



Espécies de fungos micorrízicos arbusculares nativos na rizosfera de plantas de lúpulo cultivadas na região Serrana do estado do Rio de Janeiro

Native arbuscular mycorrhizal fungi species from hop rhizosphere cultivated in the mountainous region of Rio de Janeiro

SILVA, Larissa Osório da¹; ASSIS, Renato Linhares de²; SILVA, Eliane Maria Ribeiro da³; SAGGIN-JÚNIOR, Orivaldo José⁴; SILVA, Leonardo Lopes da⁵; GUERRA, José Guilherme Marinho⁶.

¹UFRRJ, larissaosorio.los@gmail.com; ²Embrapa Agrobiologia, renato.assis@embrapa.br; ³Embrapa Agrobiologia, eliane@cpab.embrapa.br; ⁴Embrapa Agrobiologia, orivaldo.saggin@embrapa.br; ⁵UFRRJ, leonardo_lopessilva22@hotmail.com; ⁶Embrapa Agrobiologia, guilherme.guerra@embrapa.br.

RESUMO EXPANDIDO

Eixo Temático: Manejo de Agroecossistemas

Resumo: O lúpulo (*Humulus lupulus*) é uma planta micotrófica. Assim, o objetivo deste trabalho foi identificar espécies de fungos micorrízicos arbusculares autóctones na rizosfera de três variedades de lúpulo cultivadas na região Serrana do estado do Rio de Janeiro. Foram realizadas coletas de solo em torno da planta das variedades Cascade, Comet e Chinook. Vasos de cultivo armadilha com *Brachiaria decumbens* Stapf. foram mantidos por seis meses, com vista a identificar espécies de FMA que não estavam esporuladas por ocasião da coleta no campo. Na época da coleta de solo a densidade de esporos de todas as variedades foi baixa, sendo identificada a espécie *Glomus macrocarpum* Tul. & Tul. Ao final do ensaio de multiplicação em vasos de cultivo armadilha, identificou-se apenas a espécie *Claroideoglomus etunicatum*. A partir dos resultados, depreende-se que, nas condições edafoclimáticas de cultivo e de manejo das variedades, a diversidade de espécies de FMA é baixa.

Palavras-chave: glomeromycota; *Humulus lupulus* L.; cascade; comet; chinook.

Introdução

Atentando à importância da diversidade microbiológica dos solos tropicais, a agroecologia proporciona base científica e caminhos viáveis para melhor manejo e conservação de agroecossistemas e de sua biodiversidade. Dentre potenciais microrganismos edáficos benéficos aos agroecossistemas, estão os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), os quais formam associações mutualistas com a maioria dos vegetais e são responsáveis por ampliar o alcance e a captação de nutrientes pelo sistema radicular das plantas (BERBARA; SOUZA; FONSECA, 2006). A colonização das plantas por FMA pode representar aumento de resiliência e de produtividade, em especial, devido à maior mobilização e absorção de nutrientes como o fósforo. Sendo assim, essa associação simbiótica, pode ser uma importante aliada a estratégias de tropicalização de espécies de clima temperado, como o lúpulo (*Humulus lupulus* L.).



O lúpulo é uma espécie micotrófica (DAVIS et al, 1984; TAKAHASHI et al., 1994) nativa do Hemisfério Norte e suas flores são um dos principais ingredientes utilizados na fabricação da cerveja. Entre os anos de 2020 e 2023, o Brasil importou o equivalente a US\$230 milhões desse insumo, o que corresponde a cerca de 13 mil toneladas, em sua maioria, na forma de “pellets” ou de extratos (MDIC, 2023). No contexto brasileiro, a produção de lúpulo pode impactar, em especial, a pequena agricultura devido às pequenas extensões de terras necessárias para seu cultivo. Para tanto, os esforços em vista a alcançar a tropicalização da cultura são crescentes, e é crucial que esse mercado seja disputado por produções orgânicas e de bases agroecológicas.

A região Serrana do estado do Rio de Janeiro é um reconhecido polo de cervejarias artesanais e está ganhando notoriedade na implantação de cultivos de lúpulo. Além dos lúpulos frescos conferirem maior qualidade ao produto final, a expansão de áreas de cultivo também pode garantir redução de custos de fabricação da cerveja. Por isso, há inúmeras iniciativas de fomento à economia cervejeira local, através da adaptação da cultura às condições da Serra Fluminense.

