

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

USO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NA PRODUÇÃO DE PORTA-  
ENXERTOS DE CITROS

Marina Martinello Back  
Engenheira Agrônoma/UFRGS

Dissertação apresentada como um dos requisitos  
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia  
Área de Concentração Sistemas de Produção Vegetal

Porto Alegre (RS), Brasil  
Fevereiro de 2017

MARINA MARTINELLO BACK  
Engenheira Agrônoma - UFRGS

## **DISSERTAÇÃO**

Submetida como parte dos requisitos  
para obtenção do Grau de

### **MESTRE EM FITOTECNIA**

Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia  
Faculdade de Agronomia  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 21.02.2017  
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 05.09.2017  
Por

PAULO VITOR DUTRA DE SOUZA  
Orientador - PPG Fitotecnia

CRHISTIAN BREDEMEIER  
Coordenador do Programa de  
Pós-Graduação em Fitotecnia

MAGNÓLIA APARECIDA SILVA DA SILVA  
PPG Fitotecnia/UFRGS

MATEUS PEREIRA GONZATTO  
EEA/UFRGS

HENRIQUE BELMONTE PETRY  
EPAGRI/SC

CARLOS ALBERTO BISSANI  
Diretor da Faculdade de  
Agronomia

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho representa mais uma etapa da minha formação acadêmica, que só foi obtida porque tive o apoio de muitas pessoas que merecem minha total gratidão.

Agradeço aos meus pais, Antônio Back e Rosa Maria Martinello Back, por todo amor, carinho, apoio e dedicação que foram fundamentais ao longo da minha vida.

Ao meu irmão, Rodrigo Martinello Back, pelo apoio e conselhos que me engrandeceram como pessoa e profissional.

Ao meu namorado, Tiago Tiscoski Martinello, por me mostrar o quanto é belo o mundo da agricultura ensinando-me e acompanhando-me à campo; pela paciência nos momentos pertinentes, por me apoiar em continuar meus estudos, pelo companheirismo e pelo amor.

À minha querida nona, Irene Zanette Martinello, que nos deixou recentemente, por ter sempre me apoiado e me ouvido com seu jeitinho doce e atencioso. Foi ela minha inspiração em ser Eng. Agrônoma, pois me encantava com seu cuidado com as plantas e o amor que sentia no que fazia. Lembro sempre do que dizia a cada flor que florescia em seu jardim “é a coisa mais linda do mundo!”. Agricultora, artesã, cantora, mãe, nona e bisa, foi um exemplo de pessoa que tenho orgulho de chamar de minha nona. Sei que, através de minhas orações, ela guia meus caminhos e dedico a ela esta nova conquista em minha vida.

Ao restante da minha família que me apoia, mesmo estando longe, especialmente ao meu nono João e às minhas tias Ana Meri, Maria Inês e Eliete.

Às minhas eternas amigas e colegas de profissão Ana, Daniela, Julia, Mauren,

Monique e Rúbia, pela amizade, apoio e carinho desde o início da graduação até os dias de hoje.

Ao professor Paulo Vitor Dutra de Souza pela orientação, confiança e ensinamentos.

Aos professores Sérgio Schwarz e Gilmar Marodin pelos conselhos e ensinamentos.

À minha grande parceira, colega e amiga Taís Altmann, que tornou esses dois anos de mestrado muito melhores. Agradeço pela companhia, pelos momentos de risadas, pelas boas conversas, pelos conselhos e por toda a ajuda. Espero levar essa amizade para sempre.

Às minhas queridas colegas e amigas Vanessa Braga, Manuela Sulzbach e Priscila Rollo pelo companheirismo, ensinamentos e pelas boas risadas na salinha da pós-graduação.

Aos demais colegas do Departamento de Horticultura e Silvicultura pelo apoio e troca de experiências, especialmente: Aline, Leonardo, Francisco, Bibiana, Marcieli, Matheus, Gerson, Gustavo, Fernanda e Paula.

À bolsista de iniciação científica Gabriela, pela amizade, companhia e ajuda nas avaliações do experimento sempre animada e com muito “sucesso”. Tenho certeza que sua ajuda foi fundamental para realização do trabalho.

Aos demais professores, funcionários e colegas de pós-graduação do DHS que, de alguma forma, contribuíram para minha formação.

# USO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NA PRODUÇÃO DE PORTA-ENXERTOS DE CITROS<sup>1</sup>

Autora: Marina Martinello Back  
Orientador: Paulo Vitor Dutra de Souza

## RESUMO

A utilização de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na produção de porta-enxertos é uma alternativa para promover um desenvolvimento mais acelerado às plantas. Entretanto, sua influencia depende do ambiente, do fungo e do hospedeiro. Este trabalho teve como objetivo avaliar a ação de fungos micorrízicos arbusculares sobre o desenvolvimento vegetativo e fisiologia de diferentes porta-enxertos de citros. Foram realizados três estudos conduzidos na Estação Experimental Agronômica da UFRGS em Eldorado do Sul, RS. Os estudos avaliaram diferentes variedades de porta-enxerto inoculadas com diferentes espécies de FMA e um tratamento testemunha (sem inoculação) onde: o primeiro testou citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ [*P. trifoliata* (L.) Raf. x *C. sinensis* (L.) Osbeck.], Cunquateiro ‘Hong-Kong’ [*Fortunella hindsii* (L.) Swingle] e ‘Trifoliata’ [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] com *Scutelospora heterogama* e *Acaulospora* sp.; o segundo avaliou citrangeiro ‘Fepagro C37’ e cunquateiro ‘Hong-Kong’ com *Scutelospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.; e o terceiro testou apenas o citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ com *Scutelospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp. Nos três estudos, os porta-enxertos foram semeados em bandejas preenchidas com substrato autoclavado e inoculados com 10g de inoculante. Após atingir 10cm de altura, as plantas foram repicadas para sacos de 5L preenchidos com substrato comercial. Foram conduzidas em ambiente protegido por 240 dias. O delineamento experimental foi de parcelas subdivididas com 10 plantas por parcela e 3 repetições. Nos três estudos, avaliou-se altura e diâmetro das plantas; número de folhas, área foliar (cm<sup>2</sup>), massa fresca e seca da raiz e da parte aérea (g). Além disso, verificou-se a colonização dos FMA nas raízes, determinando a porcentagem de colonização, densidade de hifas e presença de arbúsculos e vesículas. No terceiro estudo, foi acompanhada quinzenalmente a altura (cm) e o diâmetro do caule (mm) das plantas e avaliado o teor de macro e micronutrientes da parte aérea das plantas. As quatro espécies de FMA colonizam as raízes dos porta-enxertos citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’, trifoliata e cunquateiro ‘Hong-Kong’, no entanto, não influenciam no desenvolvimento vegetativo desses dois últimos. O porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ apresentou forte resposta à presença de fungos micorrízicos arbusculares em seu sistema radicular para se desenvolver vegetativamente.

---

<sup>1</sup> Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (84f.) Fevereiro, 2017.

# USE OF ARBUSCULAR MICORRYSTAL FUNGI IN THE PRODUCTION OF CITRUS ROOTSTOCK<sup>1</sup>

Author: Marina Martinello Back

Adviser: Paulo Vitor Dutra de Souza

## ABSTRACT

The use of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in the production of rootstocks is an alternative to promote a more rapid development of plants. However, its influence depends on the environment, the fungus and the host. This work aimed to evaluate the action of arbuscular mycorrhizal fungi on the vegetative development and physiology of different citrus rootstocks. Three studies were conducted at the Experimental Agronomic Station of UFRGS in Eldorado do Sul, RS. They evaluated different varieties of rootstock inoculated with different species of AMF and a control treatment (without inoculation) where: the first tested citrus 'Fepagro C37 Reck' [*P. Trifoliata* (L.) Raf. *C. sinensis* (L.) Osbeck.], 'Kumquat tree' [*Fortunella hindsii* (L.) Swingle] and 'Trifoliata' [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] with *Scutelospora heterogama* and *Acaulospora* sp.; the second evaluated citrange 'Fepagro C37' and 'Kumquat tree' 'with *Scutelospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* and *Acaulospora* sp.; and the third tested only the citrus 'Fepagro C37 Reck' with *Scutelospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* and *Acaulospora* sp. In all three studies, the rootstocks were seeded in trays filled with autoclaved substrate and inoculated with 10 g inoculum. After reaching 10cm in height, the plants were picked up in 5L bags filled with commercial substrate. These were conducted in a protected environment for 240 days. The experimental design was of subdivided plots with 10 plants per plot and 3 replicates. In the three studies, height and diameter of the plants were evaluated; Number of leaves, leaf area (cm<sup>2</sup>), fresh and dry mass of root and shoot (g). In addition, the colonization of AMF was verified in the roots, determining the percentage of colonization, density of hyphae and presence of arbuscules and vesicles. In the third study, the height (cm) and stem diameter (mm) of the plants were monitored biweekly and the macro and micronutrients contents of the aerial part of the plants were evaluated. However, the four AMF species colonized the roots of the citrus rootstocks 'Fepagro C37 Reck', trifoliata and kumquat tree, however, do not influence the vegetative development of the latter two. The citrus rootstock 'Fepagro C37 Reck' presented a strong response on the presence of arbuscular mycorrhizal fungi in its root system to vegetative development.

---

<sup>1</sup> Master dissertation in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (84p.) February, 2017.

## SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	5
2.1 Citricultura e sua importância .....	5
2.2 Produção de mudas – Legislação e situação atual .....	6
2.2.1 Porta-enxertos de citros .....	8
2.3 Micorrizas Arbusculares .....	12
2.3.1 Colonização dos fungos micorrízicos arbusculares no hospedeiro .....	13
2.3.2 Fatores que influenciam a micorriza arbuscular .....	16
2.3.3 Fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas .....	19
2.4 Referências.....	23
3 ARTIGO 1 - Interação entre porta-enxertos de citros e fungos micorrízicos arbusculares .....	27
4 ARTIGO 2 - Influência de fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos de citros.....	41
5 ARTIGO 3 - Desenvolvimento e fisiologia do porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ inoculado com fungos micorrízicos arbusculares.....	48
7 CONCLUSÕES GERAIS .....	69
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	71
9 APÊNDICES .....	73

## RELAÇÃO DE TABELAS

### ARTIGO 1

	Página
1. Altura (cm), diâmetro do caule (mm), área foliar (cm <sup>2</sup> /planta) e número de folhas por planta de três porta-enxertos submetidos à inoculação de duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares ( <i>Glomus etunicatum</i> e <i>Acaulospora</i> sp.). Porto Alegre, 2017. ....	34
2. Massa fresca e seca da raiz e da parte aérea (g/planta) de três porta-enxertos submetidos à inoculação de duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares ( <i>Glomus etunicatum</i> e <i>Acaulospora</i> sp.). Porto Alegre, 2017. ....	35
3. Colonização (%), densidade de hifas e quantificação de arbúsculos e de vesículas em segmentos de raízes de três porta-enxertos submetidos à inoculação de duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares ( <i>Glomus etunicatum</i> e <i>Acaulospora</i> sp.). Porto Alegre, 2017. ....	37

### ARTIGO 2

1. Plant height, stem diameter, leaf area and number of leaves of rootstocks from citrus trees submitted or not to arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species. ....	44
2. Root and shoot fresh and dry mass of rootstocks from citrus trees submitted or not to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species. ....	45
3. Colonization, hyphal density and arbuscule and vesicle quantification in root segments from citrus tree rootstocks submitted or not to the inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species. ....	45

### ARTIGO 3

1. Número de folhas e área foliar (cm <sup>2</sup> /planta) do porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ submetido à inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares ( <i>Scutellospora heterogama</i> , <i>Gigaspora margarita</i> , <i>Glomus etunicatum</i> e <i>Acaulospora</i> sp.). Porto Alegre, 2017. ....	59
2. Massa fresca e seca da raiz e da parte aérea (g/planta) do porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ submetido à inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares ( <i>Scutellospora heterogama</i> , <i>Gigaspora margarita</i> , <i>Glomus etunicatum</i> e <i>Acaulospora</i> sp.). Porto Alegre, 2017. ....	59



3. Teores absolutos (g/planta) e relativos (%) de macronutrientes da parte aérea do porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ submetido à inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.). Porto Alegre, 2017..... 60
4. Teores absolutos (g/planta) e relativos (%) de micronutrientes da parte aérea do porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ submetido à inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.). Porto Alegre, 2017..... 62
5. Teores de reserva da parte aérea e da raiz do porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ submetido à inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.). Porto Alegre, 2017. .... 64
6. Porcentagem de colonização, densidade de hifas e quantificação de arbúsculos e vesículas em raízes do porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ submetido à inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.). Porto Alegre, 2017..... 64

## RELAÇÃO DE FIGURAS

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Página

1. Esquema da colonização micorrízica demonstrado as fases assimbiótica, pré-simbiótica e simbiótica. Destacam-se as estruturas de esporo, hifa, arbúsculo e vesícula. Fonte: adaptado de Plantas y Hongos (2017)..... 16

### ARTIGO 2

1. Rootstock roots of citrus trees inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. A - low hyphal density of *Acaulospora* sp. in kumquat tree roots; B - high hyphal density of *Scutellospora heterogama* in citrange 'Fepagro C37 Reck' roots. .... 46

### ARTIGO 3

1. Evolução da altura (cm) do porta-enxerto Citrangeiro 'Fepagro C37 Reck' submetido à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares ao longo de 240 dias após o transplante em casa de vegetação. \*\*\*\* significa, 0,01% de significância pelo teste F. \* e \*\*, significam respectivamente, 5% e 1% de significância pelo teste Duncan. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente. Porto Alegre, 2017..... 57
2. Evolução do diâmetro do caule (mm) do porta-enxerto Citrangeiro 'Fepagro C37 Reck' submetido à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares ao longo de 240 dias após o transplante em casa de vegetação. \*\*\*\* significa, 0,01% de significância pelo teste F. \* e \*\*, significam respectivamente, 5% e 1% de significância pelo teste Duncan. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente. Porto Alegre, 2017..... 57

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é destaque na produção de laranjas e na exportação do suco, sendo o segundo produtor do fruto e o maior produtor e exportador de suco. Esse crescimento gera no país mais de 250 mil empregos diretos e indiretos, trazendo renda para produtores rurais, agroindústrias e setor de varejo (Zulian *et al.*, 2013).

No entanto, o Brasil precisa evoluir muito no que se refere ao aspecto da qualidade das frutas produzidas, principalmente para conquistar o mercado internacional de frutas frescas. As pragas e as doenças são umas das principais ameaças à citricultura nacional, impedindo que as frutas cheguem ao mercado consumidor; tanto nacional como internacional, com aspecto saudável. Desta forma, com o surgimento de novas doenças e pragas, vem aumentando o uso de agrotóxicos, que muitas vezes são ineficientes e utilizados sem embasamento técnico. O uso destes produtos cria uma barreira ainda maior com o mercado externo, que cada vez mais clama por produtos de qualidade, saudáveis e sem presença de contaminantes químicos.

Desta forma, o setor citrícola precisa adotar práticas mais sustentáveis para melhorar sua cadeia de produção e, conseqüentemente a qualidade do fruto. Dentre estas práticas, a aquisição de mudas com qualidade genética e sanitária é fundamental. Somente desta forma, o pomar adulto expressará seu máximo potencial de produção (Schäfer & Dornelles, 2000; Oliveira & Scivittaro, 2003). Para isso, o setor de produção de mudas deve estar organizado para garantir essas características.

Nos últimos anos, algumas ações de diversos segmentos políticos, de pesquisa e

extensão vêm melhorando o setor de viveiros. Medidas como a criação de uma instrução normativa (IN), que estabeleceu normas para produção, comercialização e utilização das mudas. As principais mudanças previstas na IN são a exigência de produção de mudas em ambiente protegido, o uso de substrato livre de propágulos de plantas daninhas e patógenos, o material propagativo deve ser advindo de plantas matrizes certificadas e a muda deve ser produzida em no máximo 24 meses.

Embora a IN tenha determinado padronização e qualidade, o custo para produzir mudas certificadas é muito elevado, principalmente pela implantação do sistema de ambiente protegido (Graf, 2001). Assim, ainda existem diversos viveiros clandestinos produzindo mudas a céu aberto sem garantia sanitária e genética. Conseqüentemente, viveiros telados têm dificuldade de competir com o preço menor das mudas clandestinas.

Outra limitação que a citricultura apresenta é a falta de diversificação de porta-enxertos. Estima-se que 74% das propriedades citrícolas riograndenses apresentam um único porta-enxerto, o ‘Trifoliata’ (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) (Sulzbach, 2016). Embora apresente características desejáveis para a cultura no estado, deve-se salientar que o uso de apenas uma espécie torna a citricultura gaúcha vulnerável a novas doenças e pragas. Assim, nos últimos anos, estudos vêm sendo realizados com objetivo de encontrar novos porta-enxertos com potenciais agrônômicos, tais como Brugnara *et al.* (2009), Gonzato *et al.* (2011), Petry *et al.* (2016), Reis *et al.* (2008).

Embora o cultivo em ambiente protegido tenha reduzido o tempo de produção da muda comparativamente ao sistema tradicional, quando o porta-enxerto usado é o ‘Trifoliata’, devido às condições climáticas do sul do país, ainda não é possível produzir uma muda no tempo hábil que a certificação determina (Oliveira & Scivittaro, 2005). Desta forma, faz-se necessário buscar soluções para reduzir o tempo de produção da muda, seja pela forma de manejo ou o uso de materiais mais vigorosos em fase de viveiro.

Visando a obtenção de mudas vigorosas, bem nutridas e uniformes para um melhor

índice de sobrevivência e um melhor desempenho a campo, a pesquisa tem utilizado microorganismos do solo associados às raízes, principalmente fungos micorrízicos arbusculares (FMA).

A micorriza arbuscular (MA) é a simbiose mais importante dos vegetais com fungos do solo pertencentes ao filo Glomeromycota. A MA é mutualística, isto é, o fungo através de sua rede micelial no solo potencializa a absorção de água e nutrientes para a planta e essa fornece fotoassimilados para o fungo (Berbara *et al.*, 2006; Moreira & Siqueira, 2006; Siqueira *et al.*, 2010).

Essa simbiose desempenha um importante papel na evolução e sobrevivência das plantas e contribui, de forma efetiva, para a produção vegetal atuando como prolongamento do sistema radicular da planta hospedeira, capaz de aumentar a absorção de nutrientes pouco móveis do solo (P, Zn e Cu), promover proteção contra patógenos, minimizar impactos causados por estresses bióticos e abióticos, como salinidade e deficiência hídrica (Moreira & Siqueira, 2006). Como consequência, os FMA contribuem para um maior crescimento vegetativo e maior sobrevivências de plantas no momento do transplante e no estabelecimento nos primeiros anos do pomar.

Diante disso, o uso de FMA se faz importante para produção de porta-enxertos cítricos, uma vez que, em sua maioria, são carentes de pelos radiculares que são responsáveis pela maior absorção de nutrientes e água. Desta forma, são plantas que respondem muito bem a associação micorrízica, podendo, sem a presença de FMA, ocorrer à paralisação do crescimento das plantas, quando cultivadas em substrato ou solo esterilizado e com baixa fertilidade. (Souza *et al.*, 2000; Souza *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 2011).

Entretanto, cabe salientar que a simbiose entre fungo e hospedeiro é influenciada por diversos fatores ligados as espécies de ambos os simbioses, condições ambientais e características do substrato/solo (Cavalcante *et al.*, 2009). Uma das formas de aumentar as

chances de sucesso é a utilização de espécies de FMA nativas, pois estas são mais adaptadas às condições ambientais do local.

Nesse trabalho, objetivou-se avaliar a ação de fungos micorrízicos arbusculares sobre o desenvolvimento vegetativo e fisiologia de diferentes porta-enxertos de citros.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Citricultura e sua importância

Em 2015, a citricultura foi o principal cultivo de frutas no mundo com uma produção de cerca de 135,2 milhões de toneladas, sendo o Brasil responsável por 14,6% desta produção, com aproximadamente 19,7 milhões de toneladas (FAO, 2017). O Brasil possui todos os segmentos do setor com mudas e viveiros certificados, cultivo de frutas cítricas para consumo *in natura* e indústria, produção do suco e canais de distribuição internacional que levam os produtos ao mercado europeu, norte-americano e asiático (Zulian *et al.*, 2013).

Diante desse cenário, o Brasil é o segundo maior produtor mundial de citros e o maior exportador do suco de laranja, atendendo a diversos países em todos os continentes. O país produz dois terços do suco de laranja do planeta, sendo que as exportações trazem de US\$ 1,5 bilhão a US\$ 2,5 bilhões por ano ao país (Agrianual, 2015). Essa riqueza está distribuída em centenas de empresas diretamente ligadas ao setor, em milhares de propriedades rurais, gerando mais de 250 mil empregos diretos e indiretos (Zulian *et al.*, 2013).

Em 2015, o Rio Grande do Sul foi o sexto maior produtor de citros do Brasil, correspondendo uma produção de 357 mil toneladas de laranja em 24 mil hectares e 132 mil toneladas de tangerina em 11 mil hectares (IBGE, 2017). Essa produção de tangerina e laranja está mais direcionada para o consumo *in natura*, principalmente nas regiões do Vale do Caí e no Alto Uruguai (João *et al.*, 2002). O estado apresenta um grande potencial para

produção de citros para o consumo *in natura*, por apresentar condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento do fruto com características físico-químicas adequadas (Schäfer & Dornelles, 2000). O cultivo vem sendo realizado, predominantemente, nos moldes de agricultura familiar com receita direta anual de mais de 150 milhões de reais (Oliveira *et al.*, 2004).

