



UTILIZAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES COMO POTENCIAIS MITIGADORES DOS EFEITOS DE SECA SOBRE PLANTAS EM CENÁRIOS DE MUDANÇA CLIMÁTICA

JULIA MURIANO PELISSARI; KAIO MURILO LEITE; ELZA GUIMARÃES;
PRISCILA TEIXEIRA TUNES

RESUMO

A mudança climática está provocando alterações significativas em diversos ecossistemas, principalmente devido às mudanças no regime de chuvas. As espécies vegetais podem ser severamente afetadas pela seca, o que pode, por sua vez, afetar a produção de alimentos e a segurança alimentar, bem como a manutenção dos ecossistemas naturais. Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são microrganismos que aumentam a resistência das plantas às mudanças ambientais, ao facilitar a absorção de nutrientes e água, especialmente em condições de estresse hídrico. Para investigar como a seca pode influenciar no crescimento dos FMA, utilizamos a espécie *Gigaspora margarita* em diferentes substratos, visando ao estabelecimento da interação com uma das hortaliças mais cultivadas e economicamente relevantes no Brasil, a abobrinha italiana (*Cucurbita pepo* L.). A justificativa para a pesquisa reside na necessidade de entender como a seca pode afetar essa simbiose, em vista de sua importância para a agricultura. O objetivo principal foi avaliar a colonização micorrízica de acordo com mudanças na irrigação e no substrato utilizado para cultivo. O experimento foi realizado em casa de vegetação, utilizando dois substratos: Carolina Soil® e uma mistura de Latossolo vermelho com areia. As plantas foram submetidas a diferentes regimes de irrigação, irrigação diária e seca extrema, com e sem inoculação de *G. margarita*. Não houve colonização micorrízica por *G. margarita* em nenhum dos substratos testados. A ausência de colonização pode ser atribuída a características físico-químicas desfavoráveis dos substratos, como o alto teor de fósforo, pH e a porosidade excessiva. Nossos resultados experimentais mostram a importância das propriedades dos substratos para favorecer uma colonização micorrízica eficaz e para podermos estabelecer essa interação como uma medida de mitigação dos efeitos da seca em condições de cultivo em cenários futuros.

Palavras-chave: *Gigaspora margarita*; micorrizas arbusculares; seca; segurança alimentar; simbiose.

1 INTRODUÇÃO

As mudanças ambientais estão impactando os ecossistemas agrícolas em todo o mundo, principalmente através de mudanças na precipitação (Wolowski *et al.*, 2019). A seca pode afetar o desenvolvimento das plantas (Knapp *et al.*, 2002; Morecroft *et al.*, 2004; Bunker; Carson, 2005) e dos microrganismos do solo (Waring; Hawkes, 2015; Zhang *et al.*, 2015a), impactando diretamente o funcionamento dos ecossistemas e a produção de alimentos. Alterações na composição e atividade dos microrganismos do solo podem modificar as taxas de decomposição e ciclagem de nutrientes, prejudicando a fertilidade do solo, e consequentemente, a produção agrícola (Smith; Smith, 2007; Treseder, 2008). A

redução da biodiversidade microbiana também pode diminuir a resiliência dos ecossistemas, tornando-os mais suscetíveis a estresses ambientais (Bardgett; van der Putten, 2014). Assim, as mudanças climáticas afetam as interações entre plantas e microrganismos, o que pode causar a redução da produção de alimentos e a instabilidade dos ecossistemas.

