

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

**SELEÇÃO E PRODUÇÃO DE INÓCULOS DE FUNGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES ORIUNDOS DE SOLOS DA CHAPADA DAS MESAS COM
POTENCIAL PARA A PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DO FEIJÃO FAVA (*Phaseolus
lunatus* L.).**

**ALEX LIMA FONSECA¹, WANDERSON LIMA CUNHA², REGIANE SATURNINO
FERREIRA¹, CAMILA PINHEIRO NOBRE³, SHEILA ELKE ARAÚJO NUNES¹,
IVANEIDE DE OLIVEIRA NASCIMENTO¹**

¹Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASUL) - Centro de Ciências Exatas, Naturais e Tecnológicas (CCENT) - Rua Godofredo Viana, 1.300 – Centro, Imperatriz/MA, 65901-480.

²Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) - Departamento de Biologia Vegetal (DBV) Cidade Universitária Zeferino Vaz - Barão Geraldo – Campinas/SP, 13083-970.

³Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) - Centro de Ciências Agrárias (CCA) - Cidade Universitária Paulo VI – Avenida Lourenço Vieira da Silva 1.000 – São Luís/MA.

RESUMO

A utilização de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) pode contribuir para a nutrição das plantas, reduzir o uso de fertilizantes minerais e ajudar a maximizar o equilíbrio ecológico das culturas agrícolas. A pesquisa objetivou investigar a ocorrência e riqueza de fungos micorrízicos arbusculares em solos de Cerrado do Parque Nacional da Chapada das Mesas (PNCM) e selecionar espécies capazes de estabelecer associação simbiótica com raízes de feijão. Foram coletadas amostras de solo no PNCM para extração, identificação e produção de inóculos de FMAs. O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Uemasul durante 45 dias, com seis tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos incluíram solo sem inóculo de FMAs, solo com *Glomus spp.*, solo com *Rhizophagus sp.*, solo de todas as áreas coletadas no PNCM, solo com inóculo comercial Roottela BR® e solo com concentração corrigida de fósforo. Foram realizadas avaliações quanto à altura, número de folhas e índice de clorofila durante o período de bioensaio e ao final avaliou-se o teor de fósforo nas folhas, massa fresca

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

e seca da parte aérea e raiz e colonização radicular, bem como a diversidade de FMA nas amostras de solo do PNCM. A avaliação da diversidade constatou que a área de pastagem apresentou maior diversidade de espécies de FMAs em relação a área de formação florestal, com maior índice de diversidade de Shannon e distribuição mais uniforme das espécies, conforme indicado pelo índice de equitabilidade de Pielou. Não foi possível evidenciar impacto significativo proveniente da inoculação de FMAs no crescimento e produtividade das plantas de feijão-fava quando submetido a testes estatísticos com comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de significância. O estudo destaca a importância de mais pesquisas para determinar o tempo necessário para ocorrer o estabelecimento de associações simbióticas de FMAs nas raízes das plantas e para avaliar a eficácia dos inóculos no aumento da produtividade das plantas em diferentes culturas e substratos.

PALAVRAS-CHAVE: Biodiversidade; Agroecologia; Biotecnologia.

INTRODUÇÃO

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) é uma leguminosa da família Fabaceae conhecida por muitos nomes, como feijão-de-lima, feijão-belém ou simplesmente fava, significando um importante grão da culinária brasileira, sobretudo da região nordeste, e que apresenta uma rica fonte de proteína vegetal; representando alternativa para diminuição da dependência dos feijões do grupo Carioca (Nobre et al, 2012). Silva (2019) explica que o feijão-fava se destaca como uma das culturas da região Nordeste do Brasil, cultivado em regime de sequeiro, com pouco uso de tecnologias, por agricultores familiares, resultando em baixos índices de produtividade, e grande oscilação na produção.

Desse modo, o uso de microrganismos capazes de promover aumento de produção do grão se configura numa ferramenta de importância econômica, de baixo custo e, portanto, acessível a pequenos produtores e proveniente de técnicas de manejo sustentável. Representa uma alternativa na busca da agricultura sustentável, e a produção de inóculos, uma inovação nas condições do Cerrado Maranhense. Nesse sentido, o feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), por ser uma planta adaptada às condições do semi-árido, em associação com os fungos micorrízicos arbusculares, oriundos de solos do Parque Nacional da Chapada das Mesas (PNCM), pode representar uma alternativa para o estudo e aquisição de novas tecnologias

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

ambientalmente sustentáveis para manejo de cultivares em solos do cerrado. Desta forma o presente estudo objetivou selecionar, registrar ocorrência, riqueza e capacidade de estabelecimento de associação pela comunidade indígena de fungos micorrízicos arbusculares de solos de Cerrado do Parque Nacional da Chapada das Mesas no Estado do Maranhão, com potencial para a promoção de crescimento do feijão fava (*Phaseolus vulgaris* L.).

