

Quantificação de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em solo sob diferentes cultivos de cafeeiros

Ana Maria Sá Durazzini¹

Manoel Araújo Teixeira²

Angélica Aparecida Vieira Adami³

Resumo

Foram avaliadas duas áreas de cafeicultura, uma implantada em Sistema Agroflorestal (SAF) e outra em Sistema Convencional de Produção (SCP) sobre os FMAs. As amostras de solo nas áreas de estudo foram coletadas a uma profundidade de 0 a 20 cm com trado tipo holandês, em 10 pontos aleatórios, com uma limitação de 30 x 05 m, sendo retiradas quatro subamostras de cada ponto na projeção da copa da planta e nos quatro quadrantes da planta do cafeeiro em agosto de 2012 (época seca do ano). Os esporos foram extraídos pelo método do peneiramento úmido e as respectivas contagens dos sistemas foram realizadas 24 horas após sua extração, com o auxílio de microscópio estereoscópico. Os resultados foram submetidos ao software Statistica 2009, no qual foi realizada a avaliação do DP (desvio padrão) dos valores e a relação das médias pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$). No SCP o número de esporos variou entre 103 e 142 unidades/50 mL de solo, enquanto que no SAF variou entre 275 e 319 unidades/50 mL de solo. Os números de esporos de FMAs encontrados foram maiores na área sob cultivo de SAF em comparação à área sob cultivo de SCP, portanto houve influência do tipo de manejo conduzido nas áreas dos cafeeiros.

Palavras-chave: Agrofloresta. Microbiologia. Micorrizas. Esporos.

Introdução

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) quando associados às raízes das plantas podem contribuir com sua nutrição, resultando em menor consumo de fertilizantes minerais, e, assim, ajudar na maximização do equilíbrio ecológico de lavouras agrícolas em uma perspectiva de preservação ambiental e aumento da produção.

Esses fungos destacam-se por formar associações simbiotróficas mutualísticas com as raízes da maioria das plantas (ZANGARO; MOREIRA, 2010). São fungos denominados Glomeromicetes, pertencentes ao filo Glomeromycota (GOTO, 2006). As micorrizas arbusculares (MAs) são determinantes na ciclagem de nutrientes e sua absorção pelas plantas, principalmente dos poucos móveis no solo, como fósforo, zinco e cobre para a maioria das plantas, e nitrogênio para as leguminosas (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2005).

¹ Universidade do Vale do Sapucaí – UNIVÁS, gestora ambiental. Pouso Alegre, Minas Gerais, Brasil. anadurazzini@gmail.com. Pouso Alegre (MG), CEP 37550-000.

² Universidade do Vale do Sapucaí – UNIVÁS, professor. Pouso Alegre, Minas Gerais, Brasil. manoel.at@uol.com.br. Pouso Alegre (MG), CEP 37550-000.

³ Universidade do Vale do Sapucaí – UNIVÁS, professor. Pouso Alegre, Minas Gerais, Brasil. angelproteina@yahoo.com.br. Pouso Alegre (MG), CEP 37550-000.

A promoção de práticas de manejo agrícola favoráveis ao ambiente é imprescindível para um melhor desenvolvimento dos FMAs. Os Sistemas Agroflorestais (SAF) podem manter ou aumentar a produtividade de determinado local, devido a processos que reduzem perdas no solo, como matéria orgânica, nutrientes e água, além de melhorar as propriedades físicas e químicas e beneficiar processos microbiológicos do solo (YOUNG, 1994).

Ainda é limitada a abordagem sobre a atividade das micorrizas arbusculares em condições de campo, pois o estabelecimento dessa simbiose pode ser afetado por uma série de fatores como características do solo, espécie vegetal (LOVATO et al., 1992), incidência de luz (GEHRING, 2003), disponibilidade de água (ENTRY et al., 2002) e o manejo adotado no agrossistema (SMITH; READ, 1997). Além desses aspectos, grande parte dos estudos realizados sobre a fisiologia das plantas de cafeeiros visa, essencialmente, ao conhecimento das relações entre a planta e os fatores abióticos (fotossíntese, respiração, nutrição mineral, relações hídricas). Portanto, há grande lacuna no entendimento da interação entre o metabolismo fisiológico da planta e os fatores bióticos, como a presença das micorrizas.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a possível influência da cafeicultura implantada em SAF e em Sistema Convencional de Produção (SCP) sobre os esporos de FMAs presentes no solo.

