

Fungos micorrízicos arbusculares e compostos orgânicos no controle da podridão vermelha e no crescimento e nutrição de mudas de sisal

Ilana Maciel Paulo Mamédio⁽¹⁾; Carla da Silva Sousa⁽²⁾; Marcelly Santana Mascarenhas⁽¹⁾; Francisco de Sousa Lima⁽³⁾; André Dias de Azevedo Neto⁽⁴⁾; Bárbara Lima do Sacramento⁽¹⁾; Ana Cristina Fermينو Soares⁽⁵⁾

⁽¹⁾Estudante de graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; Cruz das Almas, Bahia; ilana_mamedio@hotmail.com; marcelly.bio@hotmail.com; ⁽²⁾Pós-doutorado PNPd/Capes, orientadora, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; Cruz das Almas, Bahia; cssagro@yahoo.com.br; ⁽³⁾Professor colaborador, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; Cruz das Almas, Bahia; fsousalima@yahoo.com.br; ⁽⁴⁾Professor Adjunto, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; Cruz das Almas, Bahia; ⁽⁵⁾Professora Titular, Bolsista produtividade CNPq, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; Cruz das Almas, Bahia; ferminosoaes@gmail.com

RESUMO: A adubação orgânica tem apresentado resultados satisfatórios quanto à melhoria das condições do solo e do estado nutricional das plantas. No semi-árido da Bahia, a produção de composto orgânico que proporcione o reaproveitamento do resíduo gerado do desfibramento do sisal, apresenta-se como uma alternativa viável para adubação das culturas. Os fungos micorrízicos arbusculares são importante no desenvolvimento de espécies vegetais. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares e de compostos orgânicos no crescimento e nutrição de mudas de sisal. Foi instalado um experimento em casa de vegetação, em delineamento de blocos ao acaso, esquema fatorial 2 x 2, sendo 2 compostos orgânicos e 2 espécies fúngicas (*G. etunicatum* e *P. occulta*), além de um tratamento somente com inoculação micorrízica, com 10 repetições. Os compostos orgânicos favoreceram a colonização das raízes pelo fungo *G. etunicatum*, contudo, não apresentaram efeito sobre a esporulação desta espécie fúngica. Não foi observado efeito da adição dos compostos orgânicos sobre a esporulação e colonização radicular das mudas de sisal inoculadas pelo fungo *P. occulta*. Independente da espécie fúngica e do composto orgânico, as interações promoveram incrementos significativos no crescimento vegetativo e na nutrição das mudas de sisal. Mudas de sisal adubadas com o C2 e inoculadas com as espécies fúngicas apresentaram menor incidência da podridão vermelha que as mudas adubadas com o C1.

Termos de indexação: Adubação orgânica, *Aspergillus niger*, FMA.

INTRODUÇÃO

Em geral, os solos da região semi-árida do Nordeste do Brasil são pouco férteis devido principalmente, à baixa disponibilidade de N e P (Sampaio et al., 1995); a região é caracterizada pela

predominância de pequenas propriedades com mão-de-obra familiar, cultivos agrícolas de subsistência e pecuária baseada no pastoreio da vegetação nativa (Menezes & Silva, 2008).

O sisal é uma cultura de grande importância econômica e social para a região semi-árida brasileira, garantindo a sobrevivência de populações carentes dessa região, principalmente nos estados da Bahia e Paraíba, por empregar um grande volume de mão-de-obra, essencialmente na agricultura familiar. Atualmente, esta cultura está difundida em 73 municípios baianos, contribuindo com 94% da produção nacional de sisal, com participação expressiva na pauta de exportações, sendo o estado da Bahia, o maior produtor mundial de sisal (Alves & Santiago, 2005).

Apesar de sua importância, esta cultura no Estado da Bahia vem sofrendo um significativo declínio em termos de área plantada e produtividade, devido a fatores técnicos, econômicos e a problemas fitossanitários. Além dos problemas com adubação, a cultura do sisal vem enfrentando sério problema devido a ocorrência da podridão vermelha do pseudocaule causada pelo fungo *Aspergillus niger* (Soares et al., 2006). Esta doença promove o apodrecimento do caule, a morte da planta, perda de qualidade da fibra e devastação dos plantios comerciais de sisal (Abreu et al., 2007), resultando em prejuízos consideráveis para os produtores.

