

ALTERNATIVA DE PRODUÇÃO DE INÓCULO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM AEROPONIA¹

EIDY SIMÕES DE SOUZA², HÉLIO ALMEIDA BURITY³, ADÁLIA C. DO ESPÍRITO SANTO⁴ e
MARIA LUÍZA R. B. DA SILVA⁵

RESUMO - A utilização generalizada de fungos micorrízicos arbusculares tem sido bastante limitada, decorrente do seu caráter biotrófico obrigatório, necessitando-se do uso de raízes metabolicamente ativas na sua multiplicação. O presente trabalho foi conduzido para avaliar a alternativa de produção de inóculo FMA, usando-se um sistema aeropônico constituído por um tanque com 200 l de solução nutritiva que pulverizava as raízes das plantas através de um conjunto de microaspersores e maninha o ambiente arejado. Os resultados iniciais demonstraram que durante os primeiros 28 dias de cultivo em aeroponia, as plantas sofreram um estresse de adaptação com redução significativa na taxa de colonização radicular e no número de esporos recuperados. Após este período, a colonização dos FMA aumentou consideravelmente, estabilizando-se aos 56 até 72 dias nas plantas de batata-doce inoculadas com *Entrophospora colombiana* e alcançando valores em torno de 72% de colonização. O número de esporos recuperados no sistema radicular colonizado com *E. colombiana* foi surpreendente, alcançando valores promissores de 5.082 e 156.336 esporos por grama de matéria seca de raiz nos períodos de 70 e 98 dias, respectivamente. Entretanto, nas espécies *Gigaspora margarita* e *Glomus etunicatum*, estes valores foram relativamente inferiores, evidenciando a necessidade de adequação da técnica aeropônica para essas espécies.

ALTERNATIVE FOR ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI INOCULUM PRODUCTION IN AEROPONIC CULTURE

ABSTRACT - The generalized use of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) has been quite limited, due to obligatory biotrophic character of these microorganisms, which demand the use of metabolically active roots for their multiplication. The present work was conducted to evaluate the possibility of AMF inoculum production using an aeroponic system constituted by a tank with 200 l of nutritive solution pulverizing the root plants through various micro-irrigation nozzles. The initial results showed that, during the first 28 days of cultivation, the plants suffered an adaptation stress, with a significant reduction of the root colonization rate and spore number. However, after this adaptation period, the AMF colonization rates increased significantly, stabilizing at 56 to 72 days in sweet potato plants inoculated with *Entrophosphora colombiana*, with 72 % of colonization. The number of spores recovered in the root system of plants infected with *E. colombiana* was surprising, with values of 5,082 and 156,336 spores per gram of root dry matter at 70 and 98 days, respectively. However, with *Gigaspora margarita* and *Glomus etunicatum*, these values were lower than expected, showing the need of an adaptation of the aeroponic technique for these species.

¹ Aceito para publicação em 15 de dezembro de 1995.

² Zootecnista, M.Sc., Lab. de Biol. do Solo, Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, IPA, Av. Gel. San Martin, 1371, Bongi. Caixa Postal 1022, CEP 50761-000 Recife, PE.

³ Eng. Agr., Ph.D, Lab. de Biol. do Solo - IPA/EMBRAPA. Bolsista do CNPq.

⁴ Bióloga, Lab. de Biol. do Solo - IPA. Bolsista do CNPq.

⁵ Bióloga, Lab. de Biol. do Solo - IPA. Bolsista da FACEPE.

