

Ocorrência e diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em área remanescente de floresta estacional semidecidual no Oeste do Paraná.

Sharlini Laís Zago⁽¹⁾; Alessandra Monteiro de Paula⁽²⁾; Denise L.C. Mescolotti⁽³⁾

⁽¹⁾Acadêmica de Tecnologia em Biotecnologia; Universidade Federal do Paraná; Palotina, Paraná; sharlinilzago@gmail.com; ⁽²⁾Professor adjunto; Universidade Federal do Paraná; Palotina, Paraná. ⁽³⁾ Técnica do Laboratório de Microbiologia do Solo; Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"; Piracicaba, São Paulo.

RESUMO: Os Fungos Micorrízicos Arbusculares são organismos simbiotróficos obrigatórios pertencentes ao Filo Glomeromycota, que se associam com as raízes da maioria das plantas vasculares terrestres e epífitas, formando uma relação simbiótica mutualista denominada micorriza arbuscular (MA), por isso são membros importantes do sistema solo-planta e estabelecem uma série de inter-relações biotróficas: onde a planta fornece substrato energético ao fungo, e este, através da rede de hifas externas, capta nutrientes da solução do solo e os transfere à planta hospedeira, ampliando o volume de solo que seria explorado apenas pelas raízes. Para avaliar a ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares presentes no Parque Estadual de São Camilo, no município de Palotina, PR, Foram feitas coletas de amostras de solo em 9 pontos diferentes no Parque Estadual do São Camilo, em 3 períodos diferentes, Fevereiro de 2011, Junho de 2011 e Fevereiro de 2012, essas amostras passaram por suspensão em água, peneiramento e contagem, onde constatou-se um número muito pequeno de FMA. Para obter números maiores de esporos e possibilitar a identificação dos mesmos fez-se o uso de culturas armadilha, as amostras passaram pelo processo de recuperação e contagem de esporos de cada amostra. Em todas as amostras observou-se maior abundância de esporos que mediam mais de 90µm de diâmetro, a menor abundância foi observada nos esporos retidos na peneira de 63µm de malha e as espécies identificadas foram *Glomus clarum*, *glomus macrocarpum*, *Gigaspora sp.* e *Acaulospora rehmi*, *Acaulospora scrobiculata*.

Termos de indexação: Fungos Micorrízicos arbusculares, Mata Atlântica, Unidades de Conservação.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a Mata Atlântica e o Cerrado foram os biomas que mais sofreram impactos ambientais com

os ciclos econômicos históricos do país, com a expansão das fronteiras agropecuárias, o desmatamento, a urbanização sem controle e a poluição (Alves, 2001). Biomas como áreas de Florestas Estacionais Semidecíduais, inseridas no domínio de Mata Atlântica, possuem grande biodiversidade e um elevado potencial de riqueza de organismos a ser explorado.

As Unidades de Conservação no Estado do Paraná protegem uma superfície de 3.069.423,54 hectares. O Parque Estadual de São Camilo é uma pequena unidade de conservação, medindo 385,34 hectares, localizado no Município de Palotina, é um remanescente representativo de Florestas Estacionais Semidecíduais (IAP, 2006).

Solos sob as mais diversas coberturas vegetais naturalmente possuem uma comunidade de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) associados às raízes das plantas. Os FMA são organismos simbiotróficos obrigatórios pertencentes ao Filo Glomeromycota, que se associam com as raízes da maioria das plantas vasculares terrestres e epífitas, formando uma relação simbiótica mutualista denominada micorriza arbuscular (MA) (Moreira & Siqueira, 2006). Determinar a diversidade e os fatores que afetam a estrutura e função de uma comunidade de FMA e sua contribuição para diferentes espécies de plantas cultivadas ou nativas tem sido o objetivo de grande número de pesquisas realizadas no Brasil e no mundo. A condução de estudos como este, objetivam principalmente a identificação de comunidades de fungos e a relação dessas com as comunidades de plantas e os fatores ambientais.

Sendo assim, o objetivo geral deste projeto de pesquisa foi avaliar a ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares presentes no Parque Estadual de São Camilo, no município de Palotina, PR, além disso, buscou-se, aprender técnicas de separação e de montagem de lâminas permanentes de esporos de FMA recuperados de amostras de solo e fazer a identificação taxonômica das espécies

de FMA presentes no Parque Estadual de São Camilo, utilizando técnicas morfológicas.

