

## Uso de Fungos Micorrízicos Arbusculares em Videiras Jovens como Estratégia para Amenizar a Toxidez de Cobre

George Wellington Melo<sup>1</sup>

Vítor Gabriel Ambrosini<sup>2</sup>

Joana Gerent Voges<sup>2</sup>

Ludiana Canton<sup>2</sup>

Jucinei José Comin<sup>2</sup>

Gustavo Brunetto<sup>3</sup>

### Introdução

As aplicações de caldas e de fungicidas foliares que contêm cobre (Cu) na composição para o controle preventivo de doenças fúngicas em videiras adultas em produção (*Vitis* sp.) e continuadas ao longo dos anos provocam o acúmulo do elemento-traço em solos de vinhedos (Brunetto et al., 2014). Com isso, depois da erradicação dos vinhedos antigos, especialmente por causa do decréscimo da produção de uva, o solo é revolvido para posterior transplante de videiras jovens, o que estimula a oxidação da matéria orgânica (MOS) (Campos et al., 2013) e, por consequência, aumenta a disponibilidade de Cu (Brunetto et al., 2014).

As videiras jovens transplantadas, por causa do alto teor disponível de Cu no solo, podem apresentar restrição do comprimento e do número de ramificações das raízes, com formato atrofiado, engrossadas e com coloração marrom (Lequeux et al., 2010; Michaud et al., 2008). Isso pode

ocasionar a diminuição da absorção de água e de nutrientes pelas raízes, reduzir a taxa fotossintética e, conseqüentemente, o crescimento das plantas (Kopittke et al., 2009). Assim, torna-se necessário o uso de estratégias para minimizar a toxidez de Cu em videiras jovens, como aquelas transplantadas em solos de vinhedos antigos com alto teor de Cu.

Uma das maneiras de amenizar a toxidez por Cu pode ser a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nas raízes das plantas. As associações entre os FMA e o sistema radicular das plantas possibilitam a ambos tolerar e garantir a sobrevivência em solo com altos teores de elementos-traço (Carneiro et al., 2001). Os FMA podem diminuir a disponibilidade desses elementos às plantas pela liberação de substâncias orgânicas no solo, como a glomalina; conseguem armazenar o Cu em compartimentos celulares, como esporos e vesículas, onde a taxa metabólica é reduzida, beneficiando o crescimento

<sup>1</sup> Empresa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS, Brasil. E-mail: wellington.melo@embrapa.br.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil. E-mails: vgambrosini@gmail.com; joanavoges@yahoo.com.br; ludycanton@hotmail.com; jcomin@cca.ufsc.br.

<sup>3</sup> Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: brunetto.gustavo@gmail.com.

das plantas e, conseqüentemente, a eles mesmos (Ferrol et al., 2009; Cornejo et al., 2013). Além disso, a colonização do córtex das raízes das plantas superiores por FMA pode proporcionar aumento da interface entre as raízes e o solo, funcionando como um local de troca de nutrientes entre a planta e o FMA (Ferrol & Pérez-Tienda, 2009). Assim, nutrientes considerados de baixa mobilidade no solo, como o fósforo (P), podem ser absorvidos em maior quantidade pelas raízes, o que melhora o estado nutricional das plantas (Soares & Siqueira, 2008; Anzanello et al., 2011), podendo se estimular o rápido crescimento das videiras jovens, o que é desejado porque pode antecipar o início da produção de uvas.

O trabalho objetivou avaliar os efeitos da inoculação de isolados de FMA sobre o crescimento e a absorção de P e Cu em videiras jovens, cultivadas em solo com alto teor de Cu.

## Descrição do Experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, utilizando um solo coletado na camada de 0-20 cm em um vinhedo comercial com 40 anos de cultivo e com longo histórico de aplicação de fungicidas cúpricos foliares, instalado em Santana do Livramento, região da Campanha Gaúcha do Rio Grande do Sul (RS). O solo foi classificado como Argissolo Vermelho (Embrapa, 2013), com textura superficial arenosa e predomínio de argilomineral do tipo 1:1, e apresentava as seguintes características: teores de argila, silte e areia 44, 64 e 892 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente; MOS 18,5 g kg<sup>-1</sup> (Embrapa, 1999); pH em água (1:1) 5,7; Al, Ca e Mg trocáveis (extraídos com KCl 1 mol L<sup>-1</sup>), 0,0, 1,3 e 0,3 cmol<sub>c</sub> kg<sup>-1</sup>, respectivamente; P disponível 28,4 mg kg<sup>-1</sup> e K trocável 83,5 mg kg<sup>-1</sup> (Tedesco et al., 1995). O teor de Cu extraído com HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> no solo foi de 46,2 mg kg<sup>-1</sup> (Tedesco et al., 1995), valor 100 vezes mais elevado que o considerado alto (>0,4 mg dm<sup>-3</sup>) pela CQFS-RS/SC (2004).