Material e métodos

As amostragens das áreas de estudo foram coletadas em agosto de 2012 (época seca do ano).

Área sob cultivo do cafeeiro em Sistema Convencional

A área em estudo está localizada no sul do estado de Minas Gerais, Latitude 22°18'34,6" S, Longitude 46°20'11,5" W, a uma altitude de 860 metros e com solo classificado como Argissolo Vermelho Distrófico (PRADO, 2005). Existe há 40 anos e é constituída pela variedade Icatu Amarelo, com espaçamento de 2,5 m x 2 m. A área recebe adubações químicas e calagens (ambas realizadas manualmente, sem a utilização de máquinas agrícolas) anuais, de acordo com a necessidade calculada a partir da análise química do solo, e apresenta uma declividade média de 20 %. O solo recebe luz solar diretamente, não há o cultivo de outra planta além dos cafeeiros (*Coffea*), pois é realizada a aplicação de herbicidas trimestralmente.

Área sob cultivo do cafeeiro em SAF

A área em estudo está localizada no sul do estado de Minas Gerais, Latitude 22°09'33" S, longitude 45°45'15" W, a uma altitude de 860 metros e com solo classificado como Argissolo Amarelo eutrófico (PRADO, 2005). Existe há 30 anos e é constituída pela variedade Catuaí Vermelho, com espaçamento de 2,5m x 2m. A área recebe adubações únicas e exclusivamente orgânicas, anuais e manuais, de acordo com a necessidade calculada a partir da análise química do solo, que apresenta uma declividade média de 30 %. As plantas de cafeeiros (*Coffea*) são cultivadas juntamente com espécies de mamoeiro (*C. papaya*), pau pereira (*P. regnellii*), feijoeiro (*P. vulgaris*), milho (*Zea Mays*) e palmeira Juçara (*E. edulis*). Não há a prática de capina com enxada, assim como a aplicação de herbicidas, pois o controle de plantas inoportunas é realizado com roçadas mecânicas, somente quando necessário (duas a três vezes ao ano).

Delimitação para amostragem das áreas em estudo

A coleta de solo foi realizada em três blocos nas dimensões de 30 x 5 m cada, em cada área. Em cada bloco foram retiradas amostras do solo na profundidade de 0 - 20 cm, com trado do tipo holandês. Dentro desses blocos devidamente delimitados, foram amostrados aleatoriamente 10 pon-

tos com distância mínima de 4 metros entre eles, sendo retiradas quatro subamostras de cada ponto, na projeção da copa da planta, nos quatro quadrantes da planta do cafeeiro.

Cada amostra composta (ao total foram 40 subamostras em cada bloco) gerou aproximadamente 0,5 kg de solo, as quais foram devidamente acondicionadas em sacos plásticos, dentro de uma caixa térmica e transportadas para o laboratório de microbiologia da Universidade do Vale do Sapucaí – UNIVÁS, onde foram armazenadas em geladeira com temperatura regulada em 5 °C, até o processamento das amostras ser realizado (DURAZZINI et al., 2008).

Extração de esporos de FMAs

As amostras de solo foram passadas em peneira com malha de 2 mm de diâmetro e secas ao ar por 12 horas. Em seguida, a densidade de esporos foi avaliada, utilizando-se de quatro repetições para cada ponto de coleta, contendo 50 mL de solo, medidos em Beckeres em cada repetição.

Os esporos foram extraídos pelo método do peneiramento úmido (GERDEMANN; NICOLSON, 1963), como indicado na figura 1. O procedimento consistiu na transferência, separadamente, dos volumes das amostras de solo para recipientes plásticos de maior volume. Essas amostras foram lavadas quatro vezes, sendo o sobrenadante resultante de cada lavagem, passado em peneiras de malhas 0,71, 0,25 e 0,053 mm (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2005); o material retido na peneira de menor malha foi acondicionado diretamente em tubos de centrífuga da marca Iceltec, com velocidade selecionável de 1.200 a 3.250 RPM.

