

# EFEITOS DA DISRUPÇÃO DO MICÉLIO EXTERNO DE FUNGOS MICORRÍZICO-ARBUSCULARES SOBRE O CRESCIMENTO VEGETAL<sup>1</sup>

MARCO ANTONIO MARTINS<sup>2</sup> e DAVID JOHN READ<sup>3</sup>

RESUMO - Um experimento com diferentes níveis de disrupção do micélio externo de fungos micorrízico-arbusculares (FMA) foi conduzido para testar a hipótese de que a colonização radicular de plantas por esses fungos pode ser iniciada a partir de sua rede micelial externa, e que as mesmas podem, conseqüentemente, ter o crescimento aumentado em virtude de aumento na absorção de P. Os resultados demonstraram que o micélio externo intacto dos FMA mostrou ser uma fonte de inóculo eficiente. Contudo, a disrupção ou destacamento da planta diminuiu seu potencial para iniciar uma nova colonização radicular, sem, entretanto, eliminar a infectividade. O micélio externo intacto mostrou ser também responsável pelo aumento na absorção de P do solo, e sua disrupção ocasionou uma interrupção temporária desse processo, que refletiu significativamente no crescimento vegetal.

Termos para indexação: colonização, solo, inóculo, fósforo.

## THE EFFECTS OF DISTURBANCE ON THE EXTERNAL MYCELIUM OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI ON PLANT GROWTH

ABSTRACT - An experiment with different levels of disturbance on the external mycelium of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi was carried out in order to test the hypothesis that AM root colonization can be initiated through the external mycelium which provides the plants with access to P and stimulate its growth. The results revealed that the intact external mycelium of AM fungi represents a vigorous source of inoculum, the disruption or detachment of which reduces its inoculum potential, without eliminating its infectivity. The intact external mycelium enhances the absorption of phosphate ions from soil, a process which can be temporarily inhibited, with adverse consequences for plant growth, if the mycelium is disrupted.

Index terms: infection, soil, inoculum, phosphorus.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 26 de maio de 1997.

<sup>2</sup> Eng. Agr., Ph.D., Universidade Estadual do Norte Fluminense, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Av. Alberto Lamego, 2.000. CEP 28015-620 Campos dos Goytacazes, RJ. Bolsista do CNPq. E-mail: marco@uenf.br.

<sup>3</sup> Microbiologista, Ph.D., The University of Sheffield, Department of Animal and Plant Sciences, Sheffield - UK.

## INTRODUÇÃO

O micélio externo dos fungos micorrízico-arbusculares (FMA) que se desenvolve no solo é certamente um dos principais componentes da simbiose fungo-hospedeiro. A principal característica do micélio externo é sua capacidade de se estender além das regiões de 1-2 mm, deficientes em nutrientes (*depletion zones*), que ocorrem ao redor das raízes e pêlos absorventes (Sanders & Tinker, 1971), e absorver os nutrientes, principalmente P, transportando-o para a planta hospedeira (Tinker, 1975; Nye & Tinker, 1977; Cox et al., 1980). Mais recentemente, baseado em resultados de estudos com elementos radioativos, foi demonstrado que o micélio externo estabelece interligações entre plantas de mesma ou diferentes espécies (Newman et al., 1994), permitindo a transferência de nutrientes entre elas (Read, 1984; Ritz & Newman, 1984, 1985, 1986; Read et al., 1985; Haystead et al., 1988; Newman & Eason, 1989; Bethlenfalvay et al., 1991; Martins, 1992a, 1992b, 1993; Martins & Read, 1996). Além disso, Read et al. (1976) e Read (1987) demonstraram que o micélio externo dos FMA é capaz de promover uma colonização muito mais rápida do que a iniciada a partir dos esporos. Desta forma, qualquer dano ou disrupção no micélio externo poderia ocasionar efeitos adversos sobre a planta hospedeira.

