

Diversidade Molecular de Fungos Micorrízicos Arbusculares na Rizosfera de Adubos Verdes Adubados com Pó de Rocha no Cerrado

Amanda A. O. Neves², Jéssica A. A. Silva¹, Márcia C. R. Oliveira¹, Eliane A. Gomes³; Antônio M. Coelho³; Antônio C. de Oliveira³ e Ivanildo E. Marriel³

¹Centro Universitário de Sete Lagoas, Av: Marechal Castelo Branco, 2765, Sete Lagoas-MG.

²Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, CP. 151, CEP 35701-970, Sete Lagoas-MG.

³Pesquisador, Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo imarriel@cnpmis.embrapa.br

Palavras-chave: Micorrizas, Rochas Silicáticas, Adubo Verde, Cerrado.

O potássio é um dos macronutrientes essenciais exigido em maiores quantidades pelas culturas e o Brasil importa cerca de 90% dos fertilizantes potássicos na forma de cloreto de potássio, criando instabilidade à produção agrícola.

Em sistemas agroecológicos, em particular, uma alternativa promissora para o fornecimento de potássio consiste no uso de rochas silicáticas. Essas rochas são oriundas de resíduos de mineração e apresentam diferentes características mineralógicas, que variam na concentração e nível de disponibilidade de macronutrientes, micronutrientes e de metais pesados. Dentre as práticas agrícolas que podem otimizar a eficiência agrônômica de rochas silicáticas, destaca-se o cultivo de leguminosas herbáceas para adubação verde consideradas eficientes na solubilização de rochas, além de sua capacidade de melhorar a qualidade biológica do solo, através do processo de fixação biológica de N₂ e outros efeitos indiretos sobre a biota do solo (Sieverding, 1991; Espindola, 2005). Os efeitos benéficos da adubação verde sobre a propagação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) no solo e na planta têm sido demonstrados em diversos trabalhos (Abbott & Robson, 1994), bem como sobre o incremento da diversidade de espécies em geral. A presença de FMA no solo favorece o aporte de macro- e micronutrientes, tendo como uma de suas funções a transferência rápida dos nutrientes imobilizados no solo até as plantas. De modo geral, FMA formam uma das simbioses mais comuns com plantas no globo (Read, 1997; Barea et al., 2005); além de atuarem como indicadores de qualidade do solo. Atualmente, métodos de biologia avançada, baseados na análise de DNA via PCR-DGGE (Muyzer, 1998) têm contribuído para esclarecer a diversidade genética e afiliação filogenética de FMA em amostras ambientais complexas. O avanço no conhecimento da interação de FMA, adubos verdes e pó de rocha contribuirá para otimização de práticas agrícolas desejáveis do ponto agrícola e ambiental, especialmente em sistemas de produção orgânica.

Este trabalho objetivou avaliar o impacto da aplicação de rochas silicáticas sobre a estrutura de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na rizosfera de plantas usadas como adubos verdes e a influência de diferentes adubos verdes sobre a composição da população nativa de FMA em solo de cerrado.

O experimento foi instalado na área experimental da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG, em LATOSSOLO VERMELHO Distrófico, fase cerrado. Foram testados

doze tratamentos, constituídos de três espécies de adubos verdes (Feijão de Porco, Mucuna e Crotalária), três fontes de potássio (cloreto de potássio, pó de rocha Brecha e pó de rocha Biotita Xisto), além dos tratamentos controle, sem adição de potássio. O potássio foi aplicado em doses equivalentes a 300 kg/ha de K_2O , nas fontes testadas. Utilizou-se delineamento experimental de blocos casualizados (DIC), com três repetições. Para a análise molecular da diversidade FMA, utilizaram-se amostras de solo rizosférico obtidas a partir de solo aderido às raízes de cada espécie de planta. Amostras de DNA total foram extraídas de 500 mg de solo, utilizando-se o “Fast Kit DNA for soil” BIO 101, de acordo com recomendações do fornecedor destes reagentes. Os fragmentos foram amplificados primeiramente utilizando-se os primers universais para fungos, NS1e NS2. Em um segundo PCR (“nested” PCR), efetuou-se a amplificação com primers universais para FMA, AM1e NS31, acrescido de uma sequência CG. A eletroforese foi realizada em uma unidade de DGGE da Biorad (Richmond, USA), sendo os produtos de PCR aplicados em gel contendo 6% de poliacrilamida. O gradiente de desnaturantes (uréia e formamida deionizada) foi de 25% a 50%. As condições da eletroforese foram de 16h a 60°C e 70V. Após a eletroforese, o gel foi corado por solução de Nitrato de Prata a 2% e fotografado em fotodocumentador Stratagene modelo Eagle Eye II. Para o agrupamento de dados e a construção do dendrograma, utilizou-se o método de médias de distâncias genéticas (UPGMA -“unweighted pair-group average”) e o coeficiente de Jaccard, obtidos através do software Ntsys-pc, versão 2.1t.