MATERIAL E MÉTODOS

O Parque Estadual de São Camilo, localizado no Município de Palotina, Paraná, compreende um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual, formação original da região, inserida no domínio da Floresta Atlântica, foi verificada na área do PESC a presença de espécies vegetais e animais, entretanto, de acordo com o IAP (2006), os números de espécies identificadas são considerados modestos, devido principalmente à falta de investigações científicas na área do parque como relatado no próprio Plano de Manejo do PESC, fato que demonstra a necessidade de levantamentos da biodiversidade existente na área.

Com uma área de 387,30 hectares, situada entre as coordenadas "24°18'00" - 24°19'30" S e 53°53'30" - 53°55'30" W, ele integra a bacia hidrográfica do Rio Paraná, o clima na região é definido como Cfa de acordo com a classificação de Köppen, caracterizados pela umidade e verões quentes (IAP, 2006).

Foram feitas coletas de amostras de solo em 9 pontos diferentes, ao longo da estrada interna, destacada em amarelo, que atravessa o Parque Estadual do São Camilo, em 3 períodos diferentes, Fevereiro de 2011, Junho de 2011 e Fevereiro de 2012.

A partir dessas amostras de solo, retirou-se 50 ml de cada amostra para avaliação da ocorrência de esporos de FMA, utilizando-se o método de peneiramento úmido, proposto por Gerdemann e Nicolson (1963). A quantidade de esporos recuperados do solo, extraído do Parque Estadual do São Camilo foi muito baixa, por isso fez-se necessária a utilização da metodologia de cultivos-armadilha ou vasos-armadilha (Moreira & Siqueira, 2006).

Para a multiplicação dos esporos de FMA utilizou-se como cultura armadilha a *Brachiaria brizantha* em vasos com substrato autoclavado. Foram plantadas aproximadamente 10 sementes de braquiária por vaso, estes foram mantidos por 2 meses e submetidos a um estresse hídrico, com suspensão da irrigação por 5 dias antes da retirada de uma amostra para a recuperação dos esporos de FMA multiplicados no período. Após a coleta, de 50 ml de substrato, de cada vaso de multiplicação, os processos de extração e contagem de FMA foram realizados.

A extração dos esporos foi feita por diluição e peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963), utilizando um jogo de peneiras de malhas de 90, 75 e 63 μm . Com o material obtido no processo de

extração foram confeccionadas lâminas permanentes dos esporos separados por morfotipo, utilizando como meio permanente PVLG (polivinil em lactofenol e glicerina) e reagente de Melzer, para posterior identificação conforme descrição no International Culture of Collection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as amostras observou-se maior abundância de esporos que mediam mais de 90 μm de diâmetro, a menor abundância foi observada nos esporos retidos na peneira de 63 μm de malha. Na coleta de fevereiro de 2011, foram recuperados 207 esporos sendo que a maior abundância foi observada na peneira de 90 μm , representando 48% do total de esporos dessa data. Na coleta de junho de 2011, foram recuperados 69 esporos onde 49% de abundância de esporos foi obtida na peneira de 90 μm . Na coleta de fevereiro de 2012, foram recuperados 197 esporos em que 53% é a abundância de esporos obtida na peneira de 90 μm , quantidades essas que conferem um total de 473 esporos em 50 cm^{-3} de solo.

A abundância de esporos de FMA foi maior nas coletas realizadas no período do verão (Fevereiro de 2011 e 2012) e os esporos de FMA recuperados das amostras de solo do Parque Estadual São Camilo são em sua maioria de diâmetro maior que 90 μm .

Os resultados obtidos a partir dos vasos com planta-armadilha são representados pelo gráfico a seguir (**Figura 1**).

Baseando-se na quantidade de esporos recuperados em cada coleta, é possível afirmar que a temperatura e a quantidade chuva do período possivelmente influenciaram na germinação e consequente recuperação de esporos de FMA. Como podemos observar na figura 2a, na data em que a média da temperatura mostrou-se mais alta houve um número maior de esporos recuperados, e nessa mesma data a quantidade de mm de chuva precipitados também foi maior (**Figura 2b**).

A ocorrência de FMA no Brasil foi recentemente catalogada na publicação sobre os 30 anos de pesquisa brasileira em Micorrizas (Siqueira et al., 2010). Estão registradas no país 119 espécies de FMA, o que corresponde a 55% da diversidade conhecida e, para o estado do Paraná foi verificada a quarta maior riqueza em espécies (58), sendo a maioria das espécies observadas em áreas agrícolas e de floresta (Souza et al. 2010). De acordo com dados levantados por Souza et al. (2010), em áreas de florestas estacionais semidecíduais, inseridas dentro do domínio de Floresta Atlântica, foram identificadas 24 espécies,

distribuídas em 7 gêneros de FMA, sendo os gêneros com maior número de espécies: *Acaulospora* (9 espécies) e *Glomus* (10 espécies).