Neste contexto um experimento envolvendo vários níveis de disrupção do micélio externo dos FMA foi conduzido para avaliar o seu papel estrutural e funcional nos primeiros estágios de plântulas de *Plantago lanceolata* L. quando cultivadas em competição ou não com plantas adultas de *Lolium perenne* L.

## MATERIAL E MÉTODOS

Vasos de plástico medindo 7x7x12 cm foram construídos com tubos em PVC em formato quadrado. Cada vaso foi dividido longitudinalmente em três seções idênticas de 160 cm<sup>3</sup> de capacidade, utilizando-se dois pedaços de uma rede de nylon com abertura de malha de 39 µm (Fig. 1). Essa rede atua como uma barreira para as raízes das plantas, mas permite que o micélio externo dos FMA passe livremente. Em cada seção de cada vaso foi adicionada uma mistura de solo:areia na proporção de 1:1 (v/v) esterilizada a 120°C por 1 hora, para eliminação de FMA nativos do solo. A seguir, duas plantas micorrizadas (M) ou não-micorrizadas (NM) de *L. perenne* foram plantadas em cada uma das duas seções externas da cada vaso (seções A e C). As plantas com micorriza foram produzidas mediante cultivo por três semanas em pequenas bandejas de plástico (20x12x5 cm), contendo duas camadas de raízes colonizadas por *Glomus etunicatum* Becker e Gerdemann intercaladas por duas camadas de solo:areia (1:1 v/v). As plantas sem micorriza (controle) foram cultivadas nas mesmas bandejas, porém sem a presença de raízes colonizadas pelos FMA e recebendo 20 mL de solução filtrada (filtro de papel Whatman nº 1) a partir das raízes colonizadas para recompor a população bacteriana nas plantas-controle.

Os vasos foram transferidos para uma câmara de crescimento com controle automático de temperatura e luminosidade (18 horas de luz/20-25°C e 6 horas de escuro/15-18°C), onde foram irrigados com água destilada próximo à capacidade de campo do substrato usado. Três semanas após o plantio, cada seção de cada vaso recebeu 5 mL de uma solução nutritiva contendo: 20 ppm de N; 8 ppm de P; 50 ppm de K; 30 ppm de Ca; 10 ppm de Mg; 1 ppm de Fe; 0,1 ppm de Mn; 0,2 ppm de B; 0,04 ppm de Zn e 0,04 ppm de Cu.

As plantas foram cultivadas por 45 dias. Após esse período dois tratamentos foram realizados em uma série de vasos. No primeiro, a rede micelial externa foi destacada das plantas de *Lolium* por meio de uma chapa de plástico introduzida de cima a baixo entre as seções de cada vaso. Essa operação foi repetida a cada cinco dias para prevenir a reinvasão de hifas das seções com plantas de *Lolium* (seções A e C). No segundo tratamento, a rede micelial que se desenvolveu na seção interna (B) de cada vaso foi totalmente fragmentada, com a retirada do solo dessa seção, peneiramento em uma peneira de 2 mm de abertura de malha e reintrodução do solo na seção B.

Na série de vasos de cada tratamento havia também tratamentos-controles constituídos de plantas com micorriza ou não, cujos vasos foram mantidos intactos, sem qualquer dano sobre a rede micelial externa.

Em uma segunda série de vasos, as plantas de *Lolium* crescidas nas seções A e C foram completamente retiradas dos vasos (micélio destacado). Esse procedimento foi adotado para prevenir a reinvasão de hifas externas do FMA das raízes colonizadas de *Lolium*, bem como para eliminar a competição por nutrientes entre as duas espécies de plantas empregadas. Nessa série, o segundo tratamento (rede micelial externa fragmentada) também foi realizado seguindo-se os mesmos procedimentos descritos para a primeira série de vasos. Foram realizados tratamentos-controles idênticos aos descritos anteriormente.