## **2.2 Produção de mudas – Legislação e situação atual**

O sucesso da citricultura, como em qualquer outra cultura, está na sua implantação adequada do pomar. Entre as práticas realizadas, destaca-se a escolha das variedades de copa e dos porta-enxertos, além da qualidade da muda. Portanto, o citricultor deve investir em uma muda de ótima qualidade sanitária e genética, pois é a partir dela que o pomar poderá expressar seu máximo potencial na produtividade e na qualidade da fruta (Schäfer & Dornelles, 2000; Oliveira & Scivittaro, 2003).

No entanto, nas últimas décadas, milhões de árvores são erradicadas no Brasil devido a doenças como a CVC (clorose variegada do citros) e o cancro cítrico, além disso, nos últimos anos surgiu doenças como o HLB (Huanglongbing) que está provocando reduções severas na área plantada de citros (Bové, 2006). O principal motivo é que a maioria dessas plantas já teriam vindo para o pomar contaminadas, ou seja, já apresentavam doenças oriundas do viveiro (Graf, 2001).

Desta forma, o citricultor deve ter garantias de que está adquirindo uma muda de qualidade e padronizada, e para isso, o setor viveirista deve apresentar máxima organização para estabelecer normas e técnicas a fim de certificar um produto de qualidade. Diante dessas necessidades do setor, em dezembro de 2005 foi criada a Instrução Normativa nº 24 com objetivo estabelecer normas para produção, comercialização e utilização de mudas de citros (Brasil, 2005). Dentre as práticas previstas na instrução normativa, cita-se a produção de mudas em ambiente protegido, o uso de



substrato livre de propágulos de plantas daninhas ou patógenos e material propagativo advindo de plantas matrizes certificadas (Oliveira & Scivittaro, 2003).

A produção de mudas certificadas de citros ocorre em duas fases. A primeira fase, de produção da muda em ambiente protegido, trata da produção dos porta-enxertos, desde a semeadura, passando pelo período da repicagem até a enxertia. Os porta-enxertos são produzidos através das sementes em bandejas ou tubetes (Souza & Schäfer, 2006; Oliveira & Scivittaro, 2004). O momento da repicagem das plântulas ocorre quando as mesmas têm em torno de 10 a 15 cm de altura e são transferidas para vasos (citropotes) ou sacos plásticos (capacidade de 4-5 L). Posteriormente ocorre o desenvolvimento vegetativo do porta-enxerto até atingir o diâmetro de 0,6 cm (considerado o diâmetro ideal para a realização da enxertia). A enxertia deve ser realizada a uma altura acima de 10 cm a partir da superfície do substrato, pelo método de borbulhia de “T” invertido. A seguinte fase consiste no desenvolvimento vegetativo do enxerto até a muda ficar pronta para comercialização (Souza & Schäfer, 2006; Oliveira & Scivittaro, 2003).

Segundo a IN nº24 (Brasil, 2005), esse processo de produção da muda que inicia com a obtenção do porta-enxerto até a muda já enxertada apresentar tamanho ideal para comercialização não deve ultrapassar 22 meses. Perante essa norma, o Estado do Rio Grande do Sul apresenta certa dificuldade de produzir mudas certificadas. Isso ocorre devido à baixa taxa de crescimento da muda no período do inverno no Estado. Além disso, isso se agrava pelo uso do porta-enxerto *Poncirus trifoliata* (L.) e seus híbridos que têm como característica redução de sua velocidade de crescimento vegetativo em condições de baixas temperaturas como forma de tolerância ao frio e a geada (Köller, 2013; Oliveira *et al.*, 2008). Desta forma, faz-se necessário buscar soluções para reduzir o tempo de produção da muda, seja pela forma de manejo ou o uso de materiais mais vigorosos em fase de viveiro.

Além dessa problemática, outros entraves que o setor de produção de mudas de

citros vem enfrentando, devido à burocracia que a instrução normativa proporciona, além do maior custo para produzir mudas certificadas (Oliveira & Scivittaro, 2004). Em razão disso, nos últimos anos ocorreu uma redução drástica no número de viveiros certificados no Brasil e, principalmente, no estado do Rio Grande do Sul (Graf, 2001). Com consequência, aumentou o número de mudas produzidas em viveiros clandestinos e em propriedades citrícolas, facilitado por uma carência de fiscalização, acentuando a falta de padronização e a perda de qualidade genética e fitossanitária das mesmas (Schäfer & Dornelles, 2000).

Esse novo cenário no setor de produção de mudas influenciou negativamente a citricultura como um todo, devido, principalmente, ao favorecimento do surgimento de novas doenças e a redução do potencial genético dos pomares. Assim, resultando em um aumento no uso de agrotóxicos para tentar reduzir os danos provocados por novas pragas e doenças e aumento no uso de fertilizantes para compensar a redução de produtividade dos pomares (Graf, 2001).

Desta forma, diversas medidas vêm sendo tomadas para melhorar o cenário da produção de mudas no estado do Rio Grande do Sul e no Brasil. Medidas essas como o aprimoramento da legislação para produção e comércio de mudas certificadas, como a IN N°48 de 2013 (Brasil, 2013) e desenvolvimento de pesquisas em universidades e empresas de pesquisas com o objetivo de melhorar as práticas adotadas no sistema de produção e viabilizar a certificação de mudas (Oliveira & Scivittaro, 2004; Oliveira & Scivittaro, 2005).

### **2.2.1 Porta-enxertos de citros**

A utilização de porta-enxertos na citricultura proporcionou uma melhoria no setor, pois possibilitou o cultivo de citros em áreas que anteriormente não eram adaptadas para a cultura, devido às características que as espécies de porta-enxertos proporcionam, como:

tolerância às pragas e às moléstias, ao déficit hídrico, às baixas temperaturas e à salinidade (Oliveira *et al.*, 2008; Schäfer *et al.*, 2001).

Em relação à parte aérea da planta, o porta-enxerto pode influenciar características agronômicas desejáveis como: melhor arquitetura da planta, precocidade de produção, época de maturação, quantidade e qualidade da produção, teores de açúcares e ácidos dos frutos e sua permanência na planta e conservação dos frutos após a colheita (Schäfer *et al.*, 2001; Souza *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2010).

Entretanto, a citricultura nacional está sustentada sobre um pequeno número de variedades porta-enxertos, havendo, nessas condições, risco fitossanitário bastante elevado (Oliveira *et al.*, 2010). Historicamente a produção de citros vem sofrendo os efeitos negativos dessa base genética limitada como a morte de milhões de plantas enxertadas sobre laranjeira ‘Caipira’ [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] pela gomose de *Phytophthora* spp. no início do século 20; de pomares com a laranjeira ‘Azeda’ (*Citrus aurantium* L.) como porta-enxerto, pelo vírus da tristeza na década de 40; e, a partir da década de 70 e no ano de 2001, de plantas enxertadas sobre limoeiro ‘Cravo’ (*Citrus limonia* Osbeck), respectivamente, pelo declínio e pela morte súbita dos citros (Oliveira & Scivittaro, 2005; Köller, 2009).

No Rio Grande do Sul, estima-se que 74% das propriedades citrícolas apresentam apenas o *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. como porta-enxerto (Sulzbach, 2016). Isso ocorre devido ao fato de que o ‘Trifoliata’ é um porta-enxerto que proporciona ótimas características agronômicas ao pomar e adaptação às condições do estado. Desta forma, como em outras regiões do país que apresentam pouca variabilidade de porta-enxertos, a citricultura rio-grandense apresenta-se vulnerável ao aparecimento de alguma nova enfermidade que possa atingir esta variedade (Schäfer & Dornelles, 2000; Schäfer *et al.*, 2001).

O *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. tem sido o porta-enxerto mais utilizado no Rio

Grande do Sul principalmente por ser tolerante ao frio e proporcionar alta qualidade à fruta. Apresenta caráter caducifólio, que em resposta às temperaturas amenas reduz sua atividade metabólica drasticamente, entrando em repouso (Oliveira *et al.*, 2010; Köller, 2009). Por estas características, seu comportamento em viveiro proporciona baixo vigor às plantas, o que eleva o tempo de produção e custos, porém em condições de campo indica alta longevidade (Souza *et al.*, 2010).

Diante disso, faz-se necessário adotar a diversidade de porta-enxertos em um pomar para garantir a sua sobrevivência, sendo que a variabilidade genética é um dos principais fatores que influenciam nesta característica do pomar (Oliveira *et al.*, 2008).

Desta forma, pesquisas estão sendo desenvolvidas para testar diferentes porta-enxertos com objetivo de obter plantas com características desejáveis no pomar (principalmente longevidade e qualidade de frutos) e, assim, diversificar os pomares citrícolas do Rio Grande do Sul (Oliveira *et al.*, 2010). Atualmente os mais preconizados para diversificação em pomares são os citrangeiros (*C. sinensis* x *P. trifoliata*), alguns desenvolvidos pela FEPAGRO, como os citrangeiros ‘Fepagro C13’ e ‘Fepagro C37 Reck’; os citrangeiros ‘Troyer’ e ‘Carrizo’; o citrumeleiro ‘Swingle’ (*C. paradisi* Macf. x *P. trifoliata*); e a tangerineira ‘Sunki’ (*C. sunki* Hort. ex Tan) (Köller, 2009; Oliveira *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2010).

Um porta-enxerto com grande potencial, já empregado em alguns pomares do Rio Grande do Sul, é o citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. x *Citrus sinensis* (L.) Osbeck.]. Esse é um híbrido do ‘Trifoliata’ [*P. trifoliata* (L.) Raf], que apresenta as características desejáveis desse, além de ter um crescimento rápido em viveiro e proporciona ótima qualidade aos frutos da variedade copa (Oliveira *et al.*, 2010; Köller, 2013).

O gênero *Fortunella* sp. é muito empregado em paisagismo, pela beleza de sua copa, floração e frutificação, mas também pelo seu baixo vigor (Mazzini & Pio, 2010). Em

virtude dessa última característica, essa espécie tem potencial para ser estudada como alternativa para a diversificação de porta-enxertos em citros, pois poderá proporcionar copas com porte menor, portanto permitindo a formação de pomares mais adensados, com maior produção por metro cúbico. Além disso, o gênero *Fortunella* sp. é altamente resistente ao cancro cítrico e tolerante à CVC (clorose variegada dos citros), doenças muito importantes na citricultura brasileira (Köller, 2013).

Gonzatto *et al.* (2011) avaliaram a qualidade dos frutos e o crescimento da tangerineira 'Oneco', durante as sete primeiras safras do pomar, em Butiá, Rio Grande do Sul. Os porta-enxertos avaliados foram: citrumeleiro 'Swingle' [*Citrus paradisi* Macfad × *P. trifoliata*], laranjeira 'Caipira' (*C. sinensis* Osbeck), citrangeiro 'Troyer' (*C. sinensis* × *P. trifoliata*), limoeiro 'Cravo' (*C. limonia* Osb.), limoeiro 'Volkameriano' (*C. volkameriana* Ten. & Pasq.) e trifoliata 'Flying Dragon' [*P. trifoliata* var. *monstrosa* (T. Ito) Swing.]. Os porta-enxertos influenciaram as características da variedade copa, apresentando distintos valores de diâmetro do tronco, área de projeção da copa, produção acumulada e qualidade dos frutos. Concluíram que os porta-enxertos mais adequados para tangerina 'Oneco' na região testada foram citrumeleiro 'Swingle' e citrangeiro 'Troyer', sobre a produção de frutos e qualidade. Já as plantas enxertadas em porta-enxertos 'Flying Dragon' apresentaram maior eficiência de produção, apesar do volume de copa baixa, podendo ser uma característica desejável em pomares mais adensados.

Outro trabalho que avaliou a influência de diferentes porta-enxertos nas características da variedade copa foi o de Auler *et al.* (2008). Os autores avaliaram as tangerineiras 'Cleópatra' (*C. reshni*) e 'Sunki' (*C. sunki*), o citrangeiro 'Troyer' (*P. trifoliata* × *C. sinensis*), o tangeleiro 'Orlando' (*C. tangerina* × *C. paradisi*) e a laranjeira 'Caipira' (*C. sinensis*) como porta-enxertos alternativos ao limoeiro 'Cravo' (*C. limonia*) para o cultivo de laranjeira Valência e suas influências na produtividade e nas características físico-químicas dos frutos. O estudo mostrou que os porta-enxertos 'Sunki',

‘Cleópatra’ e ‘Troyer’ se destacaram como opções para a diversificação do limoeiro ‘Cravo’.

### 2.3 Micorrizas Arbusculares

As micorrizas arbusculares (MA), que envolvem aproximadamente 80% de espécies de plantas terrestres e fungos de solo do filo Glomeromycota, são as mais comuns e importantes simbioses dos vegetais (Goltapeh *et al.*, 2008; Berbara *et al.*, 2006; Siqueira *et al.*, 2010). Sua relevância é atribuída a maior abrangência, ocorrendo na maioria dos solos, climas e plantas, desde vegetais de grande porte a rasteiros, perenes e anuais, de clima tropical a temperado (Siqueira *et al.*, 2010; Gutjahr & Parniske, 2013).

Essa simbiose é considerada uma das mais antigas (> 450 milhões de anos), sendo que há relatos de que as primeiras plantas terrestres já apresentavam associação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em seus sistemas radiculares. Ao longo da evolução terrestre, esta simbiose possibilitou maior adaptação e estabelecimento de ambos os organismos envolvidos (Goltapeh *et al.*, 2008).

Atualmente, mais de 300 espécies de FMA foram identificados. Pertencentes à classe Glomeromycota, ordem Glomerales, os FMA estão inseridos em quatro sub-ordens: Glomerales, Diversisporales, Archaeosporales e Paraglomerales. A ordem Glomerales inclui a família Glomeraceae (em que estão inseridos os seguintes gêneros *Glomus*, *Funneliformis*, *Sclerocystis* e *Rhizophagus*) e a família Claroideoglomeraceae com somente o gênero *Claroideoglomus*. A ordem Diversisporales apresenta as famílias Gigasporaceae (gêneros *Gigaspora*, *Racocetra* e *Scutellospora*), Acaulosporaceae (gênero *Acaulospora*), Pascisporaceae (gênero *Pacispora*) e Diversisporaceae (gêneros *Diversispora*, *Otospora* e *Redeckera*). Na ordem Archaeosporales, tem-se a família Archaeosporaceae (gênero *Archaeospora*), a família Ambisporaceae (gênero *Ambispora*) e a família Geosiphonaceae (gênero *Geosiphon*). Finalmente, a família Paraglomeraceae,

com somente o gênero *Paraglomus* (Schüßler & Walker, 2010, Souza *et al.*, 2007).

A MA é considerada mutualística entre os organismos, onde a planta supre o fungo com energia para crescimento e manutenção via produtos fotossintéticos, enquanto o fungo provê a planta com nutrientes e água. Nesse sentido, essa simbiose amplia a capacidade de absorção de nutrientes por parte do simbiote autotrófico e, conseqüentemente, a sua competitividade interespecífica e produtividade (Berbara *et al.*, 2006; Goltapeh *et al.*, 2008).

Os mecanismos provocados pela associação entre fungo e planta são diversos, mas sempre condicionados às alterações na fisiologia de ambos os simbioss, podendo incluir um ou mais dos seguintes aspectos: alteração na exsudação radicular, mediada por fatores bióticos e abióticos do sistema; aumento do vigor da planta em função da melhoria na nutrição; competição por sítios de infecção e/ou por fotoassimilados; aumento de microbiota rizosférica antagônica ao patógeno da planta simbiote; alterações morfológicas nos tecidos radiculares; e maior tolerância à estresses abióticos (Goltapeh *et al.*, 2008; Kageyama *et al.*, 2008; Moreira & Siqueira, 2006).

Dessa forma, a simbiose influencia em diversas características desejáveis a planta que possibilitará um maior desenvolvimento, refletindo em uma maior qualidade e produção. A partir disso, pesquisas envolvendo as micorrizas arbusculares têm como objetivo aumentar a produção, reduzir o uso de fertilizantes químicos e contribuir para alcançar um padrão de agricultura mais sustentável e menos dependente de insumos uma vez que a sustentabilidade é fundamental para garantir a segurança alimentar das futuras gerações (Baar, 2008; Cripps, 2001).

### **2.3.1 Colonização dos fungos micorrízicos arbusculares no hospedeiro**

Os FMA são simbioss obrigatórios, ou seja, necessitam de um hospedeiro vivo para sobreviver. A formação da associação inicia-se a partir de sinalizações aos propágulos

do fungo no solo, que podem ser esporos, células auxiliares e hifas colonizadas em segmentos de raízes (Lambais & Ramos, 2010).

A germinação dos esporos dos FMA ou início do crescimento de hifas colonizadas em segmentos de raízes não necessitam de um sinal do hospedeiro para ter início, pois basta haver características físico-químicas do solo (temperatura, umidade e pH) favoráveis para seu estímulo (Lambais & Ramos, 2010; Parniske, 2008). Contudo, a presença de exsudatos de raízes pode estimular a germinação dos esporos e o crescimento do tubo germinativo, indicando que os FMA são sensíveis aos compostos presentes na rizosfera (Giovannetti, 2008). Estudos mostram que as hifas dos FMA crescem mais rapidamente e apresentam uma intensa ramificação nas proximidades do sistema radicular do hospedeiro, sugerindo que enzimas sinalizadoras exsudadas pelas raízes são efetivamente reconhecidas pelos FMA. Entretanto, isso não ocorre na presença das raízes de plantas não-hospedeiras, indicando a existência de um mecanismo de distinção do fungo para plantas hospedeiras e não-hospedeiras (Kiriachek *et al.*, 2009).

Após os sinais do hospedeiro e fatores do solo favoráveis aos propágulos do fungo, há uma multiplicação rápida de hifas para ter contato com a raiz da planta. Essas hifas, ao encontrarem as raízes, aderem à sua superfície (epiderme ou pêlos radiculares) e diferenciam-se em um apressório (fortalecimento da extremidade da hifa), através do qual penetram no tecido da epiderme formando a "unidade de infecção". As hifas direcionam-se para o córtex via apoplasto e se espalham ao longo do eixo longitudinal da raiz para formar nas camadas mais internas do córtex, os arbúsculos (Giovannetti, 2008). O arbúsculo é um emaranhado de hifas localizado entre a parede celular e a membrana plasmática da célula. Essa estrutura é responsável pela troca de nutrientes e fotoassimilados entre fungo e planta, ou seja, é onde ocorre a simbiose propriamente dita (Smith & Smith, 2011). O afinamento e ramificação das hifas têm como objetivo aumentar a área de contato entre membranas dos simbiontes para melhorar a eficiência das trocas (Giovannetti, 2008).



Posteriormente ao estabelecimento das hifas e arbúsculos, o fungo inicia a formação de vesículas. Essas estruturas são de armazenamento de nutrientes como uma forma de defesa do fungo para situações adversas, como exemplo, baixas temperaturas. São formadas em alguns gêneros (*Glomus* e *Acaulospora*, por exemplo) em outros são ausentes (*Gigaspora* e *Scutellospora*), pois nesses, ao invés de vesículas existem células auxiliares que são formadas em hifas extra-radiculares (Lambais & Ramos, 2010).

No solo, os FMA formam uma extensa rede micelial à fim de explorar microambientes não alcançados pelas raízes, sendo responsáveis pela absorção de nutrientes e água que posteriormente são transferidos para a planta hospedeira (Cruz *et al.*, 2008).

O desenvolvimento e a velocidade de espalhamento do micélio do fungo micorrízico na rizosfera são influenciados pela espécie do fungo, pelas condições ambientais e pela idade da planta (Kiriachek *et al.*, 2009). Desta forma, quanto maior a área de rede micelial atingida melhor será a associação e benefícios que a simbiose trará para ambos os organismos envolvidos (Cruz *et al.*, 2008). Segundo Lambais & Ramos (2010) a quantidade de micélio extra-radicial pode atingir até 1,5 m/cm de hifa de raiz colonizada, ou 55m/g de solo rizosférico.

A colonização dos FMA é descrita em três fases segundo Lambais & Ramos (2010). São elas: primeira fase, chamada de assimbiótica, compreende-se pela germinação dos esporos até o crescimento do tubo germinativo; a segunda fase, chamada pré-simbiótica, refere-se à ramificação das hifas esporofídicas em resposta aos sinais produzidos pelo hospedeiro; e a última fase, chamada de simbiótica, é referente aos eventos associados à diferenciação do apressório, penetração, colonização no córtex, formação e funcionamento do arbúsculo e formação das vesículas (Figura 1).

