



## Efeito da inoculação e adubação orgânica na colonização de raízes de milho crioulo por fungos micorrízicos arbusculares<sup>(1)</sup>.

Carla Cândida Cleto<sup>(2)</sup>; Sonia Purin<sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos de Sindicato dos Trabalhadores Rurais de Curitiba e Total Biotecnologia.

<sup>(2)</sup> Estudante do curso de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Catarina; Rodovia Ulisses Gaboardi km 3 – Fazenda Pessegueirinho; Curitiba, SC; [candicleto@gmail.com](mailto:candicleto@gmail.com); <sup>(3)</sup> Professora da Universidade Federal de Santa Catarina; Rodovia Ulisses Gaboardi km 3 – Fazenda Pessegueirinho, Curitiba, SC; [s.purin@ufsc.br](mailto:s.purin@ufsc.br).

**RESUMO:** As micorrizas são relações simbióticas mutualísticas, formadas por fungos presentes no solo e nas raízes da grande maioria das plantas. As micorrizas mais comuns são aquelas formadas por fungos micorrízicos arbusculares, que fornecem benefícios nutricionais a diversas espécies arbóreas e agrícolas, dentre elas o milho. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a colonização de variedades crioulas de milho em diferentes níveis de adubação e inoculação. O experimento foi conduzido na safra 2012/2013 no município de Curitiba – SC, em delineamento experimental em blocos casualizados em esquema fatorial 2x2, com 4 repetições. Foram testados 2 níveis de fertilizante (com e sem) e 2 níveis de inoculação (com e sem). A variedade de milho utilizada foi a Catarina. Aos 60 DAE foram coletadas raízes de 3 plantas por unidade experimental. Foi avaliada a colonização radicular por hifas, arbúsculos, vesículas e esporos. As médias foram submetidas à análise de variância e em seguida as médias foram separadas aplicando-se o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. A colonização micorrízica por hifas, arbúsculos, esporos ou vesículas nas raízes das plantas de milho não sofreu efeito de nenhum dos fatores testados.

**Termos de indexação:** fungos micorrízicos arbusculares, milho Catarina.

### INTRODUÇÃO

As micorrizas são relações simbióticas mutualísticas formadas por fungos presentes no solo e nas raízes da grande maioria das plantas (Siqueira et al., 2002). As micorrizas mais comuns são aquelas formadas por fungos micorrízicos arbusculares - FMAs (Costa et al., 2002). Estes fungos têm como importante função a obtenção de nutrientes do solo, sendo que o principal é o fósforo, o qual favorece o crescimento vegetal principalmente em solos com condições de alta fixação de P. Os FMAs são simbiotróficos obrigatórios, pois completam seu ciclo de vida apenas se estiverem associados a uma planta hospedeira. Durante a simbiose, eles absorvem compostos de carbono das plantas hospedeiras e em troca fornecem maior absorção de água e

nutrientes, principalmente o fósforo (Gomes et al., 2010), pois formam uma extensa malha de hifas, que se estendem a partir das raízes, permitindo à planta explorar um grande volume de solo, superando limitações impostas pela baixa difusão de fósforo no solo e proporciona à planta uma maior tolerância a estresses.

Os FMAs possuem papel importante na agricultura, principalmente em associação com espécies que possuem raízes grossas e com pouca superfície de contato, como é o caso da mandioca (Silveira & Freitas, 2007). Há também respostas positivas quanto à micorrização entre outras espécies agrícolas como café, feijão, tomate, e alho, sendo que estas culturas se beneficiam da associação micorrízica através de maior nodulação (no caso de leguminosas), crescimento e absorção de fósforo (Saggin-Júnior & Siqueira, 1996; Tavares et al., 2009).

Finalmente, o milho também é uma cultura com alta taxa de colonização micorrízica que apresenta boas respostas à associação. Siqueira et al. (2000) demonstraram que para o milho a inoculação com isolados fúngicos eficientes pode reduzir em 34% o requerimento de fertilizante fosfatado. A absorção de fósforo pelo milho aumenta em até 115% quando as plantas são inoculadas com FMAs, o que contribui para maior produtividade agrícola (Kothari et al., 1991). Estes benefícios são bem conhecidos para variedades de milho híbridas e transgênicas, porém ainda se desconhece aspectos da relação simbiótica em variedades crioulas. Este tipo de informação é de suma importância principalmente para o planalto de SC, onde boa parte do milho cultivado por pequenos produtores é de variedades crioulas.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a colonização micorrízica de raízes de milho crioulo Catarina em função de doses de inoculantes microbianos e adubos orgânicos.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na safra 2012/2013 no município de Curitiba – SC localizado entre as coordenadas geográficas de 27°16'44" de latitude Sul e 50°34'57" de longitude. A área utilizada foi anteriormente destinada ao cultivo do feijão em



