



Efeito da inoculação micorrízica no aspecto nutricional de *Apuleia leiocarpa* (Vogel) J.F.Macbr⁽¹⁾

**Joel Quintino de Oliveira Júnior⁽²⁾; Ana Carolina Sousa⁽³⁾; Rodrigo Camara⁽⁴⁾;
Ariovaldo Machado Fonseca Júnior⁽⁵⁾; Ederson da Conceição Jesus⁽⁶⁾; Marcos
Gervasio Pereira⁽⁷⁾**

⁽¹⁾Parte da tese do primeiro autor; ⁽²⁾Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Florestais (PPGCAF) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Rodovia BR 465 km 7, Seropédica, RJ. CEP 23890-000. joelquintino@yahoo.com.br; ⁽³⁾Engenheira Florestal, Mestre em Ciências Ambientais e Florestais, Bolsista DTI-B/CNPq, Laboratório de Gênese e Classificação do Solo; ⁽⁴⁾Engenheiro Agrônomo, Dr em Ecologia e Recursos Naturais, Pós doutorando do PPGCAF; ⁽⁵⁾Acadêmico de Engenharia Florestal, Bolsista PIBIC/CNPq; ⁽⁶⁾Pesquisador da Embrapa Agrobiologia, BR 465 km 7, Seropédica, RJ. CEP 23890-000; ⁽⁷⁾Professor Associado IV, Departamento de Solos, Bolsista 1Cdo CNPq e Cientista do Nosso Estado da FAPERJ.

RESUMO: A inoculação com fungos micorrízicos busca a redução do uso de insumos e consequência redução nos custos de plantio e aumento do estabelecimento de mudas de espécies florestais. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da inoculação de diferentes fungos micorrízicos arbusculares (FMA) sobre o estado nutricional e o crescimento da espécie *Apuleia leiocarpa* (Vogel) J.F.Macbr. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 5X5 com seis repetições, em casa de vegetação. Empregou-se inóculos de *Rhizophagus clarum* Becker & Gerdemann, *Gigaspora margarita* Becker & Hall e *Dentiscutata heterogama* (Nicol & Gerd) Walker & Sanders, isoladamente ou em mistura, além de ausência de inoculação, e doses de P (0, 24, 71, 213 e 650 mg kg⁻¹). Avaliaram-se as variáveis: taxa de colonização micorrízica de raízes (micorrização), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), o teor de N, P e K na raiz e na parte aérea, o crescimento relativo da raiz e da parte aérea. Houve uma resposta diferenciada das mudas com relação aos FMA e às doses de P. O fungo *Gigaspora margarita* apresentou um efeito equivalente as doses de P aplicadas. Já a inoculação com *D. heterogama* proporcionou o maior crescimento relativo (Parte aérea), mas apenas na dose de P mais elevada. A combinação dos FMA, nas cinco doses de P, foi responsável pelos maiores benefícios nutricionais e de incremento de biomassa em relação a parte aérea.

Termos de indexação: fungos micorrízicos, Floresta Atlântica, produção de mudas.

INTRODUÇÃO

Há cerca de 400 milhões de anos, as plantas iniciaram o processo de colonização do ambiente terrestre e desenvolveram a capacidade de estabelecer relações com alguns grupos de fungos do solo, como os fungos micorrízicos arbusculares

(FMA) (Souza et al., 2010). No entanto, somente no século XIX a comunidade científica começou a investigar tais relações, com a publicação dos primeiros relatos da associação entre células radiculares e micélios destes fungos, em raízes de plantas fossilizadas (Souza et al., 2010). Até então, não se sabia se esta relação era mutualística ou parasítica. Isso estimulou o desenvolvimento de diversas pesquisas que culminaram em evidências experimentais, necessárias para consolidar o caráter mutualístico da simbiose (Siqueira, 1996).

