



Atividade micorrízica no cultivo da batata-doce em sucessão a diferentes plantas de cobertura⁽¹⁾.

Cícero Donizete Pereira⁽²⁾; Cynthia Torres de Toledo Machado⁽³⁾; Juaci Vitoria Malaquias⁽⁴⁾; Patricia Rodrigues Coimbra Floriano⁽⁵⁾;

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos da Embrapa - Cooperação Internacional Embrapa/INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). ⁽²⁾ Pesquisador; Embrapa Cerrados; Brasília, DF; cicero.pereira@embrapa.br; ⁽³⁾ Pesquisadora; Embrapa Cerrados; Brasília, DF; ⁽⁴⁾ Analista, Embrapa Cerrados, Brasília, DF; Técnica do Laboratório de Micorrizas, Embrapa Cerrados; Brasília, DF.

RESUMO: A sucessão de cultivos aumenta o potencial de inóculo dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA), favorecendo a colonização de culturas subsequentes e melhorando sua nutrição e produção. Potencial de inóculo micorrízico (PIM), número de esporos (NE) e teor de glomalina facilmente extraível (GFE) foram determinados em uma sucessão de batata-doce com diferentes plantas de cobertura delineada em blocos ao acaso, com cinco tratamentos (vegetação espontânea, crotalária, crotalária consorciada com milho, feijão-de-porco e feijão de porco consorciado com milho) e quatro repetições. As avaliações foram feitas em 5 épocas ou ciclos de cultivo: T0 (antes da instalação do experimento); T1 (no primeiro ciclo de plantas de cobertura); T2 (após o primeiro cultivo de batata-doce); T3 (no segundo ciclo de plantas de cobertura) e T4 (após o segundo cultivo de batata doce). Houve aumento expressivo no número de esporos de 318,85% e 435,25 % após o segundo cultivo de plantas de cobertura e de batata doce (T3 e T4, respectivamente), em relação a T0. Em T3, feijão de porco + milho foi o tratamento que produziu mais esporos entre os tratamentos avaliados. PIM diminuiu em T4 nos tratamentos crotalária + milho e feijão de porco + milho. Teores de GFE obtidos nas diferentes épocas de amostragem variaram significativamente ($p < 0,05$) em todos os tratamentos, reduzindo com os sucessivos ciclos de cultivos até T3. Os parâmetros micorrízicos avaliados não variaram com os tratamentos dentro de cada época de amostragem, mas sofreram variações significativas entre os ciclos de cultivo.

Termos de indexação: micorrizas arbusculares, glomalina, potencial de inóculo.

INTRODUÇÃO

A diversificação vegetal representa uma estratégia capaz de trazer benefícios nos agroecossistemas (Moonen & Bàrberi, 2008), criando condições que favoreçam a produtividade agrícola e serviços de proteção ambiental. Uma das estratégias de promover essa diversificação nos sistemas de produção vegetal consiste na utilização

de leguminosas como plantas de cobertura do solo, em sucessão de cultivos. Almeida et al. (2007) apontam tal prática agrícola como extremamente vantajosa para as características físicas, químicas e biológicas do solo uma vez que favorece a adição de matéria orgânica e ciclagem de nutrientes nos agrossistemas. Além disso, estas plantas apresentam a capacidade de associarem aos fungos micorrízicos arbusculares (FMA), alterando a dinâmica populacional desses fungos no solo. Esses fungos são simbioses obrigatórios, sendo sua distribuição muito influenciada pela vegetação e, uma vez estabelecida, a micorriza arbuscular contribui na nutrição e crescimento das plantas, sobretudo em solos com baixos teores de nutrientes (Miranda, 2008).