O solo depois de coletado foi seco ao ar, passado em peneira com malha de 2 mm, homogêneo, acondicionado em tubetes de 300 cm<sup>3</sup> e esterilizado em autoclave a 121°C por duas horas. As mudas de videira (porta-enxerto P1103 – *Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*) foram produzidas por micropropagação in vitro e aclimatizadas em substrato estéril. Após a aclimatização, as plantas

passaram por seleção quanto à altura e vigor e foram transplantadas para os tubetes, quando se procedeu a inoculação por meio da adição de 10 mL de solo-inóculo contendo propágulos de FMA.

O delineamento experimental usado foi em blocos casualizados contendo seis tratamentos de inoculação de FMA (*Dentiscutata heterogama*, *Gigaspora gigantea*, *Acaulospora morrowiae*, *Acaulospora colombiana*, *Rhizophagus clarus* e *Rhizophagus irregularis*), além de um tratamento controle sem inoculação com FMA. Foram utilizadas 12 repetições por tratamento. Após o transplante, as mudas receberam 20 mL de solução nutritiva de Long Ashton (Resh, 1997) modificada, de modo a fornecer apenas 10% da concentração de P original, 0,5 mg dm<sup>-3</sup> de B (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) e 0,1 mg dm<sup>-3</sup> de Mo((NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O). Ao longo do cultivo foi adicionado 300 mg dm<sup>-3</sup> de N e K, na forma de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> e K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. A dose de N foi aplicada parceladamente em uma, sete e 12 semanas após o transplante. Além disso, aos 30 dias após o transplante (DAT) foi adicionado 160 mg dm<sup>-3</sup> Ca(CaSO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O) e 60 mg dm<sup>-3</sup> Mg(MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O). O experimento foi conduzido durante 130 dias.

Ao final do experimento, aproximadamente 2,0 g de raízes frescas foram reservadas e submetidas à clarificação e coloração com azul de tripan (Koske & Gemma, 1989) para a avaliação da colonização micorrízica pelo método das intersecções em placas reticuladas (Giovannetti & Mosse, 1980). O restante das raízes, bem como a parte aérea das plantas, foi coletado, seco em estufa com ar forçado a 65°C até atingir massa constante e, posteriormente, tiveram a matéria seca (MS) determinada em balança de precisão. O material foi reservado e uma porção foi submetida à digestão nitroperclórica, com posterior determinação do Cu por espectrofotometria de absorção atômica (Tedesco et al., 1995). O restante da parte aérea e das raízes foi submetido à digestão sulfúrica e no extrato foi determinado o teor de P em espectrofotômetro UV-vis (Tedesco et al., 1995).

Os dados de colonização micorrízica foram transformados em arco seno da raiz quadrada da porcentagem para a homogeneização da variância. Posteriormente, os resultados de todas as variáveis foram submetidos à análise de variância e, quando foram significativos, aplicou-se o teste de separação de médias Scott-Knott (p < 0,05).

## Resultados Obtidos

A maior porcentagem de colonização micorrízica nas raízes das videiras jovens foi observada nas plantas com inoculação de *R. clarus* e *R. irregularis* (44 e 43% de raízes colonizadas, respectivamente). Apesar do destaque desses dois isolados de FMA na colonização das raízes, todos os outros isolados também proporcionaram boa porcentagem de micorrização (25 a 35% de colonização) (Figura 1a).

A inoculação dos isolados de *R. clarus* e *R. irregularis* promoveu a maior produção de MS de raízes das videiras jovens, mas nenhuma das espécies de FMA afetou a produção de MS da parte aérea das plantas (Figura 1b). A maior produção de MS de raízes pelas

espécies *R. clarus* e *R. irregularis* pode ser atribuída à maior colonização micorrízica das raízes por essas duas espécies (Figura 1a), o que potencializa o incremento da biomassa do sistema radicular da planta para aumentar a absorção de nutrientes e água, favorecendo o seu estabelecimento no solo (Gupta et al., 2014).