Dada a importância do cenário atual e as projeções de redução na precipitação devido à mudança climática (IPCC, 2021), torna-se crucial buscar soluções mais sustentáveis para a produção de alimentos (Reddy; Hodges, 2000). Nesse cenário, os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) podem ser grandes aliados no combate dos efeitos negativos das mudanças climáticas, pois eles são microrganismos do solo que desempenham um papel crucial na adaptação das plantas a condições de seca. Estes fungos estabelecem simbiose com as raízes de cerca de 80% das espécies vegetais terrestres (Smith; Read, 2008), promovendo a distribuição mais eficiente dos recursos no ambiente e contribuindo para a resistência das plantas à seca (Becker, 1976). Assim, os FMA desempenham um papel fundamental na manutenção dos ecossistemas e no suporte às populações vegetais (Read, 2002) e podem desempenhar um papel ainda mais relevante nos futuros cenários de seca previstos pelo IPCC (2023), tendo potencial para serem introduzidos em cultivos agrícolas buscando aumentar sua tolerância às condições de seca (Berruti *et al.*, 2016).

Diante das transformações ambientais que já enfrentamos e que iremos enfrentar no futuro, entender como as propriedades dos substratos influenciam o estabelecimento de FMA pode oferecer novas perspectivas para uma agricultura mais sustentável e resiliente. Neste sentido, a promoção de práticas agrícolas sustentáveis, como o uso de FMAs, está diretamente alinhada com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) estabelecidos pela Organização das Nações Unidas (ONU). Práticas sustentáveis são fundamentais para atingir o ODS 2, que visa acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar, melhorar a nutrição e promover a agricultura sustentável (ONU, 2015). Esforços nesse sentido também contribuem para o ODS 15, que incentiva a proteção, restauração e o uso sustentável dos ecossistemas terrestres e a reversão da degradação dos solos (ONU, 2015). Sendo assim, este trabalho visa comparar o sucesso da colonização por FMA em dois substratos distintos em condições de seca e de irrigação abundante, visando sua futura utilização para o cultivo de uma espécie vegetal agrícola modelo, como possível mitigadora dos efeitos da seca.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste trabalho e de seus desdobramentos futuros utilizamos *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae) cultivar Caserta, conhecida como abobrinha italiana, que é uma dentre as dez hortaliças de maior produção e maior valor econômico no Brasil (Torezani, 2015). Essa espécie vegetal pode estabelecer interação com FMA (Becker; Hall, 1976), como *Gigaspora margarita*, uma espécie cosmopolita de FMA (Stürmer *et al.*, 2018).

O experimento foi conduzido em casa de vegetação. Os substratos utilizados foram Carolina Soil® e uma mistura de 1:1 de Latossolo vermelho e areia. De acordo com as especificações do fabricante, o substrato Carolina Soil® é composto por turfa de *Sphagnum* sp., vermiculita expandida, calcário dolomítico, gesso agrícola e traços de fertilizante NPK. Ele apresenta porosidade total de 76%, pH de 5,65; P = 20 mg/dm³; Cu = 0,05 mg/kg; Fe = 0,25 mg/kg; Mn = 0,08 mg/kg; B = 0,02 mg/kg; Mo = 0,01 mg/kg e Zn = 0,05 mg/kg.

O outro substrato utilizado (Latossolo vermelho e areia) é composto por 852 g/kg de areia, 136 g/kg de argila e 11 g/kg de silte. Ele apresenta pH de 4,3; P: 2 mg/dm³; Ca: 1 mmolc/dm³; Mg: 1 mmolc/dm³; Al³⁺: 3 mmolc/dm³; H + Al³⁺: 21 mmolc/dm³; Capacidade de troca catiônica (CTC): 23 mmolc/dm³.

Para garantir que os substratos não contivessem nenhuma espécie de FMA *a priori*

da inoculação experimental, eles foram autoclavados a 121°C por 1 hora, e depois foram transferidos para sacos de cultivo de 6 L, que foram separados em dois grupos, um com cada tipo de substrato ($n = 80$ vasos). Em cada vaso foi inoculado 2,13 g de solo-inóculo de *G. margarita* (aproximadamente 100 esporos), cobertos por 5,0 cm de substrato, acima do qual foram plantadas 3 sementes de *C. pepo*. Mantivemos os substratos irrigados até sua capacidade de campo. O volume de água necessário para atingir a capacidade de campo dos substratos foi medido após 24 horas de descanso, e a média dos valores obtidos foi utilizada para a rega durante a fase de germinação e estabelecimento das plântulas de todos os tratamentos.