A rotação de culturas com plantas micotróficas, eficientes na multiplicação dos FMA, pode aumentar o potencial de inóculo desses fungos no solo (Espindola et al, 1997; Espindola et al., 1998; Miranda, 2008), favorecendo a colonização de culturas subsequentes (Hayman, 1987) e melhorando sua nutrição e produção, principalmente em culturas com elevada dependência micorrízica (Alves et al., 1989) e da disponibilidade de fósforo como a batata-doce.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade micorrízica por meio da determinação do potencial de inóculo de FMA nativos do solo (PIM), do número de esporos (NE) e do teor da glomalina facilmente extraível (GFE) em solo cultivado com batata-doce em sucessão a diferentes espécies de adubos verdes e vegetação espontânea.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na área experimental da Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (CNPAB), Seropédica (RJ), consistindo de uma sucessão entre as leguminosas crotalária e feijão de porco, solteiras ou consorciadas com milho, e batata-doce. O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso, com cinco tratamentos e quatro repetições e área de 40 m² por parcela. Os tratamentos avaliados foram vegetação espontânea, crotalária (*Crotalaria juncea*), crotalária consorciada



com milho (*Zea mays*), feijão-de-porco (*Canavalia ensiformes*) e feijão de porco consorciado com milho.

Amostras de solo, na profundidade de 0 – 20 cm, foram usadas para a determinação da ocorrência de FMA, em cinco épocas distintas: T0 (antes da instalação do experimento, em dezembro de 2011), T1 (primeiro ciclo de florescimento das plantas de cobertura, em fevereiro de 2012), T2 (após o primeiro cultivo de batata-doce, em setembro de 2012), T3 (segundo ciclo florescimento das plantas de cobertura, em fevereiro de 2013) e T4 (após o segundo cultivo de batata-doce, em setembro de 2013). As amostras foram encaminhadas a Embrapa Cerrados para a contagem de esporos de FMA (NE), determinação do potencial de inóculo micorrízico (PIM) e quantificação do teor de glomalina facilmente extraível (GFE).

A extração de esporos foi realizada pelo método do peneiramento úmido, descrito por Gerdermann e Nicolson (1963) e a contagem em placa canaleta sob microscópio estereoscópico.

O potencial de inóculo de FMA foi estimado pelo método de Moorman e Reeves (1979) descrito por Sieverding (1991), por meio de bioensaio conduzido em casa de vegetação, usando-se *Sorghum bicolor* como planta hospedeira. A colonização das raízes foi avaliada de acordo com a metodologia de Koske & Gemma (1989) e Grace & Stribley (1991), com adaptações, e a porcentagem de colonização determinada pelo método da interseção radicular proposto por Giovanetti e Mosse (1980), em microscópio estereoscópico.

A extração de GFE foi realizada empregando-se a metodologia proposta por Rillig et al (2003), usando-se 8mL de tampão citrato de sódio (20mM; pH 7,0) para 1 grama de solo. Em seguida as amostras foram autoclavadas a 121 °C por 30 minutos e os teores de GFE determinados pelo método de Bradford (1976).

Antes da análise dos dados, o NE foram transformados em $[\log(x+1)]$ e a porcentagem de colonização, em $\arcsen(x/100)^{0.5}$. Estas transformações são necessárias para fins de normalidade dos dados. A verificação estatística da significância dos tratamentos foi feita pela análise de variância (ANOVA). Também foram verificados os pressupostos de normalidade dos resíduos e a homogeneidade da variância. Para a comparação das médias foi utilizado o teste de Tukey, ao nível de probabilidade de 5%. Todas as análises foram realizadas pelo software estatístico SAS versão 9.1.2.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados sobre a atividade micorrízica antes da instalação do experimento, correspondente à época T0 (**Tabela 1**), mostram, uma distribuição relativamente homogênea desses fungos na área experimental. Em média, foram contados 244 esporos de FMA/50 mL de solo, 2,91 mg/g de solo de GFE e 34% de potencial de inóculo micorrízico.

Tabela 1: Caracterização da área antes do plantio do experimento, a partir do número de esporos (CE), potencial de inóculo micorrízico (PIM) da área e teor de glomalina facilmente extraível (GFE) (novembro de 2011).