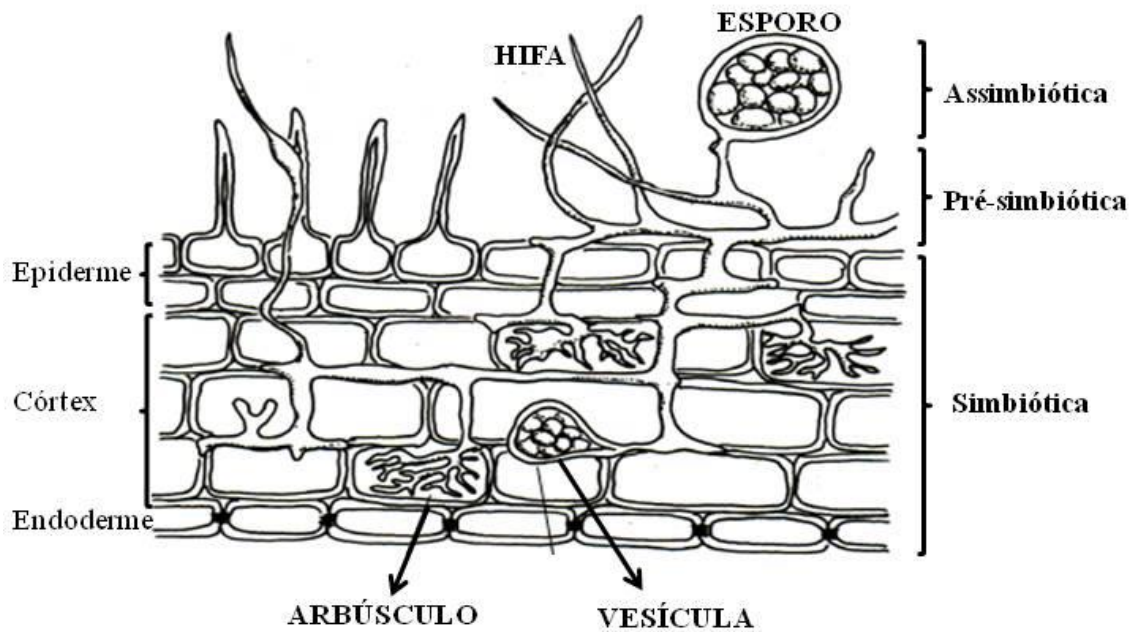


FIGURA 1. Esquema da colonização micorrízica demonstrado as fases assimbiótica, pré-simbiótica e simbiótica. Destacam-se as estruturas de esporo, hifa, arbúsculo e vesícula. Fonte: adaptado de Plantas y Hongos (2017)

### 2.3.2 Fatores que influenciam a micorriza arbuscular

A micorriza arbuscular possui três importantes componentes: a raiz, as estruturas do fungo, formadas dentro da célula hospedeira (arbúsculo), e o micélio extraradicular no solo. A complexa relação entre raiz e fungo necessita de contínuo reconhecimento e troca de sinais entre ambos. Para o estabelecimento da simbiose, existem alguns fatores envolvidos, como: compatibilidade genética entre planta e fungo, fatores edafoclimáticos, atividades planta-microrganismos e densidade de inóculo de FMA (Berbara *et al.*, 2006).

As plantas apresentam respostas diferenciadas à inoculação, havendo evidências de que espécies que pertencem à mesma família podem variar na suscetibilidade a fungos micorrízicos e que cultivares da mesma espécie também podem apresentar diferentes respostas à inoculação com determinadas espécies ou isolados fúngicos (Moreira & Siqueira, 2006). Outros fatores da planta como idade, estado nutricional, estágio fisiológico, presença de compostos fungistáticos e seu manejo como a poda e a aplicação de fitohormônios também influenciam a micorrização (Goltapeh *et al.*, 2008).

Quanto ao fungo, existem alguns fatores como a questão genética e adaptação ao ambiente que irão influenciar na colonização e no estabelecimento do fungo no hospedeiro. Desta forma, estudos mostram que o uso de espécies de ocorrência natural em certo ambiente são mais eficientes para que ocorra a simbiose, pois são mais adaptadas as condições do ambiente e apresentam maior compatibilidade genética com o hospedeiro (Berbara *et al.*, 2006).

Segundo Siqueira *et al.* (2010) as características edafoclimáticas também influenciam a micorrização. Essas características podem ou não ser manejadas e ajustadas no processo de produção, tais como: temperatura, umidade do solo, radiação e características físico-químicas do substrato (pH, nível nutricional, teor de matéria orgânica e textura).

A temperatura do solo pode influenciar colonização e esporulação dos FMA no campo e sob condições de casa de vegetação, pois os fungos apresentam variações nos limites e na faixa ótima de temperatura para germinação dos esporos e extensão do micélio externo (Maia *et al.*, 2010). A faixa ideal varia de cada espécie de fungo, entretanto, de modo geral, a temperatura ótima é entre 20 a 30°C (Cavalcante *et al.*, 2009).

O fungo obtém glicose e outros produtos do hospedeiro, como aminoácidos, e este precisa de luz para sua atividade fotossintética. Conseqüentemente, baixa luminosidade poderá resultar em menores taxas de colonização e esporulação que dependem da fotossensibilidade da espécie hospedeira (Maia *et al.*, 2010).

A umidade do solo influencia diretamente na germinação dos esporos e no crescimento micelial, sendo a faixa ideal para desenvolvimento e eficiência dos FMA entre 40 e 80%. Entretanto, estudos comprovam os benefícios que a MA oferece ao hospedeiro em situações de deficiência hídrica como maior tolerância à seca e melhor aproveitamento da água (Cavalcante *et al.*, 2009). Wu e Xia (2006) observaram que *Glomus versiforme* melhorou o crescimento, a fotossíntese e o potencial osmótico de Tangerina (*Citrus*

*tangerina*) comparando com plantas não colonizadas submetidas a estresse hídrico, concluindo que os FMA estimulam a tolerância da planta a condição de seca.

Segundo Cavalcante *et al.* (2009), embora os efeitos do pH do solo sejam difíceis de ser avaliados, pois muitas propriedades químicas do solo variam com as alterações deste fator, ele influencia qualitativa e quantitativamente as micorrizas, refletindo-se na ocorrência das espécies de plantas e FMA, na densidade de esporos na rizosfera e no crescimento e absorção de P pelas plantas. Existem evidências da adaptação de isolados e espécies de FMA com ocorrência em solos com pH na faixa de 2,7 a 10 (Berbara *et al.*, 2006). Em geral, os esporos dos FMA germinam bem entre pH 6 e 7, mas há grandes diferenças na germinação entre esses fungos (Moreira & Siqueira, 2006).

Condições de elevada fertilidade do solo, especialmente N e P, assim como Mn, Zn e Cu, em geral, inibem micorrização (Berdara *et al.*, 2006). Entretanto, o fósforo é o nutriente que mais afeta a simbiose, controlando principalmente a taxa de crescimento fúngico intrarradicular (Cavalcante *et al.*, 2009). A influência do P tem sido mais estudada devido à importância dos FMA no ciclo do P (transportando fosfato inorgânico do solo para as plantas, que transformam este elemento em fosfato orgânico) e na colonização micorrízica. Normalmente, altas concentrações de P na planta inibem a colonização das raízes, enquanto baixas concentrações favorecem a colonização intrarradicular (Eckardt, 2005). Do mesmo modo que as espécies de FMA não contribuem igualmente para aumentar a absorção de nutrientes e crescimento da planta também são diferentes as respostas dos hospedeiros na absorção de P, devendo ser considerado cada sistema simbiote planta/ambiente/FMA (Minhoni *et al.*, 1993). Rocha *et al.* (2006) avaliou a resposta de mudas de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) inoculadas com 4 espécies de FMA e submetidas a diferentes doses de adubação fosfatada, onde observaram que os FMA aumentaram o crescimento vegetativo das mudas, entretanto, em doses elevadas de fósforo, os FMA obtiveram efeito negativo comparativamente com mudas não inoculadas.

A matéria orgânica exerce influência na estrutura, na composição de nutrientes do solo e na capacidade do solo em armazenar água, o que pode influenciar direta ou indiretamente o desenvolvimento e a eficiência do FMA. Além disso, os restos de raízes micorrizadas de plantas anuais constituem importante reservatório de inóculo. As populações de esporos de FMA parecem estar relacionadas ao nível de matéria orgânica do solo, e, em geral, a aplicação de adubos orgânicos melhora o desenvolvimento micorrízico (Minhoni *et al.*, 1993). No entanto, nem sempre são evidenciadas correlações entre conteúdo de matéria orgânica e a colonização e, dependendo do composto orgânico adicionado e da concentração, pode haver redução nos níveis de micorrização (Cavalcante *et al.*, 2009; Souza *et al.*, 2005)

Devido à complexidade envolvida para a compatibilidade entre fungo e hospedeiro e a influência do ambiente sobre a simbiose, existe uma dificuldade em determinar protocolos que viabilizem a utilização de micorrizas arbusculares no sistema de produção de plantas. Por isso que nos últimos anos a simbiose entre fungos micorrízicos arbusculares e plantas tem sido tão estudada, à fim de determinar quais espécies são mais adaptadas (tanto do fungo quanto da planta) e que condições ambientais e práticas de manejo são necessárias para o sucesso da simbiose (Siqueira *et al.*, 2010).

### **2.3.3 Fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas**

De modo geral, as plantas cítricas são altamente dependentes à associação micorrízica, podendo ocorrer a paralisação do crescimento das plantas, quando cultivadas em substrato ou solo esterilizado e com baixa fertilidade. Esta dependência está atribuída devido a maioria das espécies de citros possuírem um sistema radicular com pelos absorventes pouco desenvolvidos, dificultando a absorção de água e nutrientes (Melloni *et al.*, 2000; Souza *et al.*, 2000; Wu *et al.*, 2011).

Souza *et al.* (2002), avaliaram a presença de FMA em viveiros e pomares de citros

no Rio Grande do Sul. Foram encontradas diversas espécies colonizando, em ordem decrescente na frequência de ocorrência, como: *Glomus macrocarpum* > *Scutelospora heterogama* > (*Acaulospora scrobiculata* = *Acaulospora birreticulata*) > (*Glomus invernaium* = *Glomus occultum* = *Entrophospora colombiana*) > (*Glomus claroideum* = *Glomus constrictum*) > *Scutelospora persica*. Entretanto, a intensidade e efetividade da associação micorrízica nestas condições naturais têm variado em função de fatores intrínsecos às espécies envolvidas na simbiose e a fatores bióticos e abióticos do sistema, especialmente o teor de fósforo disponível no solo.

Em viveiros, a inoculação de mudas com FMA é recomendável uma vez que há indícios que o fungo acelera o crescimento e melhora a qualidade das plantas (Miranda & Miranda, 2001). O potencial de uso de FMA para melhorar a formação de mudas de frutíferas torna-se ainda maior quando se evidencia o tratamento do substrato como práticas normalmente recomendadas para a eliminação de patógenos e de plantas daninhas (Berbara *et al.*, 2006).

Recomenda-se a inoculação dirigida por possuir a vantagem que as plantas recebem inóculos específicos, que geralmente são os mais observados e eficientes para a cultura. Essa deve ser feita durante a formação da muda, com possíveis efeitos favoráveis já nesta fase (Miranda & Miranda, 2001).

Souza *et al.* (2000) testaram o efeito do FMA *Glomus intraradices* no desenvolvimento vegetativo do porta-enxerto citrange Carrizo [*Citrus sinensis* (L.) Osb. X *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.]. Observou-se que o FMA proporcionou um incremento no diâmetro do caule, altura da planta e na massa seca da raiz e da parte aérea.

Em um experimento com porta-enxerto limoeiro-cravo [*Citrus limonia* (L.) Osbeck], Melloni *et al.* (2000) avaliaram a influência de dois FMA *G. etunicatum* (Becker & Gerdemann) e *G. intraradices* (Schenck & Smith) no desenvolvimento vegetativo e na nutrição mineral do porta-enxerto. Observaram que o porta-enxerto limoeiro-cravo

apresentou maior absorção dos nutrientes P, K, S, Fe, Mn e Zn com a micorrização, destacando-se a contribuição do FMA *Glomus intraradices* no aumento dos valores de altura, diâmetro de caule e matéria seca da parte aérea.

Souza *et al.* (2005) testaram o efeito de dois FMA (*Glomus clarum* Nicol. & Schenck e *Acaulospora scrobiculata* Trappe) no desenvolvimento vegetativo do porta-enxerto trifoliata Flying Dragon (*P. trifoliata* var. *monstrosa*) cultivado em dois substratos (S1: solo + areia, 1:1, v:v; S2: solo + areia + resíduo decomposto de casca de acácia-negra, 2:2:1, v:v:v). Ao final do experimento observou-se que a ação dos FMA testados sobre o desenvolvimento vegetativo e substâncias de reserva de Flying dragon é dependente do substrato e da espécie de FMA, recomendando-se o uso de *A. scrobiculata*, neste porta-enxerto, somente se usado o substrato solo e areia.

Wu *et al.* (2011) avaliaram o efeito de FMA (*Diversispora spurca*) do crescimento vegetativo, sistema radicular e produção de enzimas antioxidantes em *Poncirus trifoliata* sob condições de estresse hídrico. Observaram que os FMAs proporcionaram maior tolerância a deficiência hídrica de plantas de Trifoliata, melhorando suas condições bioquímicas e morfológicas a esta condição.

Souza *et al.* (2000) avaliaram o efeito de cinco concentrações do ácido indolbutírico (AIB) e da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (*Glomus intraradices* Schenck & Smith) sobre o desenvolvimento vegetativo, conteúdo foliar de P e K e morfologia radicular de plântulas de citrange Carrizo [*Citrus sinensis* (L.) X *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.]. A aplicação de AIB não alterou o desenvolvimento vegetativo das plântulas cultivadas em ausência de FMA. Encontrou-se uma interação positiva entre o AIB e os FMA, pois as plântulas micorrizadas apresentaram um incremento no desenvolvimento vegetativo, nos conteúdos foliares de P e K e na espessura dos feixes vasculares com o aumento das concentrações de AIB.

No que se refere à viabilidade da inoculação de FMAs em mudas cítricas, pode-se

dizer que em vista da exigência de pequena quantidade de inóculo necessária, é viável que se utilize essa prática no manejo de produção mudas cítricas (Miranda & Miranda, 2001). Entretanto, nas condições do sul do Brasil, ainda há necessidade de estudos combinando espécies de FMA e cultivares de porta-enxertos, pois estudos indicam diferentes graus de afinidade segundo os organismos envolvidos (Souza *et al.*, 2005).



## 2.4 Referências

- AGRIANUAL: Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP, 2015. 251 p.
- AULER, P.A.M.; FIORI-TUTIDA, A.C.G.; TAZIMA, Z.H. Comportamento da laranjeira 'Valência' sobre seis porta-enxertos no noroeste do Paraná. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 30, n. 1, p. 229-234, 2008.
- BAAR, J. From Production to Application of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Agricultural Systems: Requirements and Needs. In: MYCORRHIZA. Berlim: Springer, 2008. p. 361-373.
- BERBARA, R.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H. **Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição.** In: NUTRIÇÃO Mineral de Plantas. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 53-85.
- BOVÉ, J. M. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology**, Jena, v.88, n.1, p.7-37, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 24 de 16 de dezembro de 2005. Normas para produção, comercialização e utilização de mudas. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 243, Seção 1, 20 dez. 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 48 de 24 de setembro de 2013. Normas de Produção e Comercialização de Material de Propagação de Citros. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 186, Seção 1, p. 38, 25 set. 2013.
- BRUGNARA, E.C. et al. Porta-enxertos para a tangerineira 'Michal' no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, p.1374-1379, 2009.
- CAVALCANTE, U. M. T.; GOTO, T. B.; MAIA, L. C. Aspectos da simbiose micorrízica arbuscular. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v. 5/6, p.180-208, 2009.
- CRIPPS, C. Endotrophic mycorrhiza. In: MALOY, O.C.; MURRAY, T.D. (Ed.) **Encyclopedia of Plant Pathology**. Nova York: John Willey & Sons, 2001. p. 405- 407.
- CRUZ, C. et al. Arbuscular mycorrhiza in plant physiological and morphological adaptations. In: MYCORRHIZA. Berlim: Springer, 2008. p.733-754.
- ECKARDT, N.A. Insights into plant cellular mechanisms: of phosphate transporters and arbuscular mycorrhizal infection. **The PlantCell**, Rockville, v. 17, p.3213-3216, 2005.
- FAO. **FAOSTAT** [Base de Dados]. 2015. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>> Acesso em: 22 out. 2016.
- GIOVANNETTI, M. Structure, Extent and Functional Significance of Belowground Arbuscular Mycorrhizal Networks. In: MYCORRHIZA. Berlim: Springer, 2008. p. 59-72.
- GOLTAPPEH, E. M. et al. Mycorrhizal Fungi: What We Know and What Should We

Know? In: MYCORRHIZA. Berlim: Springer, 2008. p. 3-28.

GONZATTO, M.P. et al. Performance of 'Oneco' mandarin on six rootstocks in South Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, p. 406-411, 2011.

GRAF, C. C. D. Vivecitrus e a produção de mudas certificadas. **Revista Laranja**, Cordeirópolis, v.22, n.2, p. 549-559, 2001.

GUTJAHR, C; PARNISKE, M. Cell and Developmental Biology of Arbuscular Mycorrhiza Symbiosis. **Annual Review of Cell Developmental Biology**, Palo Alto, v.29, p.593–617, 2013.

IBGE. **Lavoura Permanente por Estado**. 2017. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=rs&tema=lavourapermanente2015>>. Acesso em: 29 mar. 2017.

JOÃO, P. L. et al. **Levantamento da Fruticultura Comercial do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: EMATER/RS-ASCAR, 2002. 77 p.

KAGEYAMA, S. A.; MANDYAM, K. G.; JUMPPONEN, A. Diversity, Function and Potential Applications of the Root-Associated Endophytes. In: MYCORRHIZA. Berlim: Springer, 2008. p. 29-58.

KIRIACHEK, S. G. et al. Regulação do desenvolvimento de micorrizas arbusculares. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.33, p.1-16, 2009.

KOLLER, O.L. (Org.). **Citricultura catarinense**. Florianópolis: Epagri, 2013. 319p.

LAMBAIS, M. R.; RAMOS, A. C. Sinalização e transdução de sinais em micorrizas arbusculares. In: MICORRIZAS: 30 anos de pesquisa no Brasil. Lavras: UFLA, 2010. p.119-132.

MAIA, L. C.; SILVA, F. S. B.; GOTO, B. T. Estrutura, ultraestrutura e germinação de glomerosporos. In: MICORRIZAS: 30 anos de pesquisa no Brasil. Lavras: UFLA, 2010. p.75-118.

MAZZINI, R. B.; PIO, R. M. Caracterização morfológica de seis variedades cítricas com potencial ornamental. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 32, n. 2, p. 463-470, 2010.

MELLONI, R. et al. Fósforo adicionado e fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e nutrição mineral de limoeiro-cravo [Citrus limonia (L.) Osbeck]. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.24, p.767-775, 2000.

MINHONI, M.T.A.; CARDOSO, E.J.B.N.; EIRA, A.F. Efeitos da interação de fosfato de rocha, matéria orgânica e fungo micorrízico no crescimento e na absorção de nutrientes pela soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 17, p.15–171, 1993.

MIRANDA, J. C. C.; MIRANDA, L. N. de. **Produção de mudas inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares em viveiros**. Planaltina: EMBRAPA CERRADOS, 2001.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras:

UFLA, 2006. 729 p.

OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B. **Normas e padrões para produção de mudas certificadas de citros em parceria com a Embrapa**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2003. 18p.

OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B. **Infra-estrutura e custo de produção de mudas certificadas de citros**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004.

OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B. **Tecnologia para a produção de mudas certificadas de citros: época de semeadura e tegumento do porta- enxerto Trifoliata**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2005.

OLIVEIRA, R. P. et al. **Porta-enxertos para citros**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. 45 p.

OLIVEIRA, R. P. et al. **Porta-enxertos para citros**. In: PRODUÇÃO orgânica de citros no Rio Grande do Sul. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 295 p.

PETRY, H. et al. Porta-enxertos influenciam o desempenho produtivo de laranjeiras-de-umbigo submetidas a poda drástica. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 4, p. 449-455, out./dez. 2015.

PLANTASYHONGOS. **Endomicorrizas**. 2017. Disponível em: <[http://www.plantasyhongos.es/hongos/micorrizas\\_endotroficas\\_VA.htm](http://www.plantasyhongos.es/hongos/micorrizas_endotroficas_VA.htm)> Acesso em: 13 jan. 2017.

REIS, B. et al. Produção de frutos e incidência de cancro cítrico em laranjeiras 'Monte Parnaso' enxertadas sobre sete porta-enxertos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, p.672-678, 2008.

ROCHA, F. S. et al. Dependência e resposta de mudas de cedro a fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.1, p.77-84, 2006.

SCHÄFER, G.; DORNELLES, A. L. C. Produção de mudas cítricas no Rio Grande do Sul - diagnóstico da região produtora. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.4, p.587-592, 2000.

SCHÄFER, G.; BASTIANEL, M.; DORNELLES, A. L. C. Porta-enxertos utilizados na citricultura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.4, p.723-733, 2001.

SCHÜßLER, A.; WALKER, C. **The Glomeromycota: a species list with new families and genera**. Gloucester (Inglaterra): CreateSpace, 2010. p.58.

SIQUEIRA, J. O. et al. Histórico e evolução da micorrizologia no Brasil: avanços em três décadas. In: MICORRIZAS: 30 anos de pesquisa no Brasil. Lavras: UFLA, 2010. p.1-14.

SMITH, S. E.; SMITH, F. A. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: New paradigms from cellular to ecosystem scales. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, March, 2011.

SOUZA, E. L. S.; SCHWARZ, S. F.; OLIVEIRA, R. P. Porta-enxertos para citros no Rio Grande do Sul. In: INDICAÇÕES Técnicas para a Citricultura no Rio Grande do Sul.