METODOLOGIA

As amostras de solo foram coletadas no PNCM em um transecto de aproximadamente 11,33 km contendo 04 pontos amostrais: Ponto 01: S 07°07'10.3" W 047°21'25.7"; Ponto 02: S 07°06'44.6" W 047°18'08.4"; Ponto 03: S 07°08'58.8" W 047°23'19.4"; Ponto 04: S 07°07'42.5" W 047°22'42.7". Em cada ponto foi coletada uma amostra de solo na profundidade de 0 a 10 cm e outra de 10 a 20 cm de profundidade com auxílio de trado holandês.

Os esporos de FMA foram extraídos do solo seguindo a metodologia de peneiramento úmido (Gedermann; Nicolson, 1963) e centrifugação com sacarose (Jenkins, 1964). Foram montadas lâminas sob resina polivinil álcool glicerol (PVLG) e PVLG+Reagente de Melzer (1:1) para identificação morfológica das espécies. Os dados obtidos foram comparados com a descrição das espécies em Schenck e Pérez (1988), na página da International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi (Invam, 2000). A riqueza de espécies foi definida pelo número de espécies de FMA por amostra. A frequência de ocorrência (FO) das espécies foi calculada pela equação: $FO = J_i/k$, onde F_i = frequência de ocorrência da espécie i , J_i = número de amostras onde a espécie i ocorreu e k = número total de amostras. A equitabilidade de Pielou foi obtida pela equação $J' = H'/\log(S)$ em que H' é o valor obtido pelo índice de Shannon e S é o número total de espécies.

Para produção dos inóculos com os gêneros identificados e selecionados foram utilizados vasos com capacidade de 1Kg semeando-se a gramínea *Braquiária* como planta isca, segundo metodologia descrita por Colozzi-Filho e Balota (1994).

O bioensaio foi conduzido em casa de vegetação da UEMASUL durante 45 dias, até o período de pré-floração das plantas, empregou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco repetições para cada um dos seis tratamentos: T1-solo sem inóculo de

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

FMA (testemunha), T2- solo com *Glomus spp.*, T3- solo com *Rhizophagus sp.*, T4-solo de todas as áreas coletadas no PNCM, T5-solo com inóculo comercial Roottela BR® e T6-solo com concentração de fósforo corrigida. A eficiência das comunidades nativas de FMA foi determinada com base na produção de biomassa vegetal. A cada 15 dias foi quantificado o número de folhas por planta, o índice de clorofila e a altura. O percentual de colonização radicular (CM) foi determinado segundo metodologia de Phillips e Hayman (1970) para a coleta, e a clarificação e coloração e posterior avaliação da colonização micorrízica segundo Giovannetti e Mosse (1980). Com auxílio de estereomicroscópio as raízes visualizadas que haviam colonização (esporo, hifa, arbúsculo ou vesícula) e formavam uma intersecção da raiz com a linha era contada como “sim” e as que não haviam colonização como “não”. Para análise do teor de fósforo, utilizou-se 1g da massa seca de cada unidade amostral para digestão das amostras 10 ml de solução extratora Mehlich-1. A determinação do fósforo foi empregada através de kit comercial (Labtest(r)) Diagnóstica SA, cuja absorção espectrofotômica foi de 650 nm (Macedo, 2001).

Os dados foram analisados estatisticamente com auxílio do programa SISVAR e submetidos à análise de variância, com comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