O principal benefício desta simbiose é provavelmente o aumento da absorção de nutrientes com baixa mobilidade no solo, pelo micélio extraradicular do fungo (hifas). Neste caso se inserem, o fósforo e, sobretudo, aqueles transportados por difusão (Zn⁺², Cu⁺², K⁺ e NH₄⁺), que podem ser extraídos de áreas localizadas além da zona de depleção da raiz, para células do córtex das raízes (Smith & Read, 1997; Barbara et al., 2006). Ainda existem muitas lacunas a serem preenchidas quanto ao conhecimento do efeito da associação micorrízica sobre o crescimento de espécies arbóreas nativas de Floresta Atlântica. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da inoculação de diferentes fungos micorrízicos sobre o estado nutricional e o desenvolvimento de *Apuleia leiocarpa* (Vogel) J.F.Macbr.

MATERIAL E MÉTODOS

Mudas de *A. leiocarpa* foram produzidas em recipientes plásticos com capacidade de 1 kg, em casa de vegetação do Instituto de Florestas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ. Cada recipiente, que consistiu em um tubete (280 mL) acoplado a um copo plástico descartável (700 mL), foi preenchido com material do horizonte B de um Cambissolo Háplico, coletado na camada 0-15cm no município de Pinheiral-RJ. O



solo foi autoclavado duas vezes, com intervalo de dois dias entre estas etapas. O experimento foi instalado com delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 (tratamentos de inoculação com FMA) x 5 (doses de P), com seis repetições cada, totalizando 150 mudas. Os tratamentos de inoculação foram: (1) esporos de *Rhizophagus clarum* Becker & Gerdemann; (2) esporos de *Gigaspora margarita* Becker & Hall; (3) esporos de *Dentiscutata heterogama* (Nicol & Gerd) Walker & Sanders; (4) mistura de esporos das 3 espécies de fungos micorrízicos; (5) controle negativo (ausência de inoculação). Os inóculos de FMA consistiram em um grama de solo com aproximadamente 50 esporos, respeitando essa média de esporos no tratamento de mistura. O fósforo foi adicionado em cinco doses distintas: (1) dose 0; (2) 24 mg kg⁻¹ de solo; (3) 71 mg kg⁻¹; (4) 213 mg kg⁻¹; (5) 650 mg kg⁻¹. Uma solução nutritiva contendo todos os elementos essenciais, exceto o fósforo, foi também aplicada para a correção da fertilidade do solo. Para padronizar os tratamentos quanto aos demais componentes da microbiota do solo, foi adicionado 1 mL de um filtrado do solo da área fonte do substrato isento de propágulos de FMA, a cada recipiente. As sementes de *A. leiocarpa* foram imersas em ácido sulfúrico 98%, por 15 minutos, para a quebra de dormência, e em peróxido de hidrogênio 30%, por 2 minutos, para a desinfestação superficial. Posteriormente, as sementes, que foram germinadas em placas de petri (papel filtro e algodão, durante quatro dias a 28°C em câmara germinadora, sob luz constante) foram semeadas nos recipientes.

O experimento foi encerrado aos 93 dias após o plantio, com a coleta das mudas. Três repetições de cada tratamento foram utilizadas para a avaliação da taxa percentual de colonização radicular pelos FMA (micorrização). Para tanto, houve o clareamento e coloração das raízes pelos métodos de Koske & Gemma (1989) e de Grace e Stribley (1991). A micorrização foi avaliada pelo método da interseção em placa quadriculada, de Giovanetti e Mosse (1980), adaptado a partir do método de medida de comprimento de raízes de Newman (1966).

Após a coleta as mudas foram secas em estufa com circulação forçada de ar (65°C, 72 h), para obtenção da massa seca de raiz (MSR) e massa seca da parte aérea (MSPA). Posteriormente, ambos os materiais foram moídos em moinho elétrico e passaram por digestão nitro-perclórica (2:1), para a extração de P e K, e digestão sulfúrica, para a extração de N (SILVA, 1999). Os teores de P foram determinados por colorimetria, K por fotometria de chama (SILVA, 1999), e N pelo método de Kjeldahl modificado.

Determinou-se o benefício relativo à espécie florestal promovido pelos tratamentos por meio da fórmula: $[(MSTR - MSTA) / MSTA] \times 100$, onde: MSTR = massa seca (MSR ou MSPA) dos tratamentos; MSTA = massa seca (MSR ou MSPA) da testemunha absoluta (sem inoculação e com dose 0 de P). Assim, foram determinadas as variáveis crescimento relativo da massa seca de raiz (CRMSR) e o crescimento relativo da massa seca da parte aérea (CRMSPA).