Em seguida, os tubos foram balanceados com água destilada e centrifugados por 3 minutos, a 3.000 RPM.

O sobrenadante dos tubos foi drenado cuidadosamente, sendo adicionada solução de sacarose a 50 % neles, agitando o conteúdo com auxílio de um bastão de vidro para serem centrifugados por 2 minutos a 2.000 RPM. Após, o sobrenadante foi drenado na peneira de menor malha (0,053 mm). Posteriormente as amostras compostas (os 10 pontos por área formaram uma amostra composta para cada área) foram lavadas com água destilada e armazenadas em 24 recipientes plásticos replicadas para cada amostra composta, com tampa e capacidade para 100 mL, devidamente identificados com nome, número da amostra e data de realização da extração. Os recipientes foram armazenados em geladeira a 5 °C até a contagem dos esporos.

A contagem dos esporos de FMAs foi realizada 24 horas após a extração deles. Os esporos foram contados diretamente em placa canaletada com o auxílio de microscópio estereoscópico, sendo posteriormente montados entre lâmina e lamínula com PVLG (álcool-polivinícolactoglicerol) e visualizados em microscópio óptico para confirmar serem esporos de FMAs (SCHENCK; PÉREZ, 1990).

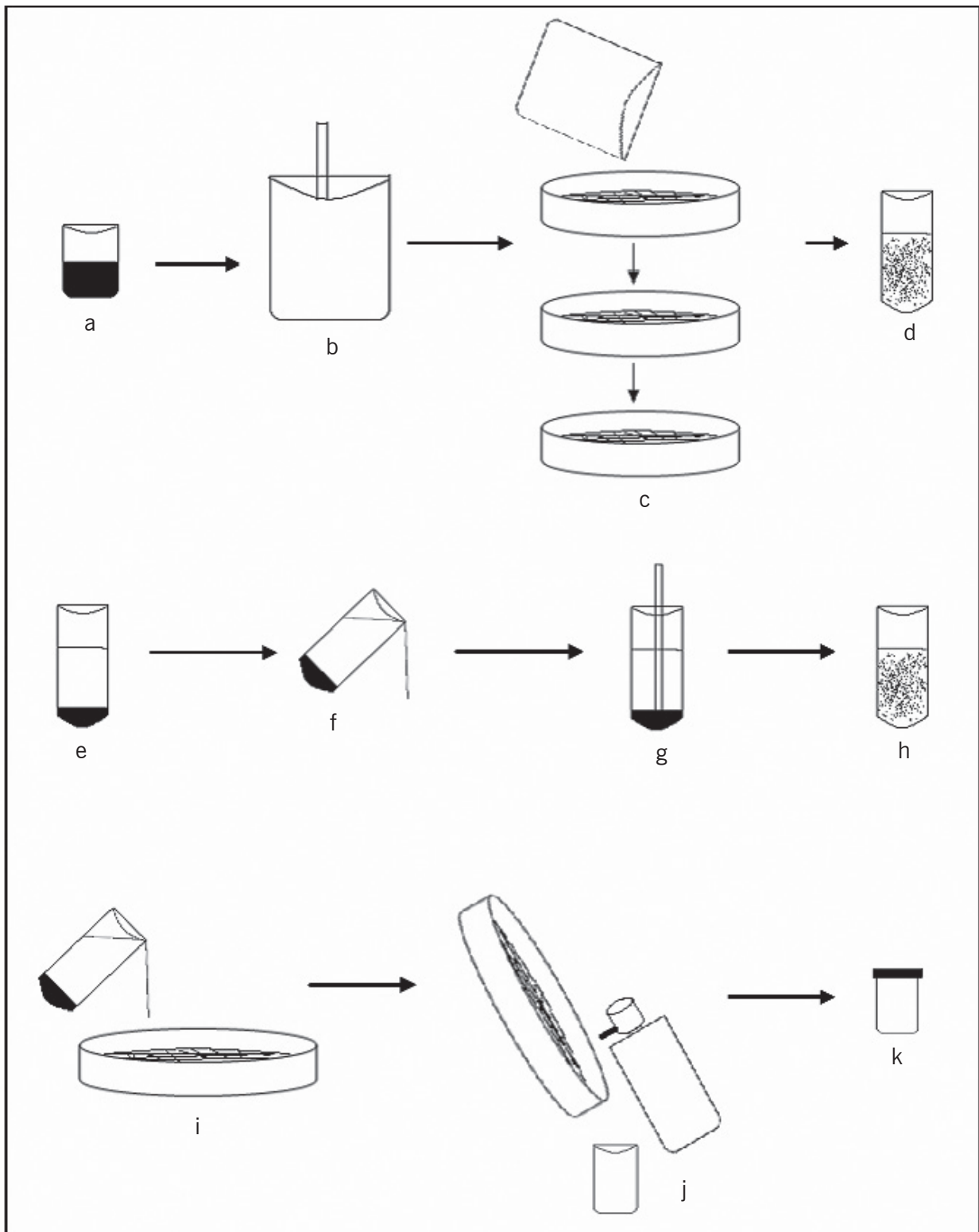