Após o surgimento dos primeiros eófilos de *C. pepo*, as plantas foram designadas a distintos tratamentos de irrigação. Os tratamentos aplicados foram: Tratamento 1, substrato sem FMA, com irrigação diária, mantendo o solo na capacidade de campo; Tratamento 2, substrato com inóculo de *G. margarita* que também recebeu irrigação diária até a capacidade de campo; Tratamento 3, substrato sem FMA, em que não ocorre irrigação até que as plantas passassem a exibir sinais de murcha, quando estas são então irrigadas até atingir a capacidade de campo do substrato, simulando condições de seca extrema; e Tratamento 4, substrato com inóculo de *G. margarita* também submetido à condição de seca extrema.

Ao final do experimento, após o período de florescimento, parte do sistema radicular foi retirado de cada indivíduo, lavado em água corrente e conservado em solução AFA (ácido acético glacial, formol, álcool etílico e água destilada, na proporção volumétrica de 1:5:20:40), para posterior avaliação da colonização radicular (Melloni, 1996).

Para a avaliação da colonização radicular, utilizamos o protocolo proposto por Phillips e Hayman (1970). Lavamos as raízes em água corrente para retirada do AFA e submergimos as amostras em solução de KOH 10% por 1 hora a 90°C. Lavamos as amostras em água corrente novamente e as submergimos em solução de HCl 1% por 10 minutos. A seguir as amostras foram coradas com azul-de-tripano 0,05% (massa/volume) em lactoglicerol (1:1:1- ácido láctico, glicerol, água) em estufa a 90°C, por 15 minutos, sendo o excesso do corante descartado após o procedimento.

As raízes coradas foram seccionadas em porções de aproximadamente dois centímetros de comprimento. Montamos, em Polivinil-Lactoglicerol (PVLG), três segmentos das raízes de cada planta entre lâmina e lamínula. Para avaliar a intensidade de colonização radicular, utilizamos microscópio óptico seguindo o procedimento “*Slide method*” proposto por Giovannetti e Mosse (1980), que consiste em analisar o segmento de raiz em posições aleatórias e atribuir uma nota entre 0 e 100 de acordo com o grau de intensidade da colonização.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostraram que não houve colonização micorrízica por *Gigaspora margarita* em nenhum dos substratos testados, tanto o Carolina Soil® quanto a mistura de Latossolo vermelho com areia, sob nenhum dos regimes de irrigação. Essa ausência de colonização pode ser atribuída a diversas características físico-químicas dos substratos que possivelmente criaram um ambiente desfavorável para o estabelecimento da simbiose.

Carolina Soil é um substrato amplamente utilizado em experimentos de cultivo por suas propriedades físicas e químicas equilibradas, mas sua composição pode não ter sido ideal para a colonização por *G. margarita*. Além disso, o pH de 5,65, ligeiramente ácido, pode não ter sido suficientemente baixo para inibir a atividade microbiana competitiva que poderia suprimir a colonização micorrízica (Rousk *et al.*, 2009).

O fator que pode ter sido mais crítico, no entanto, é o teor de fósforo ($P = 20 \text{ mg/dm}^3$)

presente no substrato. Nesse cenário, os indivíduos de *Cucurbita pepo* podem ter tido acesso suficiente a fósforo diretamente do substrato, diminuindo a necessidade de associação com *G. margarita*. É bem documentado que altos níveis de fósforo podem desencorajar a simbiose entre plantas e FMA, já que as plantas tendem a reduzir a dependência dos fungos micorrízicos quando o fósforo é abundante no solo (Smith; Read, 2008). Além disso, a presença de micronutrientes em pequenas quantidades, como Zn (0,05 mg kg⁻¹), Fe (0,25 mg kg⁻¹), e Cu (0,05 mg kg⁻¹), poderia ter contribuído para a homeostase nutricional das plantas (Hänsch; Mendel, 2009), minimizando ainda mais a necessidade da simbiose.

