A dose aplicada de N foi de 120 kg ha⁻¹, sendo 20 kg ha⁻¹ aplicados na semeadura e o restante (100 kg ha⁻¹) durante as emissões do quarto (50 kg ha⁻¹) e oitavo (50 kg ha⁻¹) pares de folhas da cultura do milho.

Extração e contagem de esporos: Os esporos dos FMA's foram extraídos de um volume de 50 ml de solo usando o método de peneiramento úmido (Gerdermann e Nicolson, 1963), seguido de centrifugação em água e sacarose. Os esporos extraídos foram contados sob lupa estereoscópica em placa canaletada com os valores transformados em log (x+1) para análise estatística.

Teor de glomalina facilmente extraível (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 glomalina, 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.

Análise estatística: Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas por meio do teste de Tukey (P<0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÃO - As diferentes plantas de cobertura utilizadas em pré-cultivo com o milho não influenciaram o número de esporos extraídos da rizosfera desta espécie (Tabela 1). A contagem de esporos não foi elevada (Tabela 1), o que é comum em solos de Cerrado (Miranda et al., 2001), cuja população tende a aumentar gradativamente com o cultivo de plantas que dependam e, ou multipliquem esses fungos.

As culturas anuais (soja, feijão, milho) e de adubos verdes (mucuna, crotalária, feijão de porco, guandu, girassol, milheto, mamona), assim como as forrageiras (estilosantes, andropogon) apresentam elevado grau de dependência micorrízica (Miranda e Miranda, 2001). A dependência micorrízica é controlada por atributos da planta como comprimento e massa de raízes e relação raiz/parte aérea, além da fertilidade dos solos (Koide et al., 1988), que também controlam a capacidade das plantas em promover a esporulação dos fungos.

O nabo forrageiro, planta não micotrófica, tende a interferir negativamente na esporulação e micorrização da cultura subsequente (Miranda et al., 2001). No presente trabalho este comportamento não foi verificado (Tabela 1). Estudos conduzidos por Cordeiro et al. (2005) em latossolo vermelho de Cerrado em Mato Grosso do Sul, mostraram que o cultivo do nabo forrageiro como cultura antecessora ao milho não reduziu a colonização micorrízica dessa cultura. Esses mesmos autores comparando diferentes seqüências de cultivo observaram densidade de esporos relativamente alta na seqüência soja-nabo forrageiro-milho. Essa densidade foi maior,

inclusive, do que na seqüência soja-milho-sorgo, constituída exclusivamente de plantas micotróficas. Anteriormente, Farah Jr. et al (1991) haviam mostrado que a produção de esporos, propágulos infectivos e colonização radicular em plantas de alho não sofreram alterações com pré-cultivo de mandioca, milho, sorgo ou crotalária juncea, que também são plantas micotróficas. No presente trabalho, a colonização das raízes de milho não foi avaliada. Portanto, não se estimou a micorrização, apenas a esporulação do fungo.

Os maiores teores de GFE foram obtidos nas áreas onde se utilizou mucuna-preta e crotalária-juncea como pré-cultivo e os menores quando a espécie antecessora do milho foi a braquiária (Tabela 1), sendo que diferenças significativas foram observadas apenas entre as primeiras espécies e esta última. Lopes et al (2011) também não verificaram diferenças nos teores de GFE num sistema plantio direto ao comparar milheto e mucuna-preta como plantas de cobertura.

CONCLUSÕES – Para as condições do presente trabalho, as diferentes plantas de cobertura em pré-cultivo ao milho não influenciam a esporulação dos fungos micorrízicos, e apenas ligeiramente os teores de glomalina. Nas doses empregadas e para as características do solo estudado, a adubação nitrogenada não afeta o número de esporos ou o teor de glomalina.

