



Bioprospecção de fungos micorrízicos arbusculares em solos de cultivo de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em Girau do Ponciano, Alagoas

Bioprospecting of arbuscular mycorrhizal fungi in manioc (*Manihot esculenta* Crantz) soils in Girau do Ponciano, Alagoas

Página | 5

Luiz Eduardo Bezerra Silva⁽¹⁾; Joice Késsia Barbosa dos Santos⁽²⁾;
Willian Cleisson Lopes de Souza⁽³⁾; Luan Lucas Cardoso Lima⁽⁴⁾;
José Crisólogo de Sales Silva⁽⁵⁾; Esmeralda Aparecida Porto Lopes⁽⁶⁾

⁽¹⁾Graduando em Ciências Biológicas, bolsista PIBITI/FAPEAL; Universidade Estadual de Alagoas; Campo Alegre, Alagoas; Luiz.e.b.leit@gmail.com;

⁽²⁾Graduanda em Ciências Biológicas, bolsista PIBITI/FAPEAL; Universidade Estadual de Alagoas; Joicekessia1997@gmail.com.

⁽³⁾Graduando em Ciências Biológicas; Universidade Estadual de Alagoas; willian22292@gmail.com;

⁽⁴⁾Graduando em Ciências Biológicas, bolsista PIBITI/FAPEAL; Universidade Estadual de Alagoas; lima177.0@hotmail.com;

⁽⁵⁾Professor Titular; Universidade Estadual de Alagoas; josecrigot@hotmail.com

⁽⁶⁾Professora Titular; Universidade Estadual de Alagoas; eportolopes@yahoo.com.br.

Todo o conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos seus autores.

Recebido em: 29 de dezembro de 2018; Aceito em: 31 de janeiro de 2019; publicado em 25 de 01 de 2019. Copyright© Autor, 2019.

RESUMO: Entre os macro e microrganismos mais relacionados ao sistema radicular das plantas, especificamente na rizosfera, estão os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs). O objetivo deste trabalho foi quantificar e identificar os glomerosporos de fungos micorrízicos arbusculares presentes na mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) de diferentes produtores da região do assentamento Santa Isabel, localizado na cidade de Girau do Ponciano, Alagoas. A extração de glomerosporos se deu pela técnica de decantação e peneiramento aliados à centrifugação e flutuação em sacarose. As lâminas foram preparadas com amostras de todos os fungos morfológicamente diferentes encontrados em todos os tratamentos. Para identificação dos gêneros em lâminas foi utilizada a abordagem morfológica. Foi utilizado álcool polivinílico e lactoglicerol (PVLG) em um lado da lâmina, no outro lado melzer mais PVLG, na proporção de 1: 1. Uma média de 36,9 esporos por 50g de solo foi obtida, num total de 689 glomerosporos. Através dos resultados obtidos é possível observar que existe um número considerável de FMA em solos onde há cultivo de mandioca onde na rizosfera do painço foram identificados 3 gêneros de fungos micorrízicos arbusculares: Glomus, Entrophospora e Ambispora. O gênero Glomus teve frequência relativa maior em comparação com os demais gêneros identificados na pesquisa. É possível concluir que existe um número considerável de FMAs, 689 glomerosporos ao todo, nos solos onde há cultivo de mandioca na região do Assentamento Santa Isabel.

PALAVRAS CHAVE: quantificação, frequência relativa, identificação.

ABSTRACT: Among the macro and microorganisms most closely related to the plant root system, specifically in the rhizosphere, are Arbuscular Mycorrhizal Fungi (FMAs). The objective of this work was to quantify and identify the glomerospores of arbuscular mycorrhizal fungi present in manihot (*Manihot esculenta* Crantz) from different producers of the Santa Isabel settlement, located in the city of Girau do Ponciano, Alagoas. The extraction of glomerospores was by the technique of decantation and sieving allied to the centrifugation and flotation in sucrose. The slides were prepared with samples of all the morphologically different fungi found in all treatments. The morphological approach was used to identify the genera on slides. Polyvinyl alcohol and lactoglycerol (PVLG) were used on one side of the slide, on the other side melzer plus PVLG, in a ratio of 1: 1. A mean of 36.9 spores per 50g of soil was obtained, in a total of 689 glomerospores. From the obtained results it is possible to observe that there is a considerable number of AMF in soils where there is cassava cultivation, where three genera of arbuscular mycorrhizal fungi were identified in the rhizosphere of the millet: Glomus, Entrophospora and Ambispora. The genus Glomus had a higher relative frequency compared to the other genera identified in the study. It is possible to conclude that there are a considerable number of FMAs, 689 glomerospores in all, in the soils where there is cassava cultivation in the region of the Santa Isabel settlement.