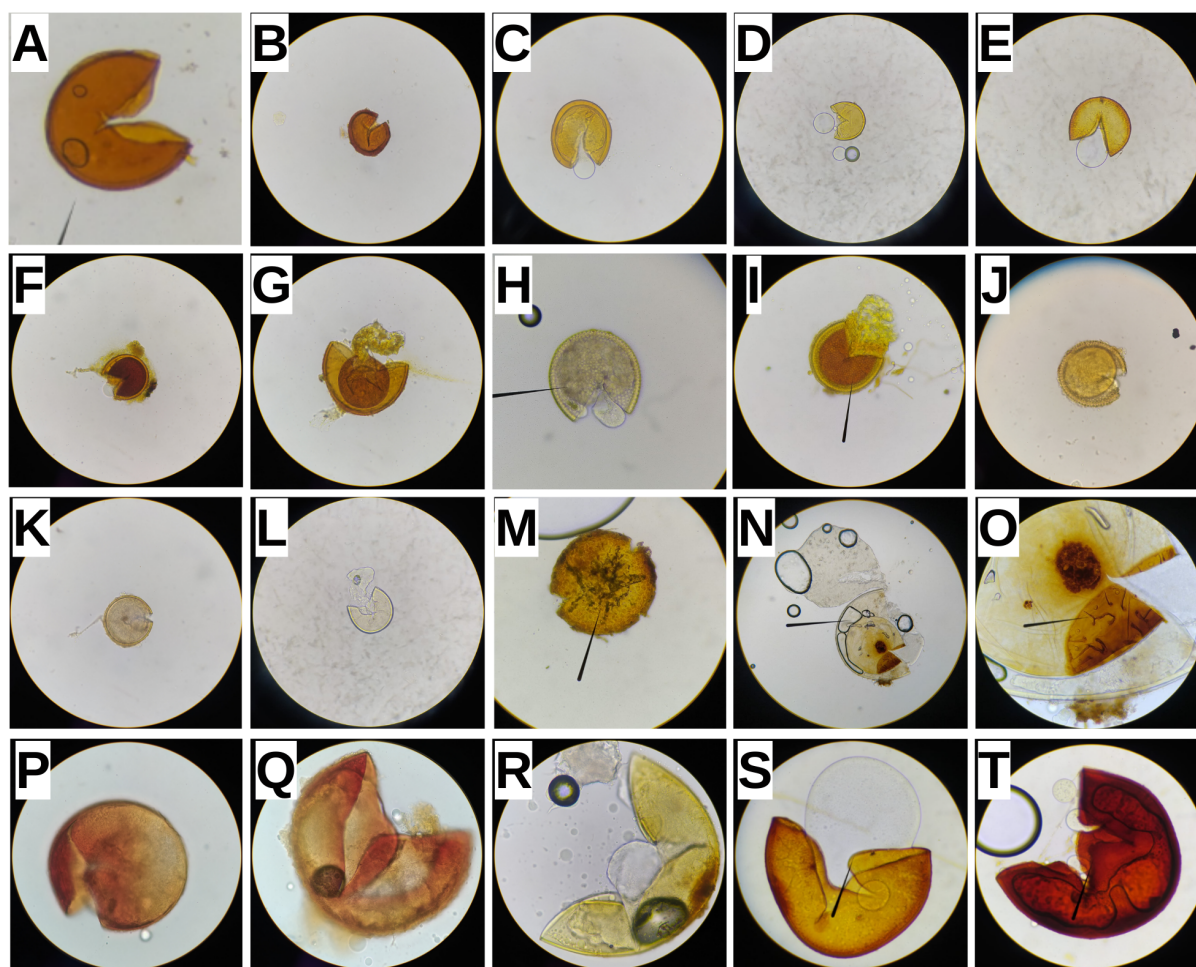
Com base na identificação morfológica (Figura 1) dos esporos foi possível registrar a ocorrência de 5 gêneros provenientes de solos de Cerrado das áreas de pasto e de formação florestal do Parque Nacional da Chapada das Mesas, sendo eles: *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Scutelopsora* e *Rhizophagus* (Figura 01). A partir da soma da contagem dos glomerosporos coletados em área de pasto e área de mata, dentre os gêneros identificados os que ocorreram com maior predominância foram os gêneros *Glomus* (3934) e *Rhizophagus* (268). Lima *et al* (2018) encontraram resultados semelhantes ao avaliar a diversidade de FMAs em solo de cerrado sob pastagem, em que foi constatada a predominância do gênero *Glomus sp.* tanto nas áreas de pastagens quanto nas florestas.

O índice de diversidade de Shannon foi maior para a área de pastagem (0,695) do que para a área de floresta (0,255), indicando maior diversidade de FMAs na área de pastagem. O índice de equitabilidade de Pielou também foi maior para a área de pastagem

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

(0,432) do que para a área de floresta (0,158), indicando uma distribuição mais uniforme dos indivíduos entre as diferentes espécies presentes na área de pastagem. Esses resultados corroboram com os mesmos encontrados por Santos (2010), em que o estudo constatou que a área de pastagem apresentou a maior diversidade de FMA.