Imediatamente após a realização dos tratamentos em ambas as séries, três sementes pré-germinadas de *Plantago lanceolata* foram plantadas na seção interna (B) de cada vaso. Os impactos dos tratamentos foram avaliados quanto a crescimento vegetal, taxas de colonização radicular e conteúdo de P da parte aérea das plantas de *Plantago*, em colheitas seqüenciais realizadas em intervalos de 10 dias.

O efeito de cada tratamento foi comparado por meio da diferença mínima significativa (DMS) obtida pela análise de variância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As taxas de colonização radicular das plantas de *P. lanceolata* foram elevadas na primeira colheita (aos 10 dias) no tratamento onde o micélio externo foi mantido intacto (Fig. 2A). Esse micélio manteve a infectividade mesmo quando as plantas de *Lolium* foram removidas dos vasos (Fig. 2B). A colonização radicular elevada ocorrida pela propagação do micélio do FMA na seção interna dos vasos (Fig. 1, seção B), a partir das plantas de *Lolium* mi-corrizadas crescidas nas seções externas (A e C), confirma que o micélio externo intacto consiste em uma fonte de inóculo eficiente, mesmo quando não se encontra conectado à planta que o originou.

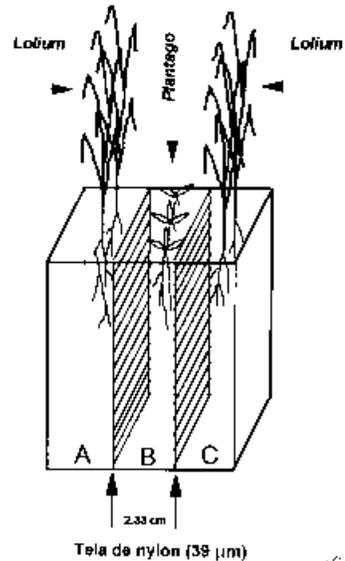


FIG. 1. Esquema dos vasos utilizados no experimento (sem escala).

A redução nas taxas de colonização radicular na primeira colheita (10 dias), no tratamento com o micélio externo fragmentado, na série em que as plantas de *Lolium* foram mantidas (Fig. 2A), pode ser atribuída à perda do potencial de infectividade desse micélio. Jasper et al. (1989) também observaram perda no potencial de infectividade do micélio externo fúngico arbuscular logo após sua fragmentação. Evans & Miller (1988) sugeriram que essa perda de infectividade pode ser causada pela falta de um fluxo de fotoassimilados dentro da rede micelial, que é interrompido após a fragmentação.

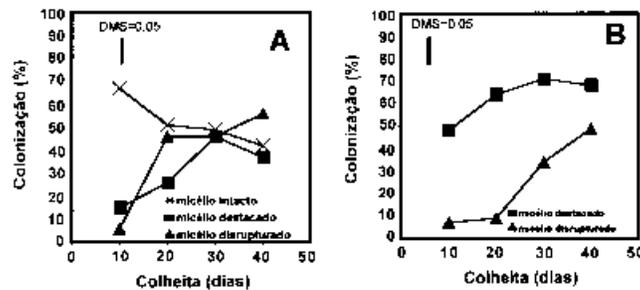


FIG. 2. Colonização radicular das plantas de *Plantago* por fungos micorrízico-arbusculares, quando cultivadas na presença (A) ou ausência (B) das plantas de *Lolium*.

O aumento nas taxas de colonização radicular no tratamento em que o micélio foi fragmentado na presença de plantas de *Lolium* (Fig. 2A) sugere uma reinvasão das hifas fúngicas das raízes dessas plantas, uma vez que a remoção das plantas de *Lolium* inibiram o rápido aumento nos níveis de colonização após a primeira colheita (Fig. 2B). Jasper et al. (1989) também observaram que após 14 dias não havia diferença nas taxas de colonização radicular entre os tratamentos com o micélio externo fragmentado e o mantido intacto.