A partir da observação, em microscópio óptico, das lâminas confeccionadas no Laboratório de Microbiologia do Solo, da ESALQ foi possível observar a presença de 3 gêneros de Fungos Micorrízicos Arbusculares, sendo eles *Glomus* (Figura 3a e 3b), *Gigaspora* e *Acaulospora* (Figura 3c e 3d), corroborando com Carrenho (1998), e com vários outros trabalhos publicados, que indicam que os gêneros dominantes em áreas de Floresta Atlântica estudadas vem sendo os gêneros *Acaulospora* e *Glomus*, e que relatam que estes gêneros de FMA apresentam maior capacidade de adaptação a solos diferentes e que são espécies resistentes a perturbações ambientais.

Um dos primeiros relatos da ocorrência de FMA na Floresta Atlântica foi realizado em 1982 por Santos e Vinha, que verificaram a ocorrência de esporos no solo e o grau de colonização das raízes em árvores de diferentes espécies (Siqueira et al., 2010). Os estudos já realizados neste tipo de floresta indicam o predomínio dos gêneros *Acaulospora* e *Glomus*. Estes predomínios estão relacionados a algumas características do solo e das plantas presentes. Para Sturmer (2006) a predominância de *Acaulospora* esteve relacionada com o baixo pH do solo enquanto o predomínio do gênero *Glomus* foi relacionado com valores mais elevados de pH (Aidar et al., 2004). A umidade dos solos das florestas pode também influenciar no predomínio do gênero *Glomus*, porque seus esporos apresentam maior capacidade de germinação em solos úmidos (Silveira, 1998). Além disso, os FMA podem apresentar preferência pela planta hospedeira (Bever et al., 2001), o que promove a ocorrência das espécies de fungos micorrízicos arbusculares de maneira diferenciada no ambiente. Para Trufem e Bononi (1985) existem espécies que ocorrem na rizosfera da maioria das plantas durante todo o ano, são mais generalistas, e as menos generalistas tendem a apresentar ocorrência esporádica e apenas em algumas espécies de hospedeiros.

CONCLUSÕES

O Parque Estadual São Camilo apresenta uma comunidade diversa de fungos micorrízicos arbusculares.

O grupo mais abundante da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares foi observado para a faixa de tamanho maior que 90µm, onde estão enquadrados os fungos dos gêneros *Acaulospora*, *Gigaspora* e *Glomus*.

REFERÊNCIAS

- AIDAR, M.P.M.; CARRENHO, R.; JOLY, C.A. Aspects of arbuscular mycorrhizal fungi in an Atlantic Forest chronosequence in Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR), SP. *Biota Neotropica*, 4:1-15, 2004.
- ALVES, M. C. Recuperação do subsolo de um Latossolo Vermelho usado para terrapleno e fundação da usina hidrelétrica de Ilha Solteira - SP. 2001. 83 f. Tese (Livre Docência em Solos) - Faculdade de Engenharia - Câmpus de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira. 2001.
- BEVER, J.D., SCHULTZ, P.A., PRINGLE, A. & MORTON, J.B. 2001. Arbuscular mycorrhizal fungi: more diverse than meets the eye, and the ecological tale of why. *Bioscience* 51: 923-931.
- CARRENHO, R. Influência de diferentes espécies de plantas hospedeiras e fatores edáficos no desenvolvimento de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). 1998. 226 f. Tese (Doutorado em Biologia) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1998.
- Extraction of Spores; International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM). Disponível em: <http://invam.caf.wvu.edu/>. Acesso em: 02/02/2013.
- 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*, 46: 235-244, 1963.
- IAP (Instituto Ambiental do Paraná). Plano de Manejo do Parque Estadual de São Camilo. Curitiba: Instituto Ambiental do Paraná, 2006. Disponível em: <http://www.uc.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=4>. Acesso em: 05/04/2010.
- MOREIRA, F.M.S. & SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e Bioquímica do Solo. Lavras, Editora UFLA, 2006. 729p.
- SANTOS, O.M. & S.O. VINHA. 1982. Ocorrência de micorrizas em árvores nativas do sul da Bahia. 1. Estação Ecológica do pau-brasil. *Rev. Theobroma* 12:261-265.
- SILVEIRA, A.P.D. Ecologia de fungos micorrízicos arbusculares. In: Melo, I.S. & Azevedo, J.L. (Eds.). *Ecologia microbiana*. Jaguariúna, Embrapa - CNPMA, 1998.
- SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil. Lavras: Ed. UFLA, 2010. 716p.
- SOUZA, F.A.; STÜRMER, S.L.; CARRENHO, R.; TRUFEM, S.F.B. Classificação e taxonomia de Fungos Micorrízicos Arbusculares e sua diversidade e ocorrência no Brasil. In: SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil. Lavras: Ed. UFLA, 2010.
- STÜRMER, S.L.; SIQUEIRA, J.O. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Brazilian ecosystems. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; BRUSSAARD, L. (Ed.). *Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems*. Wallingford: CABI-Pub., 2006. p.206-236.
- TRUFEM, S.F.B. & BONONI, V.L.R. Micorrizas vesículo-arbusculares de culturas introduzidas em áreas de Cerrado, 1985. *Rickia*, 12: 165-187.