A produção de um composto formado por resíduo de sisal, esterco e enriquecido com farinha de rocha natural, de baixo custo, adquirido no Estado da Bahia, pode também ser uma alternativa para obtenção de um composto orgânico de boa qualidade para uso agrícola nessas regiões. O resíduo de sisal e o esterco são materiais de fácil aquisição nas propriedades rurais. Além disso, a farinha de rocha possui alto teor de SiO₂ total (em torno de 60%), que apesar de não ser um nutriente, vem sendo bastante estudado como alternativa para auxiliar na absorção de outros nutrientes. Além de ser benéfico para a nutrição mineral, também vêm

sendo realizados diversos estudos sobre o efeito do silício no controle de doenças de plantas (Pozza et al., 2004; Botelho, 2005; Moraes et al., 2006).

Dentre as diversas relações simbióticas existentes entre plantas e micro-organismos, destaca-se as micorrizas. As micorrizas arbusculares são associações entre plantas e fungos do solo do filo Glomeromycota (Schüßler et al., 2001). O benefício da associação para a planta surge do aumento da extensão da superfície de absorção e, em troca, o fungo é subsidiado por carboidratos fotoassimilados (Herrman et al., 2004).

A influência dos FMAs também se torna importante no desenvolvimento de espécies vegetais em regiões semiáridas, (Alguacil et al., 2004), não só pela maior eficiência na absorção de nutrientes mas também por promover agregação e qualidade bioquímica de solos sob erosão (Caravaca et al., 2002), além de diminuir o estresse hídrico das plantas (Porcel & Ruíz-Lozano, 2004). Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares e de compostos orgânicos no crescimento e nutrição de mudas de sisal.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi instalado um experimento em casa de vegetação, em delineamento de blocos ao acaso, esquema fatorial 2 x 2, sendo 2 compostos orgânicos e 2 espécies fúngicas, além de um tratamento somente com inoculação micorrízica sem adição dos resíduos orgânicos, com 25 repetições. As espécies de fungos micorrízicos arbusculares avaliadas foram: *Glomus etunicatum* e *Paraglomus occultum*. A composição do composto 1 foi 10% esterco + 10% farinha de rocha + 80% resíduo de sisal. O composto 2, possui 30% esterco + 30% farinha de rocha + 40% resíduo de sisal. O solo utilizado foi coletado na camada 0-20 cm de profundidade em áreas produtoras de sisal, e em seguida foi seco ao ar, peneirado (peneira com malha de 2 mm) e esterilizado, através de autoclavagem a 120°C, por um hora, durante três dias alternados. Sub-amostras do solo foram coletadas para caracterização química (Embrapa, 1999), cujos os resultados foram: pH em água 5,2; P mg dm⁻³ 0,8; K 0,05 cmol_c dm⁻³; Ca 0,7 cmol_c dm⁻³; Mg 0,5 cmol_c dm⁻³; H+Al 1,65 mmol_c kg⁻¹; CTC 2,93 cmol_c dm⁻³; M.O. 11,37 g kg⁻¹.

No experimento, foram utilizados como unidades experimentais vasos com capacidade para 3 kg de solo estéril. A dose dos compostos incorporada ao solo foi de 10 t/ha e em seguida foi realizado o transplante de uma muda/vaso. No momento do transplante, cada muda foi inoculada, colocando-se junto às raízes, com o auxílio de uma pipeta

Pasteur, uma suspensão aquosa contendo 200 esporos da espécie fúngica.

Após 120 dias de instalação do experimento, para avaliação do controle da podridão vermelha do sisal, foram utilizadas 20 mudas por tratamento, que foram inoculadas com uma suspensão contendo 10⁷ esporos por mL de *Aspergillus niger*. Para obtenção da suspensão, o fungo foi cultivado em placa de Petri contendo meio de cultura BDA, incubadas em câmara de crescimento tipo B.D.O., a temperatura de ± 25°C, durante 7 dias. Após este período, adicionou-se 20 ml de água destilada em cada placa e uma gota de Tween 20®, e com auxílio de uma alça de Drigasky foi realizada a raspagem das colônias crescidas do fungo. Após filtragem da suspensão em gaze esterilizada, foi realizada a contagem de esporos de *A. niger* em câmara de Neubauer com auxílio de um microscópio ótico. A inoculação das mudas de sisal efetivou-se através de ferimentos padronizados no caule (quatro perfurações eqüidistantes, com 2 cm de profundidade e 1 mm de diâmetro) e em seguida a suspensão de esporos de *A. niger* foi pulverizada no local dos ferimentos. No tratamento controle foi realizado o mesmo procedimento de inoculação, entretanto as mudas foram pulverizadas com água destilada esterilizada.