Os efeitos benéficos da utilização de fungos micorrízicos-arbusculares (FMA) selecionados no desenvolvimento de numerosas plantas de importância econômica, incluindo plantas nativas usadas em revegetação de áreas degradadas, são relatados em inúmeras pesquisas. Considera-se que o principal efeito dos FMAs no desenvolvimento vegetal é o aumento na absorção de nutrientes, em especial os de baixa solubilidade (Siqueira & Franco, 1988). Mas diversos outros efeitos têm sido reconhecidos como potencialmente importantes, tais como resistência a doenças (Bagyaraj, 1986), interação com outros microrganismos benéficos, como o *Rhizobium* (Zambolim & Siqueira, 1985), produção de fitormônios (Abbott & Robson, 1986) e aumento na absorção de água e conseqüente redução de estresse hídrico (Sylvia & Jarstfer, 1992). Todavia, a utilização generalizada deste insumo biológico tem sido bastante limitada, pelo fato destes fungos somente esporularem em raízes metabolicamente ativas, e ainda não foi desenvolvida uma tecnologia aplicável à produção massal destes microrganismos.

O presente trabalho foi conduzido para avaliar a produção de propágulos (esporos) de FMA em um simples sistema aeropônico. O cultivo aeropônico utilizado permitiu o crescimento do sistema radicular suspenso em uma atmosfera altamente arejada com solução nutritiva (Tabela 1). Esporos selecionados das espécies de FMA, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Entrophospora colombiana*, obtidos de uma cultura pura através do método de peneiramento em via úmida e centrifugados em sacarose (45%) (Gerdemann & Nicolson, 1963), foram inoculados (30 esporos) em raízes de ramos esterilizados de batata-doce, cv. Co-Branca, que foram transplantadas para copos plásticos (250 ml) com um substrato sólido de solo + vermiculita (3:1 v/v) esterilizado a 120°C por uma hora, durante três dias consecutivos. Após 44 dias de cultivo, denominados de fase inicial, com aproximadamente 70% de colonização, as raízes foram lavadas, padronizadas em 15 cm de comprimento e acondicionadas no sistema aeropônico, constituído por um tanque Brasilit (1,0 m³) com aproximadamente 200 l de solução nutritiva que pulverizava através de um conjunto de microaspersores, mantendo o ambiente arejado durante um minuto, com intermitência de três minutos, automaticamente. Associado ao sistema, foi instalada uma fonte luminosa (GRO-LUX F-30T12) a 70 cm de altura das plantas para aumentar o fotoperíodo (20 horas) e estimular o crescimento e a multiplicação dos FMAs. A temperatura da casa de vegetação foi de aproximadamente 28°C durante o dia e 24°C à noite. A cada 14 dias de intervalo, duas plantas com inóculos de cada espécie de FMA foram sacrificadas para a avaliação da percentagem de colonização radicular e do número de esporos.

Os resultados são preliminares, uma vez que foi conduzida apenas a primeira fase do ensaio. Entretanto, os dados observados de percentagem de colonização radicular pelas espécies FMA (Tabela 2) demonstraram que, nos primeiros 28 dias de cultivo no meio aeropônico, as plantas sofreram um estresse de adaptação com redução na colonização radicular, sendo esta

TABELA 1. Composição química e concentração final da solução nutritiva utilizada no sistema aeropônico.

Solução/ estoque	Composição química	Concentração (g/L)	Quant. solução/ estoque (ml/L)
1	KH ₂ PO ₄ ; 0,01M	1,36	0,3
2	KNO ₃ ; 1M	101,11	1,5
3	Ca(NO ₃) ₂ ; 1M	236,15	1,5
4	NaFeEDTA; 0,1M	36,70	0,3
5	NaCl; 0,1M	5,84	0,45
6	MgSO ₄ ; 1M	246,48	0,6
7	H ₃ BO ₃ ; 50mM	2,86	0,3
	MnCl ₂ ·4H ₂ O; 1mM	1,81	
	ZnSO ₄ ·5H ₂ O; 0,7mM	0,22	
	CuSO ₄ ·5H ₂ O; 3mM	0,80	
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O; 0,07mM	0,016	

Solução nutritiva com pH 6,5 através da adição de KOH(10%) ou H₂SO₄ (20%)

