

ASSOCIAÇÃO DE MICORRIZA VESICULAR-ARBUSCULAR COM CAFÉ, LIMÃO-ROSA E CAPIM-GORDURA¹

SIDNEY FERNANDO CALDEIRA², GERALDO MARTINS CHAVES
e LAÉRCIO ZAMBOLIM³

RESUMO - Utilizando-se a técnica de peneiramento úmido e decantação e a técnica de centrifugação em gradiente de sacarose, extraíram-se esporos de fungos endomicorrízicos do tipo vesicular-arbuscular da rizosfera de três plantios diferentes das culturas de café (*Coffea arabica* L.), limão-rosa (*Citrus limonia* Osb.) e capim-gordura (*Melinis minutiflora* Beauv.), na região de Viçosa, Minas Gerais. Os diferentes fungos extraídos constituíram os tratamentos que foram inoculados em plantas mantidas em casa de vegetação. Foram avaliados: peso úmido e seco da parte aérea, peso seco do sistema radicular e quantidades totais de fósforo, potássio, cálcio e magnésio da parte aérea das plantas hospedeiras. Pelo menos um tratamento apresentou diferença significativa no aumento de peso úmido e seco da parte aérea. *Acaulospora* sp. aumentou cerca de 100% em café, *Gigaspora margarita* causou em torno de 75% de aumento em limão-rosa e *Glomus fasciculatus* aumentou 80% em peso úmido e 65% em peso seco de capim-gordura. A análise nutricional de fósforo, potássio, cálcio e magnésio apresentou um incremento de 80 a 120% em café, atribuído à presença de *Acaulospora* sp.; *Glomus fasciculatus* aumentou 100% a absorção de fósforo e potássio e 80% a de magnésio, mas não aumentou cálcio em capim-gordura. *Gigaspora margarita* aumentou, em média, 80% a mais de todos os nutrientes quando comparado com a testemunha.

Termos para indexação: fungos endomicorrízicos, rizosfera.

ASSOCIATION OF VESICULAR-ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI WITH COFFEE RANGPUR LIME AND MOLASSES GRASS

ABSTRACT - Using wet sieving and decanting method along with sucrose density gradient column method, spores of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi were isolated from three different rhizospheric soil samples of coffee (*Coffea arabica* L.), rangpur lime (*Citrus limonia* Osb.) and molasses grass (*Melinis minutiflora* Beauv.) in Viçosa, Minas Gerais, Brazil. The specific fungi isolated within the rhizospheric soil established the treatment used on each host. They were isolated and then evaluated in the greenhouse concerning the following aspects: wet and dry foliage weights, root dry weight and total uptake of phosphorus, potassium, calcium and magnesium of the host plants foliage. In all plants tested, at least one treatment increased wet and dry foliage weights. *Acaulospora* sp. increased these weights more than 100% in coffee plants, *Gigaspora margarita* increased the wet and dry foliage weight 75% in rangpur lime; *Glomus fasciculatus* increased the wet foliage weight 80% and the dry foliage weight 65% in molasses grass. *Acaulospora* sp. showed an increase of 80 to 120% of all the nutrients tested in coffee plants. *Glomus fasciculatus* showed an increase of 100% in phosphorus and potassium, and 80% for magnesium, but showed no increase for calcium in molasses grass. *Gigaspora margarita* showed an increase of about 80% in the uptake of all nutrients analyzed in relation to the check treatment.

Index terms: mycorrhizal fungi, rhizospheric soil.

INTRODUÇÃO

A endomicorriza do tipo vesicular-arbuscular (VA) tem sido amplamente relatada como o tipo

- ¹ Aceito para publicação em 22 de dezembro de 1982. Parte da tese do primeiro autor, para cumprimento de parte das exigências, visando a obtenção do título de Master Science.
- ² Eng.^o Florestal, M.Sc., Departamento de Engenharia Florestal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Mato Grosso, CEP 78000 - Cuiabá, MT
- ³ Eng.^o Agr.^o, Ph.D., Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, CEP 36570 - Viçosa, MG.