Figura 1: Identificação morfológica de FMA do PNCM. A- *Glomus sp.* B- *Glomus multicaule*; C- *GLomus sp.* D; L- *Rhizophagus manihotis*; E - Sem identificação; F- *Acaulospora morrowiae*.; G- *Acaulospora sp.*; H- *Acaulospora sp.*; I- *Acaulospora sp.*; J- *Acaulospora sp.*; K- Não identificado; M- Não identificado; N; O- *Scutellospora scutata*; P; Q- *Gigaspora rosea*; R- *Gigaspora sp.* S- *Gigaspora gigantea*; T- *Gisgaspore margarita*.



Fonte: Autor, 2023.

No que se refere a avaliação do crescimento da planta, os resultados indicam que aos 15, 30 e 45 dias após a implantação do experimento não houve efeito significativo a 5 % de probabilidade pelo teste Tukey entre os tratamentos de solo inoculado e não inoculado com

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

FMA sobre o número de folhas ($p=0,1004$; $p=0,2300$; $p=0,2318$), altura da planta ($p=0,1528$; $p=0,1433$; $p=0,0819$) e índice de clorofila ($p=0,4799$; $p=0,1506$; $p=0,6617$) na fava (*Phaseolus lunatus* L.) (Tabela 1) Também não houve diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis massa fresca ($p=0,6667$) e seca ($p=0,1312$) das folhas, massa fresca ($p=0,3191$) da raiz e teor de fósforo nas folhas ($p=0,1523$) de fava. A colonização radicular ocorreu em todos os tratamentos em que a planta recebeu o inóculo, variando de 1,34 a 4,04 %. Houve diferença significativa pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos de solo inoculado com fungos micorrízicos arbusculares, em que se observa maior colonização das raízes no solo inoculado com o produto comercial Roottela BR, o qual é a base de *Rhizophagus intraradices* (Tabela 2).

Tabela 1: Análise de variância do número de folhas e altura das plantas em 15, 30 e 45 dias de condução do bioensaio.

TRAT	Nº de folhas			Altura (cm)		
	15 D	30 D	45 D	15 D	30 D	45 D
Testemunha	4,60 a	6,80 a	3,18 a	27,06 a	56,32 a	73,08 a
Glomus spp.	5,80 a	8,80 a	4,49 a	45,56 a	82,58 a	107,24 a
Rhizophagus sp.	5,00 a	6,80 a	3,22 a	37,26 a	58,10 a	72,48 a
FMA's nativos	5,00 a	8,00 a	3,37 a	35,12 a	56,62 a	68,42 a
Roottela BR	4,40 a	6,40 a	2,91 a	23,96 a	51,42 a	74,44 a
Adubação P	4,60 a	8,20 a	3,58 a	44,86 a	88,36 a	112,00 a
CV (%)	15,81	23,48	29,31	41,74	40,77	34,41
P	0,1004	0,2300	0,2318	0,1528	0,1433	0,0819

* Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$); D=dias.

Fonte: Autor, 2023.

Tabela 2: Análise de variância da massa fresca (MF) e massa seca (MS) da parte aérea e raiz, teor de fósforo (P) e colonização radicular (CR).

TRAT	PARTE ÁREA		RAIZ	FOLHA	RAIZ
	MF (g)	MS (g)	MF (g)	Teor P (mg/g)	CR (%)
Testemunha	5,36 a	1,16 a	1,41 a	18374,17 a	-
Glomus spp.	6,54 a	1,17 a	2,10 a	23331,98 a	1,94 b
Rhizophagus sp.	7,03 a	1,52 a	1,85 a	21390,33 a	1,34 ab
FMA's nativos	6,90 a	1,54 a	2,86 a	18524,98 a	1,86 ab
Roottela BR	5,96 a	1,14 a	2,10 a	27102,18 a	4,04 a
Adubação P	7,04 a	2,09 a	2,97 a	20560,88 a	-
CV (%)	29,28	37,03	54,06	22,03	36,26
P	0,6667	0,1312	0,3191	0,1523	0,0215

* Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$)

Fonte: Autor, 2023.