sistema de plantio convencional por um período de sete anos rotacionando-se com culturas de inverno como aveia e azevém e eventualmente milho. O solo ocorrente na área experimental é classificado como Latossolo Bruno.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados em esquema fatorial 2x2, com 4 repetições. Foram testados 2 níveis de fertilizante (com e sem) e 2 níveis de inoculação (com e sem). A variedade de milho utilizada foi a Catarina, cujas sementes foram fornecidas pelo Sindicato dos Trabalhadores Rurais de Curitiba. O fertilizante utilizado foi Terraplant, a base de esterco e cama de aves com as seguintes concentrações: 1,0% de nitrogênio total, 20% de carbono orgânico, 25% de umidade, pH 7,5 e CTC 340,00  $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ , aplicado na dose de 1,5Kg por linha. O inoculante utilizado foi Azomax® a base de *Azospirillum brasilense* estirpes AbV5 e AbV6 contendo  $2,0 \times 10^8$  UFC/mL. A inoculação foi feita na dose de 1,5mL por Kg de semente, efetuando-se a mistura em sacos plásticos e a secagem a sombra imediatamente antes da semeadura.

As unidades experimentais consistiram em parcelas de 6x4m. Foram utilizadas 4 linhas por parcela com espaçamento de 0,80m. O espaçamento entre parcelas foi de 0,80m e 1m entre blocos. A área delimitada do experimento foi dessecada uma semana antes do plantio com Glifosato na concentração de 2L/ha. O plantio foi efetuado com plantadeiras manuais e o raleio foi feito três semanas após a semeadura, mantendo-se a quantidade aproximada de 5 plantas por metro linear.

A coleta das raízes foi feita ao acaso dentro de cada parcela, com o auxílio de uma enxada. Foram coletadas amostras de 3 plantas por unidade experimental. Após a coleta a campo, as amostras de raízes foram levadas para o laboratório de Microbiologia do Solo da Universidade Federal de Santa Catarina, onde elas foram lavadas e colocadas em tubos de ensaios e conservadas na geladeira. As amostras foram colocadas em beakers e submetidas ao banho-maria por 20 minutos em KOH 10%. Elas foram lavadas por 3 vezes com água da torneira até a eliminação deste. Posteriormente, as raízes foram submersas em solução HCl 2%, por 5 minutos, e o excesso foi removido. Para coloração, foi utilizada uma solução Azul de Tripán 0,05% até cobrir as raízes e os beakers foram levados ao banho-maria por mais 8 minutos. Ao final do procedimento, as raízes foram lavadas 4 vezes para remover o excesso de solução corante.

As amostras de raízes foram armazenadas em tubos de ensaio e levados para a geladeira para

o seu armazenamento até a condução das análises. De cada planta, foram selecionados 10 fragmentos das raízes de aproximadamente 1 cm para a serem avaliados. Em cada fragmento, foram observados 5 pontos selecionados aleatoriamente e observados. Em cada um deles, a colonização radicular foi avaliada quanto a presença de hifas, vesículas, esporos e arbúsculos.

Na análise estatística, as médias foram submetidas à análise de variância e em seguida as médias foram separadas aplicando-se o teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A colonização micorrízica por hifas nas raízes das plantas de milho não sofreu efeito de nenhum dos fatores testados (**Tabela 1**). A média geral de colonização foi de 75,75 e seu coeficiente de variação foi de 7,87%. Em outro trabalho houve efeito das variáveis, esporos, hifas, arbúsculos na colonização (Reis et al., 2012). No entanto, os autores utilizaram plantas de cobertura em seu experimento, o que pode ter influenciado nas interações entre o milho e os fungos do solo. No caso do milho crioulo avaliado no presente experimento, não havia nenhum tipo de cobertura. Isto pode ter influenciado o resultado observado, mesmo podendo observar um padrão de colonização semelhante em torno de 75,46 % das hifas. Além disso, foi usado o milho AG 1051, híbrido duplo, que pode ter um diferente padrão de dependência micorrízica quando comparado às cultivares testadas no presente experimento.

A colonização por vesículas não sofreu efeito de nenhum dos fatores testados, sendo a sua média geral = 4,62% e seu coeficiente de variação de 125,47%. A colonização das raízes por esporos, igualmente, não sofreu efeito dos fatores testados. A média geral foi de 3,58% e o coeficiente de variação de 49,66% (**Tabela 1**). Sabe-se que em consórcios feitos com gramíneas e leguminosas há aumento significativo na contagem dos esporos de FMA no solo, pois as leguminosas se decompõem com maior velocidade que as gramíneas e assim afetaram positivamente a interação entre as micorrizas e as plantas de milho. As leguminosas também favorecem a esporulação e a diversidade de espécies de micorrizas (Reis et al., 2012). Isto pode explicar, de maneira parcial, a diferença de colonização observada.

O baixo nível de esporulação nas raízes de milho pode ter ocorrido pelo fato de que a esporulação requer de quatro a oito semanas para ocorrer, e novos esporos apresentam um ciclo de dormência endógena de seis semanas a seis meses (Cruz &



Martins, 1997). A maioria dos fungos não esporula dentro da raiz e sim fora o que explica os baixos percentuais de colonização, e apenas algumas espécies esporulam dentro da raiz como o *Rhizophagus clarus*, onde os esporos ficam nas extremidades das hifas e germinam quando as condições de umidade, temperatura e pressão parcial de CO<sub>2</sub> são favoráveis (Siqueira et al., 2002).