Porto Alegre: FEPAGRO, 2010. Cap. 4, p. 19-26.

SOUZA, P.V.D.; AGUSTÍ, M. A.; ALMELA, V. Desenvolvimento vegetativo e morfologia radicular de citrange carrizo afetado por ácido indolbutírico e micorrizas arbusculares. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 249-255, 2000.

SOUZA, P.V.D. Interação entre micorrizas arbusculares e ácido giberélico no desenvolvimento vegetativo de plantas de citrange Carrizo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 5, p. 783-787, 2000.

SOUZA, P.V.D. et al. Influência de substratos e fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento vegetativo do porta-enxerto Flying dragon (*Poncirus trifoliata*, var. *Montruosa swing.*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 27, n. 2, p. 285-287, ago. 2005.

SOUZA, P. V. D.; SCHÄFER, G. Produção de mudas de laranjeiras. In: KOLLER, O.C. (Org.) **Citricultura: 1. Laranja: Tecnologia de Produção, Pós-Colheita, Industrialização e Comercialização**. Porto Alegre; Cinco Continentes, 2006. Cap. 5, p. 55-87.

SULZBACH, M. **Diagnóstico citrícola e análise de risco frente ao Huanglongbing no Rio Grande do Sul na perspectiva dos citricultores**. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR-RS, 2016. 99 f.

WU, Q. S.; XIA, R. X. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 163, n. 4, p. 417–425, 2006.

WU, Q. S.; ZOU, Y. N.; HE, X. H. Differences of hyphal and soil phosphatase activities in drought-stressed mycorrhizal trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata*) seedlings. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 129, p. 294–298, 2011.

ZULIAN, A.; DÖRR, A. C; ALMEIDA, S. C. Citricultura e agronegócio cooperativo no Brasil. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Santa Maria, v.11, n. 11, p. 2290-2306, 2013.

### **3 ARTIGO 1**

#### **Interação entre porta-enxertos de citros e fungos micorrízicos arbusculares**

*\* Manuscrito ajustado às normas da revista Iheringia.*

## INTERAÇÃO ENTRE PORTA-ENXERTOS DE CITROS E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES

**Marina Martinello Back<sup>1</sup>; Sandra Reith<sup>2</sup>; Julio Cesar Giuliani<sup>3</sup>; Paulo Vitor Dutra de Souza<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Horticultura e Silvicultura. Av. Bento Gonçalves 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil. backmarina@gmail.com

<sup>2</sup>EMATER/RS, ASCAR. R. Jorge Fett, 84, CEP: 95870-000, Bom Retiro do Sul, RS, Brasil. sandrarieth@hotmail.com

<sup>3</sup>Instituto Federal do Rio Grande do Sul, Campus de Bento Gonçalves. Av. Osvaldo Aranha 540, CEP 95700-000, Bento Gonçalves, RS, Brasil. juliociuliani@yahoo.com.br

<sup>4</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Horticultura e Silvicultura. Av. Bento Gonçalves 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil. pvdsouza@ufrgs.br

**RESUMO** – Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) promovem maior desenvolvimento de plantas, entretanto, a simbiose depende das espécies de ambos os simbioss. Objetivou-se avaliar a interação entre porta-enxertos cítricos inoculados com espécies de fungos micorrízicos arbusculares. Testou-se três porta-enxertos citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. x *Citrus sinensis* (L.) Osbeck.], cunquateiro ‘Hong-Kong’ [*Fortunella hindsii* Swingle] e ‘Trifoliata’ [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] inoculados com duas espécies de FMA (*Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.) e um tratamento não inoculado. Avaliou-se a altura (cm), o diâmetro do caule (mm), a área foliar (cm<sup>2</sup>/planta), o número de folhas, a massa fresca e seca da raiz e da parte aérea (g), o teor de reservas nos tecidos e a colonização dos FMA nas raízes. O *Poncirus trifoliata* apresentou maior vigor em ausência de FMA. As espécies *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp. colonizaram as raízes dos porta-enxertos, mas somente foram eficientes para o ‘Fepagro C37 Reck’.

**Palavras-chave:** Endomicorrizas, produção de mudas, simbiose.

**ABSTRACT** - Interaction between rootstocks citrus and arbuscular mycorrhizal fungi. The arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) promote further development of plants, however, symbiosis depends on the species of both symbionts. This study aimed to evaluate the interaction between rootstocks citrus inoculated with species of arbuscular mycorrhizal fungi. Where tested three rootstocks citrange 'Fepagro C37 Reck' [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. x *Citrus sinensis* (L.) Osbeck.], 'Hong-Kong' kumquat [*Fortunella*

*hindsii* Swingle] and 'Trifoliata' [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] inoculated with two species of AMF (*Glomus etunicatum* and *Acaulospora* sp.) and treatment not inoculated. We evaluated the height (cm), stem diameter (mm), leaf area (cm<sup>2</sup> / plant), number of leaves, fresh and dry weight of root and shoot (g), the level of reserves in tissues and the colonization of AMF in the roots. The *Poncirus trifoliata* showed the largest force in the absence of AMF. The species *Glomus etunicatum* and *Acaulospora* sp. colonized the roots of rootstocks, but they were only effective for 'Fepagro C37 Reck'.

**Key words:** endomycorrhizae, seedling production, symbiosi.

---

## INTRODUÇÃO

A citricultura brasileira apresenta grande importância no agronegócio, abrangendo o mercado interno e externo do país com a produção e a comercialização de frutas *in natura* e de seus derivados industrializados (Koller 2013). Contudo, em alguns estados brasileiros, como o Rio Grande do Sul, o setor de produção de mudas apresenta inúmeras limitações. Uma delas é a falta de diversificação de variedades porta-enxertos, o que torna a citricultura vulnerável às novas enfermidades (Oliveira & Scivittaro 2003). Estima-se que 74% das propriedades citrícolas riograndenses apresentam um único porta-enxerto, o 'Trifoliata' (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) (Sulzbach 2016). Esse porta-enxerto é muito utilizado devido as suas características desejáveis à produção do sul do país, principalmente por apresentar tolerância à geada (Koller 2013). No entanto, seu desenvolvimento vegetativo em fase de viveiro é muito lento. Outra limitação é a má qualidade das mudas produzidas, pois o setor não garante características genéticas e sanitárias para o citricultor (Koller 2013; Oliveira & Scivittaro 2003).

Tais dificuldades nos viveiros estão refletindo negativamente na citricultura como um todo, que tenta suprir o baixo potencial produtivo do pomar, devido à má qualidade da muda, com maior aplicação de agrotóxicos e adubos químicos (Oliveira & Scivittaro 2003). Para evitar isso, os viveiros precisam adotar práticas mais sustentáveis para melhorar sua cadeia de produção e, conseqüentemente, a qualidade da muda.

O gênero *Fortunella* é empregado no paisagismo pela beleza de sua copa, ausência de espinhos, floração e frutificação abundantes e pelo seu baixo vigor (Mazzini & Pio 2010). Em virtude dessa última característica, a espécie tem potencial para ser estudada como alternativa na diversificação de porta-enxertos em citros, pois poderá proporcionar copas com porte menor, permitindo a formação de pomares mais adensados e com maior produção por m<sup>3</sup>. Outro porta-enxerto com grande potencial, já empregado em alguns

pomares do Rio Grande do Sul, é o citrangeiro ‘Fepagro C37’ [*P. trifoliata* (L.) Raf. x *C. sinensis* (L.) Osbeck.], um híbrido do ‘Trifoliata’, que apresenta as características desejáveis deste, além de ter um crescimento rápido em viveiro (Oliveira *et al.* 2010; Koller 2013).

A utilização de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) é uma ferramenta importante para acelerar a produção de mudas de citros e o desenvolvimento inicial no pomar, pois auxilia na absorção de nutrientes, especialmente o fósforo, aumenta o volume de solo explorado e melhora a tolerância a estresses bióticos e abióticos (Jayme & Quigley 2014; Wu *et al.* 2011). Segundo Ortas (2012), as plantas cítricas são, normalmente, altamente responsivas aos fungos micorrízicos arbusculares (FMA), por terem o sistema radicular carente de pelos absorventes. Entretanto, deve-se salientar que a simbiose entre planta e FMA é influenciada tanto pela espécie/cultivar de porta-enxerto de citros, como pela espécie de FMA (Smith & Smith 2011).

Dessa forma, objetivou-se avaliar a eficiência da inoculação de espécies de fungos micorrízicos arbusculares sobre o desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos cítricos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido inicialmente (fase de semeadura e inoculação em bandejas de polietileno) em casa de vegetação do Departamento de Horticultura e Silvicultura (DHS), localizado no Campus da Faculdade de Agronomia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), em Porto Alegre, RS (30°29’S e 51°06’W). Posteriormente, após a repicagem, foi desenvolvido na Estação Experimental Agrônômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EEA/UFRGS; 30°05'22" S, 51°39'08" W), localizada no município de Eldorado do Sul, RS (Km 146, BR 290). Avaliou-se o desenvolvimento vegetativo de três porta-enxertos: cunquateiro ‘Hong-Kong’ [*Fortunella hindsii* (Swing.)], citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ [*P. trifoliata* (L.) Raf. x *C. sinensis* (L.) Osbeck.], e ‘Trifoliata’ [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.], inoculados com duas espécies de FMA: *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp., além de um tratamento testemunha (não inoculado).

As sementes dos porta-enxertos foram extraídas de frutos maduros colhidos de plantas matrizes cultivadas na coleção de citros da Estação Experimental Agrônômica da UFRGS, através da metodologia descrita por Souza e Schäfer (2006). As sementes foram submetidas à termoterapia (imersão por 10 minutos em água destilada à temperatura de 52°C).



As espécies de FMA escolhidas foram selecionadas a partir de um estudo inicial realizado por Focchi *et al.* (2004) que realizaram um levantamento das espécies de fungos micorrízicos arbusculares que ocorrem naturalmente em pomares de citros no Rio Grande do Sul.

Os inóculos utilizados das quatro espécies de FMA foram reproduzidos no Laboratório do DHS da seguinte forma: foram utilizados 2 recipientes de 5L, em cada um foi preenchido com areia esterilizada e misturado na camada superior de 4cm da areia o inóculo inicial obtido do Banco de Inóculos do DHS de uma espécie FMA. Após a inoculação, foi semeado 20 sementes de milho (*Zea mays* L.) por recipiente. Os recipientes permaneceram no laboratório recebendo iluminação artificial e irrigados manualmente no período de dois meses. Após esse período, homogeneizou a areia juntamente com os restos de raízes do milho e, a partir dessa mistura, originou-se o novo inóculo. Por fim, os inóculos foram armazenados em geladeira para melhor conservação.

O substrato utilizado na fase de semeadura foi o comercial Carolina Soil® (composto por turfa de sphagno, casca de arroz carbonizada e vermiculita) o qual foi previamente autoclavado durante uma hora, repetindo-se três vezes o processo, em intervalos de 24 horas.

O experimento iniciou-se em fevereiro de 2013 com a semeadura dos porta-enxertos e a inoculação dos FMA da seguinte maneira: cada tratamento dos FMA e da testemunha foi posto individualmente em bandejas plásticas de dimensões de 60cm de comprimento, 40cm de largura e 10cm de altura. As bandejas, onde seria feita a inoculação, foram preenchidas até a metade da altura com o substrato, depois foi disposta uma camada de 400g de inóculo (camada de aproximadamente 2 mm) e, por último, foi preenchido o restante com o substrato. Já a bandeja da testemunha foi preenchida somente com substrato. Após esse processo, cada bandeja foi dividida em três partes e realizada a semeadura dos porta-enxertos com 50 sementes cada.

As bandejas foram dispostas sobre uma bancada de concreto em ambiente protegido, que foi previamente desinfestada com hipoclorito de sódio e, já com as bandejas, foi coberta por uma tela antiafídica, a fim de evitar a livre circulação de insetos que pudessem contaminar o experimento. A irrigação foi feita com regador manual, usando-se 1L por bandeja a cada dois dias.

Em junho de 2013, quando as plântulas atingiram 10cm de altura, essas foram levadas para casa de vegetação da Estação Experimental Agronômica da UFRGS, onde instalou-se o experimento propriamente dito. Para tal, elas foram repicadas para sacos pretos de polietileno (5L) preenchidos com substrato comercial Vida®, composto por casca

de eucalipto, desinfestado previamente com solução de formaldeído a 7%. As mudas foram dispostas em bancadas de madeira de 80 cm de altura, recebendo irrigação por gotejamento duas vezes por dia, durante 5 minutos cada.

O delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados em parcelas subdivididas no esquema fatorial  $3^2$  (3 porta-enxertos x 2 FMA e um tratamento testemunha), sendo 3 repetições com 10 plantas por parcela. O fator FMA constituiu a parcela principal.

Após 240 dias em fase de viveiro, mediu-se a altura final (cm), do colo até o ápice da planta; o diâmetro do caule (mm), ao nível do colo, com um paquímetro digital e o número de folhas por planta. Também quantificou-se a área foliar ( $\text{cm}^2$ ) por planta, através do uso de um medidor de área foliar marca LI-Meter. Foi determinada a massa fresca da raiz e da parte aérea (g) e, após a manutenção das amostras em estufa de secagem com temperatura de  $65^\circ\text{C}$  até atingir massa constante, mediu-se a massa seca da raiz e da parte aérea (g).

Após a secagem da parte aérea e das raízes, procedeu-se à moagem desses tecidos em moinho, misturando-se as 10 plantas por tratamento e repetição, de onde coletou-se uma amostra composta de 1 g, visando avaliar o teor de substâncias de reservas presentes nestes segundo adaptações ao método descrito por Priestley (1965). Cada amostra foi acondicionada em um tecido especial, para filtragem de alimentos, formando-se trouxinhas. Essas foram pesadas antes e após serem submetidas ao processo de digestão durante oito horas submersas em solução aquosa com 5% de ácido tricloroacético e 35% de metanol, visando à extração de todos os componentes do tecido vegetal (carboidratos, gorduras, etc.), que não fossem fibras (celulose, hemicelulose e lignina). A diferença de massa, antes e após o processo de digestão, indica o percentual de reservas presentes. Para cada tratamento, empregou-se 3 repetições.

No mesmo período, coletou-se dois segmentos de raízes secundárias por planta das 10 de cada tratamento para avaliação da colonização dos FMA. As raízes foram lavadas com água destilada, fracionadas com 1 cm de comprimento e armazenadas em FAA (formaldeído, álcool e acetona na proporção de 1:1:1) para fixação. Posteriormente, foram coletados, ao acaso, 15 segmentos de raízes por repetição, totalizando 45 segmentos por tratamento, e realizado o processo de tingimento destes com corante azul de tripano, a fim de observar no microscópio a colonização e as estruturas dos FMA nas raízes. Após o processo de tingimento, os segmentos de raízes foram montados em lâminas de vidro e examinados em microscópio para avaliar a presença e intensidade de hifas, arbúsculos e vesículas. A porcentagem de raízes colonizadas foi obtida do número de segmentos

infectados em relação ao total analisado. Para determinar a densidade de hifas, atribuiu-se o valor 0, para ausência de estruturas; 1, para baixa presença; 2, para média presença; e 3, para alta presença. A densidade de vesículas e arbúsculos também foi relacionada com uma escala de 0 a 3, onde se considerou como 0 a ausência de estruturas; 1, de 1 a 50 estruturas; 2, de 51 a 100; e 3, mais de 100, segundo metodologia descrita por Nemeç (1992). Todo o processo foi repetido três vezes por tratamento e realizado por avaliadores treinados.

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo as médias diferenciadas estatisticamente pelo teste de Tukey a 1% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os FMA somente foram eficientes, independentemente da espécie, quando inoculadas em citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’, não alterando o desenvolvimento vegetativo dos outros dois porta-enxertos. Inclusive, a presença dos FMA permitiu que as plantas de citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ se iguallassem em altura às plantas de *P. trifoliata* (Tab. 1). Quando ao diâmetro e à área foliar (Tab. 1), e às massas fresca e seca de raiz e de parte aérea (Tab. 2), o efeito dos FMA foi mais acentuado, pois o citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ superou o *P. trifoliata*.

O desenvolvimento vegetativo do cunquateiro foi, em geral, inferior aos demais porta-enxertos avaliados, o que era esperado, pois trata-se de um genótipo de baixo vigor.

Nas plantas não inoculadas com FMA verificou-se que o desenvolvimento vegetativo do *Poncirus trifoliata* foi superior ao do citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ e do cunquateiro ‘Hong-Kong’ (Tabs. 1 e 2). Esses últimos apresentaram desenvolvimentos vegetativos semelhantes entre si.

O vigor em porta-enxertos apresenta pontos positivos e negativos. Na fase de viveiro, o desenvolvimento acelerado dos mesmos é almejada pelos viveiristas, pois propicia uma redução no intervalo de tempo necessário para atingir o ponto de enxertia e, portanto, diminui custos fornecendo uma muda mais rápida para o mercado. Além disso, permite produzir a muda dentro do período de 18 a 22 meses, prazo exigido pela Instrução Normativa n. 48 de 24 de setembro de 2013 (Brasil, 2013). Essa exigência, às vezes, não tem sido possível de atender no sul do Brasil, devido à redução na velocidade de desenvolvimento das plantas pelas baixas temperaturas ocorridas no outono/inverno. Por outro lado, porta-enxertos menos vigorosos, ou seja, mais lentos em seu desenvolvimento, podem gerar uma planta de menor porte no pomar, que permite aumentar a densidade e, conseqüentemente, a produtividade; qualidade buscada atualmente pelos citricultores,

visando reduzir custos de mão de obra. Assim, com relação ao vigor não se deve descartar nenhum porta-enxerto, devendo-se preferir a diversificação.

**Tabela 1** - Altura (cm), diâmetro do caule (mm), área foliar (cm<sup>2</sup>/planta) e número de folhas por planta de três porta-enxertos submetidos à inoculação de duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.). Porto Alegre, 2017.

PORTA-ENXERTO	FMA		
	Testemunha	<i>Glomus etunicatum</i>	<i>Acaulospora</i> sp.
	Altura das plantas (cm)		
Citrangeiro 'Fepagro C37 Reck'	17,56 ± 1,8 bC	47,52 ± 2,3 aA	35,92 ± 1,6 aB
Cunquateiro 'Hong-Kong'	16,54 ± 0,5 bA	18,08 ± 0,4 bA	18,75 ± 0,4 bA
Trifoliata	38,30 ± 2,1 aA	40,62 ± 1,9 aA	33,69 ± 1,7 aA
CV (%)	13,39		
	Diâmetro do caule (mm)		
Citrangeiro 'Fepagro C37 Reck'	2,50 ± 0,2 bB	4,83 ± 0,3 aA	4,57 ± 0,2 aA
Cunquateiro 'Hong-Kong'	2,58 ± 0,2 bA	2,79 ± 0,2 cA	2,92 ± 0,1 bA
Trifoliata	3,52 ± 0,3 aA	3,54 ± 0,4 bA	3,46 ± 0,3 bA
CV (%)	8,39		
	Área Foliar (cm <sup>2</sup> /planta)		
Citrangeiro 'Fepagro C37 Reck'	60,53 ± 2,3 abB	180,98 ± 2,4 aA	151,74 ± 2,2 aA
Cunquateiro 'Hong-Kong'	38,30 ± 1,1 bA	39,05 ± 1,6 bA	39,50 ± 1,4 bA
Trifoliata	80,80 ± 2,4 aA	76,33 ± 1,9 bA	64,87 ± 2,0 bA
CV (%)	16,25		
	Número de Folhas por planta		
Citrangeiro 'Fepagro C37 Reck'	14,08 ± 2,2 bB	25,47 ± 2,3 abA	24,02 ± 2,4 aA
Cunquateiro 'Hong-Kong'	19,10 ± 1,7 bA	19,38 ± 1,5 bA	19,13 ± 1,5 aA
Trifoliata	29,26 ± 1,9 aA	29,09 ± 1,7 aA	25,55 ± 1,7 aA
CV (%)	13,09		

Letras minúsculas diferentes nas colunas e maiúsculas diferentes nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0,01$ ). ± erro padrão.

**Tabela 2** - Massa fresca e seca da raiz e da parte aérea (g/planta) de três porta-enxertos submetidos à inoculação de duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.). Porto Alegre, 2017.