Figura 1. Procedimento da técnica do peneiramento úmido para a extração dos esporos e o acondicionamento das amostras. (a) Becker com 50 mL de solo; (b) recipiente plástico para a lavagem do solo; (c) peneiramento; (d) tubo balanceado; (e) tubo após primeira centrifugação; (f) drenagem do sobrenadante; (g) ressusensão do material em solução de sacarose a 50 %; (h) tubo balanceado; (i) passagem do sobrenadante em peneira de 0.053 mm; (j) lavagem do material retido na peneira, utilizando água destilada; (k) armazenamento em recipiente plástico

Fonte: Durazzini, 2008.

Delineamento experimental

Os dados estatísticos foram tratados no software Statistica 2009 (STATISTICA, 2009), utilizados também por (OLIVEIRA et al., 2009) e (GALVAN et al., 2014). Por meio de avaliação do DP (desvio-padrão) dos valores e relação das médias pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$) pode-se identificar a influência do sistema de cultivo sobre o número de esporos de FMAs.

Resultados e discussão

O menor número de esporos de FMAs encontrados sob o cultivo de SAF foi de 275 unidades/50 mL de solo, e o maior foi de 319 unidades/50 mL de solo (Figura 2).

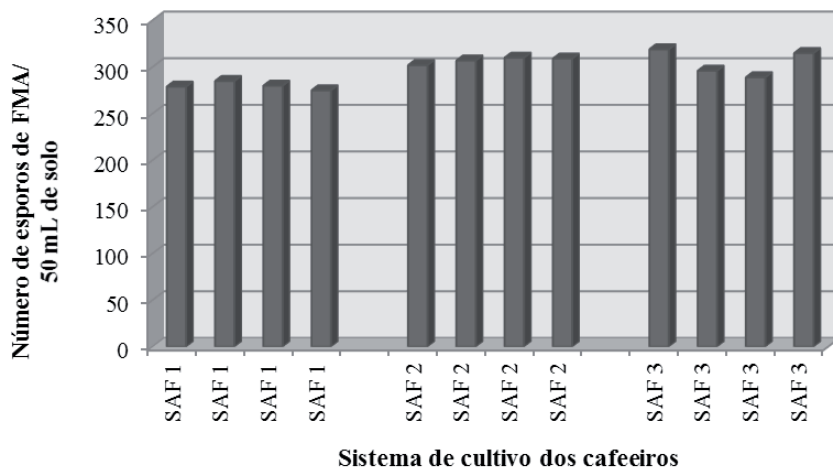


Figura 2. Valores de números de esporos de FMAs obtidos em 50 mL de solo no SAF. Delineamento realizado em triplicata.

Fonte: Elaborado pelos autores.

O menor número de esporos de FMAs encontrados sob o cultivo de SCP foi de 103 unidades/50 mL de solo e o maior foi de 142 unidades/50 mL de solo (figura 3).