Os baixos níveis de colonização radicular nas colheitas com 10 e 20 dias, no tratamento onde o micélio externo foi continuamente destacado de sua planta original (Fig. 2A), deve-se provavelmente à redução de poder de infectividade e não à interrupção do fluxo de assimilados das plantas mais havia originado o micélio externo, uma vez que o resultado obtido no tratamento em que o micélio foi mantido intacto na ausência das plantas de *Lolium* (Fig. 2B), que é similar ao tratamento no qual o micélio foi destacado das plantas de *Lolium*

(Fig. 2A), indica que a perda de infectividade do micélio externo pode ser ocasionada por qualquer pequeno distúrbio ao mesmo.

A formação de vesículas na primeira colheita foi baixa (Fig. 3), sendo afetada pelos tratamentos empregados somente quando as plantas de *Lolium* foram mantidas nos vasos (Fig. 3A). Em razão da

fragmentação do micélio externo houve uma demora na formação de vesículas, que ocorreram somente a partir de 20 dias.

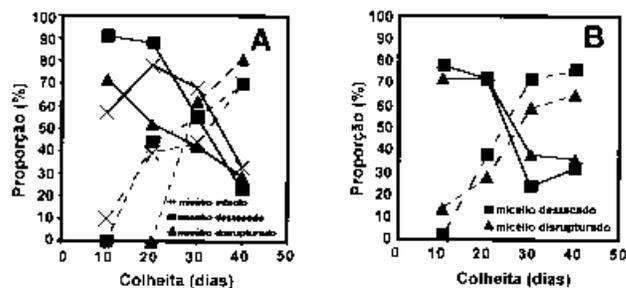


FIG. 3. Proporção do sistema radicular das plantas de *Plantago* colonizado por FMA, contendo arbuscúlo (—) e vesículas (---), quando cultivadas na presença (A) ou ausência (B) das plantas de *Lolium*.

As diferenças na absorção de P entre os tratamentos na primeira colheita não foram significativas (Fig. 4). Nesse estágio, as plântulas de *Plantago* provavelmente dependiam das reservas de P contidas na semente.

A semelhança no conteúdo de P na parte aérea das plantas de *Plantago*, nos tratamentos com o micélio destacado e o mantido intacto, sugere que é a absorção de P do solo pela rede micelial dos FMA, e não a sua transferência das plantas de *Lolium* para as de *Plantago*, a responsável pelo maior conteúdo de P na parte aérea das plantas. Ikram et al. (1994) verificaram que a transferência estimada de P entre plantas de *Pueraria phaseoloides* e *Hevea brasiliensis* não sofreu aumento significativo pela presença do FMA, evidenciando uma insignificante transferência direta de P entre as plantas através do micélio externo. De acordo com Newman & Ritz (1986), a colonização radicular pelo FMA pode aumentar a transferência de P entre plantas, mas a transferência indireta se mostra mais significativa, ou seja, absorção de P da solução do solo pelo micélio externo. Entretanto, Martins & Read (1996) demonstraram que a transferência de P entre plantas ocorre principalmente pelas interligações formadas pelo micélio externo.

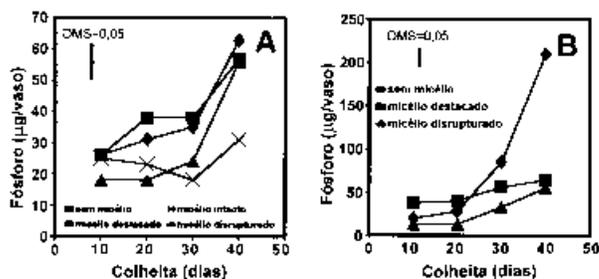


FIG. 4. Conteúdo de P na parte aérea das plantas de *Plantago*, quando cultivadas na presença (A) ou ausência (B) das plantas de *Lolium*.