PORTA-ENXERTO	FMA		
	Testemunha	<i>Glomus etunicatum</i>	<i>Acaulospora</i> sp.
Massa fresca da raiz (g/planta)			
Citrangeiro ‘Fepagro C37’	2,39 ± 0,32 bB	8,37 ± 0,23 aA	7,43 ± 0,25 aA
Cunquateiro ‘Hong-Kong’	1,88 ± 0,15 bA	1,76 ± 0,28 cA	1,89 ± 0,14 bA
Trifoliata	5,08 ± 0,22 aA	4,29 ± 0,30 bA	5,09 ± 0,24 aA
CV (%)	19,91		
Massa fresca da parte aérea (g/planta)			
Citrangeiro ‘Fepagro C37’	2,57 ± 0,31 abB	8,55 ± 0,32 aA	7,51 ± 0,24 aA
Cunquateiro ‘Hong-Kong’	1,49 ± 0,12 bA	1,45 ± 0,12 cA	1,86 ± 0,20 cA
Trifoliata	4,48 ± 0,16 aA	4,23 ± 0,22 bA	5,14 ± 0,21 bA
CV (%)	10,42		
Massa seca da raiz (g/planta)			
Citrangeiro ‘Fepagro C37’	0,84 ± 0,1 bB	3,45 ± 0,22 aA	3,01 ± 0,2 aA
Cunquateiro ‘Hong-Kong’	0,58 ± 0,07 bA	0,60 ± 0,02 cA	0,66 ± 0,02 cA
Trifoliata	2,94 ± 0,08 aA	2,01 ± 0,05 bA	2,03 ± 0,03 bA
CV (%)	9,31		
Massa seca da parte aérea			
Citrangeiro ‘Fepagro C37’	0,77 ± 0,09 bB	3,34 ± 0,09 aA	2,88 ± 0,22 aA
Cunquateiro ‘Hong-Kong’	0,50 ± 0,03 bA	0,52 ± 0,02 cA	0,53 ± 0,02 cA
Trifoliata	1,97 ± 0,05 aA	1,51 ± 0,04 bA	1,94 ± 0,05 bA
CV (%)	9,84		

Letras minúsculas diferentes nas colunas e maiúsculas diferentes nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0,01$ ). ± erro padrão.

Quanto aos teores de substâncias de reserva nos tecidos, não houve efeito a inoculação de FMA e não houve diferença entre os três porta-enxertos testados. O valor médio para a parte aérea foi de 19,92% e para as raízes foi de 21,22%. O efeito dos FMA sobre o teor de reservas das plantas é variável, havendo relatos de efeitos positivos (Nunes *et al.* 2008a; Nunes *et al.* 2013), nulos (Nunes *et al.* 2008b) e, inclusive, de efeitos negativos (Souza *et al.* 2005), atribuídos à diluição dos carboidratos nas células como consequência do maior vigor e desenvolvimento proporcionado pelos FMA. Uma vez mais, observa-se que a resposta depende da espécie da planta estudada e das espécies de FMA avaliadas.

Os FMA colonizaram as raízes dos três porta-enxertos avaliados (Tab. 3). Porém, a intensidade de colonização, bem como a presença de estruturas dos FMA, variaram em função do porta-enxerto, relacionando-se diretamente com o desenvolvimento vegetativo, pois tanto a presença de hifas quanto de arbúsculos foi maior nas raízes de citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’, em relação ao *P. trifoliata* e cunquateiro. Essas respostas confirmam

que a eficiência da simbiose é estreitamente dependente da planta e da espécie de FMA envolvidas. O percentual de colonização de ambas as espécies de FMA foi inferior nas raízes de *P. trifoliata*, bem como a intensidade de hifas de *Glomus etunicatum*, confirmando a fraca dependência desta espécie vegetal aos FMA, atribuída à maior presença de pelos radiculares desse (Cao *et al.* 2013).

Observou-se uma pequena contaminação nas plantas testemunhas dos três porta-enxertos testados. Isso ocorreu, provavelmente, devido à circulação de insetos no experimento, como formigas, que podem ter levado esporos para estas plantas (Tab. 3). Entretanto, essas contaminações já foram relatadas em outros estudos (Back *et al.* 2016; Nunes *et al.* 2008b; Silveira *et al.* 2006) e não interferiram nos resultados, pois são consideradas muito baixas e aceitáveis.

Na tabela 3, observa-se que ocorreu baixa presença de vesículas nas raízes dos três porta-enxertos testados, independente da espécie de FMA. As vesículas são estruturas globosas contendo grânulos de estruturas de reservas, como glicogênio e lipídios. Essas estruturas são formadas em períodos de baixa temperatura, onde ocorre baixa atividade do fungo e da planta hospedeira (Smith & Smith 2011). Como a coleta das raízes ocorreu em março, no final do verão, provavelmente os FMA ainda não estavam necessitando acumular reservas. Normalmente, nas condições do sul do Brasil, essas estruturas são formadas em maior quantidade a partir de abril/ maio (meses de outono, com redução da temperatura e fotoperíodo) para fornecer reservas para os FMA durante o período do inverno. Resultados semelhantes a esse experimento foram observados em trabalhos de Nunes *et al.* (2008b) e Nunes *et al.* (2013).

No caso do cunquateiro ‘Hong-Kong’, apesar de ter havido 100% de colonização, a presença de estruturas foi de média a baixa (Tab. 3), justificando a ineficiência da simbiose, e indicando uma baixa dependência desta espécie aos FMA.

**Tabela 3** - Colonização (%), densidade de hifas e quantificação de arbúsculos e de vesículas em segmentos de raízes de três porta-enxertos submetidos à inoculação de duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.). Porto Alegre, 2017.

PORTA-ENXERTO	FMA		
	Testemunha	<i>Glomus etunicatum</i>	<i>Acaulospora</i> sp.
		Colonização (%)	
Citrangreiro ‘Fepagro C37 Reck’	9,92 ± 0,3 aB	100,00 ± 0,0 aA	100,00 ± 0,0 aA
Cunquateiro ‘Hong-Kong’	8,22 ± 0,2 aB	100,00 ± 0,0 aA	100,00 ± 0,0 aA
Trifoliata	9,17 ± 0,3 aB	85,42 ± 0,3 bA	89,65 ± 0,2 bA
CV (%)		4,19	
		Hifas	
Citrangreiro ‘Fepagro C37 Reck’	0,31 ± 0,06 aB	2,22 ± 0,26 aA	2,17 ± 0,32 aA
Cunquateiro ‘Hong-Kong’	0,31 ± 0,05 aB	1,29 ± 0,34 bA	1,02 ± 0,24 bA
Trifoliata	0,29 ± 0,05 aC	0,92 ± 0,32 cB	1,33 ± 0,27 bA
CV (%)		15,09	
		Arbúsculos	
Citrangreiro ‘Fepagro C37 Reck’	0,27 ± 0,02 aC	1,96 ± 0,37 aA	1,46 ± 0,21 aB
Cunquateiro ‘Hong-Kong’	0,25 ± 0,03 aB	1,25 ± 0,22 bA	1,14 ± 0,26 bA
Trifoliata	0,27 ± 0,02 aB	0,98 ± 0,28 bA	1,16 ± 0,35 abA
CV (%)		13,24	
		Vesículas	
Citrangreiro ‘Fepagro C37 Reck’	0,12 ± 0,02 aB	0,58 ± 0,21 aA	0,17 ± 0,10 aB
Cunquateiro ‘Hong-Kong’	0,00 ± 0,00 aA	0,10 ± 0,06 bA	0,06 ± 0,02 aA
Trifoliata	0,04 ± 0,02 aA	0,10 ± 0,05 bA	0,19 ± 0,08 aA
CV (%)		30,06	

Letras minúsculas diferentes nas colunas e maiúsculas diferentes nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0,01$ ). ± erro padrão.

A eficiência da simbiose entre planta e fungo micorrízico arbuscular depende de diversos fatores. Segundo Smith e Smith (2011), um deles é referente às características genéticas ou anatômicas da planta. Sabe-se que o porta-enxerto *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. possui em suas raízes muitos pelos radiculares (Wu *et al.* 2011). Dessa forma, absorve os nutrientes e a água que necessita, sendo pouco responsivo aos FMA. Estudo realizado por Cao *et al.* (2013) avaliou-se o porta-enxerto ‘trifoliata’ em diferentes condições de deficiência nutricional no substrato. Observou-se que o porta-enxerto adapta-se em condições de baixa disponibilidade de fósforo modificando a anatomia do seu sistema radicular formando maior concentração de pelos radiculares que aumentam a eficiência de absorção nutricional da planta. Fazendo uma comparação com o estudo em questão, numa condição de baixa disponibilidade de fósforo os FMA auxiliam em melhorar a eficiência de absorção, no entanto, o próprio *Poncirus trifoliata* (L.) consegue se adaptar a esta condição e, portanto, não responde a inoculação.

No caso do cunquateiro ‘Hong-Kong’, o fator genético, ou da planta ou do fungo, provavelmente influenciou na ineficiência da simbiose, pois há um estudo atestando eficiência da simbiose entre o cunquateiro (*Fortunella margarita*) e FMA (Li *et al.* 2013), porém, com outra espécie de endomicorriza (*Diversispora spurca*). Já no trabalho de Back *et al.* (2016) as quatro espécies de FMA (*Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum*, *Acaulospora* sp.) colonizaram as raízes de cunquateiro ‘Hong-Kong’, no entanto, não influenciaram no seu desenvolvimento vegetativo.

Para o citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’, observou-se que o desenvolvimento vegetativo responde fortemente a inoculação de FMA. Isso pode ser atribuído ao fato de que o citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ é descendente de uma Laranjeira doce [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], espécie de citros que possui um sistema radicular com pelos absorventes pouco desenvolvidos, dificultando a absorção de água e nutrientes (Zambrosi *et al.* 2012). Back *et al.* (2016) avaliou a influência de *Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum*, *Acaulospora* sp. no desenvolvimento vegetativo do citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’, onde se observou incremento em altura, diâmetro do caule, área foliar, número de folhas, massa fresca e seca da raiz e da parte aérea.

Apesar da ausência de efeito da simbiose entre os FMA testados e *P. trifoliata* e cunquateiro sobre o desenvolvimento vegetativo destes, sabe-se que os FMA têm efeitos benéficos sobre outros fatores, como maior tolerância a estresses abióticos, como déficit hídrico (Wu *et al.* 2011) e bióticos, causados por fungos do solo (Costa *et al.* 2010; Sampaio *et al.* 2012). Estes estudos deverão ser realizados no futuro, pois são recorrentes na citricultura rio-grandense.

## CONCLUSÕES

*Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp. colonizam as raízes de *Poncirus trifoliata*, de cunquateiro ‘Hon-Kong’ e de citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’, porém, em maior intensidade nesse último;

*Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp. somente são eficientes em acelerar o desenvolvimento vegetativo quando inoculadas no citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’;

Na ausência de fungos micorrízicos arbusculares, o *Poncirus trifoliata* (L.) é mais vigoroso que o citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ e que o cunquateiro ‘Hong-Kong’.



## REFERÊNCIAS

- Back, M. M.; Altmann, T.; Souza, P. V. 2016. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on the vegetative development of citrus rootstocks. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 46(4): 407-412.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 48 de 24 de setembro de 2013. Normas de Produção e Comercialização de Material de Propagação de Citros. Diário Oficial da União de 25 de setembro de 2013 (nº 186, Seção 1, pág. 38).
- Cao, X.; Chenb, C.; Zhang, D.; Shu, B.; Xia, J.; Xia, R. 2013. Influence of nutrient deficiency on root architecture and root hair morphology of trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) seedlings under sand culture. *Scientia Horticultura*, 162 (1): 100–105.
- Costa, M. D.; Lovato, P. E.; Sete, P. B. 2010. Micorrização e indução de quitinases e  $\beta$ -1,3-glucanases e resistência à fusariose em porta-enxerto de videira. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 45(4): 376-383.
- Focchi, S. S.; Dal Soglio, F. K.; Carrenho, R.; De Souza, P. V. D.; Lovato, P. E. 2004. Fungos micorrízicos arbusculares em cultivos de citros sob manejo convencional e orgânico. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 39(5): 469-476.
- Jayme, B. & Quigley, M. 2014. Influence of arbuscular mycorrhiza on growth and reproductive response of plants under water deficit: a meta-analysis. *Mycorrhiza*, 24(2):109-119.
- Koller, O.L. 2013. *Citricultura catarinense*. Epagri, Florianópolis, 319 p.
- Li, Y.; Zou, Y. N.; Wu, Q. S. 2013. Effects of *Diversispora spurca* inoculation on growth, root system architecture and chlorophyll contents of four citrus genotypes. *International Journal of Agriculture & Biology*. 15(2): 342-346.
- Mazzini, R. B. & Pio, R. M. 2010. Caracterização morfológica de seis variedades cítricas com potencial ornamental. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32(2): 463-470.
- Nemec, S. 1992. *Glomus intraradix* effects on citrus roostock seedling growth in various potting media. *Journal of Agricultural Science*, 118(1): 315-323.
- Nunes, J.L.S.; Souza, P.V.D.; Marodin, G.A.B.; Fachinello, J.C. 2008a. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em porta-enxerto de pessegueiro cv Okinawa. *Revista Brasileira de Fruticultura* 30(4): 223-231.
- Nunes, J.L.S.; Souza, P.V.D.; Marodin, G.A.B.; Fachinello, J.C. 2008b. Incremento no desenvolvimento vegetativo do porta-enxerto de pessegueiro ‘Aldrighi’ por fungos micorrízicos arbusculares autóctones. *Ciência e agrotecnologia*, 32(6): 1787-1793.
- Nunes, J.L.S.; Souza, P.V.D.; Marodin, G.A.B.; Fachinello, J.C. 2013. Desenvolvimento de plântulas de pessegueiro ‘Okinawa’ inoculadas com micorrizas arbusculares isoladas de pomares de pessegueiros e de vinhedos. *Revista Brasileira Fruticultura*, 35(3): 845-852.
- Oliveira, R.P. & Scivittaro, W.B. 2003. Normas e padrões para produção de mudas

certificadas de citros em parceria com a Embrapa. Embrapa Clima Temperado, Pelotas. 18 p.

Oliveira, R. P.; Soares Filho, W. S.; Passos, O. S.; Scivittaro, W. B.; Rocha, P. S. G. 2010. Porta-enxertos para citros. In: Produção Orgânica de Citros no Rio Grande do Sul. Embrapa Clima Temperado, Pelotas. 295 p.

Ortas, I. 2012. Mycorrhiza in Citrus: Growth and Nutrition. In Advances in Citrus Nutrition. Springer, Netherlands, p. 333-351.

Priestley, G. A. 1965. A new method for the estimation of the resources of apple tress. Journal of the Science of Food and Agriculture, 16: 717-721.

Sampaio, D. B.; Filho, P. F. M.; Mascena, A. M.; Gomes, V. F. F.; Guimarães, F. V. A. 2012. Colonização micorrízica arbuscular e tolerância ao mal-do-Panamá em mudas de banana-maçã. Revista Ciência Agronômica, 43(3): 462-469.

Silveira, S. V.; Lorscheiter, R.; Barros, I. B. I.; Schwarz, S. F.; Souza, P. V. D. 2006. *Mentha piperita* as a multiplying of arbuscular mycorrhizal fungi. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 8(esp.): 91-97.

Souza, P.V. & Schäfer, G. 2006. Produção de mudas de laranjeiras. In: KOLLER, O.C. (Org.). Citricultura: 1. Laranja: tecnologia de produção, pós-colheita, industrialização e comercialização. Cinco Continentes, Porto Alegre, p.55-87.

Souza, P.V.; Carniel, E.; Schmitz, J. A. K.; Silveira, S. V. 2005. Influência de substratos e fungos micorrízicosarbusculares no desenvolvimento vegetativo do porta-enxerto flying dragon (*Poncirus trifoliata*, var. montruosa Swing.). Revista Brasileira Fruticultura, 27(2): 285-287.

Smith, S. E. & Smith, F. A. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: New paradigms from cellular to ecosystem scales. Annu. Rev. Plant Biol, 62:227–50.

Sulzbach, M. 2016. Diagnóstico citrícola e análise de risco frente ao Huanglongbing no Rio Grande do Sul na perspectiva dos citricultores. Dissertação 99 f, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

Wu, Q.S; Zou, Y.N.; Heb, X.H. 2011. Differences of hyphaland soil phosphatase activities in drought-stressed mycorrhizal trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata*) seedlings. Scientia Horticulturae. 129:294–298.

Zambrosi, F. C. B.; Mattos, D. ; Roberto Furlani, P. R.; Quaggio, J. A.; Boaretto, R. M. 2012. Eficiência de absorção e utilização de fósforo em porta-enxertos cítricos. Revista Brasileira de Ciência do Solo. 36(2): 485-496.

## **4 ARTIGO 2**

### **Influência de fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos de citros**

*\* Manuscrito publicado na Revista Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia, v. 46, n. 4, p. 407-412, Oct./Dec. 2016.*

# Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on the vegetative development of citrus rootstocks<sup>1</sup>

Marina Martinello Back<sup>2</sup>, Taís Altmann<sup>2</sup>, Paulo Vitor Dutra de Souza<sup>2</sup>

## ABSTRACT

The use of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in the production of rootstocks is an alternative to accelerate plant growth. However, their response depends on the symbionts species and environment. This study aimed at evaluating the influence of AMF species [*Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum*, *Acaulospora* sp. and a control (non-inoculated)] on the vegetative development of citrus rootstocks {citrange 'Fepagro C37 Reck' [*P. trifoliata* (L.) Raf. x *C. sinensis* (L.) Osbeck.] and 'Kumquat' [*Fortunella hindsii* (L.) Swingle]}. The experimental design consisted of split-plot randomized blocks, with 10 plants per plot and 3 replications. Height, stem diameter, number of leaves, leaf area and fresh and dry root and shoot mass were evaluated. The colonization of AMF in the roots was also assessed, determining the percentage of colonization and density of hyphae, arbuscules and vesicles. The rootstocks showed no difference for the plant growth parameters, in the absence of AMF. The AMF species colonized the rootstocks roots, but were only effective in accelerating the citrange 'Fepagro C37 Reck' growth, especially when inoculated with *Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita* and *Glomus etunicatum*. The influence of AMF on vegetative development depends on the citrus rootstock species.

**KEYWORDS:** Endomycorrhizae; Fepagro C37 Reck; Fortunella; seedlings production.

## INTRODUCTION

The Brazilian citriculture is one of the most competitive activities in international agribusiness. However, in some States, such as Rio Grande do Sul, the seedling production exhibits numerous limitations. One of them is the lack of rootstock diversification in the orchards, where they are grafted onto *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. Thus, studies with different varieties of rootstock are needed, in order to decrease the vulnerability of the sector to possible

## RESUMO

Influência de fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos de citros

A utilização de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na produção de porta-enxertos é uma alternativa para acelerar o desenvolvimento de plantas. Entretanto, sua resposta depende da espécie dos simbiossiontes e do ambiente. Objetivou-se avaliar a influência de espécies de FMA [*Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum*, *Acaulospora* sp. e testemunha (não-inoculada)] no desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos de citros {citrangeiro 'Fepagro C37 Reck' [*P. trifoliata* (L.) Raf. x *C. sinensis* (L.) Osbeck.] e 'cunquateiro Hong-Kong' [*Fortunella hindsii* (L.) Swingle]}. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, em parcelas subdivididas, com 10 plantas por parcela e 3 repetições. Avaliaram-se a altura, diâmetro do caule, número de folhas, área foliar e a massa fresca e seca da raiz e da parte aérea. Também foi avaliada a colonização das micorrizas arbusculares nas raízes, determinando-se a porcentagem de colonização e a densidade de hifas, arbúsculos e vesículas. Entre os porta-enxertos, não houve diferença nos parâmetros de desenvolvimento vegetativo, na ausência dos FMA. As espécies de FMA colonizaram as raízes dos porta-enxertos, mas somente foram eficientes em acelerar o crescimento do citrangeiro 'Fepagro C37 Reck', com destaque para *Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita* e *Glomus etunicatum*. A influência de FMA no desenvolvimento vegetativo depende da espécie de porta-enxerto de citros.

**PALAVRAS-CHAVE:** Endomicorriza; Fepagro C37 Reck; Fortunella; produção de mudas. new diseases (Souza et al. 2010). Moreover, the seedlings produced must be genetically healthy, in order to provide a high-quality product to citrus growers (Koller 2013).

The *Fortunella* genus is widely used in landscaping, not only because of its beautiful canopy, flowers and fruits, but also for its low vigor (Mazzini & Pio 2010), which gives this species the potential for being an alternative rootstock of citrus trees. Smaller canopies allow denser orchards, with greater production per cubic meter. Furthermore, *Fortunella* trees are highly resistant to citrus canker

1. Manuscript received in Jul./2016 and accepted for publication in Dec./2016 (<http://dx.doi.org/10.1590/1983-40632016v4642180>).

2. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Departamento de Horticultura e Silvicultura, Porto Alegre, RS, Brazil. E-mails: backmarina@gmail.com, taisaltmann91@hotmail.com, pvdsouza@ufrgs.br.

and tolerant to citrus variegated chlorosis, which is a very important disease in the Brazilian citriculture (Koller 2013).

A rootstock with significant potential, that has been successfully used in several orchards in the Rio Grande do Sul State, is the citrange 'Fepagro C37 Reck' [*P. trifoliata* (L.) Raf. x *C. sinensis* (L.) Osbeck.]. It is a 'trifoliata' hybrid that exhibits desirable characteristics, in addition to rapid growth under greenhouse conditions (Oliveira et al. 2010, Koller 2013).

Greenhouse cultivation practices include the use of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) as an alternative to optimize citrus seedlings by reducing the seedling formation time (Johnson & Graham 2013), what is important for greenhouse owners, since the grafting stage is reached sooner, decreasing costs and providing seedlings to the market in a shorter amount of time. The AMF inoculation may enable seedlings to be produced within 18 to 22 months, as recommended by the Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (Brasil 2005). This timeframe is sometimes impossible to reach in the South of Brazil, due to the slower plant growth caused by low fall/winter temperatures.

The use of AMF also allows the production of more vigorous and uniform rootstocks, with a high survival index and better initial performance on the field (Nunes et al. 2008). AMF are mutualistically associated with plants, resulting in improvements to their nutritional status and a decline in biotic (pests and diseases) or abiotic (nutritional imbalance and water deficit) stress losses.