Finalmente, a cultura de inverno estabelecida anteriormente ao plantio de milho pode não ter favorecido a diversidade e a atividade dos FMAs. A ausência de consócio com outras culturas também pode ter influenciado no padrão de colonização das raízes de milho avaliadas.

A colonização micorrízica por arbúsculos não sofreu efeito dos fatores testados (**Tabela 1**). Outros estudos revelam que os arbúsculos são mais abundantes em sistemas de consócio, onde há maior fertilidade e disponibilidade de nutrientes (Reis et al., 2012). Assim, a troca entre a planta e o fungo é maior e isto se reflete no maior número de arbúsculos.

De uma maneira geral, não foram observadas diferenças de colonização em função do uso de inoculantes. Isto contradiz o que é esperado, ou seja, maior colonização micorrízica com o uso de inoculantes microbianos. Além disso, era esperado um efeito negativo do uso de adubo sobre a colonização por FMAs, pois os FMAs são estimulados quando o ambiente for estressante para a planta hospedeira (Santos et al., 1996). É provável que a cultura de milho Catarina não estivesse em um ambiente estressante o suficiente para que a adubação inibisse a colonização micorrízica. Esta hipótese é corroborada pela análise de solo feita na área do cultivo, sendo que os valores de todos os macro e micronutrientes foram médios ou altos, exceto P e K.

## CONCLUSÕES

A colonização micorrízica do milho Catarina não é afetada pelo uso de inoculantes nem adubos orgânicos.

## AGRADECIMENTOS

Ao Sindicato dos Trabalhadores Rurais de Curitiba, pelas sementes do milho crioulo Catarina, e à Total Biotecnologia, pelo fornecimento de inoculante.

## REFERÊNCIAS

COSTA, T. A.; PINTO, J. C.; SILVA, E. S.; DA COSTA, S. M. G. Influência da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares, da acidez do solo e de fontes de fósforo no crescimento do milho, *Acta Scientiarum* 5:1583-1590, 2002.

CRUZ, A. F. & MARTINS, M. A. Transferência de nitrogênio entre plantas interconectadas por fungos micorrízicos arbusculares. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, 21:559-5565, 1997.

GOMES, E. A.; OLIVEIRA, F. A. S.; SOUZA, F. A. Análise molecular de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de milho. *Boletim de pesquisa e desenvolvimento*, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas. 1:1679-0154, 2010.

KOTHARI SK, MARSCHNER H, ROMHELD V. Contribution of the VA mycorrhizal hyphae in acquisition of phosphorus and zinc by maize grown in a calcareous soil. *Plant and Soil*, 131:177-185, 1991.

REIS, R. J. A.; CAMPOS, S. A.; MARTINS, G. S. L.; de JESUS, E. L.; BASTIANI, M. L. R.; CAMPOS, A. N. R. Efeitos de plantas de cobertura nas associações do milho com fungos benéficos do solo. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável*, 2:75-80, 2012.

SAGGIN JR., O. J.; SIQUEIRA, J. O. 1996. Micorrizas arbusculares em cafeeiro. In.: Siqueira, J.O. (ed.) *Avanços em Fundamentos e Aplicação de Micorrizas*. Lavras, Universidade Federal de Lavras. p.203-254.

SILVEIRA, A. P.; FREITAS, S. S.; Microbiota do solo e qualidade ambiental. Campinas: IAC, 2007. 317p.

SIQUEIRA, J. O.; LAMBAIS, M. R.; STÜRMER, S. L. Fungos micorrízicos arbusculares: características, associação simbiótica e aplicação na agricultura. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, 25:12-20, 2002.

SIQUEIRA, J.O. & O. KLAUBERG-FILHO. 2000. Micorrizas arbusculares: a pesquisa brasileira em perspectiva. In: R.F. Novais, V.H. Alvarez & C.E.G.R. Schaefer (eds.). *Tópicos em Ciência do Solo*, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, p.235-264.

TAVARES, R. C.; MENDES-FILHO, P. F.; LACERDA, C. F.; CRUZ, J. S. Produção de biomassa do feijão-de-corda associado aos fungos micorrízicos arbusculares sob diferentes níveis de salinidade. *Revista Brasileira de Agroecologia*, 4:3645-3647, 2009.



# XXXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO

28 de julho a 2 de agosto de 2013 | Costão do Santinho Resort | Florianópolis | SC

**Tabela 1.** Média geral e coeficiente de variação da colonização por fungos micorrízicos arbusculares nas raízes de milho crioulo Catarina.

	Colonização por hifas	Colonização por vesículas	Colonização por esporos	Colonização por arbúsculos
Média geral (%)	75,75	46,25	35,83	72,50
Coeficiente de variação (%)	7,87	125,47	49,66	104,54