Com a remoção das plantas de *Lolium* das seções externas dos vasos, o comportamento de absorção de P no solo foi alterado (Fig. 4B). Nas colheitas com 10 e 20 dias não houve diferenças significativas entre os tratamentos, provavelmente porque com a remoção das plantas de *Lolium* a demanda por P decresceu, ocasionando uma maior disponibilidade do nutriente para as plantas de *Plantago*. Sob essa condição, é provável que os benefícios do FMA no processo de absorção de P tenham diminuído, uma vez que os benefícios nutricionais dos FMA manifestam-se principalmente sob condições de baixas concentrações disponíveis de P no solo (Daft & Nicolson, 1969; Harley & Smith, 1983; Hayman, 1983; Koide, 1991; Miller et al., 1995).

Na terceira colheita, o conteúdo de P na parte aérea de plantas de *Plantago* foi maior na série onde as plantas de *Lolium* foram removidas (Fig. 4), provavelmente porque o micélio externo, desenvolvido a partir das raízes de *Plantago*, foi capaz de explorar o P disponível nas seções externas dos vasos. Tal fato mostra

que apesar da presença da micorriza, a competição por P ocorre entre as diferentes espécies de plantas. O envolvimento dos FMA nesse processo confirma-se pelo baixo conteúdo de P na parte aérea de plantas de *Plantago* observado durante a condução do experimento. Alguns autores sugerem que os FMA podem influenciar a competitividade entre plantas por serem capazes de fornecer mais ou menos nutrientes baseado no grau de dependência micotrófica das plantas hospedeiras (Allen & Allen, 1988; Hetrick et al., 1989).

Na primeira colheita, em todos os tratamentos onde a colonização micorrizica esteve presente, a produção de matéria seca foi inferior ao tratamento-controle (Fig. 5). Essa supressão temporária no crescimento vegetal da planta hospedeira tem sido amplamente relatada (Cooper, 1975, 1984; Bethlenfalvay et al., 1982; Buwalda & Goh, 1982). Buwalda & Goh (1982) e Cooper (1984) sugeriram que a razão mais provável para tal supressão é o consumo de quantidades relativamente significativas de carbono pelos FMA. Van Veen et al. (1989) quantificaram que o fungo pode consumir cerca de 30% do carbono fotoassimilado pela planta hospedeira. Entretanto, a supressão temporária no crescimento vegetal é gradativamente compensada à medida que a colonização micorrizica se estabelece na raiz do hospedeiro e o fungo aumenta a absorção de nutrientes, bem como, a planta aumenta a taxa fotossintética (Tinker, 1978). Nas colheitas subsequentes a curva de resposta de produção de matéria seca correlacionou-se com a de absorção de P do solo, evidenciando que o estabelecimento do FMA no hospedeiro gerou um benefício nutricional que influenciou a produção de matéria seca da parte aérea.

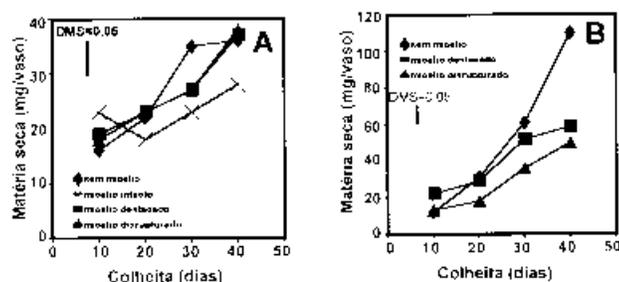


FIG. 5. Produção de matéria seca da parte aérea das plantas de *Plantago*, quando cultivadas na presença (A) ou ausência (B) das plantas de *Lolium*.

## CONCLUSÕES

1. A disrupção do micélio externo do FMA ou seu destacamento da raiz que o originou diminui o seu potencial infectivo.
2. Os níveis de disrupção adotados sobre o micélio externo do FMA ocasionam uma diminuição temporária no processo de absorção de P do solo pelo fungo, que reflete significativamente no crescimento vegetal.