KEY WORDS: quantification, relative frequency, identification.

INTRODUÇÃO

Dentre os vários componentes existentes e importantes da relação entre solo e planta, está a biodiversidade da fauna microbiota edáfica. Dentre os macro e microrganismos mais relacionados com o sistema radicular das plantas, especificamente na rizosfera, estão os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs), pertencentes ao filo *Glomeromycota*, com cerca de 160 espécies identificadas, conforme Invam (2018).

Dentro da biotecnologia existem várias áreas, mas a bioprospecção de microrganismos, bem como a diversidade dos mesmos vem crescendo e ganhando um foco maior, onde a utilização desses microrganismos vem se estabelecendo cada vez mais na área industrial e ambiental. A vasta diversidade no metabolismo e capacidade de adaptação dos microrganismos nos permite ter o uso de produtos que são bioativos nos processos biotecnológicos (OLIVEIRA, 2006).

De acordo Finlay (2004) é importante se ter conhecimento sobre como se dá a comunidade de fungos micorrízicos arbusculares dos ambientes/biomas, de forma a avaliar a funcionalidade desses microrganismos simbióticos no meio, tendo em mente o objetivo de averiguar se há de fato reação de ganho entre os FMAs e os vegetais.

Segundo Chu *et al.* (2004) todo o processo de micorrização é, de fato, de suma importância, constituindo-se como uma alternativa econômica para se ter uma maximização do uso de fertilizantes fosfatados utilizados em solos deficientes e com alta capacidade de fixação de fosfatos.

Sabe-se que as plantas utilizadas como hospedeiras podem atuar desenvolvendo respostas à inoculação desses fungos, usando espécies diferentes ou isolados de FMA. Foi comprovado por estudos como os de Santos (2008) e Santos *et al.* (2008) que, ao trabalhar com várias espécies arbóreas tropicais, foi possível demonstrar que esses fungos podem ocupar nichos específicos e atuar de formas diversas em benefício das hospedeiras.

É provável que as plantas influenciem na estrutura e biodiversidade das comunidades de fungos micorrízicos arbusculares. Além do que, vem sendo evidenciado que há uma seleção feita pelas plantas para com os fungos, o que indica que podem existir mecanismos bioquímicos específicos de reconhecimento entre os dois que conferem certo grau de especificidade a esse tipo de simbiose (SCHEUBLIN *et al.*, 2004).

Ao comparar as comunidades de FMA que colonizavam as raízes de plantas herbáceas que coexistem naturalmente, Vandenkoornhuysen *et al.* (2002) verificaram que a comunidade de FMA diferia geneticamente entre as hospedeiras e sofria alterações ao longo do tempo. No entanto, poucos estudos, quase todos de clima temperado, têm sido realizados com esse foco.

As intensas atividades decorrentes da agricultura aliadas ao manejo inadequado acabam acarretando em distúrbios físicos e biológicos nos solos e, por conseguinte, no ambiente, gerando a degradação de solos e queda de produtividade (SOUZA *et al.*, 2005).

De acordo com o que é descrito por Carrenho *et al.* (2010) o manejo errôneo do solo e das culturas acaba gerando alterações nos FMAs locais, de forma a obliterar as comunidades desses fungos e prejudicar as culturas atuais e vindouras.

Os FMAs não atuam apenas auxiliando no desenvolvimento das plantas, pois também agem de outras maneiras. Os FMAs são capazes de produzir hifas, essas hifas sintetizam a glomalina, proteína que fica no solo (PURIN, 2005).

A glomalina é uma glicoproteína insolúvel em H₂O e imunorreativa, sendo que faz parte da constituição da parede das hifas, onde após o processo de decomposição das hifas por outros microrganismos, a glomalina vai, ao longo do tempo, sendo retida no solo (DRIVER *et al.*, 2005). A Glomalina atua induzindo, no solo, ligações com partículas de argila, de forma a aumentar a micro agregação dos solos, atuando na contribuição para recuperação física do solo (RILLIG, 2004).

