

## Estabelecimento de Metodologia para Análise e Quantificação da Colonização por Fungo Micorrízico Arbuscular em Milho

**Amanda Bianchi da Silva Gonçalves<sup>(1)</sup>; Eliane Aparecida Gomes<sup>(2)</sup>; Ubiraci Gomes de Paula Lana<sup>(3)</sup>; Sylvia Moraes de Sousa<sup>(2)</sup>; Claudia Teixeira Guimarães<sup>(2)</sup>**

<sup>(1)</sup> Estudante do Curso de Agronomia da Universidade Federal de São João Del-Rei, Sete Lagoas, MG, amanda.bianchi@yahoo.com; <sup>(2)</sup> Pesquisador Embrapa Milho e Sorgo; <sup>(3)</sup> Analista Embrapa Milho e Sorgo.

**RESUMO:** A interação das raízes com fungos micorrízicos arbusculares é um dos principais mecanismos para aumentar a eficiência na aquisição de fósforo e de outros nutrientes pelas plantas. A cultura de milho é altamente dependente de adubação fosfatada, sendo um dos nutrientes mais limitantes para a sua produtividade. Assim, o objetivo desse trabalho foi estabelecer uma metodologia para análise e quantificação da colonização micorrízica em milho visando a caracterização futura de genótipos contrastantes quanto à eficiência na aquisição de fósforo. Plantas de milho com 30 dias de plantio em condições de campo foram utilizadas, cujas raízes finas foram tratadas e coradas com trypan blue. Fragmentos de raízes foram visualizadas em lupa estereoscópica, Zeiss AXIO Zoom V16. A metodologia proposta permitiu a visualização de todas as estruturas da colonização micorrízica nas células corticais de raízes de milho, incluindo hifas, vesículas e arbúsculos. Assim, novos experimentos serão delineados visando a quantificação da colonização micorrízica em genótipos de milho.

**Termos de indexação:** micorriza, deficiência de fósforo, FMA.

### INTRODUÇÃO

O Brasil é um país eminentemente agrícola, com destaque na produção de milho (*Zea mays* L.), gramínea pertencente à família Poaceae. O milho é um cereal de grande importância econômica e social para o Brasil, que é o terceiro maior produtor mundial, com a produção de mais de 84 milhões de toneladas na safra 2014/15 (CONAB, 2016).

Para que o milho atinja boa produtividade é necessário que suas exigências nutricionais sejam supridas. Essa cultura requer grande fornecimento de nutrientes, sendo o fósforo um nutriente em destaque, pois este participa de processos como a fotossíntese, respiração e transferência de energia da célula, além de compor ácidos nucleicos e

fosfolipídeos (Grant et al., 2001). O que limita o fornecimento deste nutriente para a cultura é a sua baixa disponibilidade no solo, devido à pouca solubilidade e sua grande interação com as argilas do solo (Klein, 2012). Deste modo, uma alta adubação fosfatada é necessária para atender à demanda da cultura.

Para vencer as limitações de fósforo no solo, as plantas conseguem desenvolver mecanismos que aumentam a eficiência na absorção desse nutriente. Dentre eles, destacamos as mudanças no sistema radicular, modificações químicas na rizosfera e interações com microrganismos (Vance & Chiou, 2011). A interação das raízes das plantas com os microrganismos é de grande importância para que haja um aumento da eficiência na absorção de fósforo. Os fungos micorrízicos arbusculares são os microrganismos que fazem esta interação benéfica à planta (Berbara et al., 2006). Estes microrganismos produzem hifas longas e finas que interagem com as raízes possibilitando a exploração de um maior volume de solo e, conseqüente, uma maior absorção de fósforo (Moreira & Siqueira, 2006).

Assim, o objetivo deste trabalho foi estabelecer uma metodologia para análise e quantificação da interação micorrízica visando a caracterização futura de genótipos de milho contrastantes quanto à eficiência na aquisição de fósforo.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Análise da colonização micorrízica

O sistema radicular completo de genótipos de milho com 30 dias de plantio foi coletado em condições de campo na área experimental da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, no período de março a julho de 2016.

As raízes finas foram retiradas e mantidas em solução de KOH 10% por 30 minutos à 90°C em becker de 50 mL. Em seguida, o material lavado e incubado em uma solução de HCl, 0,3 M por 30 minutos, sendo então adicionado o corante trypan

blue 0,1% por 8 minutos à 90°C. O corante foi removido e as raízes foram transferidas para placas contendo glicerol 50%.

As raízes foram dispostas linearmente em lâminas de microscópio, sendo colocados dez fragmentos de raízes por lâmina. Cada um dos fragmentos foi dividido em dez partes com o propósito de facilitar a visualização da presença ou ausência dos fungos micorrízicos. As raízes foram visualizadas e fotografadas em lupa estereoscópica Zeiss AXIO Zoom V16.