	CE (nº/50 mL solo)	PIM (%)	GFE (mg/g solo)
Bloco 1	176	34	2,81
Bloco 2	221	17	2,72
Bloco 3	238	50	2,71
Bloco 4	340	34	2,91
Média	244	34	2,91

Detectou-se aumento expressivo no número de esporos de 318,85% e 435,25 %, nos tempos T3 e T4, respectivamente e reduções de PIM em T4 (79,41%) e de GFE em T3 (63,23%) e T4 (36,77%), quando comparados às médias obtidas em T0 (**Tabela 2**).

Ao se avaliar o efeito das diferentes plantas cultivadas sobre os parâmetros micorrízicos dentro de cada época de amostragem, verificou-se que não houve interação entre as variáveis respostas e os tratamentos (**Tabela 2**). PIM, que considera a infecção das raízes por FMA pelos diversos propágulos (esporos, hifas e segmentos de raízes) desses fungos no solo, apresentou maior coeficiente de variação (CV) em relação às outras variáveis respostas analisadas, NE e GFE. Esta maior variabilidade dos dados pode ter contribuído para a não detecção de possíveis diferenças entre os tratamentos considerando-se esta variável. Gomide et al (2009) verificaram que as espécies hospedeiras em pré-cultivo afetaram tanto a produção de propágulos infectivos de FMA como a colonização micorrízica e a produção de esporos em cultivo de *Urochloa decumbens* em sucessão a sete espécies vegetais, incluindo seis micotróficas e uma não micotrófica, nabo forrageiro. Espíndola e colaboradores (1998) estudando a influência da adubação verde na colonização micorrízica e na produção da batata-doce detectaram diferenças no número de propágulos na cultura da batata-doce comparando-se diferentes plantas de cobertura com o tratamento ausência de cobertura no cultivo. Essas avaliações foram feitas por meio do método



do número mais provável, o qual dá uma medida relativa da densidade de propágulos capazes de colonizar raízes, e mostraram que o número de propágulos infectivos sofreu expressiva queda na ausência de vegetação em relação à vegetação espontânea. Considerando as diferentes metodologias, é importante observar que os autores anteriormente citados mostraram que todas as leguminosas usadas como plantas de cobertura, com exceção do guandu, mantiveram ou aumentaram o número de propágulos infectivos de FMA quando comparadas à vegetação espontânea.

Para as condições do presente trabalho, as diferentes plantas de cobertura não influenciaram a esporulação dos FMA. Entretanto, quando a densidade de esporos foi comparada entre as diferentes épocas de amostragem, verificou-se que o segundo ciclo de cultivo de plantas de cobertura (T3), promoveu aumento extraordinário na média de NE, ampliada no cultivo subsequente de batata-doce (T4). Em T3 houve aumento da densidade de esporos para todos os tratamentos, sendo significativo para o tratamento feijão de porco + milho, que produziu praticamente 4 vezes mais esporos em relação a T2 (após o primeiro cultivo de batata doce). As parcelas com vegetação espontânea também apresentaram maior número de esporos em T4 quando comparado a T1 e T2. Apesar da época de coleta ser um fator determinante na variação da densidade de esporos, o aumento de NE é esperado com a adoção da rotação de culturas (Miranda et al 2004), mesmo havendo efeitos distintos da espécie vegetal usada na sucessão, como mostraram Espíndola et al (1998) e Miranda (2008). Espíndola e colaboradores (1998) verificaram que tratamentos com ausência de vegetação, feijão-de-porco e guandu apresentaram menor densidade de esporos quando comparados à vegetação espontânea na época da incorporação da fitomassa.