O maior acúmulo de P na parte aérea foi observado nas videiras jovens inoculadas com os isolados de *R. irregularis*, enquanto nas raízes o maior acúmulo de P foi observado nas plantas inoculadas com *R. clarus* e *R. irregularis* (Figura 1c). Uma das possíveis explicações para isso é o maior incremento de biomassa das raízes proporcionado por esses isolados de FMA. Outra explicação é

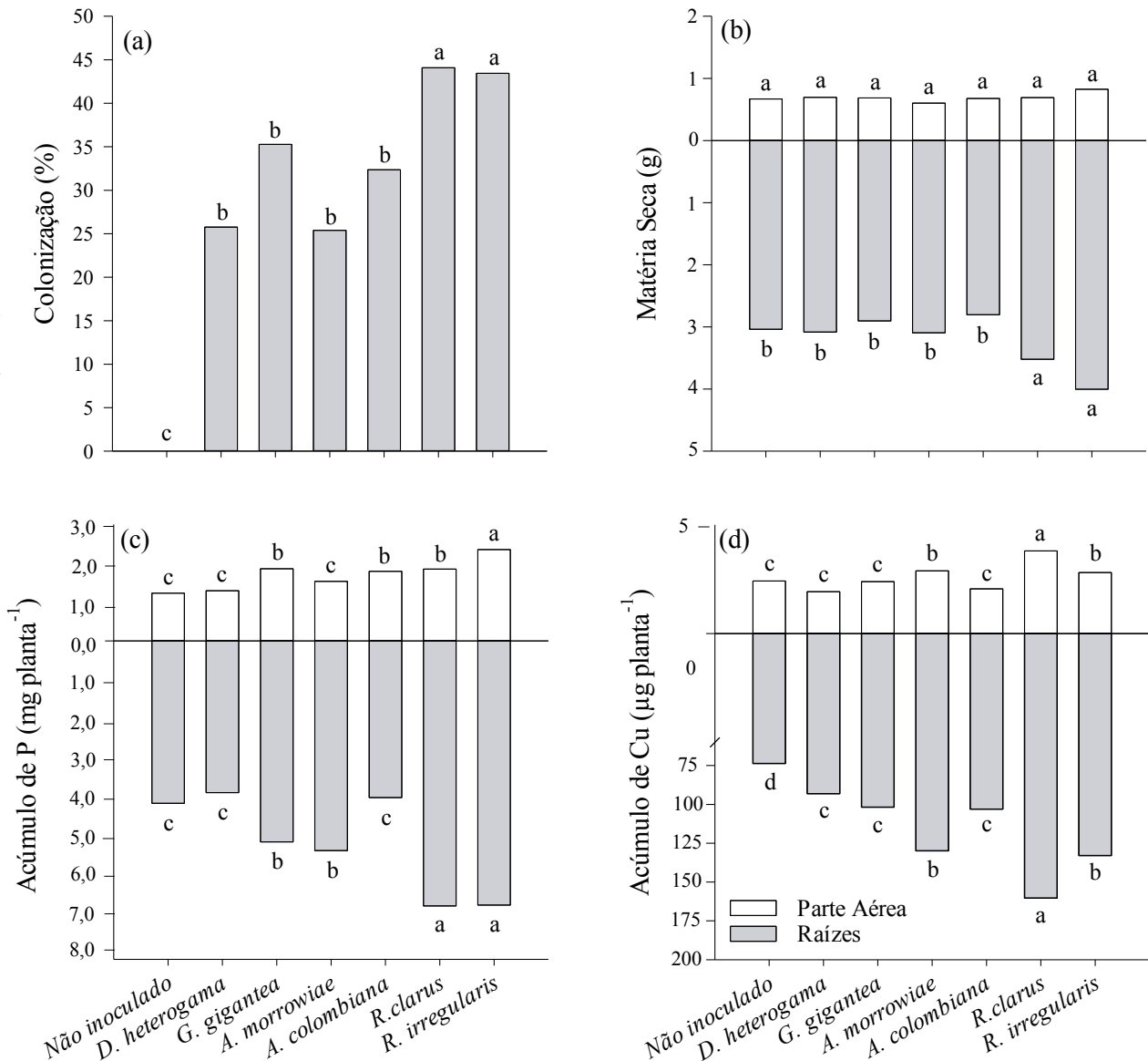


Fig. 1. Porcentagem de colonização micorrízica nas raízes (a), e matéria seca (b), acúmulo de P (c) e de Cu (d) nas raízes e na parte aérea de videiras jovens com e sem inoculação com FMA em solo com alto teor de Cu.

que os isolados de FMA com maior capacidade de colonização radicular contribuem para a melhoria do estado nutricional de P (Anzanello et al., 2011), o que é importante porque tem sido demonstrado que a melhoria do estado nutricional de P por FMA favorece o crescimento de plantas expostas a altas concentrações de elementos-traço no solo (Soares & Siqueira et al., 2008; Andrade et al., 2010).