Symbiosis occurs when a plant supplies the fungus with energy for growth and maintenance via photosynthetic products, while the fungus provides nutrients and water to the plant (Wu et al. 2011a, Ortas 2012, Jayme & Quigley 2014). The structures responsible for this exchange are called arbuscules, which are vesicles, globous structures, that accumulate glycogen and lipids. These structures are reserves of AMF formed during periods of low temperature, when low fungal and host activities occur (Smith & Smith 2011).

However, it is important to point out that the symbiosis between the plant and AMF is influenced by both the citrus rootstock species/cultivar and the AMF species (Smith & Smith 2011). Thus, this study aimed at assessing the influence of AMF species on the vegetative development of citrus rootstocks.

## MATERIAL AND METHODS

The study was divided into two phases, both carried out at the Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Rio Grande do Sul State, Brazil. The first one took place in Porto Alegre (30°29'S and 51°06'W), in February 2013, with the colonization and inoculation of AMF in a greenhouse. The second one was carried out in Eldorado do Sul (30°05'22"S and 51°39'08"W), in June 2013, after plant transplantation.

Two rootstocks {citrange 'Fepagro C37 Reck' [*P. trifoliata* (L.) Raf. x *C. sinensis* (L.) Osbeck.] and 'Kumquat tree' [*Fortunella hindsii* (L.) Swingle]} inoculated with AMF species (*Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* and *Acaulospora* sp.), as well as a non-inoculated control, were used.

A complete randomized split-plot blocks design, in a 5 x 2 factorial scheme, was adopted, where plots consisted of AMF treatments (four species and one control) and subplots of two rootstocks, with three replications and 10 plants per plot.

The rootstock seeds used were extracted from mature fruits collected from mother plants cultivated in the citrus collection of the UFRGS, as described by Souza & Schäfer (2006). The seeds were subjected to a thermal treatment (immersion for 10 min in water, at 52 °C).

The AMF inoculum used in the experiment was reproduced in laboratory and the inoculation for each AMF species was performed during the colonization of rootstocks in Carolina Soil® commercial substrate (peat, carbonized rice husks and vermiculite), in plastic trays (60 cm long x 40 cm wide x 10 cm high). The substrate was previously autoclaved at 120 °C (1 atm), for 1 h, and the process was repeated three times, at 24-h intervals.

The trays were placed on a concrete bench, in a protected environment covered by an anti-aphid insect screen. Each tray contained one of the treatments with AMF (control and four AMF species), divided into two equal parts for each rootstock variety.

The trays with the AMF inoculum were half filled with substrate, which was added with a 400 g layer of inoculum (approximately 2 mm), and completely filled with more substrate. A total of 50 seeds from each rootstock were colonized per treatment. Irrigation was conducted using a watering can, adding 1 L of water per tray every two days.

## Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on the vegetative development of citrus rootstocks

The second phase of the experiment began in June 2013, when the seedlings reached a height of 10 cm (150 days after colonization). The plants were transplanted to black polyethylene bags (5 L) filled with Vida® commercial substrate, composed of eucalyptus bark previously disinfested with a 7 % solution of formaldehyde. The rootstocks were kept on benches, in a greenhouse, and submitted to drip irrigation for 5 min, twice a day, totaling 50 mL of water per day. Fertilization took place every 60 days, with 5 g L<sup>-1</sup> of Kristalon Laranja® (6-12-36), in a volume of 50 mL plant<sup>-1</sup>.

After 240 days in the greenhouse (March 2014), plant height (cm) was measured from the base of the stem to the apex, stem diameter (mm) with a digital caliper, and the number of leaves was counted. The leaf area (cm<sup>2</sup>) per plant was determined with a LI-Meter leaf area meter. Fresh root and shoot biomass (g) were also evaluated. After samples were oven dried at 65 °C, until reaching a constant mass, the root and shoot dry biomass (g) were measured.

To assess the AMF colonization, two segments of secondary roots were collected per plant from the 10 plants of each treatment. The roots were washed with distilled water, fractionated at 1 cm long and stored in FAA (formaldehyde, alcohol and acetone) medium, for fixation and conservation. Then, 15 root segments per treatment were randomly collected, clarified and stained with a trypan blue solution (Phillips & Hayman 1970). After the staining process, the root segments were mounted onto glass slides and examined under microscope to assess the presence and intensity of hyphae, arbuscules and vesicles. A 40x amplification under optical microscope was used to obtain the number of infected segments, in relation to the total analyzed.

To determine the hyphal density, a value of 0 was attributed to the absence of structures, 1 for low presence, 2 for average presence and 3 for high presence. At 100x amplification, vesicle and arbuscule densities were related to a scale of 0 to 3, where 0 was attributed to the absence of structures, 1 for 1-50 structures, 2 for 51-100 and 3 for more than 100 (Nemec 1992). The entire process was repeated three times per treatment.

The results were submitted to analysis of variance and the treatments compared using the Tukey's test at 5 %.

## RESULTS AND DISCUSSION

No significant difference in vegetative development was observed between the rootstocks tested without AMF inoculation (Tables 1 and 2). However, in the presence of AMF, the 'Fepagro C37 Reck' exhibited much better vegetative development than that of the kumquat tree, particularly in terms of height (cm), stem diameter (mm), leaf area (cm<sup>2</sup> plant<sup>-1</sup>) and root and shoot dry mass (g plant<sup>-1</sup>). These results reinforce the significant dependence of the citrange 'Fepagro C37 Reck' on the presence of AMF for its vegetative development. This strong dependence is attributed to the fact that this genotype is descendant from the sweet orange tree [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], a citrus species with a root system that exhibits underdeveloped absorbent hairs, hindering water and nutrient absorption (Wu et al. 2011b, Ortas 2012, Zambrosi et al. 2012).

This was not observed for the kumquat tree rootstock, since the use of mycorrhizae had no effect on its vegetative development, likely due to the genetics of the host and/or its interaction with the AMF species. Li et al. (2013) found that

Table 1. Plant height, stem diameter, leaf area and number of leaves of rootstocks from citrus trees submitted or not to arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species.

AMF	Rootstock							
	Fepagro C37 Reck	Kumquat tree	Fepagro C37 Reck	Kumquat tree	Fepagro C37 Reck	Kumquat tree	Fepagro C37 Reck	Kumquat tree
	Plant height (cm)		Stem diameter (mm)		Leaf area (cm <sup>2</sup> plant <sup>-1</sup> )		Number of leaves plant <sup>-1</sup>	
Control	17.56 aB	16.54 aA	2.50 aB	2.58 aA	60.54 aB	38.30 aA	14.09 aB	19.10 aA
<i>Scutellospora heterogama</i>	50.71 aA	15.30 bA	4.61 aA	2.45 bA	195.84 aA	29.63 bA	27.76 aA	16.93 bA
<i>Gigaspora margarita</i>	53.54 aA	18.21 bA	4.72 aA	2.77 bA	185.21 aA	38.63 bA	25.16 aA	17.58 bA
<i>Glomus etunicatum</i>	47.52 aA	18.08 bA	4.83 aA	2.79 bA	180.98 aA	39.05 bA	25.47 aA	19.38 bA
<i>Acaulospora</i> sp.	35.92 aAB	18.75 bA	4.57 aA	2.92 bA	151.74 aAB	39.50 bA	24.02 aA	19.13 aA
CV (%)	19.4		4.88		12.15		10.56	

Different lower case letters between columns and upper case letters between rows indicate a significant difference in rootstocks and AMF, respectively, based on the Tukey's test (p < 0.05).

arbuscular mycorrhizal fungi from the *Diversispora spurca* species had a positive influence on growth, root system architecture and chlorophyll content of the kumquat tree (*Fortunella margarita*). Thus, the kumquat tree may respond to mycorrhization, but the AMF species is important for its positive effect.

With respect to individual analysis of AMF in the citrange 'Fepagro C37 Reck', only the *Acaulospora* sp. species showed no difference for plant height, leaf area or root fresh mass, if compared to the control. On the other hand, the inoculation of the *Glomus etunicatum*, *Gigaspora margarita* and *Scutellospora heterogama* species showed potential for this rootstock.

Regarding the AMF colonization in the rootstock roots, colonization and the presence of fungal structures were observed in the two rootstock species assessed, with interaction between rootstock and AMF species (Table 3).

There was 100 % colonization in both rootstocks submitted to AMF inoculation (Table 3), as well as a slight contamination in the control plants of the two rootstocks. This is likely due to the presence of insects in the experiment, such as ants, which may have transmitted spores to these plants. However, this type of contamination has been reported in other studies (Silveira et al. 2006, Nunes et al. 2008), without interfering in the results, since it was considered very low and, therefore, acceptable.

The AMF hyphae were present in the roots of the two rootstock species. However, for the citrange 'Fepagro C37 Reck', where inoculation had a beneficial effect, hyphal density was higher than in the kumquat tree. The citrange 'Fepagro C37 Reck' roots exhibited medium to high hyphal density (Figure 1B). On the other hand, there was a low density in kumquat tree roots (Figure 1A). Among

Table 2. Root and shoot fresh and dry mass of rootstocks from citrus trees submitted or not to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species.

AMF	Rootstock							
	Fepagro C37 Reck	Kumquat tree	Fepagro C37 Reck	Kumquat tree	Fepagro C37 Reck	Kumquat tree	Fepagro C37 Reck	Kumquat tree
	Root fresh mass		Shoot fresh mass		Root dry mass		Shoot dry mass	
-----g plant <sup>-1</sup> -----								
Control	2.39 aB	1.88 aA	2.57 aB	1.49 aA	0.84 aB	0.58 aA	0.77 aB	0.50 aA
<i>Scutellospora heterogama</i>	10.55 aA	1.52 bA	9.03 aA	1.08 bA	3.65 aA	0.45 bA	3.38 aA	0.36 bA
<i>Gigaspora margarita</i>	9.92 aA	1.98 bA	8.31 aA	1.47 bA	3.87 aA	0.60 bA	4.18 aA	0.48 bA
<i>Glomus etunicatum</i>	8.37 aA	1.76 bA	8.55 aA	1.45 bA	3.45 aA	0.60 bA	3.34 aA	0.52 bA
<i>Acaulospora</i> sp.	7.43 aAB	1.88 bA	7.51 aA	1.86 bA	3.01 aA	0.66 bA	2.88 aA	0.53 bA
CV (%)	10.92		11.04		18.55		12.38	

Different lower case letters between columns and upper case letters between rows indicate a significant difference in rootstocks and AMF, respectively, according to the Tukey's test ( $p < 0.05$ ).

Table 3. Colonization, hyphal density and arbuscule and vesicle quantification in root segments from citrus tree rootstocks submitted or not to the inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species.

AMF	Rootstock							
	Fepagro C37 Reck	Kumquat tree	Fepagro C37 Reck	Kumquat tree	Fepagro C37 Reck	Kumquat tree	Fepagro C37 Reck	Kumquat tree
	Colonization (%)		Hiphae		Arbuscules		Vesicles	
Control	9.78 aB	8.17 aB	0.31 aC	0.31 aB	0.31 aC	0.31 aB	0.12 aB	0.00 aA
<i>Scutellospora heterogama</i>	100.00 aA	100.00 aA	1.62 aB	1.40 aA	1.62 aB	0.31 aB	0.04 aB	0.00 aA
<i>Gigaspora margarita</i>	100.00 aA	100.00 aA	2.02 aAB	1.12 bA	2.02 aAB	1.12 bA	0.50 aA	0.19 bA
<i>Glomus etunicatum</i>	100.00 aA	100.00 aA	2.23 aA	1.29 bA	2.23 aA	1.29 bA	0.58 aA	0.10 bA
<i>Acaulospora</i> sp.	100.00 aA	100.00 aA	2.17 aAB	1.02 bA	2.17 aAB	1.02 bA	0.17 aB	0.06 aA
CV (%)	2.66		16.06		16.06		11.16	

Different lower case letters between columns and upper case letters between rows indicate a significant difference in rootstocks and AMF, respectively, according to the Tukey's test ( $p < 0.05$ ).

## Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on the vegetative development of citrus rootstocks

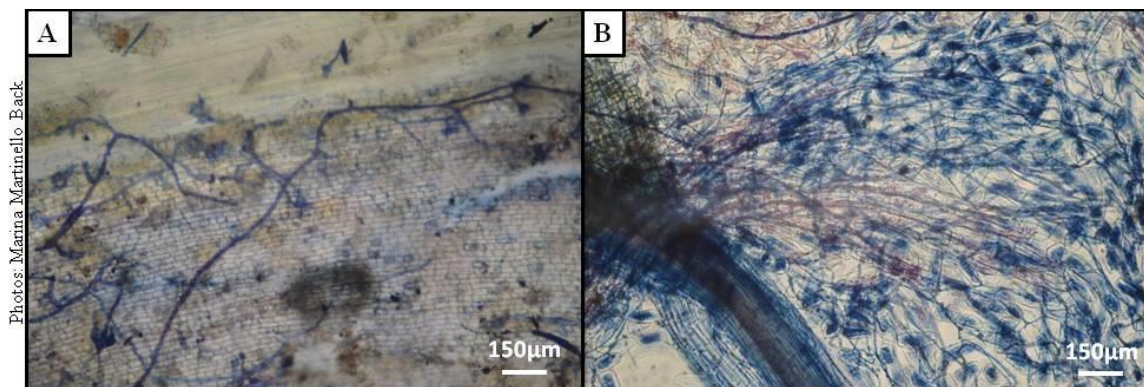


Figure 1. Rootstock roots of citrus trees inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. A - low hyphal density of *Acaulospora* sp. in kumquat tree roots; B - high hyphal density of *Scutellospora heterogama* in citrange 'Fepagro C37 Reck' roots.

AMF species, there was no difference for hyphal density in kumquat roots. However, a different hyphal density was observed between AMF species in the citrange 'Fepagro C37 Reck' roots, highlighting the *Glomus etunicatum* species, which obtained a higher density (Table 3).

A high presence of arbuscules was observed in the citrange 'Fepagro C37 Reck' roots (Table 3), characterizing a greater symbiotic activity between fungus and plant, which explains the higher vegetative development of this rootstock.

There was a low presence of vesicles in the rootstocks roots tested, regardless of the AMF species. This occurred because the roots were collected in March, at the end of the summer, when the AMF did not need to accumulate reserves yet. Normally, under conditions for southern Brazil, these structures are formed starting in April and May (with lower temperatures and reduced photoperiod), in order to provide reserves to the AMF during the winter. Similar results were reported by Nunes et al. (2008 and 2013).

### CONCLUSIONS

1. The influence of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in vegetative development depends on the citrus tree rootstock;
2. The citrange 'Fepagro C37 Reck' is significantly dependent on the presence of AMF in its roots, particularly the *Glomus etunicatum*, *Gigaspora margarita* and *Scutellospora heterogama* species;
3. AMF colonize the roots of the kumquat tree [*Fortunella hindsii* (L.) Swingle], however, they have no effect on its vegetative development.

### REFERENCES

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 24 de 16 de dezembro de 2005. Normas para produção, comercialização e utilização de mudas. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, n. 243, 20 dez. 2005. Seção 1.
- JAYME, B.; QUIGLEY, M. Influence of arbuscular mycorrhiza on growth and reproductive response of plants under water deficit: a meta-analysis. *Mycorrhiza*, v. 24, n. 2, p. 109-119, 2014.
- JOHNSON, N. C.; GRAHAM, J. H. The continuum concept remains a useful framework for studying mycorrhizal functioning. *Plant and Soil*, v. 363, n. 1, p. 411-419, 2013.
- KOLLER, O. L. (Org.). *Citricultura catarinense*. Florianópolis: Epagri, 2013.
- LI, Y.; ZOU, Y. N.; WU, Q. S. Effects of *Diversispora spurca* inoculation on growth, root system architecture and chlorophyll contents of four citrus genotypes. *International Journal of Agriculture & Biology*, v. 15, n. 2, p. 342-346, 2013.
- MAZZINI, R. B.; PIO, R. M. Caracterização morfológica de seis variedades cítricas com potencial ornamental. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 32, n. 2, p. 463-470, 2010.
- NEMEC, S. *Glomus intraradix* effects on citrus rootstock seedling growth in various potting media. *Journal of Agricultural Science*, v. 118, n. 1, p. 315-323, 1992.



- NUNES, J. L. S. et al. Desenvolvimento de plântulas de pessegueiro 'Okinawa' inoculadas com micorrizas arbusculares isoladas de pomares de pessegueiros e de vinhedos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 35, n. 3, p. 845-852, 2013.
- NUNES, J. L. S. et al. Incremento no desenvolvimento vegetativo do porta-enxerto de pessegueiro 'Aldrighi' por fungos micorrízicos arbusculares autóctones. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 32, n. 6, p. 1787-1793, 2008.
- OLIVEIRA, R. P. et al. Porta-enxertos para citros. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (Embrapa). *Produção orgânica de citros no Rio Grande do Sul*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. p. 47-52.
- ORTAS, I. Mycorrhiza in citrus: growth and nutrition. In: SRIVASTAVA, A. K. *Advances in citrus nutrition*. Amsterdam: Springer, 2012. p. 333-351.
- PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for cleaning 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.
- SILVEIRA, S. V. et al. *Mentha piperita* as a multiplying of arbuscular mycorrhizal fungi. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 8, n. 1, p. 91-97, 2006.
- SMITH, S. E.; SMITH, F. A. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annual Review of Plant Biology*, v. 62, n. 1, p. 227-250, 2011.
- SOUZA, E. L. de S.; SCHWARZ, S. F.; OLIVEIRA, R. P. Porta-enxertos para citros no Rio Grande do Sul. In: FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (Fepagro). *Indicações técnicas para a citricultura no Rio Grande do Sul*. Pelotas: Fepagro, 2010. p. 19-26.
- SOUZA, P. V.; SCHÄFER, G. Produção de mudas de laranjeiras. In: KOLLER, O. C. (Org.). *Citricultura: 1. Laranja: tecnologia de produção, pós-colheita, industrialização e comercialização*. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2006. p. 55-87.
- WU, Q. S. et al. Root morphological modification of mycorrhizal citrus (*Citrus tangerine*) seedlings after application with exogenous polyamines. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, v. 21, n. 1, p. 20-25, 2011b.
- WU, Q. S.; ZOU, Y. N.; HEB, X. H. Differences of hyphal and soil phosphatase activities in drought-stress edmycorrhizal trifoliate orange (*Poncirus trifoliata*) seedlings. *Scientia Horticulturae*, v. 129, n. 1, p. 294-298, 2011a.
- ZAMBROSI, F. C. B. et al. Eficiência de absorção e utilização de fósforo em porta-enxertos cítricos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 36, n. 2, p. 485-496, 2012.

## **5 ARTIGO 3**

### **Desenvolvimento e fisiologia do porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ inoculado com fungos micorrízicos arbusculares**

Desenvolvimento e fisiologia do porta-enxerto citrangeiro 'Fepagro C37 Reck' inoculado  
com fungos micorrízicos arbusculares

Marina Martinello Back<sup>1</sup>; Gabriela Fedrizzi<sup>1</sup>; Paulo Vitor Dutra de Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Horticultura e Silvicultura, Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves 7712, Porto Alegre, Brasil.

Resumo – O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de diferentes espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) no desenvolvimento e fisiologia do porta-enxerto citrangeiro 'Fepagro C37 Reck'. Foram utilizadas quatro espécies de FMA: *Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp., bem como um tratamento controle. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso de 5 tratamentos, com 3 repetições e 10 plantas por parcela. A cada quinze dias, foi medida a altura (cm) e o diâmetro do caule (mm) das plantas no viveiro. Aos 330 dias, foram medidos o número de folhas, a área foliar (cm<sup>2</sup>), a massa fresca e seca das raízes e da parte aérea (g/planta), o teor de reservas da raiz e da parte aérea, o conteúdo nutricional da parte aérea e a colonização de FMA. A inoculação de FMA promoveu um crescimento vegetativo acelerado, resultando em maior altura e diâmetro. Além disso, os fungos promoveram às plantas maior absorção da maioria dos nutrientes e em todos os outros parâmetros testados. Contudo, não se observou efeito no teor de reservas do porta-enxerto. As raízes foram colonizadas, com moderada presença de arbúsculos e baixa de vesículas. Os FMA, independentemente da espécie, influenciam no desenvolvimento e na fisiologia do porta-enxerto citrangeiro 'Fepagro C37 Reck'.

Palavras chaves - Endomicorrizas, produção de mudas, desenvolvimento vegetativo, nutrientes e colonização.

Development and physiology of the citrange ‘Fepagro C37 Reck’ rootstock inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi

Abstract – This study aimed to evaluate the influence of different species of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on development and physiology of the citrange ‘Fepagro C37 Reck’ rootstock. Four species of AMF were used: *Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* and *Acaulospora* sp., as well as a control treatment. The experimental design was randomized blocks of 5 treatments, with 3 replications and 10 plants per plot. Every two weeks, was measured the height (cm) and the stem diameter (mm) of plants in the nursery. At 330 days, were measured the number of leaves, the leaf area (cm<sup>2</sup>), the fresh and dry mass of roots and shoot (g/plant), the nutritional contents of the shoot, root and shoot reserves content and the colonization of AMF. The inoculation of AMF promoted an accelerated vegetative growth, resulting in a greater height and diameter. In addition, they have increased in plants, the absorption of most nutrients and all other parameters tested. However, no effect on the content of the storage substances of the rootstock was shown. The roots were colonized, with moderate presence of arbuscules and low of vesicles. The AMF, regardless the species, influence development and physiology of the citrange ‘Fepagro C37 Reck’ rootstock.

