

OCORRÊNCIA DE MICORRIZA VESICULAR-ARBUSCULAR EM ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)^{*}

Occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)

Sérgio Gaiad^{**}
Eli Sidney Lopes^{***}

RESUMO

A ocorrência de micorriza vesicular-arbuscular, em raízes de *Ilex paraguariensis* St. Hil., foi verificada em mudas obtidas de viveiros localizados nos municípios de Colombo, Irati e São Mateus do Sul, no Estado do Paraná, e Capinzal, Joaçaba, Catanduvas, Ouro, Concórdia, Ponte Serrada, e Ipumirim, em Santa Catarina. Em nove dos dez locais amostrados, constatou-se uma colonização média das raízes em torno de 70% do comprimento das raízes finas, com um intervalo de variação de 56 a 83%. Somente as amostras de Ipumirim (SC) apresentaram baixa colonização (8,8%), sendo que nenhum dos aspectos analisados mostrou ser, aparentemente, a causa dessa baixa colonização. Esporos do gênero *Acaulospora* ocorreram em todas as amostras analisadas. *Glomus* ocorreu em 95% dos solos e *Gigaspora* em apenas 8%. *Sclerocystis* não foi observado nas amostras. *Acaulospora leavis*, *A. scrobiculata*, *Glomus intraradices* e *Gigaspora margarita* foram identificados, enquanto cinco outros tipos de fungos foram isolados, não sendo possível, porém, sua identificação.

PALAVRAS-CHAVE: Micorriza vesicular-arbuscular, *Ilex paraguariensis*, erva-mate.

ABSTRACT

The occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizae was observed in roots of *Ilex paraguariensis* St. Hil. seedlings collected from nurseries in ten location in the States of Paraná and Santa Catarina. In all but one location did root colonization average about 70% of the length of the thin roots, with a range from 56 to 83%. Only the sample from Ipumirim showed a poor root colonization (8,8%). This could not be explained by the phosphorus content in the soil or by any nursery practices. *Acaulospora* occurred in all samples. *Glomus* occurred in 95% and *Gigaspora* in 8% of the samples. *Sclerocystis* was not detected. *Acaulospora leavis*, *A. scrobiculata*, *Glomus intraradices* and *Gigaspora margarita* were identified while five others that were isolated could not be identified.

KEY-WORDS: Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, *Ilex paraguariensis*, erva-mate.

* Trabalho realizado com apoio da Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná — FUPF.

** Eng. Florestal, B.Sc. Pesquisador da EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Florestas.

*** Eng. Agrônomo, PhD., Pesquisador Científico da Seção de Microbiologia do Solo do Instituto Agrônomo de Campinas.

1. INTRODUÇÃO

Apesar da longa tradição do uso de *Ilex paraguariensis* St. Hil. como matéria-prima para a fabricação do chimarrão e do mate, somente há pouco tempo a espécie passou a ser estudada com maior intensidade e rigor científico. Aspectos básicos, como a produção de mudas e práticas adequadas ao plantio da espécie, ainda não estão totalmente estabelecidas, com os métodos variando muito de uma região para outra. As exigências nutricionais da espécie também têm sido pouco estudadas, apesar de ser um fator importantíssimo para a mesma, que tem suas folhas e ramos finos retirados regularmente. Isto implica na exportação maciça de nutrientes, ficando a reposição nas camadas superficiais, dependente, apenas, da reciclagem por outras espécies instaladas nos ervais.

Atualmente, a quase totalidade dos ervais está instalada sob a mata matricial ou em solos onde a mata matricial foi retirada em grande parte, matendo-se as erveiras existentes. Tal procedimento ameniza o problema de exportação de nutrientes ou, pelo menos, retarda a manifestação dos sintomas. Existe, porém, uma forte tendência dos futuros ervais serem instalados em áreas abertas com solos preparados, obedecendo ao esquema clássico utilizado no reflorestamento com outras espécies, o que, certamente, agravaria o problema em questão.

Estudos realizados em ervais nativos mostram baixa concentração dos principais elementos minerais nas plantas, notadamente o fósforo. Não se sabe ainda se isto é uma característica da espécie ou resultado de deficiências latentes oriundas dos longos períodos de exploração da árvore, sem reposição dos nutrientes exportados (REISSMANN et al. 1985).

Além da recomendação de estudos de nutrição para a espécie, torna-se importante, também, o conhecimento das possíveis associações simbióticas que a espécie possa apresentar. Isto se aplica notadamente aos fungos micorrízicos, pela capacidade que tais simbiontes têm de aumentar a absorção de nutrientes pela plantas, principalmente o fósforo, que é o elemento encontrado em níveis mais baixos nos estudos realizados.

