

EFEITO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO DESENVOLVIMENTO DE DUAS LEGUMINOSAS ARBÓREAS

EFFECT OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI ON THE DEVELOPMENT OF TWO LEGUMINOUS TREES

Marcos Vinicius Winckler Caldeira¹ Eliane Maria Ribeiro da Silva²
Avílio A. Franco² Magda Lea Bolzan Zanon³

RESUMO

Em casa de vegetação do Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (CNPAB/EMBRAPA), foi avaliado o efeito da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na produção de *Peltogyne venosa* e *Sclerolobium paniculatum*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos: (*Glomus clarum* Nicolson & Schenk, *Gigaspora margarita* Becker Hall, fungos nativos e testemunha - sem inoculação) e 25 repetições. Aos 168 dias após a germinação, observou-se que os tratamentos não influenciaram no crescimento das mudas, com exceção de *P. venosa* inoculadas com *G. margarita* tiveram uma maior produção de peso seco de raízes finas. Mudas de *P. venosa* e *S. paniculatum* inoculadas com *G. clarum*, fungos nativos respectivamente, tiveram as maiores percentagens de colonização micorrízica. Em ambas as espécies estudadas, as maiores percentagens de sobrevivência foram em mudas inoculadas com fungos nativos.

Palavras-chave: Fungo micorrízico, micorriza, leguminosa, *Peltogyne venosa*, *Sclerolobium paniculatum*.

ABSTRACT

In a green house at the National Center of Research of Agrobiology (CNPAB/EMBRAPA), the effect of the inoculation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) in the production of *Peltogyne venosa* and *Sclerolobium paniculatum* was evaluated. The experimental design was completely randomized with 4 treatments (*Glomus clarum* Nicolson & Schenk, *Gigaspora margarita* Becke Hall, native mycorrhizae and controls - without inoculation) and 25 repetitions. One hundred sixty eight days after seed germination, it was observed that the treatments did not affect seedling growth, except for *P. venosa* inoculated with *G. margarita*, which had a larger production of dry weight of fine roots. Seedlings of *P. venosa* and *S. paniculatum* inoculated with *G. clarum* and native mycorrhizae had the largest percentages of micorrhizal colonization. In both species studied, the largest survival percentages was of seedlings inoculated with native mycorrhizae.

Key words: Mycorrhizal Fungi, Mycorrhizae, legumes, *Peltogyne venosa*, *Sclerolobium paniculatum*.

1. Engenheiro Florestal, M.Sc., Acadêmico do Curso de Doutorado em Engenharia Florestal. Escola de Florestas. Universidade Federal do Paraná. CEP: 80035-010. Curitiba. PR.
2. Dr., Pesquisadores do Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (CNPAB). Antiga Rodovia Rio/SP. Km 47. CEP: 23850-970. Seropédica. Itaguaí. RJ.
3. Engenheira Florestal, MSc., Professora do Instituto de Ciências Biológicas. Universidade de Passo Fundo. Bairro São José. BR 285. CEP: 99001-970. Passo Fundo. RS.

INTRODUÇÃO

Em leguminosas arbóreas a presença de micorrizas pode contribuir para expandir a área de captação do P, Mo, Zn e outros nutrientes de baixa mobilidade no solo principalmente, o P e Zn que chegam até as raízes pelo processo de difusão, permitindo o crescimento em solos extremamente pobres e deficientes em nitrogênio. Vários trabalhos têm mostrado resposta positiva à inoculação com rizóbio juntamente com micorrizas em leguminosas (MOSSE, 1976). Algumas espécies da família Casuarinaceae formam simbiose com *Actinomicetos* e também fixam N₂ atmosférico em nódulos com formação de tufo de raízes (DIEM *et al.*, 1981) contribuindo para aumentar a área de captação dos demais nutrientes.

Outros trabalhos têm demonstrado que, em solos de baixa fertilidade, a inoculação de leguminosas com rizóbio e fungos micorrízicos aumenta a nodulação, fixação de nitrogênio e crescimento das leguminosas (SIVAPRASAD *et al.*, 1983; BONETI, 1984; COSTA *et al.*, 1990).

As micorrizas arbusculares (MA) aumentam a área explorada pelo sistema radicular favorecendo o uso dos nutrientes, principalmente, o fósforo. Espécies não micorrizadas ou mesmo colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares (FMA) ineficientes, crescendo em condições de baixa disponibilidade de fósforo, em geral necessitam de mais fertilizantes fosfatados do que plantas eficientemente micorrizadas (MONTEIRO, 1990).