mais comum, ocorrendo, praticamente, em todos os grupos de plantas (Gerdemann 1968). Grande número de investigadores têm observado que plantas micorrizadas apresentam alto teor de fósforo, quando comparadas com plantas não-micorrizadas. Schocnecht e Hattinght, citados por Gerdemann (1975), verificaram que células de cebola micorrizadas, com presença de arbúsculos, continham maior nível de fósforo que células adjacentes, sem arbúsculos. Além do fósforo, outros macro e micronutrientes têm sido observados em maiores concentrações em plantas micorrizadas (Kormanik et al. 1977). Plantas de *Liquidambar atyraciflua*

inoculadas com o fungo micorrízico VA, *Glomus mosseae*, em solo fumigado, apresentaram acréscimo de 80 vezes, em peso seco, em relação às testemunhas (Bryan & Kormanik 1977). Vários autores têm observado que adequada inoculação de micorriza VA pode reduzir, consideravelmente, o uso de fertilizantes na produção de mudas (Kormanik et al. 1977). No Brasil, os trabalhos são escassos, referindo-se, normalmente, à verificação da simbiose, sem, contudo, preocuparem-se com a identificação e efeitos da espécie fúngica sobre o hospedeiro, como os trabalhos de Thomazini (1974a, b; 1978) e Cardoso (1978). O presente trabalho teve por objetivo identificar diferentes espécies de fungos micorrízicos VA em culturas de café (*Coffea arabica*), limão-rosa (*Citrus limonia*) e capim-gordura (*Melinis minutiflora*), bem como verificar os efeitos das espécies de fungos, de maior ocorrência, nos hospedeiros em casa de vegetação.

MATERIAL E MÉTODOS

Os esporos foram extraídos pela técnica de decantação e peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson 1963) de amostras de solo coletadas na rizosfera de planta de café cv. Catuaí, limão-rosa (= limão-cravo) e capim-gordura (= capim-melado), em três diferentes locais na região de Viçosa, Estado de Minas Gerais. Para efeito de identificação, os locais de isolamento foram numerados de 1 a 3. Para as amostras de solo que apresentaram grande quantidade de resíduo orgânico, foi utilizada, ainda, a técnica de centrifugação em gradiente de sacarose (Ohms 1957). Cada isolado de fungo obtido constituiu um tratamento. Para cada tratamento foram efetuadas quatro repetições. Para a inoculação usaram-se de 20 a 40 esporos das espécies nativas em 2 ml de solução fisiológica de Ringer por planta. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, e as plantas que serviram de testemunha receberam, igualmente, 2 ml da solução fisiológica de Ringer, sem qualquer esporo. As plantas aqui utilizadas foram produzidas isentas de micorriza VA, oriundas de sementes tratadas com Captan 75, na proporção de 250 g/kg de semente. A semeadura foi efetuada em bandejas de plástico contendo vermiculita autoclavada, regando-se posteriormente as sementes com água destilada e cobrindo-as com plástico transparente. Após a germinação as mudinhas, foram transferidas, de maneira definitiva, para recipientes de 1.000 ml, contendo três partes de terra para uma de areia esterilizada, e acondicionadas em casa de vegetação. A mistura de solo e areia utilizada apresentou pH 6.3 e teor de nutrientes abaixo dos limites críticos. Cerca de 8 a 10 semanas após a inoculação, as plantas foram removidas, sendo então medido o peso úmido da

parte aérea. O sistema radicular foi separado cuidadosamente, sobre uma peneira, sendo em parte submetido à classificação com KOH a 10% e coloração com azul de algodão em lactofenol (Phillips & Hayman 1970), para constatação de infecção de micorriza nas raízes das plantas. As raízes foram consideradas infectadas quando se observava a presença de arbúsculos, vesículas ou micélio crescendo na região cortical. A outra porção das raízes e as partes aéreas foram colocadas em estufa, a 65°C, até atingirem peso constante, sendo novamente pesadas. Para obtenção das quantidades totais de fósforo, potássio, cálcio e magnésio, foi efetuada a digestão do material vegetal da parte aérea pelo método nitroperclórico, obtendo-se uma solução estoque que foi utilizada para todas as análises, segundo a metodologia descrita por Braga (1980). A presença de infecção micorrízica foi observada de acordo com o método citado por Schenck & Schroder (1974), e a identificação das espécies fúngicas foi efetuada junto ao Departamento de Fitopatologia da Universidade da Flórida em Gainesville, Estados Unidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, encontram-se as espécies de fungos identificadas, que foram encontradas em maior quantidade nos solos rizosféricos das plantas estudadas. Dos gêneros de Endogonaceae que podem formar micorriza VA, somente *Sclerocystis* não foi extraído dos solos rizosféricos estudados, o que não indica a sua inexistência. Tal fato pode ter ocorrido por serem as malhas das peneiras utilizadas inadequadas para a sua extração.