O maior acúmulo de Cu, tanto na parte aérea quanto nas raízes, foi observado nas plantas inoculadas com o fungo *R. clarus*, seguido dos tratamentos com *A. morrowiae* e *R. irregularis*. As plantas inoculadas com os outros fungos e também aquelas sem inoculação foram as que menos acumularam o elemento nos tecidos (Figura 1d). Isso corrobora com trabalho de Andrade et al. (2010), que observaram incremento de nutrientes, entre eles o Cu, pela associação micorrízica em plantas jovens de cafeeiro cultivadas em solo com alto teor de Cu. No entanto, também era esperado que houvesse restrição na absorção de Cu nas videiras jovens inoculadas com isolados de FMA, uma vez que diversas espécies desses fungos possuem estratégias para reprimir a absorção de elementos-traço em solo contaminado, por exemplo: armazenamento do Cu em compartimentos celulares com metabolismo reduzido, como esporos e vesículas, e a liberação de substâncias orgânicas, como a glomalina, para diminuir a disponibilidade dos metais pesados no solo (Ferrol et al., 2009).

As plantas expostas a níveis altos de Cu normalmente acumulam maior quantidade do elemento-traço nas raízes a fim de evitar ou diminuir os efeitos de toxidez (Yruela, 2009; Saba et al., 2013). Como estratégia para diminuir o transporte de Cu e de outros elementos-traço para a parte aérea, as plantas podem compartimentalizá-los nos vacúolos, onde o metabolismo é reduzido, fazer a quelação na interface da membrana plasmática, e também a complexação intracelular por substâncias orgânicas. Apesar disso, em situações de excesso de elementos-traço dentro da planta, pode ocorrer um aumento na translocação dos mesmos para a parte aérea e, por consequência, o potencial de toxidez. No entanto, o favorecimento da absorção de P pelas raízes pelos FMA pode promover a formação de compostos de metal-fosfato menos móveis nas plantas, diminuindo a passagem do elemento-traço das raízes para a parte aérea, favorecendo o desenvolvimento da planta (Soares & Siqueira, 2008).

## Considerações Finais

A inoculação de FMA beneficia o crescimento das raízes de plantas jovens de videiras em solo com alto teor de Cu. Os isolados de *Rhizophagus clarus* e *Rhizophagus irregularis* possibilitam elevada colonização micorrízica das raízes da videira com consequente melhoria da absorção de P em solo com alto teor de Cu. A inoculação de FMA aumenta a absorção de Cu pelas plantas jovens de videira, porém, a maior parte deste elemento se encontra retido nas raízes das plantas micorrizadas, reduzindo a toxicidade na parte aérea das plantas.

## Referências

- ANDRADE, S. A. L.; SILVEIRA, A. P. D.; MAZZAFERA, P. Arbuscular mycorrhiza alters metal uptake and the physiological response of *Coffea arabica* seedlings to increasing Zn and Cu concentrations in soil. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 22, p. 5381–5391, Oct. 2010.
- ANZANELLO, R.; SOUZA, P. V. D. de; CASAMALI, B. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em porta-enxertos micropropagados de videira. **Bragantia**, v. 70, n. 2, p. 409-415, 2011.
- BRUNETTO, G.; MIOTTO, A.; CERETTA, C. A.; SCHMITT, D. E.; HEINZEN, J.; MORAES, M. P.; CANTON, L.; TIECHER, T. L.; COMIN, J. J.; GIROTTO, E. Mobility of copper and zinc fractions in fungicide-amended vineyard sandy soils. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 60, n. 5, p. 609-624, 2014. DOI:10.1080/03650340.2013.826348.
- CAMPOS, L. P.; LEITE L. F. C.; MACIEL, G. A.; BRASIL, E. L.; IWATA, B. de F. Estoques e frações de carbono orgânico em Latossolo Amarelo submetido a diferentes sistemas de manejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 3, p. 304-312, Mar. 2013. DOI: 10.1590/S0100-204X2013000300009.
- CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Estabelecimento de plantas herbáceas em solo com contaminação de metais pesados e inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 12, p. 1443-1452, Dec. 2001.