Os efeitos da colonização micorrízica no crescimento e nutrição das plantas foram revisados por diversos autores (HARLEY & SMITH, 1983; COOPER, 1984; ABBOTT & ROBSON, 1984; TRINDADE *et al.*, 1997). De uma maneira geral, em solos com baixa disponibilidade de fósforo as plantas colonizadas com FMA apresentam maior crescimento que as não colonizadas (MONTEIRO, 1990).

Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são biotróficos obrigatórios, ou seja, apenas crescem e esporulam na presença de raízes vivas, o que faz com que sua utilização em larga escala na agricultura seja limitada pela falta de inoculante aceito comercialmente e de um padrão oficial para seu controle de qualidade (MONTEIRO, 1990).

O uso de leucena como cobertura de solo e adubação verde tem-se difundido, devido a capacidade que esta planta apresenta de produzir grande quantidade de matéria seca e revegetar solos degradados. Estas características estão principalmente relacionadas a formação de simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico e com fungos micorrízicos. Estes microrganismos, quando em simbiose, aumentam a eficiência da planta em usar água e nutrientes e especialmente nitrogênio e fósforo, e com isso contribuem para a manutenção e recuperação da fertilidade do solo (BATINI *et al.*, 1994).

No presente estudo, avaliou-se a resposta em crescimento de *Peltogyne venosa* e *Sclerobium paniculatum* à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em casa de vegetação.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido em casa de vegetação localizada, no Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (EMBRAPA/CNPAB) Itaguaí, RJ com 22° 46' de latitude Sul e 43° 41' de longitude Oeste com altitude de 33 metros. De acordo com KOEPPEN o clima predominante na região é AW.

As sementes de *Peltogyne venosa* (pau-roxo-da-varzea) e *Sclerolobium paniculatum* (Taxi-branco) foram provenientes da região de Porto Trombetas-PA. As mesmas passaram por um processo de quebra de dormência em ácido sulfúrico (95-97% Para Análise - PA) permanecendo no mesmo por 55 minutos para *Peltogyne venosa* e 60 minutos para *Sclerolobium paniculatum*. Após foram desinfestadas com peróxido de hidrogênio (30% Para Análise - PA) por dois minutos e em seguida lavadas com água estéril (água autoclavada).

Após a quebra de dormência as sementes foram colocadas em placas de Petri esterilizadas e levadas ao germinador, a uma temperatura de 34,4° C permanecendo de dois a três dias.

O substrato utilizado foi uma mistura de composto orgânico: argila: areia: fosfato de rocha natural na proporção de 6 : 2 : 1 : 1, respectivamente. Para a esterilização do substrato utilizou-se 0,60 ml de brometo de metila/kg de solo permanecendo hermeticamente fechado durante 96 horas.

O plantio das sementes pré-germinadas foi feito em bandejas de isopor com 72 células de formato retangular e em cada bandeja foram utilizadas 25 células, sendo que em cada célula foram colocadas 2 sementes e quando as plântulas obtiveram dois pares de folhas definitivas foi realizado desbastes deixando uma plântula por célula.

No momento do plantio das sementes pré-germinadas foi realizada a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares. Em cada célula foram colocados 30 esporos/planta.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 25 repetições. Os tratamentos foram: *Glomus clarum* (Nicolson & Schenk), *Gigaspora margarita* (Becker & Hall), fungos nativos e testemunha (sem inoculação). O solo do tratamento testemunha foi desinfestado com brometo de metila (0,60 ml de brometo de metila/kg de solo). Os fungos nativos foram procedentes da rizosfera de plantas da mata virgem da região de Porto Trombetas-PA.

Após 168 dias, foram avaliados os parâmetros: altura, diâmetro à altura do colo, peso seco da parte aérea e raiz seca e percentagem do comprimento de raízes colonizadas.

Do volume de solo coletado em cada célula foram separadas raízes finas (< 1,0 mm de diâmetro) para avaliação da colonização micorrízica.