### Análise dos esporos dos fungos micorrízicos

Depois de separar as raízes, uma amostra de 100 gramas de solo foi retirada e separada em peneiras de 0,53 mm/μm e 4,25 mm/μm. O solo retido na peneira de 0,53 mm/μm foi centrifugado a 3000 rpm por 3 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e ao solo contido nos tubos foi adicionada uma solução de sacarose a 65%, sendo centrifugado novamente a 2000 rpm por 2 minutos. Terminado o processo, os esporos retidos na solução de sacarose foram peneirados e contados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A metodologia proposta permitiu a visualização de todas as estruturas da colonização micorrízica em genótipos de milho, incluindo hifas, vesículas e arbúsculos (Figura 1). As vesículas possuem um formato arredondado e podem estar localizadas dentro ou fora da célula (Figura 1A). Elas possuem grandes quantidades de lipídeos em seu interior, sendo assim órgãos de reserva energética do próprio fungo (Hoffmann, 2006). As vesículas e os arbúsculos se formam a partir das hifas (Figura 1B), que atuam como extensão das raízes e possuem grande capacidade de ramificação, exploram o solo em regiões onde as raízes não alcançam.

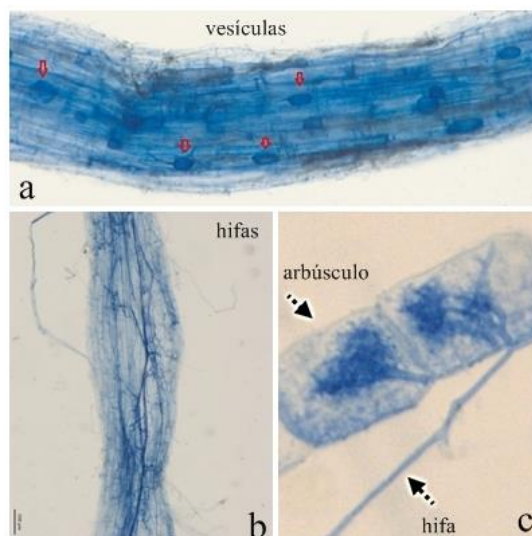
Os arbúsculos (Figura 1C) são estruturas intracelulares que se originam da hifa quando esta penetra nas células corticais. Eles permanecem, em sua forma por pouco tempo, 4 a 5 dias (Hoffmann, 2006). Após este período, o arbúsculo sofre degeneração e a célula tem sua atividade retomada. Fisiologicamente, o arbúsculo é a principal estrutura da simbiose entre o fungo e a planta, uma vez que são responsáveis pela troca de metabólitos.

As plantas sob condições de campo, mesmo cultivadas com níveis suficientes de adubação fosfatada, apresentaram boa taxa de colonização de fungos micorrízicos, o que alguns estudos demonstram o contrário. No estudo de Carneiro et al. (2011), a medida em que se aumenta as doses de fósforo a colonização do fungo na raiz diminui, bem como a densidade de esporos.

Após a análise dos esporos, foi observada uma grande diversidade morfológica de fungos

micorrízicos no solo do campo, sugerindo a existência de várias espécies mesmo em condições de campo com cultivo intensivo de milho.

O presente trabalho é uma prévia de outros experimentos. Condições em casa de vegetação e no campo estão sendo adaptadas para testes com outras linhagens de milho e diferentes doses de fósforo.



**Figura 1.** Estruturas do fungo micorrízico arbuscular em células corticais de raízes de milho cultivado em condições de campo. (a) vesículas, (b) hifas e (c) detalhe do arbúsculo e da hifa.

## CONCLUSÕES

A metodologia apresentada foi adequada para visualizar todas as estruturas da interação micorrízica e será utilizada na caracterização de genótipos de milho contrastantes para a aquisição de fósforo.

Mesmo em condições de alta concentração de fósforo no solo, os genótipos de milho apresentaram boa porcentagem de colonização por fungos micorrízicos arbusculares.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Embrapa, CNPq e Fapemig pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

BERBARA, R. L. L.; de SOUZA, F. A.; FONSECA, H. M. A. C. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). **Nutrição Mineral de Plantas**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2006. p. 54-85.



CARNEIRO, R. F. V.; MARTINS, M. A.; ARAÚJO, A. S. F.; NUNES, L. A. P. L. Phosphorus fertilization and arbuscular mycorrhizal inoculation in culture of mixed forages. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v.60, p. 232, p. 1191-1202, 2011.

CONAB - Companhia nacional de abastecimento. Safra 2014/15. Disponível em <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_08\\_18\\_10\\_30\\_18\\_boletim\\_graos\\_agosto\\_2015.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_08_18_10_30_18_boletim_graos_agosto_2015.pdf)>. Acesso em 29 de junho de 2016.

GRANT, C. A.; FLATEN, D. N.; TOMASIEWICZ, D. J.; SHEPPARD, S. C. The importance of early season phosphorus nutrition. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 85, 18-23, 2001.

KLEIN, C.; AGNE, S. A. A. Fósforo: de nutriente a poluente! **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 8, n. 8, p. 1713-1721, 2012.

MOREIRA, F. S.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e bioquímica do solo. 2.ed. Lavras: UFLA, 2006

VANCE, C. P.; CHIOU, T. J. Phosphorus focus editorial. **Plant Physiology**, v. 156, p. 987–988, 2011.



## XXXI CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO

"Milho e Sorgo: inovações,  
mercados e segurança alimentar"

---