Kay-words - Endomycorrhizae, seedling production, vegetative acceleration, nutrients and colonization.

## INTRODUÇÃO

A citricultura brasileira caracteriza-se por uma baixa diversificação genética de porta-enxertos, tornando-a vulnerável às novas enfermidades (Fochesato et al., 2007). Uma forma de reduzir os riscos é o uso de diferentes espécies/variedades de porta-enxertos, que apresentem diferentes características (Souza et al, 2005; Schäfer et al., 2006).

Visando essa diversificação, são necessários estudos que testem diferentes espécies com potencial como porta-enxertos que apresentem, por exemplo, resistência às doenças, tolerância aos estresses abióticos, além de ter afinidade com variedades copas de interesse no mercado. Além disso, deve-se estudar seu comportamento ao longo do ciclo de

produção, desde a formação da muda em fase de viveiro, durante o período inicial de crescimento no pomar e na fase de plena produção do fruto (Zaccheo et al., 2011; Gonzatto et al., 2011).

No estado do Rio Grande do Sul, os porta-enxertos utilizados apresentam baixa taxa de crescimento em fase de viveiro, devido às baixas temperaturas no período do inverno. Por isso, o tempo necessário para a produção da muda na região sul do país é maior, aumentando o custo de produção e, assim, perdendo no mercado competitivo para outras regiões do Brasil (Souza et al., 2005).

Um porta-enxerto com grande potencial, já empregado com sucesso em alguns pomares do Rio Grande do Sul, é o citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. x *Citrus sinensis* (L.) Osbeck.]. Esse é um híbrido do ‘Trifoliata’ (*P. trifoliata* (L.) Raf), que apresenta as características desejáveis deste, além de ter um crescimento rápido em viveiro (Oliveira et al., 2010; Koller, 2013).

Uma técnica alternativa para acelerar o desenvolvimento das plantas é a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Esses são organismos que se associam simbioticamente às raízes das plantas, melhorando a absorção nutricional, principalmente de fósforo, e estimulando o crescimento dessas (Jayme & Quigley, 2014; Wu et al., 2011a). Segundo Ortas (2012), as plantas cítricas são, normalmente, altamente responsivas aos FMA por terem o sistema radicular carente de pelos absorventes. Entretanto, segundo Smith & Smith (2011), a resposta da planta à micorrização depende de diversos fatores; um deles é referente à espécie de fungo micorrízico arbuscular inoculado, principalmente por questão de compatibilidade com o hospedeiro e/ou adaptação ao ambiente.

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar a influência de diferentes espécies de fungos micorrízicos arbusculares sobre o desenvolvimento e a fisiologia do porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido em casa de vegetação do Departamento de Horticultura e Silvicultura (DHS), localizado no Campus da Faculdade de Agronomia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), em Porto Alegre, RS - Brasil (30°29'S e 51°06'W) (fase de semeadura e inoculação em bandejas de polietileno), e na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EEA/UFRGS; 30°05'22" S, 51°39'08" W), localizada no município de Eldorado do Sul, RS - Brasil (Km 146, BR 290) (a partir da repicagem para sacos pretos de polietileno de 5 L).

Avaliou-se o desenvolvimento vegetativo, o conteúdo de reservas e o teor nutricional do porta-enxerto 'Fepagro C37 Reck' [*P. trifoliata* (L.) Raf. x *C. sinensis* (L.) Osbeck.] inoculado com quatro espécies de FMA: *Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp., além de um tratamento testemunha (não inoculado).

As sementes de porta-enxerto utilizadas foram extraídas de frutos maduros colhidos de plantas matrizes, cultivadas na coleção de citros da Estação Experimental Agronômica da UFRGS, através da metodologia descrita por Souza & Schäfer (2006). As sementes foram submetidas à termoterapia (imersão por 10 minutos em água à temperatura de 52°C).

Os inóculos dos FMA utilizados no experimento foram reproduzidos em Laboratório do DHS através dos inóculos iniciais obtidos do Banco de Inóculos do mesmo departamento. As espécies de FMA escolhidas foram selecionadas a partir de um estudo inicial realizado por Focchi et al. (2004) que realizaram um levantamento das espécies de fungos micorrízicos arbusculares que ocorrem naturalmente em pomares de citros no Rio Grande do Sul. A produção do inóculo procedeu-se da seguinte forma: foram utilizados 4 recipiente de 5L, em cada um foi preenchido com areia esterilizada e misturado na camada superior de 4cm da areia o inóculo de uma espécie FMA. Após a inoculação, foi semeado

20 sementes de milho (*Zea mays* L.) por recipiente. Os recipientes permaneceram no laboratório recebendo iluminação artificial e irrigados manualmente no período de dois meses. Após esse período, homogeneizou a areia juntamente com os restos de raízes do milho e, a partir dessa mistura, originou-se o novo inóculo. Por fim, o inóculo foi armazenado em geladeira para melhor conservação.

Em fevereiro de 2013, procedeu-se à inoculação dos porta-enxertos com os FMA da seguinte maneira: fez-se a semeadura do porta-enxerto em substrato comercial, composto por turfa, casca de arroz carbonizada e vermiculita, acondicionado em bandejas plásticas de dimensões de 60cm de comprimento, 40cm de largura e 10cm de altura. O substrato foi previamente autoclavado a 120°C (pressão de 1atm) durante uma hora, repetindo-se três vezes esse processo, em intervalos de 24 horas.

As bandejas foram colocadas sobre uma bancada de concreto em ambiente protegido e cobertas por uma tela antiáfídica, a fim de evitar a livre circulação de insetos que pudessem contaminar o experimento. Cada bandeja continha um tratamento com FMA (testemunha e as quatro espécies de FMA).

As bandejas que receberam inóculo de FMA foram preenchidas com substrato até a metade de sua altura; sobre a camada de substrato foi colocada uma camada de 400g de inóculo (camada de aproximadamente 2mm), completando-se a bandeja com substrato. A bandeja contendo as plantas testemunhas não recebeu inóculo. Por fim, foram semeadas 50 sementes do porta-enxerto por tratamento.

A irrigação foi realizada através do uso de regador manual, colocando-se 1L por bandeja a cada dois dias.

Quando as plântulas atingiram uma altura média de 10cm (8 de junho de 2013), foram levadas para a casa de vegetação da Estação Experimental Agrônômica da UFRGS no município de Eldorado do Sul-RS, onde instalou-se o experimento. Para tal, elas foram repicadas para sacos pretos de polietileno (5L) preenchidos com substrato comercial

composto por casca de eucalipto, desinfestado previamente com solução de formaldeído a 7%. As mudas foram dispostas em bancadas de madeira de 80 cm de altura, recebendo irrigação por gotejamento duas vezes por dia, de 5 minutos cada, totalizando 50 mL de volume de água por dia.

O delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados com 5 tratamentos (4 FMA + testemunha), sendo 3 repetições com 10 plantas por parcela.

O desenvolvimento vegetativo das plantas foi acompanhado quinzenalmente, medindo-se a altura (cm), do colo até o ápice da planta com uma trena, e o diâmetro do caule (mm), com um paquímetro digital, a 1cm acima do nível do substrato.

Aos 240 dias após a repicagem, mediu-se a altura final (cm), o diâmetro do caule (mm) e o número de folhas por planta. Também quantificou-se a área foliar (cm<sup>2</sup>) por planta, através do uso de um medidor de área foliar marca LI-Meter. Foi determinada a massa fresca de raiz e de parte aérea (g), além da massa seca de raiz e de parte aérea (g), após manutenção das amostras em estufa de secagem com temperatura de 65°C até atingir massa constante.

Após a secagem da parte aérea e das raízes, procedeu-se à moagem desses tecidos em moinho, misturando-se as 10 plantas por tratamento e repetição, de onde coletou-se uma amostra composta de 1 g, visando avaliar o teor de substâncias de reservas presentes nestes, segundo adaptações ao método descrito por Priestley (1965). Cada amostra foi acondicionada em um tecido especial, para filtragem de alimentos, formando-se trouxinhas. Essas foram pesadas antes e após serem submetidas ao processo de digestão durante oito horas submersas em solução aquosa com 5% de ácido tricloroacético e 35% de metanol, visando à extração de todos os componentes do tecido vegetal (carboidratos, gorduras, etc.), que não fossem fibras (celulose, hemicelulose e lignina). A diferença de massa, antes e após o processo de digestão, indica o percentual de reservas presentes. Para cada tratamento, empregou-se 3 repetições.



A quantidade restante das amostras de matéria seca da parte aérea de cada tratamento, inicialmente moídas, foi destinada à determinação dos macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S) e micronutrientes (Cu, Zn, Fe, Mn e B), as quais foram realizadas pelo Laboratório de Análises de Solos e Tecidos da Faculdade de Agronomia - UFRGS.

No mesmo período, coletou-se dois segmentos de raízes secundárias de cada planta para avaliar a colonização dos FMA. As raízes foram lavadas com água destilada, fracionadas com 1cm de comprimento e armazenadas em FAA (formaldeído, álcool e acetona) para fixação. Posteriormente, foram coletados, ao acaso, 15 segmentos de raízes por repetição, totalizando 45 segmentos por tratamento, e realizado o processo de tingimento destes com corante azul de tripano, a fim de observar no microscópio a colonização e as estruturas dos FMA nas raízes. Após o processo de tingimento, os segmentos de raízes foram montados em lâminas de vidro e examinados em microscópio para avaliar a presença e a intensidade de hifas, arbúsculos e vesículas. A porcentagem de raízes colonizadas foi obtida do número de segmentos infectados em relação ao total analisado. Para determinar a densidade de hifas, atribuiu-se o valor 0, para ausência de estruturas; 1, para baixa presença; 2, para média presença; e 3, para alta presença. A densidade de vesículas e de arbúsculos também foi relacionada com uma escala de 0 a 3, onde se considerou como 0 a ausência de estruturas; 1, para 1 a 50 estruturas; 2, para 51 a 100; e 3, para mais de 100, segundo metodologia descrita por Nemeç (1992). O processo foi repetido três vezes e foram utilizados avaliadores treinados para maior confiabilidade nos resultados.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan, ao nível de 1% e 5% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através das medições ao longo de 240 dias após o transplante (DAT) para recipientes de 5 litros, verificou-se que até aproximadamente 130 DAT, as plantas, independentemente do tratamento, praticamente não modificaram sua altura (Figura 1). A partir desse momento, as plantas inoculadas com *Gigaspora margarita*, *Scutellospora heterogama* e *Glomus etunicatum* passaram a apresentar um crescimento primário exponencial, praticamente quintuplicando a altura das plantas em relação àquelas não inoculadas aos 240 DAT. As plantas inoculadas com *Acaulospora* sp. também apresentaram uma linha de tendência semelhante, mas não tão pronunciada como nas anteriores. Já as plantas não inoculadas obtiveram um pequeno incremento na altura após os 150 DAT e nos últimos dias se estabilizou chegando a 21 cm de média aos 240 DAT.

No caso do diâmetro do caule, as plantas de todos os tratamentos mantiveram seu diâmetro inicial até os 150 dias (Figura 2). A partir deste período, as plantas inoculadas iniciaram um crescimento secundário exponencial, semelhante entre todos os tratamentos inoculados, chegando a duplicar o diâmetro comparativamente às testemunhas aos 240 DAT (Figura 2).

A ausência de crescimento primário (até os 130 DAT) e secundário (até os 150 DAT) pode ser explicada pelo fato de que este período coincidiu com o inverno do sul do país, onde as temperaturas médias oscilaram entre 11,5°C a 15°C (meses de junho a setembro de 2013). No caso das plantas inoculadas, além do efeito da temperatura, a ausência de desenvolvimento neste período inicial pode ter sido consequência do tempo necessário para que os FMA colonizassem as raízes e o substrato. Segundo Smith & Smith (2011), os FMA necessitam de um tempo para que suas hifas ocupem o volume do recipiente e estabeleçam suas estruturas nos tecidos radiculares do hospedeiro. Somente a partir deste período é que elas proporcionam uma aceleração no crescimento significativa

às plantas, em virtude de auxiliarem na absorção nutricional e de água.

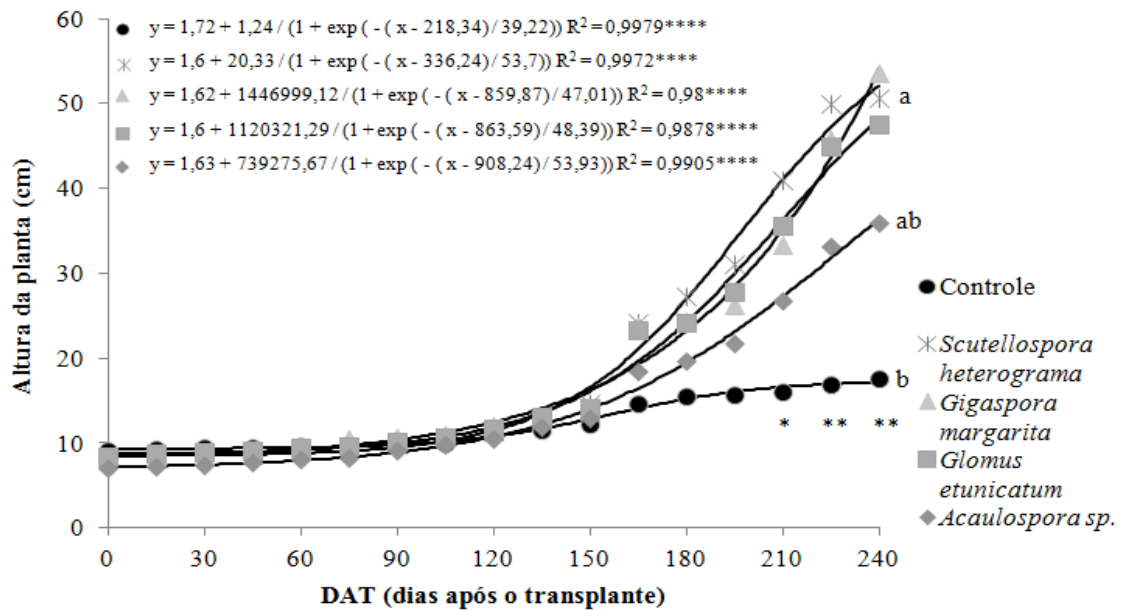


Figura 1. Evolução da altura (cm) do porta-enxerto Citrangeiro 'Fepagro C37 Reck' submetido à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares ao longo de 240 dias após o transplante em casa de vegetação. \*\*\*\* significa, 0,01% de significância pelo teste F. \* e \*\*, significam respectivamente, 5% e 1% de significância pelo teste Duncan. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente. Porto Alegre, 2017.

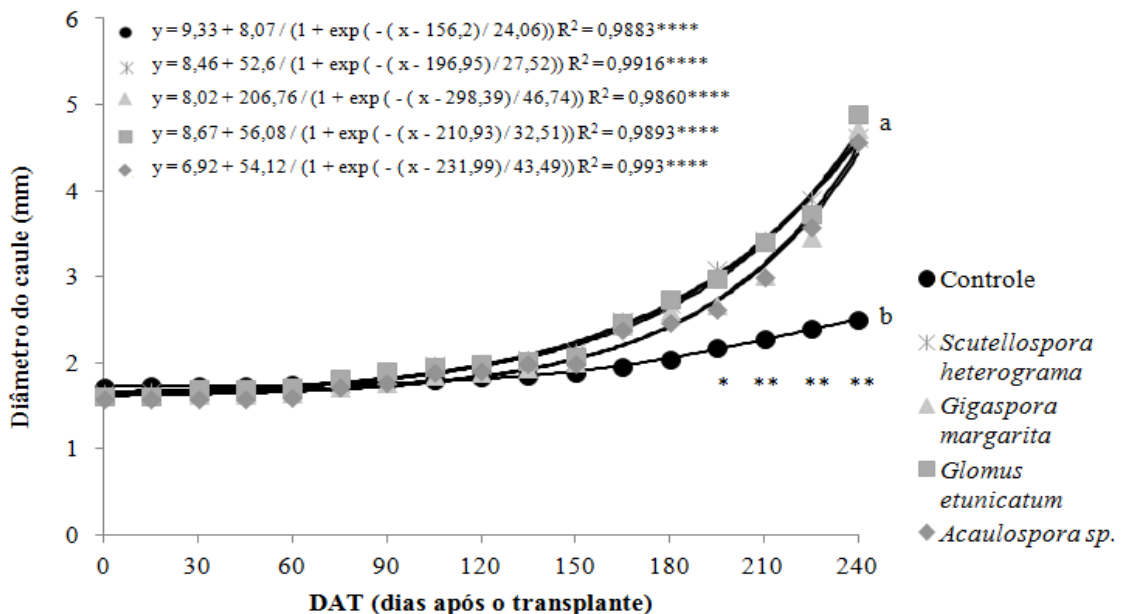


Figura 2. Evolução do diâmetro do caule (mm) do porta-enxerto Citrangeiro 'Fepagro C37 Reck' submetido à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares ao longo de 240 dias após o transplante em casa de vegetação. \*\*\*\* significa, 0,01% de significância pelo teste F. \* e \*\*, significam respectivamente, 5% e 1% de significância pelo teste Duncan. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente. Porto Alegre, 2017.

A aceleração no desenvolvimento das plantas proporcionada pelos FMA culmina com uma redução no intervalo de tempo para atingir o ponto de enxertia, podendo promover uma redução de custos de produção para os viveiristas. Além disso, permite produzir a muda dentro do período de 18 a 22 meses, exigido pela Instrução Normativa n. 24 de 16 de dezembro de 2005 (Brasil, 2005), às vezes impossível no sul do Brasil, pelas baixas temperaturas ocorridas no outono/inverno.

Além de promover maior altura e diâmetro do caule no citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’, a inoculação com os FMA, independentemente da espécie, proporcionou uma duplicação no número de folhas, praticamente triplicou a área foliar, e quadruplicou as massas fresca e seca da raiz e da parte aérea (Tabela 1 e 2).

Esses efeitos benéficos significativos provocados por FMA já são conhecidos e relatados em vários estudos, como em trabalhos publicados por Wu et al. (2011b), Liu and Wu (2013) e Costa et al. (2010) onde a massa fresca da raiz e da parte aérea foi superior em plantas micorrizadas comparativamente às não inoculadas. Nunes et al. (2009) observaram em seu estudo que porta-enxerto de pessegueiro inoculado com FMA, se mantido em ambiente protegido, apresentou maior diâmetro, altura, área foliar, massa fresca e seca da raiz e parte aérea em relação às plantas não inoculadas. Além disso, Back et al. (2016) avaliaram a resposta do citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ a inoculação de *Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp., onde observaram que as quatro espécies de FMA proporcionaram significativos aumentos na altura das plantas, diâmetro do caule, número de folhas, área foliar e massa fresca e seca da raiz e da parte aérea em relação a plantas não inoculadas.

Entre os tratamentos com as espécies de FMA não houve diferença significativa em todos os parâmetros avaliados quanto ao desenvolvimento vegetativo das plantas. Ou seja, as quatro espécies de FMA obtiveram uma simbiose perfeita com o hospedeiro não apresentando nenhum fator que afetasse sua colonização e estabelecimento de suas

estruturas no sistema radicular das plantas.

Tabela 1. Número de folhas e área foliar (cm<sup>2</sup>/planta) do porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ submetido à inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.). Porto Alegre, 2017.

Tratamento	Número de Folhas	Área Foliar (cm <sup>2</sup> /planta)
Testemunha	14,08 b**	60,536 b**
<i>Scutellospora heterogama</i>	27,76 a	209,177 a
<i>Gigaspora margarita</i>	25,16 a	201,880 a
<i>Glomus etunicatum</i>	25,47 a	180,977 a
<i>Acaulospora</i> sp.	24,02 a	175,076 a
CV (%)	14,43	22,01

Médias seguidas pela mesma letra, entre linhas, não diferem entre si, pelo teste de Duncan, ao nível de 5% (\*) ou 1% (\*\*) de significância.

Tabela 2. Massa fresca e seca da raiz e da parte aérea (g/planta) do porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ submetido à inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.). Porto Alegre, 2017.

Tratamento	Parte aérea (g)		Raiz (g)	
	MF	MS	MF	MS
Testemunha	2,570 b*	0,770 b**	2,388 b**	0,841 b*
<i>Scutellospora heterogama</i>	9,026 a	3,377 a	10,552 a	3,650 a
<i>Gigaspora margarita</i>	8,314 a	4,180 a	10,920 a	3,867 a
<i>Glomus etunicatum</i>	8,554 a	3,337 a	8,701 a	3,446 a
<i>Acaulospora</i> sp.	7,511 a	2,883 a	8,100 a	3,013 a
CV (%)	21,89	13,24	15,56	16,56

Médias seguidas pela mesma letra, entre linhas, não diferem entre si, pelo teste de Duncan, ao nível de 5% (\*) ou 1% (\*\*) de significância.

A partir dos resultados, confirma-se a grande resposta do citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ à presença de FMA em suas raízes. Isso está atribuído devido que esse porta-enxerto apresenta um sistema radicular com ausência de pelos absorventes, característica herdada de um de seus pais, a Laranjeira doce [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. Essa apresenta poucos ou ausência de pelos radiculares, órgãos responsáveis pela absorção de água e nutrientes (Zambrosi et al., 2012; Ortas, 2012; Wu et al, 2011b).