Nas Fig. 1, 2 e 3, encontra-se o peso úmido e seco da parte aérea e o peso seco do sistema radicular das plantas de café, limão-rosa e capim-gordura, respectivamente. Em café, os tratamentos com os isolamentos 1, 3 e 5 de *Acaulospora* sp. apresentaram resultados superiores a 70% em relação ao ganho de peso úmido e seco da parte aérea. Ganhos entre 48% e 67% foram obtidos com os tratamentos com os isolamentos 2 e 4 (*G. etunicatus*) em relação à testemunha. Os resultados do presente trabalho, com relação ao considerável ganho de peso da parte aérea das mudas de café inoculadas com micorriza, coincidem com aqueles de Cardoso (1978), embora esta autora não tenha identificado as espécies encontradas nas mudas de café examinadas.

Em plantas de limão-rosa, observou-se um aumento no peso úmido e seco da parte aérea, em torno de 75%, quando se comparou o isolamento

TABELA 1. Espécies de fungos que predominaram na extração de esporos do solo rizosférico de café, limão-rosa e capim-gordura, em três locais, utilizadas como inóculos.

Cultura	Isolamentos		
	Local 1	Local 2	Local 3
Café	1. <i>Acaulospora</i> sp. 2. <i>Glomus macrocarpus</i>	3. <i>Acaulospora</i> sp.	4. <i>Glomus etunicatus</i> 5. <i>Acaulospora</i> sp.
Limão-rosa	1. <i>Gigaspora margarita</i> 2. <i>Glomus occultus</i>		3. <i>Acaulospora</i> sp. 4. <i>Glomus occultus</i>
Capim-gordura	1. <i>Glomus fasciculatus</i> 2. <i>Gigaspora margarita</i> 3. <i>Acaulospora</i> sp.	4. <i>Glomus fasciculatus</i> 5. <i>Gigaspora margarita</i> 6. <i>Glomus</i> sp.	7. <i>Gigaspora margarita</i>

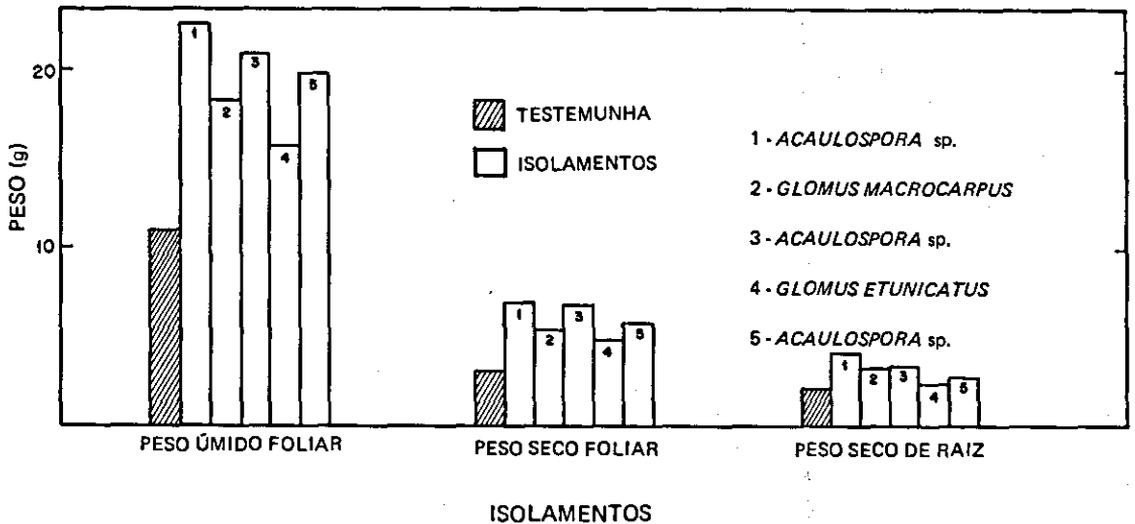


FIG. 1. Peso úmido e seco da parte aérea e peso seco do sistema radicular de plantas de café, com sete meses de idade, inoculadas com diferentes isolamentos de fungos micorrízicos, tipo vesicular - arbuscular (média de quatro repetições).