Vinte dias após a inoculação, a severidade dos sintomas da doença foi avaliada por meio de corte transversal à 0,5 cm acima do ponto de lesão e observação da presença de podridão vermelha no caule, adotando-se a seguinte escala de notas proposta por Sá (2009). Para avaliação da incidência da doença em cada tratamento, foram contadas as plantas sintomáticas e realizado cálculo, dividindo o número de plantas sintomáticas pelo número total de plantas.

Nas 5 mudas restantes em cada tratamento foi determinada altura das plantas com auxílio de uma régua milimetrada. Para determinação da produção de matéria seca, separou-se parte aérea e raízes e em seguida, o material vegetal foi seco em estufa de ventilação forçada a 65°C até atingir peso constante. Após seco, o material vegetal foi moído em moinho tipo Wiley, e mineralizado através de digestão com ácido sulfúrico e peróxido de hidrogênio (Thomas et al., 1967). Nos extratos, os teores de N foram determinados pelo método de Kjeldahl; P por colorimetria e K por fotometria de chama.

Sub-amostras de raízes frescas de cada planta foram coletadas para determinação da colonização micorrízica, utilizando-se o método de intersecção dos quadrantes da placa quadriculada (Giovannetti & Mosse, 1980), após clarificação e coloração das raízes (Koske & Gemma, 1989). A densidade de esporos foi determinada em 50 g de solo pelo método do peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963).

Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey, a 5% de probabilidade, para a comparação das médias, utilizando o programa estatístico SISVAR. Os dados referentes à densidade de esporos foram transformados, respectivamente, por $(x + 0,5)^{1/2}$ e $\arcsin \sqrt{x/100}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na **Tabela 1**, observa-se que foram obtidos resultados satisfatórios nas interações entre as espécies fúngicas e os compostos orgânicos, em comparação ao efeito isolado das espécies fúngicas ou dos compostos orgânicos. Mudanças inoculadas com o fungo *P. occulta* e adubadas com o C2, apresentaram incremento de 84,7% no teor de N na parte aérea, em comparação às mudas somente adubadas. Foi observado também que as mudas inoculadas com o fungo *G. etunicatum* e adubadas com o C1, apresentaram um aumento de 29,4% no teor de N na parte aérea em comparação às mudas cultivadas em solo com adição deste composto e sem inoculação. Independente do composto orgânico observou-se que as mudas adubadas e inoculadas apresentaram teores de N na parte aérea superiores às mudas apenas inoculadas com as espécies fúngicas.

Resultados similares foram observados com relação ao teor de P, onde mudas cultivadas em solo adubado com o C2 e inoculadas com o fungo *G. etunicatum* apresentaram incremento de 34,7% em comparação às mudas apenas adubadas com este composto. Não foi observada diferença significativa entre as mudas apenas adubadas com C1 e as mudas adubadas com C1 e inoculadas com as espécies fúngicas. A interação entre os compostos orgânicos C1 ou C2 e o fungo *G. etunicatum*, promoveu aumento de 31,5% e 38,3%, respectivamente, em comparação às mudas apenas inoculadas com o fungo *G. etunicatum* sem adição dos compostos orgânicos.

A interação entre as espécies fúngicas e compostos orgânicos também demonstrou efeito significativo sobre os teores de K na parte aérea das mudas de sisal. A adição dos compostos orgânicos, juntamente com a inoculação do fungo *G. etunicatum* proporcionou aumento de 108,9% (C1) e 215,2% (C2) no teor de K na parte aérea das mudas em comparação às mudas apenas adubadas sem inoculação. Mudanças que receberam apenas a inoculação com as espécies fúngicas também demonstraram menores teores de K na parte aérea em comparação às mudas inoculadas e adubadas com os compostos orgânicos, onde foram observados incrementos de 71,3% e 106,1% nas interações *G. etunicatum* x C1 e *P. occulta* x C1, respectivamente.

Não houve diferença significativa entre a altura das mudas somente adubadas com os compostos

orgânicos e as mudas adubadas e inoculadas com as espécies fúngicas (**Tabela 2**). Também não foi observado efeito significativo da interação entre o fungo *G. etunicatum* e compostos orgânicos sobre a altura das mudas, uma vez que estas mudas não diferiram das mudas apenas inoculadas com esta espécie fúngica. No entanto, mudas inoculadas com o fungo *P. occulta* e adubadas com os compostos orgânicos, apresentaram incremento de 29,8% na altura em comparação às mudas apenas inoculadas.