Como resultados dos perfis de amplicons no DGGE, (figura 1), obtido através da amplificação do DNA total extraído da rizosfera de adubos verdes (feijão de porco, crotalária e mucuna) em diferentes fontes e doses de potássio, observou-se variação na estrutura das comunidades de FMA. De modo geral, a diversidade genética observada, número de amplicons, foi superior nos tratamentos envolvendo a crotalária, especialmente, nas plantas cultivadas na ausência de aplicação de potássio (zero de K_2O), sugerindo estímulo de FMA pelo estresse do nutriente. As fontes e doses de potássio apresentaram pouco efeito sobre a diversidade, pois resultaram em número similar, entre seis e sete, de amplicons. Silva, (2007), em estudo da caracterização de FMA, observou a ocorrência exclusiva de espécies de FMA associados à Crotalária, que também sugeriram influência do hospedeiro e das condições do solo sobre comunidades de FMA. De acordo com Siqueira e Saggin-Júnior (1995), a simbiose de plantas com FMA torna-se mais importante sob condições nutricionais adversas para o desenvolvimento das plantas. Na presença de Feijão de Porco e de mucuna, houve semelhança entre os perfis, com pouca diversidade, independente de fontes e doses de potássio. O dendrograma obtido para as amostras através da análise do agrupamento hierárquico indicou a existência de três grupos principais: (i) grupo A, constituído pelas amostras dos tratamento 1, plantas de feijão de porco cultivadas na presença de biotita xisto; (ii) Grupo B, constituído de amostras dos tratamentos: feijão de porco com brecha; feijão de porco na ausência de potássio; feijão de porco, com 150 kg/ha de K_2O ; crotalária, com biotita xisto; crotalária, com brecha e (iii) grupo C, formados pelos demais tratamentos, incluindo mucuna e crotalária sem e com cloreto de potássio. Observa-se, com algumas exceções, que os agrupamentos ocorreram independente de fontes de doses de potássio, sugerindo efeitos mais acentuados das plantas hospedeiras sobre a diversidade de FMA. Dados de outras pesquisas também demonstram maior influência da planta na ocorrência e abundância relativa dos FMA do solo (Abbott, & Robson, 1994).

Tabela 1. Descrição de tratamentos constituídos de adubo verde, fontes e doses de potássio).

Tratamento	Adubo verde	Fontes	Doses(kg/ha)
T1	Feijão de porco	biotita xisto	3000
T2	Feijão de porco	Brecha	6000
T3	Feijão de porco	KCl	0
T4	Feijão de porco	KCl	300
T5	Crotalária	biotita xisto	3000
T6	Crotalária	biotita xisto	6000
T7	Crotalária	KCl	0
T8	Crotalária	KCl	300
T9	Mucuna	biotita xisto	3000
T10	Mucuna	biotita xisto	6000
T11	Mucuna	KCl	0
T12	Mucuna	KCl	300