Ainda que as micorrizas ocorram de maneira frequente entre os vegetais, e o lúpulo responda até um fornecimento médio de fósforo (OLIVEIRA, 2016), existem poucos estudos a respeito das interações entre FMA e lúpulo e os possíveis benefícios dessa associação para a cultura. Nos Estados Unidos, Davis et al. (1984) identificaram em torno de 8 espécies de FMA, sendo todas dos gêneros *Acaulospora* spp. e *Glomus* spp., presentes em solos de 11 variedades de plantas adultas de lúpulo. Enquanto no Japão, Takahashi et al. (1994) isolaram sete tipos diferentes de esporos de fungos micorrízicos, e identificaram três gêneros, *Gigaspora* spp., *Glomus* spp. e *Scutellospora* spp. Na região Serrana do estado do Rio de Janeiro, Almeida et al. (2023) identificaram 16 espécies de FMA na rizosfera de plantas de lúpulo, variedade Cascade, fertilizadas com composto fermentado tipo bokashi.

O objetivo deste trabalho foi identificar espécies de fungos micorrízicos arbusculares autóctones na rizosfera de três variedades de lúpulo cultivadas na região Serrana do estado do Rio de Janeiro.

Metodologia

O levantamento no campo foi realizado na Fazenda do Grupo Petrópolis, em Teresópolis/RJ, sendo a coleta de solo feita em novembro de 2020. Os tratamentos constituíram-se de três variedades de lúpulo, Cascade, Comet e Chinook. As mudas foram oriundas do Viveiro Ninkasi®. A lavoura encontrava-se com um ano de implantação, submetida a manejo convencional, e o solo estava coberto com manta “mulching”. A coleta do solo foi feita em torno da planta à profundidade de 0-10cm, região onde encontra-se a maior densidade radicular. De cada um dos três tratamentos, foram coletadas amostras simples de quatro indivíduos para compor



uma amostra de 500g de solo, tendo cinco repetições, perfazendo 15 amostras compostas. Estas foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas à sombra. Os locais de coleta foram georreferenciados: Cascade, -22,184722° -42,844444°; Comet, -22,186111° -42,844444°; Chinook, -22,184167° -42,845278°.

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Micorrizas da Embrapa Agrobiologia, em Seropédica, RJ, e, posteriormente, secas ao ar sob condições de sombra. Retiraram-se 60 cm³ de terra, de cada tratamento, para a análise de fertilidade do solo, como descrito por Nogueira & Souza (2005), no Laboratório de Química Agrícola da Embrapa Agrobiologia (Tabela 1).

Tabela 1: Caracterização química de solo rizosférico de três variedades de lúpulo, coletado em Teresópolis/RJ.

Tratamento	pH	Al ⁺⁺⁺	H ⁺ +Al ⁺⁺⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K	P _{disp}	C _{org.}
	H ₂ O	cmolc dm ⁻³			mg dm ⁻³			g Kg ⁻¹
Cascade	6,79	0,00	3,05	7,35	4,74	1996,68	1252,33	138
Comet	6,90	0,00	2,64	10,40	2,97	2092,50	801,06	233
Chinook	6,67	0,00	3,63	11,17	3,26	1417,48	1151,46	157

A técnica do cultivo armadilha foi adaptada de Saggin Júnior et al. (2011), sendo os vasos completamente preenchidos com o volume de terra restante das amostras, semeados com *Brachiaria decumbens* Stapf. e dispostos em casa de vegetação. Ao longo de 6 meses, as plantas foram submetidas a sucessivas podas e a condições de estresse hídrico a partir da supressão da irrigação de forma a induzir a esporulação dos FMA, em especial as espécies que não encontravam-se esporuladas na época da coleta, uma vez que a identificação morfológica das espécies é feita a partir dessa estrutura fúngica.

Para a extração dos esporos de FMA, foram utilizados 50 cm³ de solo. A técnica foi feita conforme descrita em Saggin Júnior et al. (2011), pela técnica de peneiramento úmido (GERDEMANN e NICOLSON, 1963), seguida de centrifugação em água, a 3000 rpm por 3 minutos. O líquido sobrenadante foi descartado, adicionou-se sacarose a 45% e as amostras foram novamente levadas à centrifuga, por 2 minutos a 2000 rpm (JENKINS, 1964, apud. SAGGIN-JÚNIOR, 2011). Ao final, o líquido sobrenadante foi vertido em peneira de 0,053 mm que foi lavada com água para retirar o excesso de sacarose. Para realizar a contagem de esporos, transferiu-se cuidadosamente o material retido na peneira para uma placa com anéis concêntricos e observou-se em estereomicroscópio.

A identificação foi feita com base na fenologia dos esporos, baseando-se nas informações contidas no sítio da International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM, 2020).



Resultados e Discussão

Na época da coleta, todas as amostras de solo processadas apresentaram baixas densidades de esporos e diversidade de espécies de FMA. Obteve-se, respectivamente, para cada variedade, Cascade, Comet, Chinook, 23, 46 e 138 esporos por 50 cm³ de solo. A variedade Chinook foi o tratamento que apresentou maior número de esporos. Apenas uma espécie de FMA foi identificada em todos os tratamentos: *Glomus macrocarpum* Tul. & Tul.