CORNEJO, P.; PÉREZ-TIENDA, J.; MEIER, S.; VALDERAS, A.; BORIE, F.; AZCÓN-AGUILAR, C.; FERROL, N. Copper compartmentalization in spores as a survival strategy of arbuscular mycorrhizal fungi in Cu-polluted environments. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 57, p. 925-928, Feb. 2013.

SOCIEDADE Brasileira de Ciência do Solo. Comissão de Química e Fertilidade do Solo. **Manual de Adução e Calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 10. ed. Porto Alegre: SBCS - Núcleo Regional Sul/UFRGS, 2004, 400 p.

SILVA, F. C. da. (Org.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed., Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627 p.

SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A. de; CUNHA, T. J. F.; OLIVEIRA, J. B. de. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 353 p.

FERROL, N.; GONZÁLEZ-GUERRERO, M.; VALDERAS, A.; BENABDELLAH, K.; AZCÓN-AGUILAR, C. Survival strategies of arbuscular mycorrhizal fungi in Cu-polluted environments. **Phytochemistry Reviews**, v. 8, n. 3, p. 551-559, Oct. 2009.

FERROL, N.; PÉREZ-TIENDA, J. Coordinated Nutrient Exchange in Arbuscular Mycorrhiza. In: AZCÓN-AGUILAR, C.; BAREA, J. M.; GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V. (Eds.) **Mycorrhizas - Functional Processes and Ecological Impact**, Springer, Berlin Heidelberg, 2009. p. 73-87.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, v. 84, n. 3, p. 489-500, Mar. 1980.

GUPTA, D. K.; CHATTERJEE, S.; DATTA, S.; VEER, V.; WALTHER, C. Role of phosphate fertilizers in heavy metal uptake and detoxification of toxic metals. **Chemosphere**, v. 108, p. 134-144, Aug. 2014.

KOPITTKKE, P. M.; ASHER, C. J.; BLAMEY, F. P. C.; MENZIES, N. W. Toxic effects of Cu<sup>2+</sup> on growth, nutrition, root morphology, and distribution of Cu in roots of Sabi grass. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 16, p. 4616-4621, Aug. 2009.

KOSKE R. E.; GEMMA, J. N. A modified procedure for staining roots to detect V-A mycorrhizas. **Mycological Research**, v. 92, n. 4, p. 486-505, June 1989.

LEQUEUX, H.; HERMANS, C.; LUTTS, S.; VERBRUGGEN, N. Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: Impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 8, p. 673-682, Aug. 2010.

MICHAUD, A. M.; CHAPPELLAZ, C.; HINSINGER, P. Copper phytotoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.). **Plant and Soil**, v. 310, n. 1-2, p. 151-165, Sep. 2008.

RESH, H. M. **Cultivos hidropónicos: nuevas técnicas de producción**. 4. ed., Madrid: Mundi-Prensa Libros, 1997. 509 p.

SABA, H.; JYOTI, P; NEHA, S. Mycorrhizae and phytochelators as remedy in heavy metal contaminated land remediation. **International Research Journal of Environment Sciences**, v. 2, n. 1, p. 74-78, Jan. 2013.

#### Comunicado Técnico, 176

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na: Embrapa Uva e Vinho  
Rua Livramento, 515 - Caixa Postal 130  
95700-000 Bento Gonçalves, RS  
Fone: (0xx) 54 3455-8000  
Fax: (0xx) 54 3451-2792  
<https://www.embrapa.br/uva-e-vinho/>



1ª edição

#### Comitê de Publicações

Presidente: César Luis Girardi  
Secretária-executiva: Sandra de Souza Sebben  
Membros: Adeliano Cargnin, Alexandre Hoffmann, Ana Beatriz da Costa Czermainski, Henrique Pessoa dos Santos, João Caetano Fioravanzo, João Henrique Ribeiro Figueredo, Jorge Tonietto, Rochelle Martins Alvorcem e Viviane Maria Zanella Bello Fialho

#### Expediente

Editoração gráfica: Alessandra Russi  
Normalização bibliográfica: Rochelle Martins Alvorcem