No caso do Latossolo vermelho com areia, o pH é consideravelmente mais ácido (4,3) do que o do Carolina Soil®, o que pode ter contribuído para a ausência de colonização. Solos muito ácidos são conhecidos por aumentarem a solubilidade do alumínio (Al³⁺ = 3 mmolc/dm³), que pode ser altamente tóxico tanto para as plantas quanto para os FMA. A toxicidade do alumínio pode interferir na germinação dos esporos de FMA e na extensão das hifas, dificultando o estabelecimento da simbiose (Clark *et al.*, 1999).

Além disso, o Latossolo vermelho possui uma baixa capacidade de troca catiônica (CTC = 23 mmolc/dm³), indicando uma baixa capacidade de retenção de nutrientes, o que poderia limitar a disponibilidade de nutrientes essenciais para o crescimento dos FMA. A baixa concentração de fósforo disponível (P = 2 mg/dm³) poderia, em princípio, favorecer a associação micorrízica; no entanto, a acidez extrema e a baixa fertilidade geral do solo, agravadas pela mistura com areia, podem ter criado condições muito adversas para o desenvolvimento de *G. margarita*. A areia, enquanto melhora a drenagem, também pode ter reduzido a capacidade de retenção de água do substrato (Beck-Broichsitter *et al.*, 2023), o que é crucial para o crescimento das hifas micorrízicas e a formação de estruturas simbióticas estáveis (Smith; Read, 2008).

4 CONCLUSÃO

Dada a ausência de colonização observada, é provável que tanto o substrato comercial Carolina Soil® quanto o Latossolo vermelho misturado com areia apresentem restrições físicas e químicas significativas para o estabelecimento da simbiose micorrízica. Esses resultados ressaltam a importância de ajustar as propriedades dos substratos e as condições experimentais para criar um ambiente propício ao desenvolvimento dos FMA. Isso pode incluir a modulação do pH, a redução dos níveis de fósforo, e a melhoria da retenção de água nos substratos, visando promover a colonização micorrízica mais efetiva e, consequentemente, permitindo a avaliação dos efeitos dessa simbiose na produção de *Cucurbita pepo* sob condições normais e de seca.

REFERÊNCIAS

BARDGETT, R. D.; VAN DER PUTTEN, W. H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. **Nature**, v. 515, p. 505–511, 2014

BECKER, W. N.; HALL, I. R. *Gigaspora margarita*, a new species in the Endogonaceae. **Mycotaxon**, v. 4, n. 1, p. 155–160, 1976

BECK-BROICHSITTER, S.; RIZVI, Z.; HORN, R.; WUTTKE, F. Effect of gravel content on soil water retention characteristics and thermal capacity of sandy and silty soils. **Journal of Hydrology and Hydromechanics**, v. 71, p. 1–10, 2023. doi:10.2478/johh-2023-0001

BELLGARD, S. E.; WILLIAMS, S. E. Response of mycorrhizal diversity to current climatic changes. **Diversity**, v. 3, n. 1, p. 8–90, 2011

BERRUTI, A.; LUMINI, E.; BALESTRINI, R.; BIANCIOTTO, V. Arbuscular mycorrhizal fungi as natural biofertilizers: Let's benefit from past successes. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, 2016. doi:10.3389/fmicb.2015.01559

BUNKER, D. E.; CARSON, W. P. Drought stress and tropical forest woody seedlings: effect on community structure and composition. **Journal of Ecology**, v. 93, p. 794–806, 2005. doi:10.1111/j.1365-2745.2005.01019.x

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, v. 84, n. 3, p. 489–500, 1980

HÄNSCH, R.; MENDEL, R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, n. 3, p. 259–266, 2009. doi:10.1016/j.pbi.2009.05.006