Para verificação da colonização micorrízica, o sistema radicular foi lavado e colocado em papel absorvente para ser retirado o excesso de umidade. Foi retirado 0,5g de raízes finas, sendo as mesmas foram lavadas com água destilada e conservadas em etanol 50%. O clareamento e coloração das raízes foi feito de acordo com a metodologia propostas por KOSKE & GEMMA (1989).

As raízes foram lavadas com água e deixadas por 6 horas, a 28°C, em KOH 10%, aquecidas a 80°C durante 1 hora e lavadas com água. Em seguida foram imersas em H₂O₂ 10 volumes por 5

minutos, lavadas com água e colocadas em HCl 2% por 5 minutos. Removeu-se o HCl, isto é, as raízes foram lavadas e após coradas com azul de tripano 0,05% em lactoglicerol (ácido láctico, glicerol e água na proporção 1:1:1) a 65°C, durante 7 minutos e então colocadas em lactoglicerol.

A percentagem do comprimento de raízes finas colonizadas foi avaliado pelo método da placa quadriculada (GIOVANNETTI & MOSSE, 1980).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Peltogyne venosa

A Tabela 1, mostra os parâmetros avaliados de *P. venosa*, em função de diferentes tipos de FMA.

A inoculação com *G. margarita* favoreceu a acumulação de matéria seca de raízes finas de *P. venosa* quando comparado com a testemunha (sem inoculação). Para os demais parâmetros (altura, peso seco da parte aérea e peso seco de raízes grossas) não houve diferenças entre os tratamentos (Tabela 1).

TABELA 1: Altura (h), diâmetro à altura do colo (d), peso seco da parte aérea (PSPA), peso seco de raízes grossas (PSRG (> 1,0 mm de diâmetro) e peso seco de raízes finas (PSRF (< 1,0 mm de diâmetro) em mudas de *P. venosa*, inoculadas ou não com FMA, aos 168 dias após a germinação.

Tratamentos	h (cm)	d (cm)	PSPA g/planta	PSRG g/planta	PSRF g/planta
<i>G. clarum</i>	8,75 a	0,21 a	0,21 a	0,11 a	0,04 b
<i>G. margarita</i>	1,25 a	0,22 a	0,24 a	0,12 a	0,12 a
Fungos Nativos	9,85 a	0,20 a	0,23 a	0,12 a	0,05 b
Testemunha	1,25 a	0,22 a	0,30 a	0,11 a	0,06 b

Médias ligadas por mesma letra na mesma coluna não diferem pelo teste de Tukey, em nível de % de probabilidade de erro.

Na Tabela 2, são apresentados os resultados de colonização micorrízica e taxa de sobrevivência. As maiores percentagens de colonização foram obtidas com *G. clarum* e fungos nativos, diferenciando significativamente de *G. margarita* e testemunha. A maior taxa de sobrevivência foi observado nas mudas inoculadas com fungos nativos contra apenas 8% das mudas da testemunha.

Estudo realizado por WINCKLER CALDEIRA *et al.* (1997), com *Copaifera martii* constataram que as mudas inoculadas com *G. clarum* e *G. margarita* tiveram as maiores taxas de colonização micorrízica e percentagem de sobrevivência respectivamente, (32,20 e 33,40%; 44 e 48%).

TABELA 2: Porcentagem do comprimento de raízes finas (< 1,0 mm de diâmetro) colonizadas (PCRFC) com FMA e taxa de sobrevivência (TS) em mudas de *P. venosa*, aos 168 dias após a germinação.

Tratamentos	PCRFC (%)	TS (%)
<i>G. clarum</i>	35,0 a	16
<i>G. margarita</i>	7,3 b	40
Fungos Nativos	33,7 a	68
Testemunha	0,0 c	8

Médias ligadas por mesma letra na mesma coluna não diferem pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro.

Observa-se nas Tabelas 1 e 2 que o tratamento com *G. margarita*, mesmo apresentando a menor porcentagem do comprimento de raízes colonizadas, foi superior ou equivalente ao tratamento sem FMA em altura, diâmetro, peso seco de raízes finas e grossas, concordando com os resultados da literatura que mostram não existir correlação entre a porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas e a resposta da planta. Pois, conforme LOUREIRO & SILVA (1993), estudando a influência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares (FMVA) e *Bradyrhizobium* sp. em *Aeschynomene fluminensis* acharam resultados semelhantes com *Glomus occultum*, onde as mudas inoculadas com esse fungo, mesmo apresentando a menor porcentagem do comprimento de raízes colonizadas, foi superior ao controle sem FMVA em altura, diâmetro à altura do colo, peso da matéria seca de parte aérea e raízes, volume de raízes e número de nódulos, equivalendo-se a outros tratamentos com FMVA.