REFERÊNCIAS

- BERBARA, R. L. L.; DE SOUZA, F. A.; FONSECA, H.M.A.C. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. In: Manlio Silvestre Fernandes. (Org.). **Nutrição Mineral de Plantas**. 1 ed. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 53-88, 2006.
- BRUNDRETT, M. C. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. **Plant Soil**, 320: 37-77, 2009.
- CARENHO, R; TRUFEM, S.F.B; BONONI, V.L.R. Effects of using different host plants on the detected biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi from an agroecosystem. **Rev. Bras. Bot.** 25: 93-101, 2002.
- CORDEIRO, M.A.S.; CARNEIRO, M.A.C.; PAULINO, H.B.; SAGGIN-JUNIOR, O.J. Colonização e densidade de esporos de fungos micorrízicos em dois solos do cerrado sob diferentes sistemas de manejo. **Pesq. Agropec. Trop.**, 35: 147-153, 2005.
- FARAH-JR, F.; KASUYA, M.C.M.; CASALI, V.W.D.; THIEBAUT, J.T.L. Efeito de culturas antecessoras sobre a produção e a micorrização do alho (*Allium sativum*) "Amarante". In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 4., Mendes, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1991. p. 141.
- GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Trans. Br. Mycol. Soc.**, 46:235-244, 1963.
- KOIDE, R.T.; LI, M.; LEWIS, J.; IRBY, C. Role of mycorrhizal infection in the growth and reproduction of wild vs. cultivated plants. **Oecologia**, 77: 537-543, 1988.
- LOPES, A. A. C. ; NUNES, R. S. ; SOUSA, D. M. G. ; GOEDERT, W. J. ; PEREIRA, C. D. ; REIS JUNIOR, F. B. ; MENDES, I. C. Glomalina, atividade de fosfatase ácida e matéria orgânica em um latossolo vermelho sob vegetação nativa de cerrado e sob diferentes sistemas de preparo e doses de

fósforo. In: XXXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 2011. *Anais*, Uberlândia, Minas Gerais.

MIRANDA, J. C. C. **Cerrado – Micorriza Arbuscular: ocorrência e manejo**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008, 169p.

MIRANDA, J.C.C.; MIRANDA, L.N.; VILELA, L.; VARGAS, M.A.; CARVALHO, A. M. **Manejo da micorriza arbuscular por meio da rotação de culturas nos sistemas agrícolas do Cerrado**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2001. 3p. (Embrapa Cerrados. Comunicado Técnico, 42).

NICHOLS, K.A.; WRIGHT, S.F. Comparison of glomalin and humic acid in eight native US soils. *Soil Sci.*, 170:985–997, 2005.

NICHOLS, K.A.; WRIGHT, S.F. Carbon and nitrogen in operationally defined soil organic matter pools. *Biol. Fert. Soils*, 43:215–220, 2006.

PARNISKE, M. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature*, 6: 763-775, 2008.

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.

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.

Tabela 1 - Teores de médios de glomalina facilmente extraível (GFE) e número médios de esporos de fungos micorrízicos arbusculares em experimento com milho, com (AN) e sem adubação nitrogenada (SN), em sucessão a diferentes plantas de cobertura.

Plantas de cobertura	Número de esporos			Teores de GFE		
	AN ⁽¹⁾	SN	Média	AN	SN	Média
	----- esporos.50 mL de solo ⁻¹ -----			----- mg. g de solo ⁻¹ -----		
Mucuna preta	181	214	198 a	2,87	2,53	2,70 a
Crotalaria juncea	268	240	254 a	2,59	2,42	2,51 a
Trigo	207	195	201 a	2,74	2,13	2,43 ab
Milheto	140	190	165 a	2,41	2,44	2,42 ab
Guandu (cv. Mandarin)	214	233	223 a	2,12	2,20	2,16 ab
Nabo forrageiro	307	352	330 a	1,77	2,28	2,03 ab
Feijão bravo do Ceará	111	236	174 a	1,78	1,97	1,88 ab
Sorgo (cv. BR 204)	132	116	124 a	1,52	2,22	1,87 ab
Braquiária ruziziensis	138	362	250 a	1,59	1,51	1,55 b
Vegetação espontânea	293	197	245 a	2,32	2,48	2,40 ab
Média	199	234	216	2,17	2,22	2,20
CV (%)	8,28			20,64		

⁽¹⁾AN = adubação nitrogenada; SN = sem adubação nitrogenada; GFE = glomalina facilmente extraível. * Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).