Uma das plantas onde há o efeito positivo dos FMA é a mandioca, pois a mesma apresenta um sistema radicular reduzido e pouco ramificado. Neste caso, o bom desenvolvimento da cultura e aumento da produtividade é necessário que haja a presença de tais fungos, colonizando as raízes da planta (MIRANDA; FIALHO; MIRANDA, 2005).

De acordo com Filho e Nogueira (2007) o sistema de raízes da mandioca é constituído de raízes grossas e zona pilífera com poucos pelos absorventes, o que resulta em uma menor área de absorção de água e, conseqüentemente, nutrientes oriundos do solo.

Moreira e Siqueira (2006) evidencia que entre as plantas há aquelas que dependem com maior frequência dos FMAs. A necessidade que essas plantas possuem dos FMAs é estabelecida dificuldade que tais plantas possuem em atingir seu melhor desenvolvimento em determinados níveis de fertilidade de solos.

A dependência da mandioca aos FMA pode variar, podendo chegar até um percentual de 95%, mesmo que na cultura haja um alto teor de adubação rica em fosfato. A espécie que é frequentemente colonizadora da mandioca é *Glomus manihotis*, que se desenvolve melhor em solos com maior acidez. Por constituir-se como uma cultura que depende dos FMA, a mandioca atua facilitando a multiplicação dos mesmos no solo (MIRANDA; FIALHO; MIRANDA, 2005).

Através da realização deste trabalho objetivou-se quantificar e identificar os glomerosporos de fungos micorrízicos arbusculares, presentes na cultura de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) de diferentes produtores na região do assentamento Santa Isabel, localizado na cidade de Girau do Ponciano, Alagoas.

METODOLOGIA

As amostras de solo para coleta dos esporos de fungos micorrízicos arbusculares foram coletadas em área onde os cultivos de mandioca estavam instalados, no Assentamento Santa Isabel localizado na cidade Girau do Ponciano. Girau do Ponciano é um município brasileiro localizado no estado de Alagoas. Pertencente à mesorregião do Agreste Alagoano e à microrregião de Arapiraca, possuindo uma latitude de 09° 53' 03" S, longitude: 36° 49' 44" W, altitude de 244m e área de 504,3 Km².

Figura 1 – Localização geográfica de Girau do Ponciano.



Fonte: Google Maps, 2018.

Ao todo foram feitas dez coletas de solos em propriedades diferentes onde o cultivo de mandioca estava instalado, o cultivo datava de quatro meses quando foi realizada a coleta de solos. O procedimento das coletas de solos foi feito segundo Arruda, Moreira e Pereira (2014). Após coletadas as amostras foram catalogadas com os dados dos proprietários e armazenadas. Em seguida foi feito o cultivo de painço (*Panicum miliaceum*) em estufa sob casa de vegetação com cada tratamento de solo, para aumento das possibilidades de fixação dos fungos micorrízicos. O cultivo de painço durou 3 meses. Após o cultivo, as plantas de painço foram retiradas do solo e os tratamentos foram armazenados em B.O.D (biological oxygen demand) no Polo Tecnológico Agroalimentar de Arapiraca.

Figura 2 – Cultivo de painço em estufa.



Fonte: arquivo do autor.

Em seguida foi dado início a extração de glomerosporos, que foram obtidos pela técnica de decantação e peneiramento de Gerdemann e Nicolson (1963) e da centrifugação e flutuação em sacarose de Jenkins (1964). Sendo que o processo ocorreu da seguinte forma: dos solos coletados foram utilizados 50g de solos em um bécher para extração de esporos de FMA com 1,500L de água, onde foram depositados em um recipiente para fazer 3 repetições de agitação durante 1 minuto e em seguida deixado decantar por 30 segundos a cada repetição. Após foi despejada a mistura sob duas

peneiras de malhas variadas na sequência da maior para a menor abertura da malha, logo se recolheu o material retido nas peneiras de menor abertura com o auxílio de uma piceta, passou-se o material recolhido para 6 tubos de centrifuga, onde foram pesados e os tubos que possuíram o menor peso foram igualados ao maior completando com água para que eles tenham o mesmo peso, onde posteriormente foram colocados em posição oposta na centrifuga e feita a centrifugação por 5 minutos a 698,6g.