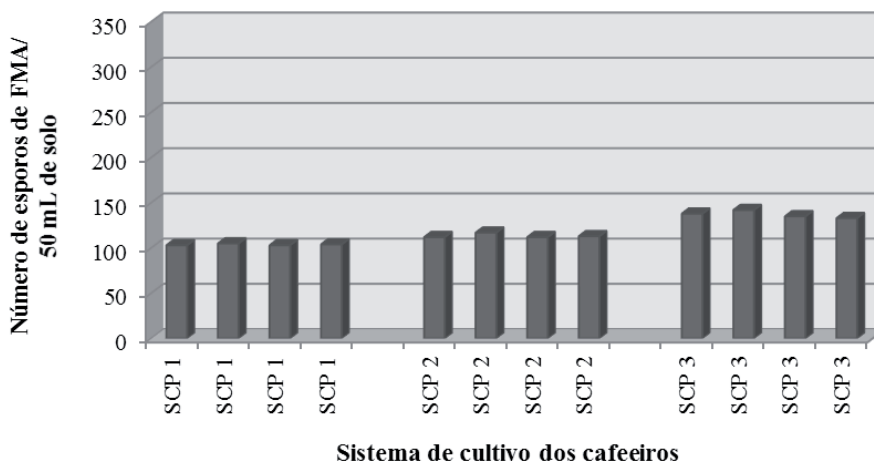


Figura 3. Cultivo tipo SCP. Valores de números de esporos de FMAs obtidos em 50 mL de solo no SCP. Delineamento realizado em triplicata.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Os números de esporos de FMAs/50 mL de solos encontrados nas três amostragens do SAF foram maiores do que os três resultados amostrais do SCP (figura 4).

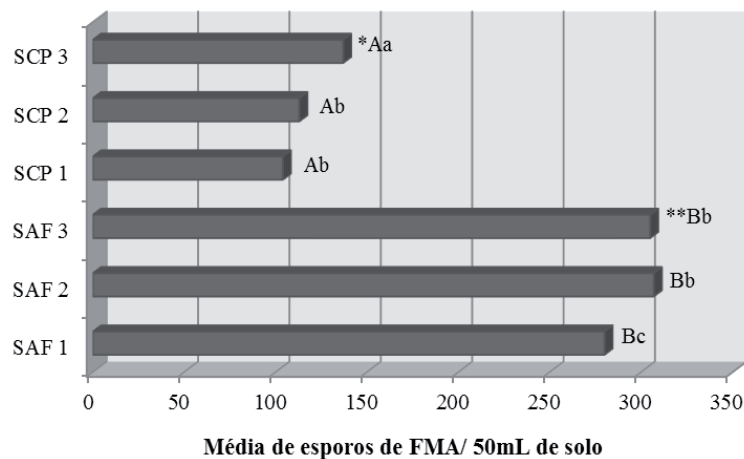


Figura 4. Média das triplicatas de contagem de esporos de FMAs obtidos em 50 mL de solo, levando em consideração o tipo de cultivo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre sistemas de produção, e letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas no número de esporos, em um mesmo sistema, pelo teste Tuckey ($p < 0,05$).

* A= Sistema SCP e **B= SAF.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Costa et al. (2003), estudando a influência de espécies arbóreas associadas à cultura do café sobre a população de FMAs, verificaram um maior número de esporos de FMAs em solos de cafezais associados às árvores. O número de esporos de FMAs foi maior em SAF, em comparação ao SCP devido à grande diversidade de espécies vegetais presentes e disponíveis para exercer simbiose com os FMAs.

Segundo Marin et al. (2004), o SAF quando comparado ao SCP promoveu um aumento da quantidade de matéria orgânica no solo, de substâncias húmicas e frações de carbono, o que resulta em uma melhoria da qualidade do solo. A maior deposição de matéria orgânica no solo aumenta a diversidade de FMAs presentes (REIS; DE PAULA; DÖBEREINER, 1999).

Já em estudo realizado com cafeeiros cultivados sob SAF, por Bonfim et al. (2010), a maior densidade de esporos foi observada na estação seca, o que também ocorreu no estudo de Durazzini et al. (2009). A restrição de disponibilidade hídrica nessa estação induziu os microrganismos associados à planta e a manifestação de mecanismos de adaptação, como a elevação da esporulação.

Colozzi Filho e Cardoso (2000), estudando a dinâmica de FMAs em agrossistema cafeeiro, verificaram que na época chuvosa, quando normalmente ocorre o maior crescimento vegetativo das culturas, a esporulação no solo foi menor; maior número de esporos foi verificado na época seca, após o florescimento do cafeeiro. Tal fato foi constatado também no estudo de Maia et al. (2006), pois a época seca ocorreu simultaneamente à fase final de florescimento dos cafeeiros. Comportamento semelhante foi observado por Smith e Read (1997), sendo verificada maior produção de esporos no período de floração.