## AGRADECIMENTO

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

- ALLEN, E.B.; ALLEN, M.F. Facilitation of succession by non-mycotrophic colonizer *Salsola kali* (Chenopodiaceae) on a harsh site: effects of mycorrhizal fungi. **American Journal of Botany**, v.75, p.257-266, 1988.
- BETHLENFALVAY, G.J.; BROWN, M.S.; PACOVSKY, R.S. Parasitic and mutualistic associations between a mycorrhizal fungus and soybean: development of the host plant. **Ecology and Epidemiology**, v.72, p.889--893, 1982.

- BETHLENFALVAY, G.J.; REYES-SOLIS, M.G.; CAMEL, S.B.; FERRERA-CERRATO, R. Nutrient transfer between the root zones of soybean and maize plants connected by a common mycorrhizal mycelium. **Physiologia Plantarum**, v.82, p.423-432, 1991.
- BUWALDA, J.G.; GOH, K.M. Host-fungus competition for carbon as a cause of growth depression in VA mycorrhizal ryegrass. **Soil Biology & Biochemistry**, v.14, p.103-106, 1982.
- COOPER, K.M. Growth responses to the formation of endotrophic mycorrhiza in *Solanum*, *Leptospermum* and New Zealand ferns. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B. (Eds.). **Endomy-corrhizas**. London: Academic Press, 1975. p.391-407.
- COOPER, K.M. Physiology of VA mycorrhizal associations. In: POWELL, C.L.; BAGYARAJ, D.J. (Eds.). **VA mycorrhiza**. Boca Raton: CRC Press, 1984. p.155-186.
- COX, G.; MORAN, K.J.; SANDERS, F.; NOCKOLDS, C.; TINKER, P.B. Translocation and transfer of nutrients in VA mycorrhizas. III. Polyphosphate granules and phosphorus translocation. **New Phytologist**, v.84, p.649-659, 1980.
- DAFT, M.J.; NICOLSON, T.H. Effect of endogene mycorrhiza on plant growth. II. Influence of soluble phosphate on endophyte and host in maize. **New Phytologist**, v.68, p.945-952, 1969.
- EVANS, D.G.; MILLER, M.H. VA mycorrhizas and the soil-disturbance-induced reduction of nutrient absorption in maize. I. Causal relations. **New Phytologist**, v.110, p.67-74, 1988.
- HARLEY, J.L.; SMITH, S.E. **Mycorrhizal symbiosis**. London: Academic Press, 1983. 483p.
- HAYMAN, D.S. The physiology of VA endomycorrhizal symbiosis. **Canadian Journal of Botany**, v.61, p.944-963, 1983.
- HAYSTEAD, A.; MALAJCZUK, N.; GROVE, T.S. Underground transfer of nitrogen between pasture plants infected with VA mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v.108, p.417-423, 1988.
- HETRICK, B.A.D.; WILSON, G.W.T.; HARTNETT, D.C. Relationship between mycorrhizal dependence and ability of two tallgrass prairie grasses. **Canadian Journal of Botany**, v.67, p.2608-2615, 1989.
- IKRAM, A.; JENSEN, E.S.; JAKOBSEN, I. No significant transfer of N and P from *Pueraria phaseoloides* to *Hevea brasiliensis* via hyphal links of arbuscular mycorrhiza. **Soil Biology & Biochemistry**, v.26, p.1541-1547, 1994.
- JASPER, D.A.; ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. Soil disturbance reduces the infectivity of external hyphae of VA mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v.112, p.91-99, 1989.
- KOIDE, R.T. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. **New Phytologist**, v.117, p.365-386, 1991.
- MARTINS, M.A. **Interactions between plants with special reference to the role of the external mycelium of VA mycorrhizal fungi**. Sheffield (UK): The University of Sheffield, 1992a. 171p. Ph.D. Thesis.
- MARTINS, M.A. The role of the external mycelial network of VA mycorrhizal fungi. I. A study of carbon transfer between plants interconnected by common mycelium. **Mycorrhiza**, v.2, p.69-73, 1992b.
- MARTINS, M.A. The role of the external mycelial network of arbuscular mycorrhizal fungi in the carbon transfer process between plants. **Mycological Research**, v.97, p.807-810, 1993.
- MARTINS, M.A.; READ, D.J. The role of the external mycelial network of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi. II. A study of phosphorus transfer between plants interconnected by a common mycelium. **Revista de Microbiologia**, v.27, p.30-35, 1996.
- MILLER, M.H.; MACGONIGLE, T.P.; ADDY, H.D. Functional ecology of vesicular arbuscular mycorrhizas as influenced by phosphate fertilization and tillage in an agricultural ecosystem. **Critical Reviews in Biotechnology**, v.15, p.241-255, 1995.
- NEWMAN, E.I.; DEVOY, C.L.N.; EASEN, N.J.; FOWLES, K.J. Plant species that can be linked by VA mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v.126, p.691-693, 1994.
- NEWMAN, E.I.; EASON, W.R. Cycling of nutrients roots to living plants, including the role of mycorrhizas. **Plant and Soil**, v.115, p.211-215, 1989.
- NEWMAN, E.I.; RITZ, K. Evidence on the pathways of phosphorus transfer between VA mycorrhizal plants. **New Phytologist**, v.104, p.77-87, 1986.
- NYE, P. H.; TINKER, P.B. **Solute movement in the soil root systems**. Oxford: Blackell Scientific Pub., 1977. 186p.
- READ, D.J. Development and function of mycorrhizal hyphae in soil. In: SYLVIA, D.M.; HUNG, L.L.; GRAHAM, J.H. (Eds.). **Mycorrhizae in the next decade: practical applications and research priorities**. Gainesville, Fla: [s.n.], 1987. p.178-180. Proceedings of 7<sup>th</sup> North American Conference on Mycorrhizae.