Após o material ser retirado da centrifuga foi descartado o sobrenadante, deixando apenas o solo retido no fundo dos mesmos. Depois os 6 tubos foram pesados e o maior resultado de tubo com precipitado foi subtraído apenas pelo valor de seu próprio tubo, onde o valor obtido somou-se com o peso inicial de tubo mais precipitado, onde posteriormente o valor alcançado foi o valor ideal e que, portanto, foi igualado nos demais tubos, adicionando sacarose à 50% nos demais para igualar. Em seguida foi agitado suavemente com bagueta de vidro, sendo centrifugado novamente por 3 minutos a 698,6g e em seguida colocados em peneira de malha fina de 45 micromilímetros, onde posteriormente esse material foi lavado com água destilada e depois transferido para um bécher de 50 ml, após foi transferido para uma placa tipo canaleta e em seguida ao microscópio estereoscópio para a contagem de glomerosporos.

Figura 3 – Metodologia aplicada para extração e preparação de lâminas com FMA'S.



Fonte: arquivo do autor.

Para a identificação dos gêneros ocorrentes nos tratamentos foi feita a utilização do manual de descrição de fungos micorrízicos arbusculares de Schenck e Pérez (1988). Para a realização da identificação dos glomerosporos, foram preparadas lâminas com amostras de todos os fungos encontrados em todos os tratamentos. Os glomerosporos que possuíam características em comum foram agrupados em ambos os lados das lâminas, no entanto, em um lado foi utilizado Álcool-polivinílico e lactoglicerol (PVLG), já do outro lado da lâmina foi utilizado Melzer com mais PVLG, na proporção de 1:1, de acordo com Morton *et al.* (1993).

Os resultados foram tabulados, onde foi quantificado quantos glomerosporos foram identificados nos tratamentos (tabela 1) e quais gêneros foram encontrados (tabela 2), além disso foi contabilizado quantas vezes cada gênero identificado apareceu nas amostras, constituindo a Frequência Absoluta (FA) e a razão entre a frequência absoluta e o número total de glomerosporos, constituindo a Frequência Relativa (FR) através do programa Excel (2016).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi encontrado um número considerável de glomerosporos por tratamento, onde a quantificação de glomerosporos das coletas realizadas na região estudada é apresentada na tabela 1. Foi obtida uma média de 36,9 esporos por cada 50g de solo. Foram quantificados, no total, 689 glomerosporos dos quais foram montadas as lâminas para identificação. Na região estudada, é possível confirmar, então, por meio das características morfológicas, a presença dos glomerosporos de Fungos Micorrízicos Arbusculares. Na tabela 2 pode-se observar a Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) dos gêneros de fungos micorrízicos arbusculares encontrados nos 10 tratamentos.

Foram encontrados, ao todo, 689 (seiscentos e oitenta e nove) glomerosporos de fungos micorrízicos nos dez tratamentos obtidos. Na rizosfera do painço 3 gêneros de fungos micorrízicos arbusculares foram identificados: *Glomus*, *Entrophospora* e *Ambispora*.

Com os resultados do trabalho foi possível notar que o gênero *Glomus* tem uma frequência relativa maior em comparação com os demais gêneros quando se trata de

mandioca, fato este que também é comprovado por Miranda, Fialho e Miranda (2005), sendo que é descrito, especificamente, *Glomus manihotis*.

É importante salientar que, mesmo a mandioca constituindo-se como um cultivo que possui grande relação com fungos micorrízicos arbusculares, foi encontrado um número médio de 36,9 esporos para cada 50 g de solo, este fato pode estar relacionado com o manejo do solo, que pode alterar as propriedades do solo, quer sejam químicas, físicas ou biológicas, levando à diminuição dos macroporos, que é o habitat dos microrganismos (CARRENHO *et al.*, 2010).

Tabela 1 – Número de glomerosporos de Fungos Micorrízicos Arbusculares por tratamento e quantidade geral.

| Tratamento | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|----------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|
| Nº de glomerosporos | 73 | 50 | 82 | 100 | 82 | 49 | 78 | 57 | 50 | 68 |
| Total de FMA | | | | | | | | | | 689 |

Fonte: arquivo do autor.