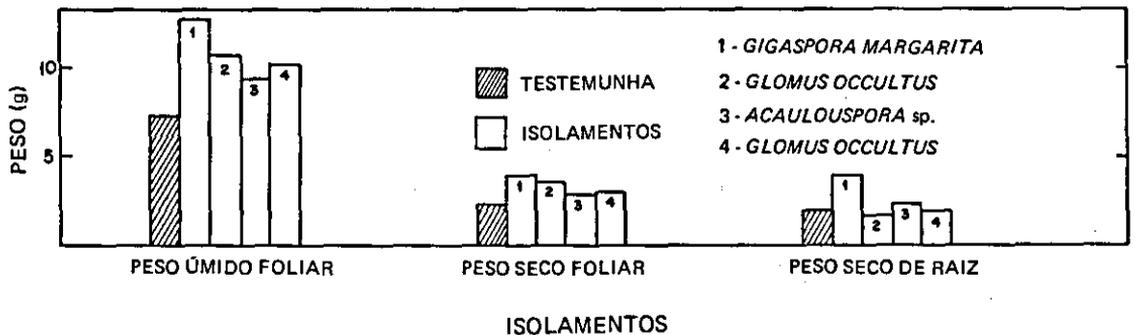


FIG. 2. Peso úmido e seco da parte aérea e peso seco do sistema radicular de plantas de limão - rosa, com sete meses de idade, inoculadas com diferentes isolamentos de fungos micorrízicos, tipo vesicular - arbuscular (média de quatro repetições).

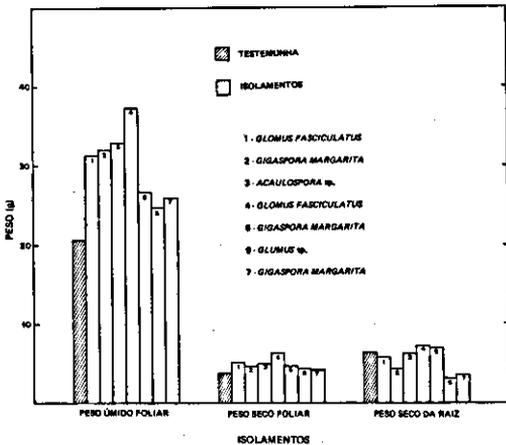


FIG. 3. Peso úmido e seco da parte aérea e peso seco do sistema radicular de plantas de capim-gordura, com três meses de idade, inoculadas com diferentes isolamentos de fungos micorrízicos, tipo vesicular - arbuscular (média de quatro repetições).

de *G. margarita* e a testemunha. Aliás, esta espécie de fungo tem sido observada com frequência em raízes de plantas agrônômicas de citros (Nicolson & Schenck 1979), sendo agora, no presente trabalho, constatada em limão-rosa, que é muito utilizado como porta-enxerto. Os resultados do capim-gordura mostraram que somente o tratamento com o isolamento 4, *G. fasciculatus*, diferiu da testemunha, com ganho de, aproximadamente, 70% em peso úmido e peso seco da parte aérea. Murdoch et al., citados por Gray (1971), também observaram maior quantidade de matéria seca em sorgo, quando cresceu em recipientes que continham raízes de milho micorrizadas. As gramíneas *Ammophila arenaria* e *Agropyron junceiforme* apresentaram melhores crescimentos, quando micorrizadas com *G. fasciculatus* e *G. macrocarpus*, var. *geosporus*, com diferenças em peso seco (Nicolson & Johnston 1979). Esses ganhos de peso úmido e seco na parte aérea das espécies estudadas resultaram provavelmente de um aumento na absorção de nutrientes, o que, de forma direta ou indireta, é consequência da presença de micorriza VA nas raízes das plantas estudadas. O peso seco do sistema radicular não foi afetado pelas espécies do fungo empregadas.