Sclerolobium paniculatum

A Tabela 3, mostra que para todos os parâmetros analisados os tratamentos não diferiram estatisticamente.

TABELA 3: Altura (h), diâmetro à altura do colo (d), peso seco da parte aérea (PSPA), peso seco de raízes grossas (PSRG (> 1,0 mm de diâmetro) e peso seco de raízes finas (PSRF (< 1,0 mm de diâmetro) em mudas de *S. paniculatum*, inoculadas ou não com FMA, aos 168 dias após a germinação.

Tratamentos	h (cm)	d (cm)	PSPA g/planta	PSRG g/planta	PSRF g/planta
<i>G. clarum</i>	8,67 a	0,13 a	0,32 a	0,04 a	0,07 a
<i>G. margarita</i>	6,14 a	0,11 a	0,15 a	0,03 a	0,04 a
Fungos Nativos	11,89 a	0,19 a	0,54 a	0,09 a	0,12 a
Testemunha	11,00 a	0,16 a	0,48 a	0,09 a	0,15 a

Médias ligadas por mesma letra na mesma coluna não diferem pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro.

Através da Tabela 4, observa-se que a maior porcentagem de colonização micorrízica e taxa de sobrevivência foi obtida respectivamente, com fungos nativos. Mudas de *S. paniculatum* conseguiram um índice de sobrevivência de 56%, contra apenas 8% das mudas do tratamento

testemunha.

TABELA 4: Porcentagem do comprimento de raízes finas (< 1,0 mm de diâmetro) colonizadas (PCRFC) com FMA e taxa de sobrevivência (TS) e taxa de sobrevivência em mudas de *S. paniculatum*, aos 168 dias após a germinação.

Tratamentos	PCRFC (%)	TS (%)
<i>G. clarum</i>	9,1 b	12
<i>G. margarita</i>	8,6 b	28
Fungos nativos	20,8 a	56
Testemunha	0,0 c	8

Médias não ligadas por mesma letra na mesma coluna não diferem pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro.

Observa-se na Tabela 4, que a menor colonização micorrízica ocorreu no tratamento com *G. margarita* seguido do tratamento com *G. clarum*.

Por mais que nos parâmetros avaliados em ambas espécies a inoculação com FMA não tiveram um grande aumento significativo na produção de mudas a literatura mostra os efeitos positivos da inoculação quanto ao ganho de crescimento em altura, diâmetro à altura do colo e peso seco da parte aérea e de raízes, comparando-se a estudos desenvolvidos com outras espécies (DIEDERICHS, 1982; POPE *et al.*, 1988; BORGES & CHANEY, 1980), provavelmente alcançados pelo melhora na absorção de nutrientes (ABBOTT & ROBSON, 1984).

As diferenças consistentemente altas e significativas entre as plantas micorrizadas e não micorrizadas, leva segundo DAFT & NICOLSON (1966), em consideração dois fatores: a disponibilidade de nutrientes no solo e o nível de colonização micorrízica da raiz. Pois, conforme os autores acima, os efeitos da associação micorrízica sobre o crescimento das plantas depende, de alguma forma do balanço entre esses dois fatores.

Além dos fatores acima deve-se levar em consideração também, espécies, tipos de fungos micorrízicos, adubação do substrato, tipo de solo, etc.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados pode-se concluir que:

As maiores percentagens de colonização micorrízica em mudas de *P. venosa* foram obtidas com *G. clarum* e fungos nativos e o maior índice de sobrevivência ocorreu nas mudas inoculadas com fungos nativos;

A inoculação com fungos nativos respectivamente, favoreceu a percentagem de colonização de raízes finas e a percentagem de sobrevivência nas mudas de *S. paniculatum* e *P. venosa*;