Este estudo teve como objetivo a realização de um levantamento da ocorrência desses fungos na espécie, bem como a determinação e isolamento dos principais gêneros de fungos observados, visando fornecer subsídios para estudos futuros.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Em viveiros localizados nos municípios de Colombo, Irati e São Mateus do Sul, no Estado do Paraná, e Capinzal, Catanduvas, Concórdia, Ipirimir, Joaçaba, Ponte Serrada e Ouro, no Estado de Santa Catarina (Fig. 1), foram coletadas cinco mudas de erva-mate, por viveiro, para a avaliação da colonização micorrízica VA. Cada muda foi identificada individualmente e as raízes finas foram lavadas, segmentadas e colocadas em solução de formol: ácido acético: etanol a 50% (FAA), na proporção volumétrica de 13:5:200, respectivamente, para conservação. O solo de cada recipiente foi homogeneizado e retirada uma amostra de 50g para verificação de esporos. O restante do solo foi homogeneizado por local e encaminhado para análise química.

Para cada local, anotaram-se as práticas silviculturais utilizadas, como: adubação básica e de correção; esterilização do solo (dose e produto) e utilização de fungicidas (dose e produto). No Laboratório da Seção de Microbiologia do Solo, do Instituto Agrônomo de Campinas, SP, efetuou-se a coloração de raízes, de acordo com a metodologia preconizada por PHILLIPS & HAYMAN (1970) e a avaliação da

porcentagem do comprimento das raízes com colonização, pelo método da placa riscada, conforme sugerido por GIOVANNETTI & MOSSE (1980).

A extração de esporos foi feita pelo método do peneiramento úmido de GERDMANN & NICOLSON (1963), usando-se peneiras com 720, 250, 105 e 53 μm de abertura. Frações retiradas em cada peneira foram centrifugadas a 3000 rpm por três minutos em água, e por dois minutos em solução de sacarose 30%. Os esporos observados em cada fração foram contados e separados para identificação. Para a identificação dos esporos, utilizou-se a chave sinóptica de TRAPPE (1982) e as descrições originais das espécies, sempre que necessário.



FIG. 1: Locais de coleta de amostras para verificação da associação de micorriza VA com erva-mate.
(Locations of nurseries involved in the study of VA mycorrhizae association with erva-mate).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características químicas dos solos utilizados na contagem e classificação de esporos de fungos endomicorrízicos são apresenadas na Tabela 1.

TABELA 1: Características químicas do solo dos recipientes das mudas de erva-mate amostrados em dez localidades, nos Estados do Paraná e Santa Catarina.

(Chemical characteristics of the seedling substrates sampled from ten locations in Paraná and Santa Catarina States.

LOCAL AMOSTRADO (LOCATION)	pH em H ₂ O	Al ⁺³ m.e.	Ca ⁺⁺ Mg ⁺⁺ m.e.	p ppm(1)	K ppm	M.O. %(2)
Colombo - PR	5,8	1,5	3,2	0,0	61	5,4
Irati - PR	4,9	3,6	6,5	12,0	120	8,4
São Mateus - PR	4,6	6,5	1,9	1,2	84	5,5
Capinzal - SC	5,6	2,1	3,0	1,8	68	2,5
Catanduvas - SC	4,6	3,8	1,0	0,6	42	4,5
Concordia - SC	4,4	3,8	1,4	1,2	59	6,0
Ipumirim - SC	5,6	0,0	10,0	12,0	120	9,0
Joaçaba - SC	4,5	0,7	8,5	2,5	120	3,0
Ouro - SC	5,8	0,0	10,0	12,0	120	5,0
Ponte Serrada - SC	5,1	2,2	1,9	1,2	112	3,0

(1) Os valores correspondem ao P disponível no solo.

(The data corresponds to phosphorus available in the soil)

(2) M. O. matéria orgânica

(organic matter)

As informações obtidas sobre as práticas de viveiro adotadas na produção das mudas em cada local, são mostradas na Tabela 2. Os materiais amostrados, por local, apresentaram infecção média das raízes em torno de 64%, com variação entre 8 e 83%. O número de esporos variou amplamente tanto dentro como entre locais (Tabela 3).