- READ, D.J. The structure and function of the vegetative mycelium of mycorrhizal roots. In: JENNINGS, D.H.; RAYNER, D.M. (Eds.). **The Ecology and Physiology of the Fungal Mycelium**. Cambridge: Cambridge University Press, 1984. p.215-240.
- READ, D.J.; FRANCIS, R.; FINLAY, R.D. Mycorrhizal mycelia and nutrient cycling in plant communities. In: FITTER, A.H. (Ed.). **Ecological Interactions in Soil**. Oxford: Blackwell Scientific, 1985. p.193-217.
- READ, D.J.; KOUCHECKI, H.K.; HODGSON, J. VA mycorrhiza in natural vegetation systems. I. The occurrence of infection. **New Phytologist**, v.77, p.641-653, 1976.
- RITZ, K.; NEWMAN, E.I. Evidence for rapid cycling of phosphorus from dying roots to living plants. **Oikos**, v.45, p.174-180, 1985.
- RITZ, K.; NEWMAN, E.I. Movement of <sup>32</sup>P between intact grassland plants of the same age. **Oikos**, v.43, p.138-142, 1984.
- RITZ, K.; NEWMAN, E.I. Nutrient transport between ryegrass plant differing in nutrient status. **Oecologia**, v.70, p.128-131, 1986.
- SANDERS, F.E.; TINKER, P.B. Mechanism of absorption of phosphate from soil by Endogene mycorrhizas. **Nature**, v.223, p.278-279, 1971.
- TINKER, P.B. Effects of VA mycorrhizas on higher plants. **Symposia of the Society for Experimental Biology**, v.29, p.325-329, 1975.
- TINKER, P.B. Effects of VA mycorrhizas on plant nutrition and plant growth. **Physiologie Végétale**, v.16, p.741--761, 1978.
- VAN VEEN, J.A.; MERCKX, R.; VAN DE GEIJN, S.C. Plant and soil related controls of the flow of carbon from roots through the soil microbial biomass. **Plant and Soil**, v.115, p.179-188, 1989.