As Fig. 4, 5 e 6 apresentam as quantidades totais de fósforo, potássio, cálcio e magnésio encontradas na parte aérea das plantas de café, limão-rosa e capim-gordura, respectivamente. Nas plantas de café, verificou-se aumento na absorção de todos os nutrientes analisados em torno de 100%, em todos os tratamentos. Nas plantas de limão-rosa não se observaram diferenças significativas entre os nutrientes analisados. Contudo, o tratamento com o isolamento 1, de *G. margarita*, apresentou, em média, 80% a mais de todos os nutrientes, quando comparado com a testemunha. Com relação ao K, os isolamentos 3 e 4 apresentaram acréscimos de 92,5 e 78,7%, respectivamente. Na análise nutricional das plantas de capim-gordura, somente o teor de cálcio não diferiu significativamente da testemunha, embora o tratamento com o isolamento 4, de *G. fasciculatus*, apresentasse cerca de 70% a mais desse nutriente que a testemunha. Por outro lado, esse mesmo tratamento diferiu significativamente da testemunha em fósforo, potássio e magnésio. Em raízes de cebola, Rhodes & Gerdemann (1978) observaram que o cálcio não é translocado para as raízes pelas hifas micorrizadas, como acontece com o fósforo, o que, provavelmente, também acontece em capim-gordura. Murdoch et al., citados por Gray (1971), observaram maior teor de

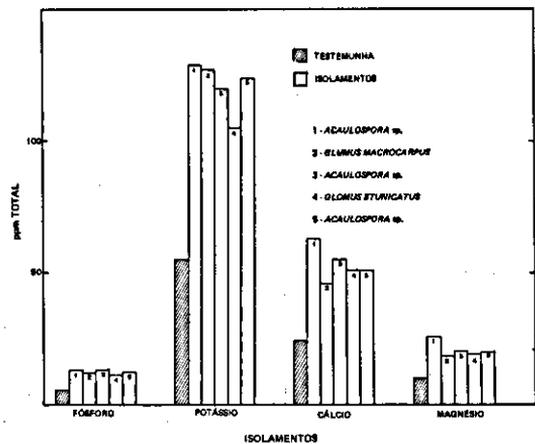


FIG. 4. Quantidade total de fósforo, potássio, cálcio e magnésio absorvida por plantas de café, com sete meses de idade, inoculadas com diferentes isolamentos de fungos micorrízicos, tipo vesicular - arbuscular (média de quatro repetições).

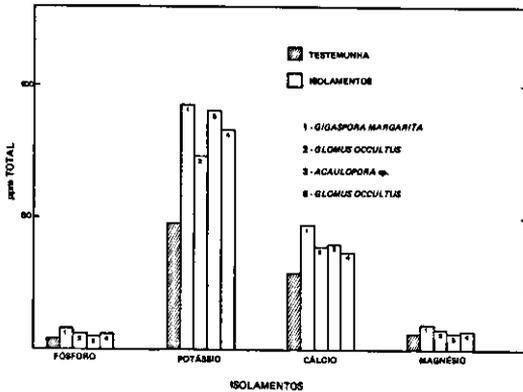


FIG. 5. Quantidade total de fósforo, potássio, cálcio e magnésio absorvida por plantas de limão-rosa, com sete meses de idade, inoculadas com diferentes isolamentos de fungos micorrízicos, tipo vesicular - arbuscular (média de quatro repetições).

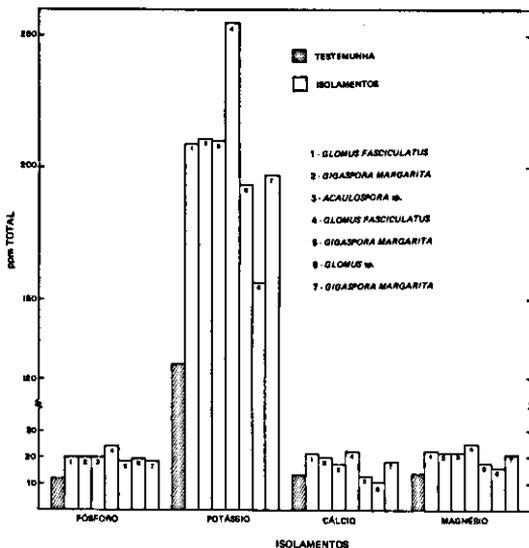


FIG. 6. Quantidade total de fósforo, potássio, cálcio e magnésio absorvida por plantas de capim-gordura, com três meses de idade, inoculadas com diferentes isolamentos de fungos micorrízicos, tipo vesicular - arbuscular (média de quatro repetições).

fósforo em plantas de sorgo micorrizadas, quando comparadas com plantas não-micorrizadas.

Os resultados mostram certa especificidade entre espécies de micorrizas e espécies de plantas. Isso foi claramente observado quando se verificou que, dentre os diversos tratamentos, um isolamento era o responsável pelo maior aumento na absorção de nutrientes e pelo maior crescimento das plantas.