A baixa diversidade de espécies pode ser devido ao uso de manta “mulching” associada à fertilidade alta do solo. A baixa densidade de esporos pode ser explicada devido às plantas estarem com as suas necessidades nutricionais supridas, não havendo investimento de fotoassimilados para estabelecer a simbiose micorrízica. Corroborando com os resultados encontrados no presente levantamento, Davis et al. (1984) classificaram a incidência externa de hifas de FMA em plantas de Cascade como de abundância moderada e identificaram *G. macrocarpum* em duas das seis áreas analisadas.

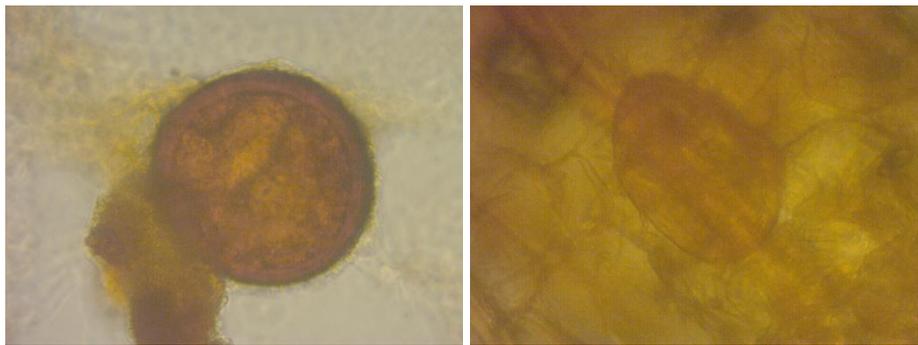


Figura 1: Esporo de *G. macrocarpum* Tul. & Tul. encontrado em solo das variedades Cascade (a) e Chinook (b), observado em microscópio óptico com aumento de 40x. Foto: Itamar Garcia.

Após o ensaio de multiplicação com *Brachiaria decumbens* Stapf, a densidade média de esporos aumentou, possivelmente pelo esgotamento nutricional do solo e a maior eficiência fotossintética da *B. decumbens*. A diversidade permaneceu baixa, sendo encontrada apenas uma espécie de FMA, *Claroideoglomus etunicatum*.

A associação micorrízica sofre interferência da combinação dos fatores planta hospedeira, espécie de fungo, ambiente e solo. Assim, o ensaio de multiplicação promove consideráveis mudanças no cenário em que a simbiose estava estabelecida no campo, alterando, no caso do presente trabalho, os fatores planta hospedeira e ambiente. Portanto, não é incomum que espécies identificadas após o estabelecimento de cultivos armadilhas sejam diferentes das que estavam esporuladas na época da coleta. Ou, ainda, que resultem em culturas monoespecíficas, uma vez que estas, possivelmente, são de espécies mais agressivas e com maior plasticidade ambiental (SAGGIN JÚNIOR et al., 2011).



Ademais, segundo Spósito et al. (2019), as raízes de lúpulo tornam-se lenhosas à medida que amadurecem e superficialmente predominam os rizomas. Sendo assim, a colonização micorrízica pode ser mais eficiente em fases iniciais do crescimento vegetativo da cultura.