Com relação à produção de biomassa, é possível perceber que não houve diferença significativa entre os compostos orgânicos quando aplicados isoladamente ou em interação com as espécies fúngicas. Entretanto as interações *G. etunicatum* x C1 e *P. occulta* x C1, proporcionaram aumento de 114,9% e 220,2%, respectivamente na produção de biomassa seca das mudas, em comparação às mudas apenas inoculadas com estas espécies fúngicas.

As raízes das mudas de sisal não inoculadas com as espécies fúngicas apresentaram-se isentas de colonização (**Tabela 3**). Amostras de solo rizosférico das mudas de sisal não inoculadas também não apresentaram esporos das espécies fúngicas.

As mudas inoculadas pelas espécies fúngicas e adubadas com o C1, não diferiram estatisticamente entre si quanto à colonização micorrízica. Entretanto, o C2 favoreceu a colonização micorrízica nas mudas de sisal inoculadas pelo fungo *G. etunicatum*, sendo observado aumento de 64,8% em comparação às mudas inoculadas pelo fungo *P. occulta* também adubadas com este composto.

Os compostos orgânicos estimularam a colonização das raízes pelo fungo *G. etunicatum*, destacando-se o C2, cujas raízes de sisal apresentaram taxa de colonização de 43,2%, ao passo que as mudas inoculadas com este fungo, sem adição de composto orgânico, apresentou taxa de colonização de 23,5%, uma diferença de 54,3%. Não houve efeito significativo da adição dos compostos sobre a colonização pelo fungo *P. occulta*.

Não foi observado efeito significativo dos compostos orgânicos sobre a esporulação das espécies fúngicas, bem como, diferença entre as espécies fúngicas com e sem a adição dos compostos orgânicos.

Mudanças inoculadas com o fungo *G. etunicatum* e adubadas com o C2, apresentaram menor incidência de plantas doentes (63,4%) em comparação às mudas inoculadas com esta espécie fúngica e adubadas com o C1 (81,2%). Resultado semelhante foi observado nas mudas inoculadas com o fungo *P. occulta* que quando adubadas com o C2 apresentaram menor incidência (72,7%)

da podridão vermelha que as mudas adubadas com o C1 (81,2%).

CONCLUSÕES

1. Os compostos orgânicos favoreceram a colonização das raízes pelo fungo *G. etunicatum*, contudo, não apresentaram efeito sobre a esporulação desta espécie fungica;
2. Não foi observado efeito da adição dos compostos orgânicos sobre a esporulação e colonização radicular das mudas de sisal inoculadas pelo fungo *P. occultum*;
3. Independente da espécie fungica e do composto orgânico, as interações promoveram incrementos significativos no crescimento vegetativo e na nutrição das mudas de sisal;
4. Mudanças de sisal adubadas com o C2 e inoculadas com as espécies fúngicas apresentaram menor incidência da podridão vermelha que as mudas adubadas com o C1.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Capes pela concessão da bolsa de Pós-doutorado PNPd à Dra. Carla da Silva Sousa e ao CNPq pela concessão da bolsa de Produtividade em Pesquisa à Dra. Ana Cristina Fermino Soares.

REFERÊNCIAS

ABREU, K. C. L.; SOARES, A. C. F.; TORRES, C. N.; LARANJEIRA, F. F.; CARDOSO, E. L.; CANDEIAS, E. L. Prevalência e incidência da podridão vermelha do pseudocaule do sisal na microrregião de Serrinha. *Fitopat Bras* 32: 218, 2007.

ALGUACIL, M. M.; HERNÁNDEZ, J. A.; CARAVACA F.; PORTILLO, B.; ROLDÁN, A. Antioxidant enzyme activities in shoots from three mycorrhizal shrub species afforested in a degraded semi-arid soil. *Physiol Plant* 118:562–570, 2003.

ALVES, M. O.; SANTIAGO, E. G. Tecnologia e relações sociais de produção no setor sisaleiro nordestino. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, 28. Ribeirão Preto. Anais...Ribeirão Preto, 2005. CD-ROM.

BOTELHO, D. M.; POZZA, E. A.; POZZA, A. A. Intensidade da cercosporiose em mudas de cafeeiro em função de fontes e doses de silício. *Fitopat Bras* 30(6):582-588, 2005.

CARAVACA, F.; BAREA, J. M.; FIGUEROA, D.; ROLDÁN, A. Assessing the effectiveness of inoculation with mycorrhizal fungi and soil compost addition for reforestation with *Olea europaea* subsp. *silvestris* through changes in soil biological and physical parameters. *Appl Soil Ecol* 20:107 – 118, 2002.