Os SAF condicionam menor ocorrência da erosão, evitando perdas de nutrientes e matéria orgânica (BERTALOT et al., 2002). Segundo Capistrán (2003), quando os cafezais são cultivados em solo perturbado pela erosão e sem cobertura, a riqueza, abundância e diversidade dos FMAs são menores quando comparados ao agroecossistema não erosionado e com cobertura vegetal. Sanders e Koide (1994) afirmam que a incidência de elevadas temperaturas resulta em baixa porcentagem de colonização por FMAs, principalmente em cafeeiros cultivados em pleno sol.

Conclusão

Os números de esporos de FMAs encontrados neste presente estudo foram maiores na área sob cultivo de SAF em comparação à área sob cultivo de SCP. Conclui-se, assim, que houve influência do tipo de manejo conduzido nas culturas de café.

Measurement of spores of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in soil under different crops of coffee

Abstract

Two areas of coffee were evaluated, an implanted one in Agroforestry System (AFS) and another in Production Conventional System (PCS) on the arbuscular mycorrhizal fungi (AMFs). Soil samples in the areas of study were collected at a 0-20 cm depth with Dutch auger type in 10 random points with a limitation of 30 x 5 m; four replicates of each point were removed from the plant crown projection of four coffee plant quadrants in August 2012 (dry season). The spores were extracted by the wet sieving method and their respective scores of systems were performed 24 hours after its extraction with the aid of a stereoscopic microscope. The results were submitted to 2009 Statistic software, through the evaluation of SD (standard deviation) values and ratio of averages by Tukey test ($p < 0.05$). In PCS, the number of spores ranged between 103 and 142 units/50 ml soil, whereas in the SAF, it ranged between 275 and 319 units/50 ml soil. The AMF spore numbers found were higher in the area under AFS cultivation than in the area under PCS cultivation; therefore, there was influence on the type of management conducted in coffee areas.

Keywords: Agroforestry. Microbiology. Mycorrhizae. Spores.

Referências

- BERTALOT, M. J. A.; MENDONZA, E.; GUERRINI, I. A. **Regeneração de paisagem, estabelecimento e manejo de sistemas agroflorestais**. In: CURSO FUNDAMENTAL DE AGRICULTURA BIOLÓGICO – DINÂMICA, 27., 2002, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Instituto Elo, 2002. (CD – ROM)
- BONFIM, J. A.; MATSUMOTO, S. N.; LIMA, J. M.; CÉSAR, F. R. C. F.; SANTOS, M. A. F. Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e aspectos fisiológicos em cafeeiros cultivados em sistema agroflorestal e a pleno sol. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n.1, p. 206-206, 2010.
- CAPISTRÁN, L. L. **Diversidad y actividad de hongos micorrizicos arbusculares en agroecosistemas cafetaleros perturbados por la erosión**. 2003. 141p. Tese de Mestrado em Biotecnología, Universidad de Colima, Tecoman, México, 2003.
- COLOZZI FILHO, A.; CARDOSO, E. J. B. N. Detecção de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de cafeeiro e de crotalária cultivada na entrelinha. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 10, p. 2033-2042, 2000.
- COSTA, R. S. C.; CARMO, L. A.; CAMPELO, K. O. Ocorrência de micorrizas arbusculares em sistemas agroflorestais com café (*Coffea canephora*) em Rondônia. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS

DO BRASIL E WORKSHOP INTERNACIONAL DE CAFÉ E SAÚDE, (3. 2003: Porto Seguro). **Anais...** Brasília, DF: Embrapa Café, 2003. p. 305-306.

DURAZZINI, A. M. S. **Fungos Micorrízicos Arbusculares em solos sob diferentes cultivos**. 2008, 38p. Monografia Graduação de Tecnólogo em Gestão Ambiental. Escola Agrotécnica Federal de Inconfidentes (MG), Inconfidentes (MG), 2008.