Concentração final dos nutrientes

NUTRIENTE	N	P	K	Ca	Mg	S	Cl
CONC. (ppm)	62,8	0,093	58,7	60,1	14,5	19,2	1,79

NUTRIENTE	Na	Fe	B	Mn	Zn	Cu	Mo
CONC. (ppm)	1,72	1,60	0,15	0,15	0,015	0,006	0,0018

superior na espécie *E. colombiana*, variando de 82,5% a 15,0% do comprimento de raízes colonizadas em comparação com as demais espécies. Entretanto, após o período de adaptação, a porcentagem de colonização radicular aumentou consideravelmente, estabilizando-se aos 56 dias nas plantas inoculadas com *E. colombiana* e alcançando valores bastante significativos entre 56 e 98 dias. Quanto às espécies *G. etunicatum* e *G. margarita*, as taxas de colonização radicular sofreram um decréscimo substancial no período inicial de adaptação ao sistema, nos 28 dias iniciais. Contudo, a recuperação ao longo do ensaio em ambas as espécies não alcançou a taxa inicial de colonização. De acordo com Jarstfer & Sylvia (1992), a colonização das raízes pelo FMA é significativamente afetada pelo pH da solução, e geralmente este é ajustado tanto para o simbionte como para as espécies FMAs, levando-se em consideração a concentração de fósforo na solução.

Desta forma, o sistema aeropônico, provavelmente pode ser utilizado no crescimento de amplo número de espécies FMA; contudo, o pH deve ser modificado de acordo com o requerimento de cada espécie. Os baixos valores de colonização radicular obtidos com as espécies *G. etunicatum* e *G. margarita* e a alta colonização pela *E. colombiana*, com pH sempre mantido em torno de 6,5 e com 0,093 ppm de fósforo disponível na solução nutritiva, demonstraram as diferenças de exigências nutricionais destes fungos.

Tabela 2. Avaliação da percentagem de colonização e esporulação das espécies FMA na cultura da batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) em um sistema aeropônico.

Período (dias)	Espécies de FMA			Média
	<i>G. etunicatum</i>	<i>G. margarita</i>	<i>E. colombiana</i>	
% de colonização				
0 ¹	70,0	80,0	82,5	77,5 A
14	42,5	50,0	80,0	57,5 ABC
28	47,5	37,5	15,0	33,3 C
42	65,0	62,5	45,0	57,5 ABC
56	52,5	62,5	72,5	62,5 ABC
70	42,5	27,5	72,5	47,5 BC
84	55,0	45,0	65,0	55,0 ABC
98	55,0	52,5	82,5	63,3 AB
Média	53,8 a	52,2 a	64,4 a	
C.V.(%) = 19,18				
Nº de esporos/g MS de raiz				
0 ¹	13,0 aAB	3,8 aA	16,6 aDC	11,1 DC
14	0,0 aB	0,0 aA	0,0 aD	0,0 D
28	0,0 aB	0,0 aA	0,0 aD	0,0 D
42	17,3 aAB	5,0 aA	596,1 aBC	206,1 BC
56	66,8 aAB	25,4 aA	2755,4 aBC	949,2 ABC
70	218,9 aA	24,1 aA	5082,7 aAB	1775,2 AB
84	48,2 aAB	6,1 aA	1453,9 aBC	502,7 BC
98	722,2 bA	19,0 bA	156336,6 aA	52359,3 A
Média	135,8 b	10,4 c	20780,2 a	
C.V.(%) = 39,15				

¹ Tempo inicial, correspondente a 44 dias da fase de colonização das plantas em substrato sólido.

Valores seguidos da mesma letra maiúscula na mesma coluna ou em minúscula na mesma linha, não diferem significativamente entre si a 5%, pelo teste de Tukey. Média de duas repetições.

Possivelmente, dados reportados por Siqueira et al. (1989) vêm corroborar os dados alcançados, uma vez que a colonização radicular e a densidade de esporos das espécies são geralmente associados às características químicas da solução dos nutrientes no solo. Os autores reportaram maior ocorrência de *G. etunicatum* em solos com elevados níveis de fósforo, enquanto *E. colombiana* apresentou tendência inversa.