Os resultados do presente trabalho mostram que não houve relação entre o número de esporos e o PMI de FMA, mesmo nas épocas de amostragem onde houve maior produção de esporos (T3 e T4). Essa relação nem sempre acontece devido a presença de outros propágulos de FMA no solo (raízes micorrizadas, micélio), que sofrem influência não apenas da comunidade vegetal e de fungos, mas da composição química e uso do solo (Mello et al, 2012). Entretanto, Espíndola et al (1998), verificaram correlação entre número de esporos e de propágulos infectivos de FMA com o cultivo de leguminosas (crotalária, guandu, feijão-de-porco e mucuna-preta) em relação às parcelas-controle (ausência de vegetação). Souza et al 1999, estudando o efeito de pré-cultivo no potencial de

inóculo na cultura da mandioca, verificaram correlação entre número de esporos e propágulos infectivos de FMA nas parcelas cultivadas com leguminosas e controle, parcela mantida sem plantas. Nas parcelas pré-cultivadas com sorgo, estes autores verificaram a não correlação entre essas variáveis, indicando que o número de esporos não reflete o número de propágulos infectivos, naquela condição avaliada. Nobre et al (2010) verificaram que o potencial de infectividade de FMA nativos no cultivo em aléias variou de acordo com a leguminosa cultivada e que a quantidade de glomerosporos não teve relação direta com a taxa de colonização das raízes de sorgo em bioensaio PIM e, portanto, com a capacidade infectiva dos propágulos dos FMA.

Os teores de GFE reduziram após sucessivos cultivos em relação a T0, variando significativamente ($p < 0,05$) entre as diferentes épocas de coleta, com reduções significativas de T1 a T3 e aumento em T4. Essa variação é esperada pois a produção de glomalina pode ser influenciada, dentre outros fatores, pelas condições climáticas, características e sistema de uso do solo, práticas de manejo agrícola, presença e tipo de vegetação, sendo geralmente menor em solos agrícolas quando comparada a solos nativos ou cultivados (Purin & Rillig, 2007; Rillig et al, 2002; Rillig et al, 2003; Wright et al, 1999).

CONCLUSÕES

As diferentes plantas de cobertura usadas na sucessão aumentam o número médio de esporos na área após o segundo ciclo de cultivo.

O teor de GFE varia significativamente entre os diferentes tempos de coleta.

AGRADECIMENTOS

Aos técnicos da Embrapa Agrobiologia pela coleta das amostras.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, D. L. de; GUERRA, J. G. M.; ESPINDOLA, J. A. A. Adubação verde. In: HENZ, G. P.; ALCÂNTARA, F. A. de; RESENDE, F. V. (Eds.). Produção orgânica de hortaliças: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2007. p. 99-112.
- ALVES, B. J. R.; SANTOS, J. C. F.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Métodos de determinação do nitrogênio em solo e planta. In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R. S. (Eds.). Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p. 449-469.



- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254, 1976.
- ESPINDOLA, J. A. A.; ALMEIDA, D. L. de; GUERRA, J. G. M.; SILVA, E. M. R. da; SOUZA, F. A. de. Influência da adubação verde na colonização micorrízica e na produção da batata-doce. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 33: 339-347, 1998.
- ESPINDOLA, J.A.A.; ALMEIDA, D.L.; GUERRA, J.G.M. Benefícios da adubação verde sobre a simbiose micorrízica e a produtividade da batata doce. *Seropédica: Embrapa Agrobiologia*, 1997. 6p. (Comunicado Técnico, 14).
- GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. W. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society, London*, v. 46, n. 2, p. 235 - 244, 1963.
- GIOVANETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist, Oxford*, 84:489 - 500, 1980.
- GOMIDE, P. H. O., SANTOS, J. G. D., SIQUEIRA, J. O., SOARES, C. R. F. S. Diversidade e função de fungos micorrízicos arbusculares em sucessão de espécies hospedeiras. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44: 1483-1490, 2009.
- GRACE, C.; STRIBLEY, D.P. A safer procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research, Cambridge*, 92:486-488, 1989.
- HAYMAN, D.S. VA Mycorrhizas in field crop systems. In: SAFIR, G.R. (Ed.). *Ecophysiology of VA mycorrhizal plants*. Boca Raton: CRC Press, 1987. p.171-192.
- KOSKE, R.E; GEMMA, J.N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research, Cambridge*, 92:488-505, 1989.
- MELLO, C M A; SILVA, I R; PONTES, J S; GOTO, B T; da SILVA, G A; MAIA, L C. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em área de Caatinga, PE, Brasil. *Acta bot. bras.* 26: 938-943, 2012.
- MIRANDA, J. C. C. Micorriza arbuscular: ocorrência e manejo. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. 169 p.
- MIRANDA, J. C. C.; MIRANDA, L. N. Dependência micorrízica de diferentes culturas anuais, adubos verdes e pastagens em solos de Cerrado. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2004. 4 p. (Comunicado Técnico, 114).
- MOONEN, A. C.; BÀRBERI, P. Functional biodiversity: An agroecosystem approach. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 127: 7-21, 2008.
- MOORMAN, T.; REEVES, S.B. The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid west. II. A bioassay to determine the effect of land disturbance on endomycorrhizal populations. *American Journal of Botany*, 66:14-18, 1979.
- NOBRE, C. P. et al. Fungos micorrízicos arbusculares em sistemas de aléias no Estado do Maranhão, Brasil. *Acta Amazonica*, 40:641-646, 2010.
- PURIN, S.; RILLIG, M. C. The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin: limitations, progress, and a new hypothesis for its function. *Pedobiologia*, 51: 123-130, 2007.
- RILLIG, M. C.; WRIGHT, S. F.; EVINER, V. T. The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species. *Plant and Soil, The Hague*, 238: 325-333, 2002.
- RILLIG, M. C.; RAMSEY, P. W.; MORRIS, S.; PAUL, E. A. Glomalin an arbuscular-mycorrhizal fungal soil protein, responds to land-use change. *Plant and Soil, The Hague*, 2: 293-299, 2003.
- SIEVERDING, E. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Eschborn: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit, 1991. 371p.
- SOUZA, F. A. et al. Efeito de pré-cultivos sobre o potencial de inoculo de fungos micorrízicos arbusculares e produção de mandioca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília*, 34: 1913-1923, 1999.
- WRIGHT, S. F.; STARR, J. L.; PALTINEANU, I. C. Changes in aggregate stability and concentration of glomalin during tillage management transition. *Soil Science Society of America Journal, Madison*, 63: 1825-1829, 1999.

Tabela 2: Número de esporos, potencial de inóculo micorrízico (PIM) da área e teor de glomalina facilmente extraível (GFE) após cultivos de plantas de cobertura (T1 e T3) e de bata-doce (T2 e T4).

Tratamentos	CE (n°/50 mL de solo)					Média	PIM (%)				Média	GFE (mg/g de solo)				Média
	T1	T2	T3	T4	T1		T2	T3	T4	T1		T2	T3	T4		
VE	313aB	340aB	1260aAB	1462aA	844	23aA	15aA	25aA	8aA	18	3,24aA	2,43aB	1,08aD	1,70aC	2,11	
CROT	254aB	344aA	1101aAB	1234aA	733	21aA	15aA	20aA	7aA	16	3,36aA	2,51aB	1,12aD	1,72aC	2,18	
CROT + M	423aAB	234aB	617aAB	1316aA	648	32aA	16aAB	25aA	5aB	20	3,47aA	2,51aB	1,09aD	1,70aC	2,19	
FP	360aB	343aB	781aAB	1380aA	716	15aA	22aA	16aA	7aA	15	3,58aA	2,64aB	1,10aD	1,98aC	2,33	
FP + M	270aB	339aB	1351aA	1137aAB	774	28aA	23aA	22aAB	7aB	20	3,53aA	2,53aB	0,98aD	2,12aC	2,29	
Média	324	320	1022	1306		24	18	22	7		3,44	2,52	1,07	1,84		
CV(%)	7,71	4,86	8,94	4,56		30,83	21,16	18,66	22,07		5,69	4,55	10,46	10,14		

Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas nas linhas (entre épocas de coleta) e minúsculas nas colunas (entre tratamentos), não diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

VE = vegetação espontânea; CROT + M = crotalaria + milho; FP + M = feijão de porco + milho.