As amostras de São Mateus do Sul apresentaram a maior porcentagem de infecção. O solo utilizado na produção das mudas nesse local não recebeu qualquer tipo de insumo ou defensivo agrícola e apresentou um baixo teor de fósforo. Deve-se considerar, no entanto, que essas mudas eram as mais velhas dentre as de todos os locais amostrados, o que pode ter favorecido o nível de colonização observado.

TABELA 2: Esterilização do solo, adubação e fungicidas utilizados nos viveiros dos locais amostrados.
(Soil sterilization, fertilization and fungicides applied in the nurseries).

LOCAL AMOSTRADO (LOCATION)	ESTERILIZAÇÃO DO SOLO (SOIL STERILIZATION)	ADUBAÇÃO (FERTILIZATION)	FUNGICIDAS (FUNGICIDES)
Colombo, PR	Brometo de Metila 150ml/m ³	N	N
Irati, PR	N	Foliar - 50 ml de adubo/10l H ₂ O a cada 7 dias/2 a 3m ³ de canteiro.	Benlate - 10ml/10l H ₂ O quando aparecem sintomas de doenças.
São Mateus do Sul, PR	N	N	N
Capinzal, SC			Na semeadura: Benlate - 100g/100l H ₂ O
Joaçaba, SC	N	5:29:5 - 4kg/m ³	Pulverização das mudas.
Catanduvas, SC			Benlate - 60g/100l H ₂ O, Dithane M45 - 120g/100l H ₂ O
Concordia, SC		Terra + Areia + Esterco de galinha	Na semeadura: Dithane M45 - 100g/50l H ₂ O
Ipumirim, SC		nha	
Ponte Serrada, SC	N	(3:1:1, v/v)	Benlate - 85g/50l H ₂ O
Ouro, SC	Brometo de Metila 40ml/m ³	Terra de mato com erva-mate nativa	Aldrin 500 - 200g/m ³

N = A prática referida não foi utilizada (The practice was not used).

O material amostrado em Ipumirim, por sua vez, apresentou a menor porcentagem de colonização (8,8%), em comparação às demais localidades. O solo utilizado na produção da mudas nesse local foi uma mistura de areia, terra e esterco de galinha, na proporção 3:1:1 em volume, apresentando um alto teor de fósforo. Tal aspecto, porém, parece não ter sido a causa da baixa infecção endomicorrízica, uma vez que em outras localidades, que também utilizaram substratos semelhantes, foram detectadas altas taxas de infecção (Concordia, 77,6% e Ponte Serrada, 69,4%).

TABELA 3: Idade, média do peso da matéria seca e teor de fósforo da parte aérea, porcentagem de colonização das raízes por fungos MVA e nº de esporos no solo observados em mudas de erva-mate coletados em viveiros comerciais do Paraná e Santa Catarina.
(Ages, biomass, phosphorus content, degree of colonization and number of spores in erva-mate seedling in each location).

LOCAL AMOSTRADO (Location)	IDADE (AGE) (Meses) (Months)	MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA (BIOMASS) (1)	COLONIZAÇÃO % (2) (COLONIZATION)	% P PARTE AÉREA (Shoot)	Nº MÉDIO DE ESPOROS POR 50g SOLO (Number of spores/ 50g of soil)
Colombo, PR	13	0,44	69,1	0,148	410
Irati, PR	9	0,27	68,0	0,154	124
São Mateus, PR	16	0,38	83,4	0,140	80
Capinzal, SC	7	0,39	68,7	0,168	44
Catanduvas, SC	15	0,44	71,3	0,104	76
Concórdia, SC	14	0,32	77,6	0,276	237
Ipumirim, SC	14	0,48	8,8	0,112	11
Joaçaba, SC	14	0,12	56,8	0,082	33
Ouro, SC	14	0,39	68,0	0,364	277
Ponte Serrada, SC	6	0,35	69,4	0,150	166

(1) Média de cinco mudas (average from five seedling)

(2) Porcentagem do comprimento das raízes com colonização por MVA.
(Percentage of root length with colonization by VAM).

É importante ressaltar, porém, o fato de essas mudas possuírem uma baixíssima colonização associada ao maior peso seco médio, dentre todos os locais amostrados. Novos estudos devem ser realizados para a localidade de Ipumirim, visando a confirmação dos resultados obtidos e a determinação de suas causas.

ANDRAE (1978), citado por REISSMANN et al. (1985), encontrou valores de 0,23 e 0,41% de P nas folhas de *Eucalyptus saligna* Smith e *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud, respectivamente. Baseando-se nestes dados, podem ser considerados baixos os valores encontrados na maioria das mudas, que variam de 0,082 a 0,168% de P, embora as amostras de Ouro e Concórdia apresentassem 0,364 e 0,276, respectivamente. Aparentemente, não houve relação entre a porcentagem de P determinado nas folhas e a porcentagem de colonização das raízes.