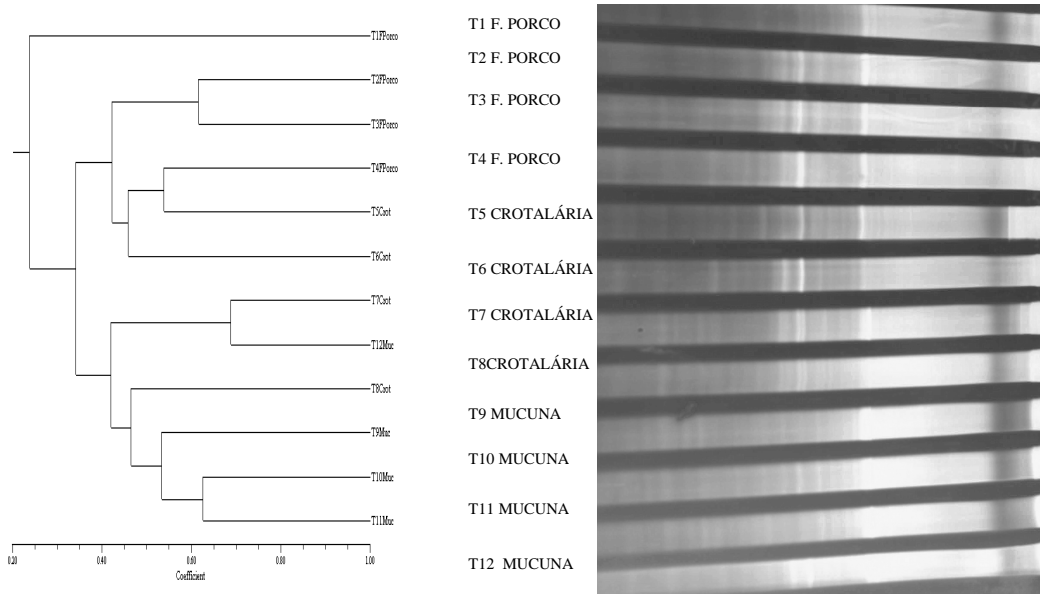


Figura 1. Dendrograma construído representando a distância genética da árvore obtidos com os primers gerais AM1 e NS31 para família de FMA em amostras de solo rizosférico de adubos verdes, com diferentes fontes e doses de K_2O .

Concluiu-se que: (i) a comunidade de FMA sofre maior influência da planta hospedeira do que do tipo do pó de rocha; (ii) Houve alterações na estrutura da comunidade de FMA em função da espécie da planta hospedeira e da fonte de potássio.

Referências bibliográficas

ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. The impact of agricultural practices on mycorrhizal fungi. In: PANKHURST, C.E.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R.; GRACE, P.R. (Ed.). Soil biota: management in sustainable farming systems. Victoria, Australia: CSIRO, 1994. p.88-95.

BAREA, J.M.; POZO, M.J.; AZCÓN, R.; AZCÓN-AGUILAR, C. Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, v.56, p.1761-1778, 2005.

ESPINDOLA, J. A. A.; GUERRA, J. G. M.; ALMEIDA, D. L. Uso de leguminosas herbáceas para adubação verde. In: Aquino, A. M. de; ASSIS, R. L. de (Ed.). *Agroecologia - Princípios e técnicas para uma agricultura orgânica sustentável*. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 435 - 451.

MUYZER, G.; SMALLA, K. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology Springer Netherlands Journal. Volume 73, Number 1 / January, 1998. P. 127-141

SIEVERDING, E. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Eschborn, Fed. Rep. of Germany: Friedland Bremer, 1991. 371p.

SILVA, L.X.; FIGUEIREDO, M.V.B.; SILVA, G.A.; GOTO, B.T.; OLIVEIRA, J.P.; BURITY, H.A. Fungos Micorrízicos Arbusculares em Áreas de Plantio de Leucena e Sábila no Estado de Pernambuco. *Revista Àrvore*, maio-junho, año/vol. 31, número 003. Sociedade de Investigações Florestais. Viçosa, Brasil. pp.427-435.

SIQUEIRA, J.O.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J. The importance of mycorrhizae association in natural low-fertility soils. In: MACHADO, A.T.; SILVA, A. F. (Ed.) *International symposium on environmental stress: maize in perspective*. México: EMBRAPA/CNPMS/CIMMYT/UNDP, 1995.p.240-280.

Van der HEIJDEN, M.G.^a; KLIRONOMOS, J.N.; URSIC, M. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, v.396, n.5, p.69-72, Nov. 1998b.