Mudas de *P. venosa* e *S. paniculatum* inoculadas com *G. clarum* e *G. margarita* não tiveram incrementos nos parâmetros avaliados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. The effect of VA mycorrhizae on plant growth. In: POWELL, C.L.; BAGYARAJ, D.J. (eds) **VA MYCORRHIZAL**. S.I.: CRC Press, 1984. p.113-130.
- BATINI, M.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; RAMOS, A.L.M. Resposta da leucena à dupla inoculações rizóbio-fungos micorrízicos e à adubação fosfatada. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 1994. **Resumos...** Londrina: SBMS, 1994. 162p. p.93
- BONETTI, R. Efeito de micorrizas vesicular-arbusculares na nodulação, crescimento e absorção de fósforo e nitrogênio em siratro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.8, p.189-92, 1984.
- BORGES, R.C.G.; CHANEY, W.R. The response of *Acacia scleroxyla* Tuss. to mycorrhizal inoculation. **The International Tree Crops Journal**, v.5, p.191-201, 1988.
- COOPER, K.M. Physiology of VA mycorrhizal associations. In: POWELL, C.L.; BAGYARAJ, D.J. (eds) **VA MYCORRHIZAL**. S.I.: CRC Press, p.155-186. 1984.
- COSTA, N. de L.; PAULINO, V.T.; RODRIGUES, A.N.A. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal and phosphate fertilization on growth, nodulation and nitrogen and phosphorus uptake of pigeonpea. **Nitrogen Fixing Tree Res. Reports**, v.8, p.123-125, 1990.
- DAFT, M.J.; NICOLSON, T.H. Effect of *Endogone* mycorrhizal on plant growth. **The New Phytologist**, Cambridge, v.65, n.3, p.343-350, 1966.
- DIEDERICHS, C. Influence of light in the efficacy of vesicular-arbuscular mycorrhiza in tropical subtropical plants. I. Effect of light intensity under greenhouse conditions. **Angew Botanik**, Berlin, v.56, p.325-333, 1982.
- DIEM, H.G.; GUEYE, I.; GIANINAZZI-PEARSON, U.; FORTIM, J. A.; DOMMERGUES, Y. R. Ecology of VA mycorrhizal in the tropics, the semi-arid zone of Senegal. **Acta Decologica. Decol. Plant.** n.2, p. 53-62, 1981.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measurig VA mycorrhizal infection in roots. **New Phytol.** v.84, p.489-500, 1980.
- HARLEY, J.L.; SMITH, S.E. **Micorrhizal symbiosis**. London: Academic Press, 1983.
- KOSKE, R.E.; GEMMA, J.N. A modified procedure pr staining roots to detect VA mycorrhizas. **Micol. Res.**, v.92, p. 488-505, 1989.
- LOUREIRO, M. de F.; SILVA, E.M.R da. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares e *Bradyrhizobium sp.* em *Aeschynomene fluminenses*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 1993. **Resumos...** Goiânia: SBCS, 1993. v.1, p.333-334.
- MONTEIRO, E.M. da. S. **Resposta de leguminosas arbóreas à inoculação com rizóbio e fungos micorrízicos em solo ácido**. Itaguaí: UFRRJ, 1990. 221p. (Teses de Doutorado).
- MOSSE, B. Role of mycorrhizal in legume nutrition. In: EXPLOTING THE LEGUME-*Rhizobium*

- SYMBIOSIS IN TROPICAL AGRICULTURE, Vicent, J. M. Whitney, A. S.; Bose, J. (eds.) **Univ. Hawaii coll. Trop. agric. Misc.** Publ. n.145, p.275-292, 1976.
- POPE, P.E.; CHANEY, W.R.; RHODERS, J.D.; WOODHEAD, S.H. The mycorrhizal dependency of four hardwood tree species. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.61, n.2, p.412-417, 1983.
- SIVAPRASAD, P.; HEDGE, S.V.; RAI, PV. Effect of *Rhizobium* and mycorrhiza inoculation on growth of *Leucaena*. **Leucaena Res. Rep.** Taipei, n.4, v.42, 1983.
- TRINDADE, A.V.; DIAS, A.C de P.; JUCKSCH, I. Efeito de resíduos urbanos e de fungos micorrízicos arbusculares no crescimento de capim-gordura *Melinis minutiflora* e cedro *Cedrela fissilis* em rejeito de mineração. **Revista Árvore**, Viçosa, v.21, n.4, p.575-582, 1977.
- WINCKLER CALDEIRA, M.V.; SILVA, E.M.da.; FRANCO, A.A.; ZANON, M.L.B. Crescimento de leguminosas arbóreas em resposta a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.7, n.1, p.1-10, 1997.