Excetuando-se as amostras de Ipumirim, todas as demais apresentaram vesículas. Não foram observados arbúsculos típicos. Entretanto, foram detectadas grandes quantidades de estruturas semelhantes a pelotões. Em uma das amostras de Irati, observou-se a presença de fungos septados, dispostos em forma de pelotões, aparentando estruturas típicas de ectoendomicorrizas. Nas amostras de Colombo, verificou-se a presença de vesículas externas, características do gênero *Gigaspora*.

Entre os gêneros de fungos, cujos esporos foram observados, *Acaulospora* ocorreu em todas as amostras, enquanto que *Glomus* foi detectado em 91,7% e *Gigaspora* em apenas 7,7% das amostras. Não foram observados esporos do gênero *Sclerocystis*. A incidência dos quatro gêneros na rizosfera, em cada classe de pH do solo, é apresentada na Tabela 4.

TABELA 4: Porcentagem de incidência dos gêneros de *Endogonaceae* na rizosfera de erva-mate, em cada classe de pH do solo.
(Percentage of incidence of the *Endogonaceae* genus in the rhizosphere of erva-mate in each class of soil pH).

GÊNERO (Genus)	CLASSES DE pH DO SOLO (Class of soil pH)		
	4,4 – 4,6	4,9 – 5,1	5,6 – 5,8
<i>Acaulospora</i>	100	100	100
<i>Gigaspora</i>	0	0	25
<i>Glomus</i>	100	100	100
Nº DE AMOSTRAS (Number of samples)	4	2	4

No levantamento de esporos, detectaram-se nove tipos distintos, sendo que quatro deles foram identificados, preliminarmente, como: *Acaulospora scrobiculata* Trapper; *Acaulospora leavis* Gerd. & Trappe; *Glomus intraradices* Schenck & Smith e *Gigaspora margarita* Becker & Hall. Os demais tipos não foram identificados e são descritos sucintamente, a seguir:

- *Acaulospora* sp - A1: esporos pequenos (100 a 115 μ), amarelos opacos, globosos a ovais, paredes com 4 a 6 μ de espessura total e, às vezes, com material aderido;
- *Acaulospora* sp - A2: esporos pequenos (90 a 100 μ), amarelos com paredes marrom escuro, globosos a ovais, paredes com 3 a 6 μ de espessura total, irregulares e reticulados;
- *Acaulospora* sp - A3: esporos médios (200 a 210 μ), amarelos cor de mel, globosos, três a quatro paredes, espessura total de 5 a 6 μ , formando estrias ao se romper;
- *Glomus* sp - Gm1: esporos pequenos (78 a 126 μ), amarelo claro, parede lisa, com 6 a 7 μ de espessura total, globosos e hifas com 2 a 3 μ de espessura;

- *Glomus* sp - Gm2: esporos pequenos (129 x 138 a 78 x 107 μ), alongados, marrons, com paredes marrom-avermelhadas, medindo de 9 a 10 μ de espessura.

A interdependência entre fungos formadores de micorriza vesicular-arbuscular e plantas de erva-mate deve ser o próximo ponto a ser investigado, a fim de se colherem subsídios para a possível utilização prática dessa associação.

4. CONCLUSÕES

1. A erva-mate mostrou ser uma espécie que se associa abundantemente com endomicorrizas VA, em condições de viveiro;
2. *Acaulospora* e *Glomus* foram os gêneros predominantes nas condições analisadas.

5. REFERÊNCIAS

- GERDMANN, J. W. & NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet-sieving and decanting. *Transactions of the British Micological Society*, **46**:235-44, 1963.
- GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizae infection in roots. *New Phytologist*, **84**:489-500, 1980.
- PHILLIPS, J. M. & HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, **55**:158-61, 1970.
- REISSMANN, C. B.; KOEHLER, C. W.; ROCHA, H. O. da & HILDEBRAND, E. E. Avaliação das exportações de macronutrientes pela exploração de erva-mate. In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS, 10.: silvicultura da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), Curitiba, 1983. *Anais ... Curitiba*, EMBRAPA-CNPQ, 1985. p. 128-39.
- TRAPPE, J. M. Synoptic keys to the genera and species of Zigomycetous mycorrhizal fungi. *Phytopathology*, **72**(8):1102, 1982.