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.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol* 84(3):484-500, 1980.

JENKINS, W.R.A. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Dis Rep* 48: 692. 1964.

MORAES, S. R.G.; POZZA, E. A.; ALVES, E.; POZZA, A.A.A. et al. Efeito de fontes de silício na incidência e na severidade da antracnose do feijoeiro. *Fitopat Bras* 31(1):69-75, 2006.

PORCEL, R.; RUÍZ-LOZANO, J. M. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *J Exp Bot* 55:1743–1750, 2004.

SCHÜßLER A.; SCHWARZOTT D.; WALKER C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol Res* 105:1413-1421, 2001.

SOARES, A. C. F.; SALOMÃO, M. S.; ALMEIDA, N.S.; PEREZ, J. O.; GARRIDO, M. S. *Aspergillus niger* como agente causal de manchas foliares e podridão do pseudocaule do sisal. In: XXXIX Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2006, Salvador, BA. CD-ROM.

Tabela 1 – Efeito da adição de compostos orgânicos sobre a colonização micorrízica de mudas de sisal e esporulação das espécies fúngicas testadas.

Espécie fúngica	Colonização micorrízica (%)			Esporulação (50 g de solo)		
	SCO	C1	C2	SCO	C1	C2
Sem inoculação	0	0	0	0	0	0
<i>G. etunicatum</i>	23,5aB	33,7 aAB	43,2 aA	323,0 aA	245,0 aA	226,7 aA
<i>P. occultum</i>	20,2aA	28,0 aA	28,0 bA	298,0 aA	347,5 aA	286,0 aA
CV (%)	15,91			20,29		

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). Letras minúsculas comparam na coluna o efeito de cada composto orgânico entre as diferentes espécies fúngicas e letras maiúsculas comparam na linha cada espécie fúngica entre os diferentes compostos orgânicos.

C1= composto 1 (80% resíduo de sisal+ 10% de esterco+ 10 % de farinha de rocha)

C2= composto 2 (40% resíduo de sisal + 30% de esterco+ 30% de farinha de rocha)

SCO= sem composto

Tabela 2 – Efeito da adição de compostos orgânicos e inoculação com fungos micorrízicos arbusculares sobre o teor de nutrientes na parte aérea das mudas de sisal.

Espécie fúngica	N			P			K			
	(mmol/g de MS)									
	Composto orgânico*	SCO	C1	C2	SCO	C1	C2	SCO	C1	C2
Sem inoculação	-	2,45bA	1,77cB	-	0,090abA	0,075bB	-	3,46bA	1,91bB	
<i>G. etunicatum</i>	2,12aB	3,17aA	2,83bA	0,073aB	0,096aA	0,101aA	4,22aC	7,23aA	6,02aB	
<i>P. occultum</i>	1,80aB	2,90aA	3,27aA	0,085aA	0,075bAB	0,060bB	3,13bB	6,45aA	2,08bC	
CV (%)		8,93			11,76			13,42		

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Letras minúsculas comparam na linha o efeito de cada composto orgânico entre as diferentes espécies fúngicas e letras maiúsculas comparam na coluna cada espécie fúngica entre os diferentes compostos orgânicos.

*Composto orgânico: SCO = sem adição de composto orgânico; C01 = composto orgânico 1; C02 = composto orgânico 2

Tabela 3 – Efeito da adição de compostos orgânicos e inoculação com fungos micorrízicos arbusculares sobre a altura e produção de biomassa em mudas de sisal

Espécie fúngica	Altura das plantas (cm)			Biomassa seca das mudas (g)			
	Composto orgânico*	SCO	C1	C2	SCO	C1	C2
	Sem inoculação	-	28,3aA	26,2abA	-	8,59aA	5,30aB
<i>G. etunicatum</i>	24,4aA	22,8bA	22,8bA	4,08aB	8,77aA	5,53aB	
<i>P. occultum</i>	21,1bB	27,4aA	27,4aA	2,33aB	7,46aA	6,74aA	
CV (%)		8,39			25,58		

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Letras minúsculas comparam na linha o efeito de cada composto orgânico entre as diferentes espécies fúngicas e letras maiúsculas comparam na coluna cada espécie fúngica entre os diferentes compostos orgânicos.

* Composto orgânico: SCO=sem composto orgânico; C1= composto orgânico 1; C2 = composto orgânico 2.