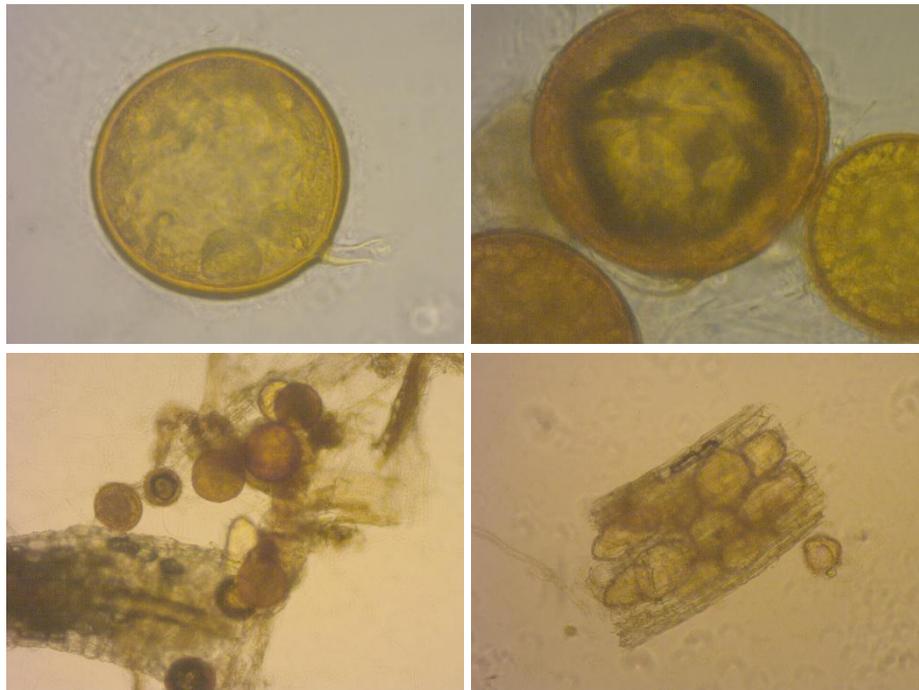


Figura 2: Esporos de *C. etunicatum* encontrados em vaso de multiplicação que corresponde ao tratamento Comet, observados em microscópio óptico com aumento de 40x (a, b), e de 10x (c, d). Foto: Itamar Garcia.

Conclusões

A densidade de esporos de FMA foi baixa sob as condições ambientais à época da coleta. Sendo a diversidade de espécies identificadas, na coleta inicial e posteriormente ao cultivo em vaso armadilha, restrita a *Glomus macrocarpum* Tul. & Tul. e *Claroideoglomus etunicatum*, respectivamente. São necessários estudos aprofundando o tema, em especial, que avaliem a dependência e resposta de mudas de lúpulo à inoculação com FMA. O acesso aos dois fungos levantados foi cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético (SisGen) sob o nº A7DE6E6.

Agradecimentos

Ao Viveiro Ninkasi®, na figura de Teresa Yoshiko, ao Grupo Petrópolis e à Rede de fomento à cultura do lúpulo na região serrana fluminense. Ao técnico Itamar Garcia pelo auxílio nas fotos dos FMA e procedimentos laboratoriais. Às instituições de ensino e pesquisa, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e Embrapa Agrobiologia. Ao CNPq pela concessão de bolsa de iniciação científica.



Referências bibliográficas

BERBARA, Ricardo L. L.; SOUZA, Francisco A.; FONSECA, Henrique M. A. C. **Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição.** SBCS, Viçosa, 2006. *Nutrição Mineral de Plantas*, 432p. (ed. FERNANDES, MS), 2006.

DAVIS, E. A.; YOUNG, J. L.; ROSE, S. L. Detection of high-phosphorus tolerant VAM-fungi colonizing hops and peppermint. **Plant and Soil**, v. 81, n. 1, p. 29-36, 1984.

DE ALMEIDA, A. P. C.; SILVA, L. L.; SILVA, E. M. R.; SAGGIN JÚNIOR, O. J. Native AMF communities in hop cultivation with bokashi type fertilization in Brazil. In: FAO. 2023. *Soils, where food begins – Proceedings of the Global Symposium on Soils for Nutrition*, 26–29 July 2022. Rome. Disponível em: <https://doi.org/10.4060/cc6728en>. Acesso em 24 jun. 2023.

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**, v. 46, n. 2, p 235-244, 1963. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536\(63\)80079-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536(63)80079-0).

MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, COMÉRCIO EXTERIOR E SERVIÇOS. **Exportação e Importação Geral.** Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral/39550>. Acesso em: 3 jun. 2023.

NOGUEIRA, Ana R. de A.; SOUZA, Gilberto B. de. **Manual de laboratório: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos.** São Carlos: EMBRAPA-CPPSE, 2005.

OLIVEIRA, Marcus V. R. de. **Crescimento do lúpulo influenciado por calagem e fornecimento de fósforo.** 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo). Universidade do Estado de Santa Catarina - Lages, 2016. 65 p.

SAGGIN-JÚNIOR, Orivaldo J. *et al.* **Manual de curadores de germoplasma – Micro-organismos: Fungos Micorrízicos Arbusculares.** Brasília, DF, 2011. 23 p.

SPÓSITO, Marcel B. *et al.* **A cultura do lúpulo.** Piracicaba: ESALQ - Divisão de Biblioteca, 2019. 81 p. (Série Produtor Rural, no. 68)

TAKAHASHI, T., KATANO, H.; YOSHIKAWA, N. Evidence for Vesicular-arbuscular Mycorrhizal Infection in Viroid-infected Hop Root Tissues. **Journal of Plant Diseases and Protection** 101, no. 3 (1994): 267-71. Disponível em: www.jstor.org/stable/43386287. Acesso em: 05 mai 2021.

INTERNATIONAL CULTURE COLLECTION OF (VESICULAR) ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI (INVAM). Disponível em: <https://invam.ku.edu/species-diversity>. Acesso em: 16 mai. 2020.