Os dados foram transformados (logaritmo da variável mais um) para atingir a normalidade e submetidos à análise de variância. Em seguida, foi aplicado o teste Scott Knott a 5% de significância para comparação entre as médias. Para as análises estatísticas, foi empregado o programa Sisvar (FERREIRA, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve colonização micorrízica nos tratamentos que não receberam a inoculação. Esse padrão demonstrou que o controle e assepsia foram adequadamente realizados. A espécie *A. leiocarpa* não respondeu às doses crescentes de fósforo aplicadas. A taxa de colonização micorrízica variou em função dos FMA aplicados. No entanto, notou-se uma tendência inversa para as doses de P, já que a colonização diminuiu nas doses mais elevadas de P. A taxa de colonização variou de 8% (menor valor encontrado entre os tratamentos inoculados) a 56% (Tabela 1).

Os teores de N, P e K na parte aérea das mudas foram maiores com a inoculação. Portanto, a inoculação com FMA foi eficiente em promover benefício nutricional às plantas.

A combinação dos três fungos inoculados (GMRCDH) beneficiou as mudas em incrementos de MSPA, MSR e teor nutricional, em relação à inoculação isolada dos FMA. O maior valor de P foi quantificado em uma dose intermediária aplicada (71 mg kg⁻¹). Acompanhado de um alto valor de micorrização (50%) encontrado entre os demais tratamentos inoculados. A mistura de FMA promoveu o maior incremento de massa seca de Parte aérea quando recebeu a maior dose de P (650mg). Observando que o aumento da dose de fósforo refletiu em uma queda na micorrização para 28%. No entanto, o fungo ainda contribuiu com um efeito no ganho de massa.

A inoculação isolada de FMA não foi tão eficiente no incremento de massa seca quanto à combinação de FMA, tanto para raiz como para a parte aérea. O FMA *R. clarus* promoveu o maior incremento de massa seca de parte aérea quando se aplicou a dose mais elevada de fósforo. Houve diminuição da micorrização (24 %). Entretanto, na dose mais baixa



de P (dose 0), a micorrização foi elevada (52 %) e ocorreu incremento de massa seca, tanto de raiz como de parte aérea. O mesmo padrão de resposta foi observado com relação ao FMA *D. heterogama*. Porém, esta espécie de FMA contribuiu para o incremento de massa seca da parte aérea igual a 1,31g, com a aplicação da dose mais elevada de P (650 mg kg⁻¹).

A espécie *A. leiocarpa* aparentemente não respondeu à inoculação com *G. margarita*, com base nos resultados encontrados para MSR e MSPA. Uma vez os incrementos destas variáveis foram equivalentes aos resultados encontrados entre as doses de P aplicadas, independentemente da inoculação com esta espécie de FMA. A dose mais elevada de P (650 mg kg⁻¹) proporcionou incremento de MSR, embora isto tenha sido verificado com relação aos dados de MSPA, na inoculação com *G. margarita*, tornando a inoculação do fungo ineficiente na captação do fósforo. Possivelmente esse baixo efeito proporcionado pelo fungo deve-se as características de seu desenvolvimento mais lento, onde essas espécies com tamanhos maiores precisam de um período maior para proporcionarem um benefício significativo ao seu hospedeiro.

Os dados de crescimento relativo demonstraram que a inoculação com o FMA *Dentiscutata heterogama* aliada à dose mais alta de P (650 mg kg⁻¹) foram responsáveis pelo maior incremento de massa seca de parte aérea, quando comparado com os demais tratamentos, e resultou em um ganho de aproximadamente 550 % superior à testemunha absoluta (sem inoculação e dose 0 de P). No entanto, a combinação de FMA (GMRC DH) ocasionou incrementos mais equilibrados, ocasionando um crescimento mais equilibrado da espécie nas doses de P aplicadas (71, 213 e 650 mg kg⁻¹ de solo), com um crescimento aproximadamente 420 % superior à testemunha absoluta, e com uma média de 255 % entre todas as doses de P utilizadas (Figura 1).