Tabela 2 – Frequência absoluta (FA) e frequência relativa (FR) dos gêneros encontrados nos tratamentos.

| Tratamento | FA | FR |
|----------------------|-----------|-----------|
| Glomus | 272 | 39,6% |
| Entrophospora | 218 | 31,6% |
| Ambispora | 199 | 28,8% |
| Total | 689 | 100% |

Fonte: arquivo do autor.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da execução da metodologia aplicada nesta pesquisa foi possível alcançar os objetivos descritos, quantificando e identificando gêneros de FMAs como *Glomus*,

Entrophospora e *Ambispora*, tornando-se evidente a presença de glomerosporos de Fungos Micorrízicos Arbusculares nos tratamentos estudados. Através dos resultados obtidos é possível observar que existe um número considerável de FMAs, 689 glomerosporos ao todo, nos solos onde há cultivo de mandioca na região do Assentamento Santa Isabel.

REFERÊNCIAS

1. ARRUDA, M. R; ADÔNIS, M; PEREIRA, J. C. R. *Amostragem e cuidados na coleta de solos para fins de fertilidade*. Manaus – AM: Embrapa Amazônia ocidental: 1º Ed, 2014.
2. CHU, E.Y.; YARED, J.A.G.; MAKI, H.J.O. Efeitos da inoculação micorrizica e da adubação fosfatada em mudas de *Vochysia máxima* Ducke. *Revista Árvore*, Viçosa, MG, v.28, n.2, p.157-165, 2004.
3. CARRENHO, R. *et al.* Fungos micorrízicos arbusculares em agrossistemas brasileiros. In: SIQUEIRA, J. O. *et al.* *Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil*. 1. Ed. Lavras: UFLA, 2010. cap. 7, p. 215-249.
4. COLOZZI-FILHO, A.; NOGUEIRA, M. A. Micorrizas arbusculares em plantas tropicais: café, mandioca e cana-de-açúcar. In: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. *Microbiota do solo e qualidade ambiental*. Campinas: Instituto Agrônômico, 2007. p. 39-56.
5. DRIVER, J. D.; HOLBEN, W. E.; RILLIG, M. C. Characterization of glomalin as hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.*, 37: 101-106, June, 2005.
6. FINLAY, R.D. Mycorrhizal fungi and their multifunctional roles. *Mycologist*, Vol. 18, Issue 2, 18:91-96, May, 2004.
7. 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*. 46:235-244, June, 1963.
8. INVAM. International culture collection of (vesicular) arbuscular mycorrhizal fungi. Disponível em: <<http://invam.caf.wvu.edu/>>. Acesso em: 13 do 05 de 2018.
9. MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. *Microbiologia e bioquímica do solo*. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729p.
10. MIRANDA, J. C. C.; FIALHO, J. F.; MIRANDA, L. N. Importância da micorriza arbuscular para o cultivo da mandioca na região do Cerrado. Distrito Federal: EMBRAPA, 2005.
11. OLIVEIRA, V.M. de; SETTE, L.D.; GARBOGGINI, F. F. Preservação e Prospecção de Recursos Microbianos. *Revista MultiCiencia: Construindo a História dos Recursos Naturais*, N.7, Pág. 1-19, outubro de 2006.
12. PURIN, S. Fungos micorrízicos arbusculares: atividade, diversidade e aspectos funcionais em sistemas de produção de maçãs. 2005. 182 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2005.
13. RILLIG, M. C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin and soil quality. *Can. J. Soil Sci.*, 84: 355- 363, August, 2004.

14. SANTOS, J.G.D. Riqueza de fungos micorrízicos arbusculares no solo e o crescimento inicial de espécies arbóreas nativas. 2008. 80p. Tese – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.
15. SANTOS, J.G.D.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M. de S. Eficiência de fungos micorrízicos arbusculares isolados de solos de áreas de mineração de bauxita no crescimento inicial de espécies nativas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.32, p.141-150, fevereiro de 2008.
16. SOUZA, E. D.; CARNEIRO, M. A. C.; PAULINO, H. B. Atributos físicos de um Neossolo Quartzarênico e um Latossolo Vermelho sob diferentes sistemas de manejo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 40, n. 11, p. 1135-1139, novembro de 2005.
17. SCHENCK, N. C; PÉREZ, Y. Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. INVAM: University of Florida, Gainesville, 1988.
18. SCHEUBLIN, T.R. *et al.* Nonlegumes, legumes, and root nodules harbor different arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Applied and Environmental Microbiology*, v.70, n. 10, p.6240-6246, Oct, 2004.
19. VANDENKOORNHUYSE, P. *et al.* Arbuscular mycorrhizal community composition associated with two plant species in a grassland ecosystem. *Molecular Ecology*, v.11, Issue 8, p.1555-1564, August, 2002.