IPCC. *Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Masson-Delmotte, V., Zhai, P., Pirani, A., Connors, S. L., Péan, C., Berger, S., Caud, N., Chen, Y., Goldfarb, L., Gomis, M. I., Huang, M., Leitzell, K., Lonnoy, E., Matthews, J. B. R., Maycock, T. K., Waterfield, T., Yelekçi, O., Yu, R., Zhou, B. (eds.)]. Cambridge: Cambridge University Press, 2021. doi:10.1017/9781009157896

KNAPP, A. K. et al. Rainfall variability, carbon cycling, and plant species diversity in a mesic grassland. **Science**, v. 298, p. 2202–2205, 2002. doi:10.1126/science.1076347

MANTOVANI, E. C.; BERNARDO, S.; PALARETTI, L. F. Irrigação: princípios e métodos. 3. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2009. 355 p

MELLONI, Rogerio. *Quantificação de micélio extrarradicular de fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas*. 1996. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996

MORECROFT, M. D. et al. Changing precipitation patterns alter plant community dynamics and succession in an ex-arable grassland. **Functional Ecology**, v. 18, p. 648–655, 2004. doi:10.1111/j.0269-8463.2004.00896.x

Organização das Nações Unidas (ONU). *Transformando Nosso Mundo: A Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável*. Nova Iorque: ONU, 2015. Disponível em: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/>

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 55, n. 1, p. 158–161, 1970

REDDY, K. R.; HODGES, H. F. *Climate Change and Global Crop*. Wallingford: CABI Publishing, 2000

ROUSK, J.; BROOKES, P.; BÅÅTH, E. Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial

growth suggest functional redundancy in carbon mineralization. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 75, p. 1589–1596, 2009. doi:10.1128/AEM.02775-08

SMITH, P.; SMITH, J. U. Environmental impacts of climate change and renewable energy. London: Earthscan, 2007

SMITH, S. E.; READ, D. J. *Mycorrhizal Symbiosis*. 3. ed. San Diego: Academic Press, 2008

STÜRMER, S. L.; BEVER, J. D.; MORTON, J. B. Biogeography of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota): a phylogenetic perspective on species distribution patterns. *Mycorrhiza*, v. 28, n. 7, p. 587–603, 2018

TOREZANI, K. R. DE S. *Polinização da abóboreira (Cucurbita pepo L.): um estudo sobre a comunidade de abelhas em sistemas orgânicos e convencionais de produção no Distrito Federal*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2015. p. 65

TRESEDER, K. K. Nitrogen additions and microbial biomass: a meta-analysis of ecosystem studies. *Ecology Letters*, v. 11, p. 1111–1120, 2008

WARING, B. G.; HAWKES, C. V. Short-term precipitation exclusion alters microbial responses to soil moisture in a wet tropical forest. *Microbial Ecology*, v. 69, p. 843–854, 2015. doi:10.1007/s00248-014-0436-z

WALTHER, G. et al. Ecological responses to recent climate change. *Nature*, v. 416, p. 389–395, 2002. doi:10.1038/416389a

WOŁOWSKI, M.; AGOSTINI, K.; RECH, A. R.; VARASSIN, I. G.; MAUÉS, M.; FREITAS, L.; SIGRIST, M. R.; SILVA, C. I. DA; FRANCHIN, L. T.; PISSEDONI, D. F.; FERNANDES, P. C.; GERALDI, A.; MACHADO, I. C. S.; GOUVEIA, E. L.; BATALHA, M. A.; ROCHA, J. L. DA; COSTA, L. F. DA; VIANA, B. F.; ALVES-DOS-SANTOS, I. Relatório temático sobre polinização, polinizadores e produção de alimentos no Brasil. São Carlos: Editora Cubo, 2019

ZHANG, N.; WAN, S.; GUO, J.; HAN, G.; GUTHKNECHT, J.; SCHMID, B.; YU, L.; LIU, W.; BI, J.; WANG, Z.; MA, K. Precipitation modifies the effects of warming and nitrogen addition on soil microbial communities in northern Chinese grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 89, p. 12–23, 2015. doi:10.1016/j.soilbio.2015.06.022