CONCLUSÕES

A inoculação de fungos micorrízicos ocasionou o benefício nutricional das plantas. Porém, a mistura testada dos diferentes fungos micorrízicos foi o tratamento mais promissor para o crescimento das mudas de *A. leiocarpa*, quanto aos benefícios nutricionais e de incremento de massa seca.

AGRADECIMENTOS

Aos amigos bolsistas pelo apoio, à CAPES pela bolsa de doutorado, ao Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais e Florestais, ao Departamento de Solos e à Embrapa Agrobiologia.

REFERÊNCIAS

- BERBARA, R.L.L.; SOUZA, F.A.; FONSECA, H.M.A.C. Fungos micorrízicos arbusculares: Muito além da nutrição. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). Nutrição mineral de plantas. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p.53-88.
- SIQUEIRA, J.O. Micorrizas e micorrizologia. In: SIQUEIRA, J.O. (Ed.). Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1996. p.1-4.
- 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. (Ed.) Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil. Lavras: Editora UFLA, 2010. p. 15-73.
- GRACE, C.; STRIBLEY, D.P. A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Mycological Research, Cambridge, v. 95, n. 10, p. 1160-1162, 1991.
- 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. 46, p. 235-244, 1963.
- KOSKE, R.E.; GEMMA, J.N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. Mycological Research, Cambridge, v. 92, n. 4, p. 486-488, June 1989.
- GIOVANETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring VA mycorrhizal infection in roots. The New Phytologist, Oxford, v. 84, p. 489-500, 1980.
- SILVA, F.C. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília: Embrapa Solos, Embrapa Informática Agropecuária, 1999.
- FERREIRA, D.F. Sistema para análise de variância para dados balanceados (Sisvar). Lavras: UFLA, 2003. versão 4.3.
- SMITH, S.; READ, D. Mycorrhizal symbiosis. London: Academic Press. 1997. 605 p.
- NEWMAN, E.E. J.A method of estimating the total length of root sample. Journal of Applied Ecology, Oxford, v.3, p.139-45, 1966.



Tabela 1- Efeito da inoculação de fungos micorrízicos no crescimento da espécie *Apuleia leiocarpa*

Tratamentos	N(Raiz)	P(Raiz)	K(Raiz)	N(PA)	P(PA)	K(PA)	Micorrização	MSR	MSPA
Test Abs	11,44 a	2,18 c	0,59 c	56,33 b	3,87 d	3,11 d	-	0,22 c	0,21 c
24	13,28 a	2,96 c	0,38 c	66,38 a	15,14 b	99,24 b	-	0,19 c	0,27 c
71	10,48 a	3,19 c	0,60 c	65,67 a	12,25 c	84,34 c	-	0,17 d	0,23 c
213	12,87 a	3,01 c	0,46 c	66,21 a	12,53 c	144,00 a	-	0,19 c	0,19 c
650	15,62 a	3,30 c	0,80 c	72,04 a	14,24 b	140,42 a	-	0,54 a	0,24 c
DH 0	12,09 a	3,85 b	0,51 b	57,93 b	24,87 a	136,88 a	55 a	0,21 c	0,53 b
DH 24	12,42 a	2,35 c	0,90 b	68,61 a	29,55 a	145,81 a	16 c	0,23 c	0,45 b
DH 71	11,76 a	2,17 c	0,31 c	51,66 b	26,61 a	126,81 a	33 b	0,19 c	0,56 b
DH 213	12,75 a	4,57 a	0,94 a	58,91 b	13,55 b	135,29 a	55 a	0,65 a	0,50 b
DH 650	15,71 a	4,49 b	0,63 b	54,46 b	24,91 a	141,00 a	30 b	0,68 a	1,31 a
GM 0	14,35 a	3,19 c	0,56 c	68,21 a	25,79 a	109,01 b	14 c	0,18 d	0,24 c
GM 24	16,51 a	2,53 c	0,57 b	68,15 a	10,42 c	81,55 c	13 c	0,10 e	0,32 c
GM 71	11,69 a	3,39 b	0,37 c	81,50 a	25,21 a	142,51 a	12 c	0,16 d	0,21 c
GM 213	13,41 a	5,09 b	0,90 b	62,86 b	15,74 b	144,91 a	8 c	0,19 c	0,16 c
GM 650	13,41 a	5,85 b	0,72 b	67,21 a	19,89 a	145,82 a	0	0,72 a	0,24 c
GMRCDH 0	13,84 a	3,36 c	0,42 c	74,01 a	26,28 a	97,74 b	56 a	0,20 c	0,43 b
GMRCDH 24	14,09 a	3,86 b	0,67 b	77,41 a	31,32 a	132,61 a	27 b	0,15 d	0,63 b
GMRCDH 71	15,47 a	4,17 b	0,78 b	59,23 b	36,15 a	133,01 a	50 a	0,48 a	0,91 a
GMRCDH 213	15,75 a	3,28 c	0,50 c	69,15 a	20,98 a	136,83 a	48 a	0,53 a	0,73 a
GMRCDH 650	16,87 a	6,80 b	1,03 b	60,39 b	28,35 a	128,55 a	28 b	0,69 a	1,06 a
RC 0	14,61 a	4,30 b	0,52 b	57,84 b	25,59 b	128,34 a	52 a	0,31 b	0,54 b
RC 24	15,05 a	2,69 c	0,44 c	68,74 a	25,23 a	116,76 a	41 a	0,24 c	0,20 c
RC 71	15,32 a	2,96 c	0,67 c	62,07 b	29,16 a	111,01 b	47 a	0,16 c	0,20 c
RC 213	13,74 a	2,65 c	0,66 c	54,25 b	18,81 b	139,76 a	44 a	0,19 c	0,57 b
RC 650	13,12 a	2,62 c	0,41 c	73,35 a	26,94 a	110,01 b	24 b	0,25 c	0,58 b
CV	33,21	45,53	45,01	17,01	26,41	13,29	38,27	17,47	36,21