Em relação aos números de esporos recuperados (Tabela 2), os resultados evidenciaram queda significativa durante o período entre 14 e 28 dias de cultivo das espécies. No entanto, após esse período de adaptação ao sistema, a recuperação das plantas contribuiu para um aumento significativo do número de esporos recuperados, associado ao incremento do peso da matéria seca das raízes. A contagem do número de esporos recuperados no sistema radicular da espécie *E. colombiana* foi surpreendente, alcançando valores promissores de 5.082,7; 1.453,9 e 156.336,6 esporos por grama de matéria seca da raiz nos períodos de 70, 84 e 98 dias, respectivamente, após a adaptação ao sistema aeropônico. Hung & Sylvia (1988) reportaram que o ambiente altamente arejado por solução nutritiva, obtido com o sistema aeropônico, estimulou uma rápida e abundante esporulação de FMA. O cultivo aeropônico de *Paspalum notatum* inoculado com *Glomus mosseae* e *Glomus intraradices* resultou em superior colonização e esporulação em comparação ao usual, que utiliza jarros com substrato de solo misturado com vermiculita (Sylvia & Hubbell, 1986). Por outro lado, Sylvia & Jarstfer (1992), utilizando raízes de *Ipomoea batatas* colonizadas previamente com inóculo de *Glomus* sp., obtiveram mais de 135.000 propágulos por grama de matéria seca da raiz, com o cultivo aeropônico. Mas, para o uso efetivo da técnica de cultivo aeropônico na produção de inóculos de FMA, algumas questões precisam ser esclarecidas no que se refere a outras plantas hospedeiras e a outras espécies de fungos micorrízicos, como disponibilidade de fósforo e pH da solução nutritiva, uma vez que os resultados apresentados evidenciaram que a taxa de colonização radicular e o número de esporos recuperados nas espécies *G. margarita* e *G. etunicatum* foram relativamente inferiores ao esperado, demonstrando a necessidade de adequação da técnica aeropônica para essas espécies.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. The effect of VA mycorrhizae on plant growth. In: POWELL, C.L.; BAGYARAJ, D.J. **VA Mycorrhiza**. Boca Raton: CRC Press, 1986. p.113-130.
- BAGYARAJ, D.J. Biological interactions with VA mycorrhizal fungi. In: POWELL, C.L.; BAGYARAJ, D.J. **VA Mycorrhiza**. Boca Raton: CRC Press, 1986. p.131-153.
- 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**, Cambridge, v.46, n.2, p.235-244, 1963.

- HUNG, L.L.; SYLVIA, D.M. Production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus inoculum in aeroponic culture. **Applied & Environmental Microbiology**, v.54, n.2, p.353-357, 1988.
- JARSTFER, A.G.; SYLVIA, D.M. **The production and use of aeroponically grown inocula of VAM fungi in the native plant nursery**. Gainesville: University of Florida, 1992. 14p.
- SYLVIA, D.M.; HUBBELL, D.H. Growth and sporulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in aeroponic and membrane systems. **Symbiosis**, v.1, p.259-267, 1986.
- SYLVIA, D.M.; JARSTFER, A.G. **The production and introduction of arbuscular mycorrhizal fungi in the native plant nursery**. Florida: Florida Agricultural Experiment Station, 1992. 16 p. (Florida Agricultural Experiment Station Journal Series, R-02398).
- SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI-FILHO, A.; OLIVEIRA, E. Ocorrência de micorrizas vesicular-arbusculares em agroecossistemas do Estado de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 24, n.12, p.1499-1506, 1989.
- SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. **Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC/ABEAS/ESAL/FAEPE, 1988. 236p.
- ZAMBOLIM, L.; SIQUEIRA, J.O. **Importância e potencial das associações micorrízicas para a agricultura**. Belo Horizonte: EPAMIG, 1985. 36p. (EPAMIG. Documentos, 26).