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

Os resultados sugerem que, nas condições do estudo, a presença de inóculos de FMAs do PNCM e do inóculo comercial Roottela BR não teve um impacto significativo na promoção do crescimento das plantas de feijão-fava em comparação com as plantas não tratadas com FMAs. O tempo de condução do bioensaio pode ser um fator importante interferente na obtenção dos dados e assim influenciar nas análises realizadas a respeito da capacidade de promoção do crescimento do feijão-fava. A condução do bioensaio em casa de vegetação teve uma duração de 45 dias, tempo este determinado com base no período de pré-floração, podendo não ser tempo suficiente para a associação e estabilização das culturas de FMAs na planta hospedeira feijão-fava. Sabe-se que o tempo necessário para o estabelecimento dos FMA nas raízes das plantas varia dependendo de fatores como a espécie da planta e suas especificidades fisiológicas, o tipo de FMA e as condições ambientais bem como o tipo de solo (Aker *et al.*, 2022; Nogueira, 1997; Cordeiro *et al.*, 2004;), sendo necessária mais pesquisas para determinar o tempo necessário para que os FMA se estabeleçam nas raízes das plantas de fava.

CONCLUSÕES

O índice de diversidade de fungos micorrízicos arbusculares no Parque nacional da chapada das mesas foi maior em áreas com predominância de gramíneas, onde há distribuição mais uniforme dos indivíduos entre as diferentes espécies presentes na área de pastagem. Em relação a capacidade de promoção do crescimento vegetal da fava (*Phaseolus lunatus* L.) proporcionado pela associação dos fungos micorrízicos do parque, o tempo de condução do bioensaio em casa de vegetação (45 dias), pode não ter sido suficiente para permitir uma associação completa e estabilização das culturas de FMAs nas plantas de feijão-fava, pois não houve promoção de crescimento, mesmo se verificando que houve a colonização radicular de FMA do PNCM nas raízes de fava em todos os tratamentos em que a planta recebeu o inóculo, sendo necessário mais estudos a fim de verificar metodologias mais eficientes para este tipo de avaliação com a cultivar.

APOIO FINANCEIRO

Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASUL).

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aker, A. Janoušková, M.; Nogueira, Ma; Cordeiro, M. A. Fungos Micorrízicos Arbusculares no Bioma Cerrado: Efeitos do Sistema de Uso do Solo, Textura do Solo e Sazonalidade. *Fronteiras em Microbiologia*, v. 13. 2022. DOI: 10.3389/fmicb.2022.836019.
- Cordeiro, M. A. S.; Carneiro, M. A. C. Paulino, H. B.; Saggin-Junior, O. J. Colonização e densidade de esporos de fungos micorrízicos em dois solos do Cerrado sob diferentes sistemas de manejo. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. Jataí - GO. 2004.
- Colozzi-Filho, A.; Balota, E. L. Micorrizas arbusculares. In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R. S., (Ed.). Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Brasília: EMBRAPA/SPI. 1994; pp. 383-418.
- Gerdemann, J.W.; Nicolson, T. H. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil wet sieving and decanting. *Transactions of British Mycological Society*, Cambridge, v. 46, n. 2. 1963; pp. 235-244.
- Giovannetti, M.; Mosse, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular mycorrhizal infection on roots. *New Phytologist*, Oxford, v. 84, n. 3, p. 489-500, 1980.
- Invam - International Culture Collection Of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi, 2001. Disponível em: <http://invam.caf.wvu.edu/mycinfo/Method> (Acesso em 06 de setembro de 2023)
- Jenkins, W. R. A. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, v. 48, n.9.1964; p. 692.
- Lima, M. A De S. et al. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em solo de Cerrado sob pastagem. III Congresso Internacional das Ciências Agrárias. 2018.
- Macedo, J.A.B. Águas & águas: métodos laboratoriais de análises físico-químicas e microbiológicas. Rio de Janeiro: Ed. J.A.B. de Macêdo. 2001; pp.77-79.
- Nobre, et al. Qualidade física, fisiológica e morfologia externa de sementes de dez variedades de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) *Revista Brasileira de Biociências*. Porto Alegre, v. 10, n. 4. 2012; pp. 425-429.
- Nogueira, M. A. Colonização radicular e produção de micélio externo por duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares em soja submetida a dose de fósforo. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo. Piracicaba, 1997.
- 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*, London, v. 55, n. 1. 1970; pp. 158-161.
- Santos, V. L da S. Fungos micorrízicos arbusculares em ecossistema de mata seca do norte de Minas Gerais. Dissertação (Mestre em Ciências). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica - RJ, 2010.
- Silva, J. J.; Bezerra. Estresse Hídrico nos Diferentes Estágios Fenológicos do Feijão-Fava (*Phaseolus lunatus* L.). Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia). Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2019.