DURAZZINI, A. M. S.; PEREIRA, J. M.; ROCHA, L. C. D.; PEREIRA, A. J. Fungos Micorrízicos Arbusculares em solos sob diferentes cultivos. **Revista Agrogeoambiental**, Inconfidentes, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2009.

ENTRY, J. A.; RYGIEWIEZ, P. T.; WATRUD, L. S.; DONNELLY, P. K. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of arbuscular mycorrhizas. **Advances in Environmental Research**, v. 7, p. 123-138, 2002.

GALVAN, D.; ORIVES, J. R.; COPPO, L. R.; RODRIGUES, F. C. H.; SPACINO, K. R.; PINTO, J. P.; BORSATO, D. Estudo da cinética de oxidação de biodiesel b100 obtido de óleo de soja e gordura de porco: determinação da energia de ativação. **Quimica Nova**, v. 37, n. 2, p.244-248, 2014.

GEHRING, C. A. Growth responses to arbuscular mycorrhizae by rain forest seedlings vary with light intensity and tree species. **Plant Ecology**, v. 167, p. 127-139, 2003.

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 6, p. 235-246, 1963.

GOTO, B. T.; MAIA, L. C. Glomerospores: a new denomination for the spores of Glomeromycota, a group molecularly distinct from the Zygomycota. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 96, p.129-132, 2006.

LOVATO, P. E.; GUILLEMIN, J. P.; GIANINAZZI, S. Application of commercial arbuscular endomycorrhizal fungal inoculants to the establishment of micropropagated grapevine rootstock and pineapple plants. **Agronomie**, v. 12, n. 10, p. 873-880, 1992.

MAIA, S. M. F.; XAVIER, F. A. S.; OLIVEIRA, T. S.; MENDONÇA, E. S.; ARAÚJO FILHO, J. A. Impactos de sistemas agroflorestais e convencional sobre a qualidade do solo no semiárido cearense. **Revista Árvore**, v. 30, p. 837-848, 2006.

MARIN, A. M. P.; JUCKSCH, I.; MENDONÇA, E. S.; COSTA, L. M. Impactos da implantação de um sistema agroflorestal com café na qualidade do solo. **Agropecuária Técnica**, v. 25, n. 1, 2004.

OLIVEIRA, A. N.; OLIVEIRA L. A. Colonização por fungos micorrízicos arbusculares e teores de nutrientes em cinco cultivares de bananeiras em um Latossolo da Amazônia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 481-488, 2005.

OLIVEIRA, J. R. G.; SOUZA, R. G.; SILVA, F. S. B.; MENDES, A. S. M. M.; MAYUMI YANO-MELO, A. O papel da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) autóctones no desenvolvimento de espécies vegetais nativas em área de dunas de restinga revegetadas no litoral do Estado da Paraíba. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, n. 4, p. 663-670, 2009.

PRADO, H. do. **Solos do Brasil: gênese, morfologia, classificação, levantamento, manejo**. 4.ed. Piracicaba: [s.n.], 2005. p.8-280

REIS, V. M., DE PAULA, M. A., DÖBEREINER, J. Ocorrência de micorrizas arbusculares e da bactéria diazotrófica *Acetobacter diazotrophicus* em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 10, p. 1933-1941, 1999.

SANDERS, I. R.; KOIDE, R. T. Nutrient acquisition and community structure in co-occurring mycotrophic and nonmycotrophic oldfield annuals. **Functional Ecology**, v. 8, p. 77-84, 1994.

SCHENCK, N. C.; PÉREZ, Y. **Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi**. 3. ed. Gainesville, Florida: Synergistic Publications, 1990. p.10-286.

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. San Diego: Academic Press, London, 1997. p.308-426.

STATISTICA for Windows Software. v.9.0, Tulsa, Oklahoma, USA, 2009. (CD – ROM).

YOUNG, A. **Agroforestry for soil conservation**. 4. ed. Wallingford, CAB International, p.133-211, 1994.

ZANGARO, W.; MOREIRA, M. Micorrizas arbusculares nos biomas Floresta Atlântica e Floresta de Araucária . In: SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F.A. de; CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. Lavras: Editora UFLA, 2010. p.279-310.

Histórico editorial

Submetido em: 17/11/2015

Aceito em: 13/01/2016