Médias comparadas pelo teste Scott Knott ($p=0,05$). Valores médios seguidos de letras diferentes indicam diferença significativa entre tratamentos. DH= *Dentiscutata heterogama*, GM= *Gigaspora margarita*, RC= *Rhizophagus clarus*, GM:RC:DH : Combinação das três espécies. Doses de fósforo variando de 0 a 650 mg.Kg⁻¹. Unidade utilizada para a determinação dos nutrientes (g kg⁻¹).

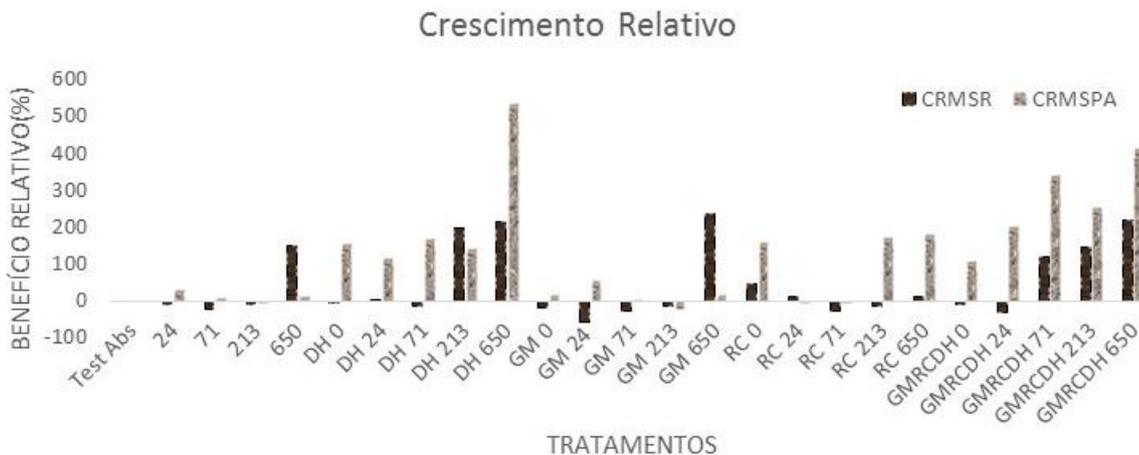


Figura 1 – Benefício relativo (CRMSR: crescimento relativo em massa seca de raiz; CRMSPA: crescimento relativo em massa seca de parte aérea) da espécie *Apuleia leiocarpa* proporcionado pela inoculação de fungo micorrízicos arbuscular