Figura 1. Esporos de FMA (Número por 50 g de solo) agrupados por diâmetro de peneiras utilizadas na extração dos esporos do solo coletado em três períodos distintos, no Parque Estadual São Camilo, em Palotina, Paraná.

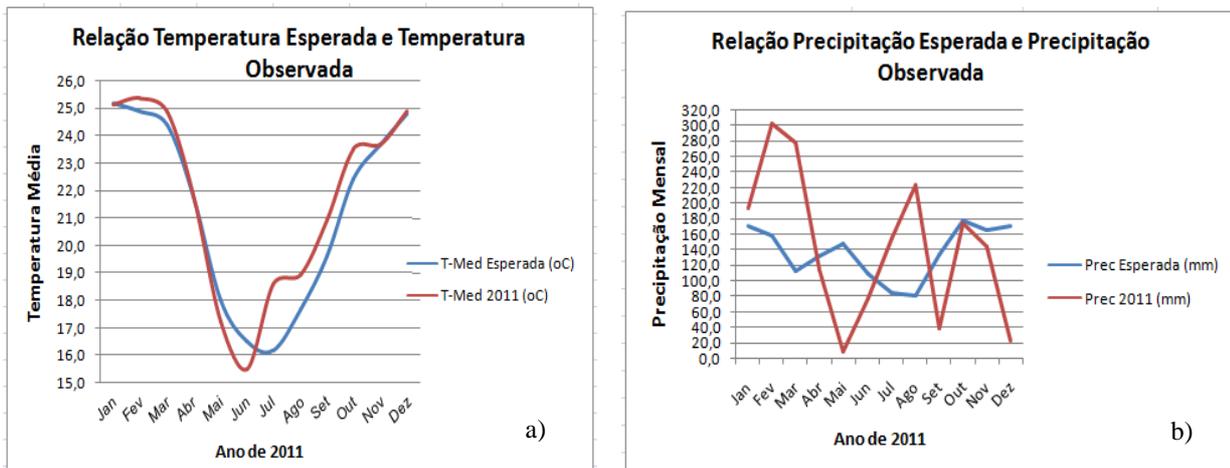


Figura 2. Gráficos com as temperaturas esperadas e as médias de temperatura obtidas no ano de 2011 (a) e com a precipitação esperada e média de precipitação obtida no ano de 2011 (b).

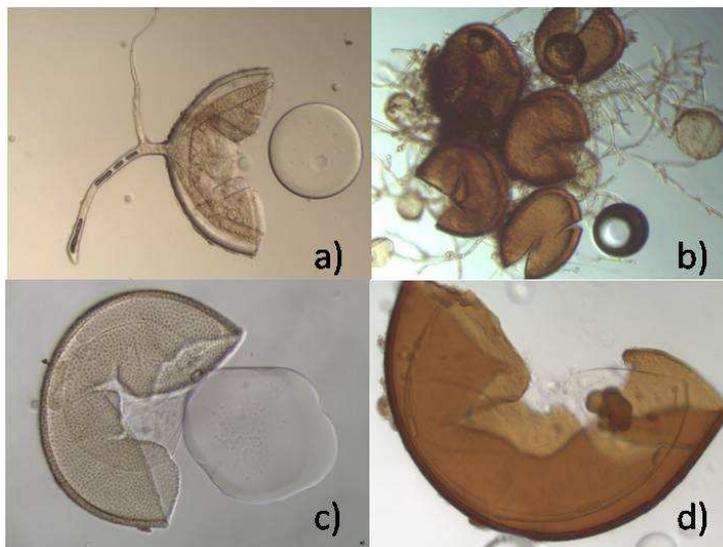


Figura 3. Esporos de *Glomus clarum* (a); *Glomus macrocarpum* (b); *Acaulospora scrobiculata* (c) e *Acaulospora rehmi* (d).