Através de exame microscópico, verificou-se, após o término do experimento, que as raízes de todas as espécies de plantas utilizadas apresentavam percentagem de infecção por micorriza VA acima de 60%, evidenciando que as respostas ao aumento do crescimento das plantas foram devidas à simbiose exercida pelas micorrizas no sistema radicular.

CONCLUSÕES

1. Foram observados *Glomus macrocarpus*, *G. etunicatus* e uma espécie não identificada de *Acaulospora* na rizosfera de cafeeiro; *Glomus occultus*, *Gigaspora margarita* e *Acaulospora* sp. em limão-rosa; *Glomus fasciculatus*, *Gigaspora margarita* e *Acaulospora* sp. em capim-gordura.

2. Obteve-se aumento de 100% no crescimento em café, utilizando-se *Acaulospora* sp.; de 75% em limão-rosa com *Gigaspora margarita*, e de 70% em capim-gordura com *Glomus fasciculatus*.

3. A quantidade total de fósforo, potássio, cálcio e magnésio absorvida pelas plantas, foi grandemente aumentada pela presença de micorrizas.

4. *Acaulospora* sp. proporcionou 80 - 120% de aumento na absorção desses nutrientes em café; *Glomus fasciculatus* aumentou 100% a absorção de fósforo e potássio em plantas de café e de magnésio, 80%. O isolamento 1 de *Gigaspora margarita* aumentou, em média, 80% a mais de todos os nutrientes, quando comparado com a testemunha, em plantas de limão-rosa.

AGRADECIMENTOS

Ao Doutor N.C. Schenk, da Universidade da Flórida, pela identificação das espécies de micorrizas.

REFERÊNCIAS

- BRAGA, J.M. Avaliação da fertilidade do solo (análise química). Viçosa, Imprensa Universitária, UFV, 1980. part. 1 e 2. 167p.
- BRYAN, W.C. & KORMANIK, P.P. Mycorrhizae benefit survival and growth of sweetgum seedlings in the nursery. *South. J. Appl. For.*, 1(1):21-3, 1977.
- CARDOSO, E.J.B.N. Ocorrência de micorriza em café. *Summa Phyt.*, 4:136-7, 1978.
- GERDEMANN, J.W. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Ann. Rev. Phyt.*, 6:397-418, 1968.
- GERDEMANN, J.W. Vesicular-arbuscular mycorrhizae. In: TORREY, J.G. & CLARKSON, D.T., eds. *The development and function of roots*. London, Academic Press, 1975. p.575-91.
- GERDEMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 46(2):235-44, 1963.
- GRAY, L.E. Physiology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. In: HACSKAYLO, E., ed. *Mycorrhizae. Proc. First N. Amer. Conf. Mycorrhizae*. s.l. U.S.D.A., Forest Service, 1971, p.145-50. (Misc. Publ., 1169).
- KORMANIK, P.P.; BRYAN, W.C. & SCHULTZ, R.C. Influence of Endomycorrhizae on growth of sweetgum seedling from eight mother trees. *For. Sci.*, 23(4):500-6, 1977.
- NICOLSON, T.H. & JOHNSTON, C. Mycorrhiza in the gramineae. III. *Glomus fasciculatus* as the endophyte of pioneer grasses in a maritime sand dune. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 72(2):261-8, 1979.
- NICOLSON, T.H. & SCHENCK, N.C. Endogonaceous mycorrhizal endophytes in Florida. *Mycologia*, 71(1):178-98, 1979.
- OHMS, R.E. A flotation method for collecting spores of Phycomycetous mycorrhizal parasite from soil. *Phytopathology*, 47(12):751-2, 1957.
- PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 55:158-61, 1970.
- RHODES, L.H. & GERDEMANN, J.W. Translocation of calcium and phosphate by external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Soil Sci.*, 126(2):156-6, 1978.
- SCHENCK, N.C. & SCHRODER, V.N. Temperature response of *Endogone* mycorrhiza on soybean roots. *Mycologia*, 66(4):600-5, 1974.
- THOMAZINI, L.I. Mycorrhiza in plants of the 'Cerrado'. *Plant Soil*, 41:707-11, 1974a.
- THOMAZINI, L.I. Micorriza vesicular-arbuscular em *Aegiphila verticillata* Vell. *Phyton*, 32(1):53-60, 1974b.
- THOMAZINI, L.I. Micorriza vesicular-arbuscular em *Annona coriaceae* Mart. *Phyton*, 36(1):75-84, 1978.