Quanto à questão nutricional das plantas, observa-se nas tabelas 3 e 4 que os FMA também influenciaram nos teores de macro e micronutrientes da parte aérea. As plantas

inoculadas com as quatro espécies de FMA, em virtude de seu maior desenvolvimento, apresentaram maior valor absoluto de N, P, Ca e S em relação às testemunhas (Tabela 3). Já para os conteúdos de K, somente as plantas inoculadas com *S. heterogama* e com *G. margarita*, apresentaram valores absolutos superiores às testemunhas. Aquelas inoculadas com *G. etunicatum* e *Acaulospora* sp. apresentaram valores intermediários. Os valores absolutos de Mg foram superiores nas plantas inoculadas com *S. heterogama*, *G. margarita* e *G. etunicatum*; enquanto que as inoculadas com *Acaulospora* sp apresentaram valores intermediários às anteriores e às testemunhas.

Tabela 3. Teores absolutos (g/planta) e relativos (%) de macronutrientes da parte aérea do porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ submetido à inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.). Porto Alegre, 2017.

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	S
	g/planta					
Testemunha	0,0108 b**	0,0039 b*	0,0102 b**	0,0207 b*	0,0022 b*	0,0028 b*
<i>Scutellospora heterogama</i>	0,0439 a	0,0184 a	0,0464 a	0,1034 a	0,0093 a	0,0113 a
<i>Gigaspora margarita</i>	0,0538 a	0,0246 a	0,0501 a	0,1130 a	0,0098 a	0,0141 a
<i>Glomus etunicatum</i>	0,0389 a	0,0173 a	0,0368 ab	0,0814 a	0,0070 a	0,0105 a
<i>Acaulospora</i> sp.	0,0429 a	0,0195 a	0,0296 ab	0,0794 a	0,0063 ab	0,0095 a
CV(%)	12,34	15,01	11,56	9,35	16,42	11,88
	%					
Testemunha	1,40 a**	0,50 d**	1,33 a*	2,70 ab*	0,29 a**	0,37 ns
<i>Scutellospora heterogama</i>	1,30 ab	0,54 bc	1,37 a	3,03 a	0,25 b	0,33
<i>Gigaspora margarita</i>	1,23 b	0,57 b	1,13 ab	2,60 b	0,23 bc	0,3
<i>Glomus etunicatum</i>	1,16 b	0,53 c	1,09 ab	2,43 b	0,21 c	0,31
<i>Acaulospora</i> sp.	1,43 a	0,65 a	1,00 b	2,67 ab	0,21 c	0,3
CV(%)	3,7	2,86	13,58	5,56	7,12	6,18

Médias seguidas pela mesma letra, entre linhas, não diferem entre si, pelo teste de Duncan, ao nível de 5% (\*) ou 1% (\*\*) de significância. <sup>ns</sup> Não significativo

Dentre os macronutrientes, destaca-se o fósforo. Esse nutriente é o principal fornecido às plantas pelos FMA, pois sabe-se que é um nutriente pouco móvel no solo e de difícil disponibilidade às mesmas (Kiriachek et al., 2009). Além do fósforo, o nitrogênio

também teve teores bem elevados com a micorrização, sendo um dos principais fatores responsáveis pela aceleração do crescimento em altura, diâmetro, área foliar, número de folhas e massa fresca e seca da parte aérea e de raízes, quando comparados à testemunha.

Por outro lado, ao analisar-se os valores relativos de macronutrientes nos tecidos, as respostas foram diversas entre os tratamentos (Tabela 3). No caso do N, os valores relativos foram inferiores às testemunhas nas plantas inoculadas com *G. margarita* e *G. etunicatum*. Os teores de N das plantas inoculadas com *S. heterogama* e com *Acaulospora* sp não diferiram das testemunhas.

Todas as plantas inoculadas com FMA tiveram maiores percentagens de P em seus tecidos, em relação às testemunhas. Dentre as espécies de FMA, a mais eficiente para acúmulo deste macronutriente foi *Acaulospora* sp., seguida por *G. margarita*, *S. heterogama* e *G. etunicatum*.

Os valores relativos de K nos tecidos somente foram inferiores nas plantas inoculadas com *Acaulospora* sp. As demais espécies não diferiram das testemunhas para este nutriente. Os teores de Ca e S foram semelhantes entre as plantas micorrizadas e as testemunhas. Já, os teores de Mg foram inferiores nas plantas micorrizadas em relação às testemunhas, independentemente da espécie de FMA.

No caso dos micronutrientes (Tabela 4), os valores absolutos (mg/planta) de Cu, Zn, Fe e o B foram maiores nas plantas micorrizadas. Dentre esses nutrientes, Cu e Fe apresentaram algumas diferenças entre as espécies de FMA, entretanto, todas foram superiores à testemunha. Os valores absolutos de Mn somente foram maiores nas plantas inoculadas com *Gigaspora margarita* em relação às testemunhas.

Tabela 4. Teores absolutos (g/planta) e relativos (%) de micronutrientes da parte aérea do porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ submetido à inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.). Porto Alegre, 2017.

Tratamento	Cu	Zn	mg/planta		
			Fe	Mn	B
Testemunha	100,64 c**	56,88 b*	131,86 c**	310,47 b*	36,86 b**
<i>Scutellospora heterogama</i>	457,48 b	242,06 a	780,38 ab	510,69 ab	159,25 a
<i>Gigaspora margarita</i>	764,18 a	249,69 a	1176,57 a	628,23 a	185,89 a
<i>Glomus etunicatum</i>	480,92 b	181,84 a	974,05 ab	464,72 ab	151,09 a
<i>Acaulospora</i> sp.	640,09 ab	162,97 a	728,77 b	338,78 b	133,55 a
CV(%)	13,67	10,89	14,32	14,57	8,57
			%		
Testemunha	131,67 c**	74,00 a*	172,33 c**	405,00** a	48,00 a**
<i>Scutellospora heterogama</i>	134,00 c	71,00 a	230,33 b	150,67 b	47,00 ab
<i>Gigaspora margarita</i>	177,67 b	58,33 b	273,67 a	145,33 b	43,33 b
<i>Glomus etunicatum</i>	144,00 c	54,33 b	291,33 a	139,00 b	45,33 ab
<i>Acaulospora</i> sp.	214,67 a	54,67 b	244,67 b	113,67 c	44,67 ab
CV(%)	3,5	4,61	2,8	2,82	3,2

Médias seguidas pela mesma letra, entre linhas, não diferem entre si, pelo teste de Duncan, ao nível de 5% (\*) ou 1% (\*\*) de significância.

Com relação aos valores relativos de micronutrientes, a resposta variou segundo o nutriente. No caso do Cu, as plantas inoculadas com *Acaulospora* sp e *G. margarita* apresentaram percentuais maiores que os demais tratamentos, os quais não diferiram entre si. Os teores de Zn, à exceção das plantas inoculadas com *S. heterogama*, que não diferiram das testemunhas, foi inferior nas plantas inoculadas com *G. margarita*, *G. etunicatum* e *Acaulospora* sp.

A concentração de Fe nos tecidos foi maior nas plantas inoculadas, em relação às testemunhas, principalmente em presença de *G. margarita* e *G. etunicatum*. A inoculação com FMA provocou um significativo efeito de diluição nos teores de Mn nos tecidos, quando comparados às testemunhas. Por sua vez, os teores de B somente foram inferiores nas plantas inoculadas com *G. margarita*, sendo que os demais tratamentos não diferiram entre si.

Essa diferença acentuada nos teores absolutos da maioria dos macro e



micronutrientes foi consequência da diferença da massa seca entre plantas micorrizadas e testemunhas, ficando entre 374% a 543% maiores, segundo a espécie de FMA (Tabela 2).

Apenas P, Cu e Fe foram os nutrientes que apresentaram maiores valores relativos em plantas micorrizadas. Resultados semelhantes foram observados em trabalhos de Nunes et al. (2009), Nunes et al. (2013) onde os teores de P foram superiores e Mg foram inferiores em plantas micorrizadas em relação às testemunhas.

No caso de redução nos teores provocados pelos FMA, estes são atribuídos a efeitos de diluição dos mesmos nas células, provocados por uma maior absorção de água. Além disso, os FMA apresentam um comportamento tampão (Anzanello et al. 2011), ou seja, em condição de alta disponibilidade de nutrientes, eles absorvem apenas o que é necessário, por isso que nos resultados alguns nutrientes, como Ca, Mg, e Mn, apresentaram valores abaixo do que em plantas não micorrizadas, no entanto, são valores já considerados altos para as exigências das plantas (SBCS, 2004). Dessa forma, os FMA também tem como função regular a quantidade de nutrientes absorvidos evitando maior gasto energético.

Os FMA não influenciaram nos teores de substâncias de reservas dos tecidos, variando de 31,6% a 34% na parte aérea e 13,9% a 24,2% nas raízes (Tabela 5). O efeito dos FMA sobre o teor de reservas das plantas é variável, havendo relatos de efeitos positivos (Nunes et al., 2008a; Nunes et al., 2013), nulos (Nunes et al., 2008b) e, inclusive, de efeitos negativos (Souza et al., 2005), atribuídos à diluição dos carboidratos nas células como consequência do maior vigor e desenvolvimento proporcionado pelos FMA.

Tabela 5. Teores de reserva da parte aérea e da raiz do porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ submetido à inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.). Porto Alegre, 2017.

Tratamento	Parte aérea	Raiz
	%	
Testemunha	33,996 <sup>ns</sup>	24,197 <sup>ns</sup>
<i>Scutellospora heterogama</i>	32,331	18,601
<i>Gigaspora margarita</i>	32,408	13,886
<i>Glomus etunicatum</i>	33,236	15,702
<i>Acaulospora</i> sp.	31,602	18,317
CV (%)	8,36	20,9

<sup>ns</sup> Não significativo, pelo teste de Duncan.

Na porcentagem de colonização, todas as espécies de FMA colonizaram 100% as raízes do porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ (Tabela 6). Observou-se uma pequena contaminação nas plantas testemunhas. Isso se deveu, provavelmente, à circulação de insetos, como formigas, no experimento, que podem ter levado esporos para estas plantas (Tabela 6). De qualquer maneira, esta contaminação já foi relatada em outros estudos (Nunes et al., 2008a; Silveira et al., 2006) e não interferiu nos resultados, pois é considerada muito baixa e aceitável.

Tabela 6. Porcentagem de colonização, densidade de hifas e quantificação de arbúsculos e vesículas em raízes do porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ submetido à inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.). Porto Alegre, 2017.

Tratamento	Colonização (%)	Hifas	Arbúsculos	Visículas
Testemunha	9,15 b **	0,312 c**	0,271 c**	0,125 b**
<i>Scutellospora heterogama</i>	100,00 a	1,625 b	1,271 b	0,042 b
<i>Gigaspora margarita</i>	100,00 a	2,021 ab	1,958 a	0,500 a
<i>Glomus etunicatum</i>	100,00 a	2,229 a	1,958 a	0,583 a
<i>Acaulospora</i> sp.	100,00 a	2,166 a	1,458 b	0,167 b
CV (%)	0,27	15,66	8,92	21,45

Médias seguidas pela mesma letra, entre linhas, não diferem entre si, pelo teste de Duncan, ao nível de 1% (\*\*) de significância.

Quanto à densidade de hifas, houve uma variação entre as espécies de FMA, destacando as espécies *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp. que obtiveram alta

intensidade de hifas e a *Gigaspora margarita* com moderada densidade (Tabela 6).

Os arbúsculos são as estruturas dos FMA onde ocorrem as trocas de nutrientes e fotoassimilados com as plantas (Smith & Smith, 2011). Na tabela 6, nota-se boa presença de arbúsculos nos tecidos das raízes, caracterizando uma maior atividade simbiótica entre o fungo e a planta, justificando o maior desenvolvimento vegetativo deste porta-enxerto. Entretanto, observou-se baixa presença de vesículas nas raízes independentemente da espécie de FMA (Tabela 6). As vesículas são estruturas globosas contendo grânulos de glicogênio e lipídios, portanto estruturas de reserva. Estas estruturas são formadas em períodos de baixa temperatura, onde ocorre baixa atividade do fungo e da planta hospedeira (Smith & Smith, 2011). Como a coleta das raízes ocorreu em março, no final do verão, os FMA ainda não estavam necessitando acumular reservas. Normalmente, nas condições do sul do Brasil essas estruturas são formadas a partir de abril/ maio (meses de outono, com redução da temperatura e do fotoperíodo) para fornecer reservas para os FMA durante o período do inverno. Resultados semelhantes foram observados em trabalhos de Nunes et al. (2008b) e Nunes et al. (2009) os quais apresentam características parecidas a este experimento.

## CONCLUSÕES

O porta-enxerto citrangeiro ‘FEPAGRO C37 Reck’ demonstra alta resposta a presença de FMAs em seu sistema radicular para se desenvolver vegetativamente, independentemente da espécie testada;

Os FMA incrementam os valores absolutos de macro e micronutrientes nos tecidos do Citrangeiro ‘FEPAGRO C37 Reck’, inclusive aumentam o percentual de P, Cu e Fe nos mesmos;

Os FMA não afetam o teor de reserva nas plantas de citrangeiro ‘FEPAGRO C37 Reck’.

## REFERÊNCIAS

- ANZANELLO, R.; SOUZA, P. V. D. DE; CASAMALI, B. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em porta-enxertos micropropagados de videira. *Bragantia*, Campinas, v. 70, n. 2, p.409-415, 2011.
- BACK, M. M.; ALTMANN, T.; SOUZA, P. V. de. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on the vegetative development of citrus rootstocks. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, v. 46, n. 4, p. 407-412, 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 24 de 16 de dezembro de 2005. Normas para produção, comercialização e utilização de mudas. *Diário Oficial da União*, N° 243, terça-feira, 20 de dezembro de 2005, Seção 1.
- COSTA, M. D.; LOVATO, P. E.; SETE, P. B. Micorrização e indução de quitinases e  $\beta$ -1,3-glucanases e resistência à fusariose em porta-enxerto de videira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.45, n.4, p.376-383, 2010.
- FOCHESATO, M.L.; SOUZA, P.V.D.; SCHAFER, G.; MACIEL, H.S. Crescimento vegetativo de porta-enxertos de citros produzidos em substratos comerciais. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.37, n.4, p.970-975, 2007.
- FOCCHI, S. S.; DAL SOGLIO, F. K.; CARRENHO, R.; DE SOUZA, P. V. D.; LOVATO, P. E. Fungos micorrízicos arbusculares em cultivos de citros sob manejo convencional e orgânico. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.39, n.5, p.469-476, 2004.
- GONZATTO, M.P.; KOVALESKI, A.P.; BRUGNARA, E.C.; WEILER, R.L.; SARTORI, I.A.; LIMA, J.G.; BENDER, R.J.; SCHWARZ, S.F. Performance of 'Oneco' mandarin on six rootstocks in South Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 46, n. 4, p. 406-411, 2011.
- JAYME, B. & QUIGLEY, M. Influence of arbuscular mycorrhiza on growth and reproductive response of plants under water deficit: a meta-analysis. *Mycorrhiza*, v. 24, n. 2, p. 109-119, 2014.
- KOLLER, O.L. (Org.) *Citricultura catarinense*. Florianópolis: Epagri, 2013. 319p.
- KIRIACHEK, S. G.; AZEVEDO, L. C.; PERES, V. E. P.; LAMBAIS, M. R. Regulação do desenvolvimento de micorrizas arbusculares. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 33, n.1, p.1-16, 2009.
- LI, Y.; ZOU, Y. N.; WU, Q.S. Relationships between mycorrhizas and antioxidant enzymes in citrus (*Citrus tangerina*) seedlings inoculated with *Glomus mosseae*. *Pak. J. Bot.*, v. 46, n.3, p. 1125-1128, 2014.
- NEMEC, S. *Glomus intraradix* effects on citrus roostock seedling growth in various potting media. *Journal of Agricultural Science*, Cambridge, v. 118, p. 315-323, 1992.
- NUNES, J.L.S.; SOUZA, P.V.D.; MARODIN, G.A.B.; FACHINELLO, J.C. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em porta-enxerto de pessegueiro cv Okinawa. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v.30, n.4, p. 1100-1106, 2008a.

NUNES, J.L.S.; SOUZA, P.V.D.; MARODIN, G.A.B.; FACHINELLO, J.C. Incremento no desenvolvimento vegetativo do porta-enxerto de pessegueiro 'Aldrighi' por fungos micorrízicos arbusculares autóctones. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1787-1793, 2008b.

NUNES, J.L.S.; SOUZA, P.V.D.; MARODIN, G.A.B.; FACHINELLO, J.C. Eficiência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento do porta-enxerto de pessegueiro 'Aldrighi'. *Bragantia*. Campinas, v.68, n.4, p. 931-940, 2009.

NUNES, J.L.S.; SOUZA, P.V.D.; MARODIN, G.A.B.; FACHINELLO, J.C. Desenvolvimento de plântulas de pessegueiro 'Okinawa' inoculadas com micorrizas arbusculares isoladas de pomares de pessegueiros e de vinhedos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal - SP, v. 35, n. 3, p. 845-852, 2013.

OLIVEIRA, R. P.; SOARES FILHO, W. S.; PASSOS, O. S.; SCIVITTARO, W. B.; ROCHA, P. S. G. Porta-enxertos para citros. In: Produção Orgânica de Citros no Rio Grande do Sul. Pelotas: *Embrapa Clima Temperado*, 2010. 295 p.

ORTAS, I. Mycorrhiza in citrus: growth and nutrition. In: SRIVASTAVA, A. K. *Advances in citrus nutrition*. Amsterdam: Springer, 2012. p. 333-351.

PRIESTLEY, G. A. A new method for the estimation of the resources of apple trees. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, London, v. 16, p. 717-721, 1965.

SBCS (Sociedade Brasileira de Ciência do Solo). *Manual de adubação e de calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina*. Porto Alegre, SBCS. 10. ed, 2004, 400p.

SCHÄFER, G.; SOUZA, P.V.D.; KOLLER, O.C.; SCHWARZ, S.F. Desenvolvimento vegetativo inicial de porta-enxertos cítricos cultivados em diferentes substratos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.36, n.6, 2006.

SILVEIRA, S. V.; LORSCHETER, R.; BARROS, I. B. I.; SCHWARZ, S. F.; SOUZA, P. V. D. *Mentha piperita* as a multiplying of arbuscular mycorrhizal fungi. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, v.8, n.esp., p.91-97, 2006.

SMITH, S. E.; SMITH, F. A. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annual Review of Plant Biology*, v. 62, n.1 , p. 227-250, 2011.

SOUZA, P.V.D; SCHÄFER, G. *Produção de mudas de laranjeiras*. In: KOLLER, O.C. (Org.). Citricultura: 1. Laranja: tecnologia de produção, pós-colheita, industrialização e comercialização. Porto Alegre: Ed. Cinco Continentes, 2006. cap. 5, p. 55-87.

SOUZA, P.V.; CARNIEL, E.; SCHMITZ, J. A. K.; SILVEIRA, S. V. Influência de substratos e fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento vegetativo do porta-enxerto flying dragon (*Poncirus trifoliata*, var. Montruosa swing.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 27, n. 2, p. 285-287, 2005.

WU, Q. S; ZOU, Y. N.; HEB, X. H. Differences of hyphal and soil phosphatase activities in drought-stress edmycorrhizal trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata*) seedlings. *Scientia Horticulturae*, v. 129, n.1, p. 294-298, 2011a.

WU, Q. S. et al. Root morphological modification of mycorrhizal citrus (*Citrus tangerine*) seedlings after application with exogenous polyamines. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, v. 21, n. 1, p. 20-25, 2011b.

ZACCHEO, P.V.C; NEVES, C.S.V.J; STENZEL, N.M.C; OKUMURA, R.S. Distribuição do sistema radicular de porta-enxertos sob laranjeira 'Folha Murcha' em clima subtropical. *Ciências Agrárias*, Londrina, v. 33, n. 3, p. 921-930, 2012.

ZAMBROSI, F. C. B.; MATTOS, D. ; ROBERTO FURLANI, P. R.; QUAGGIO, J. A.; BOARETTO, R. M. Eficiência de absorção e utilização de fósforo em porta-enxertos cítricos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v.36, n.2, p. 485-496, 2012.

## 7 CONCLUSÕES GERAIS

Nas condições do presente estudo, conclui-se que:

- 1) A influencia dos fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento vegetativo e na fisiologia das plantas depende da espécie do porta-enxerto;
- 2) As espécies *Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp. colonizam as raízes dos porta-enxertos citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’, trifoliata (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) e cunquateiro ‘Hong-Kong’ (*Fortunella hindsii* (L.) Swingle), no entanto, não influenciam no desenvolvimento vegetativo desses dois últimos;
- 3) O porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ (*P. trifoliata* (L.) Raf. x *C. sinensis* (L.) Osbeck.) é altamente responsivo à presença de fungos micorrízicos arbusculares em seu sistema radicular para se desenvolver vegetativamente;
- 4) As espécies *Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp. influenciam o conteúdo de nutrientes nos tecidos do porta-enxerto citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’
- 5) Entre os porta-enxertos testados, sem a presença de FMA, o trifoliata apresenta maior

desenvolvimento vegetativo que o citrangeiro 'Fepagro C37 Reck' e o cunquateiro 'Hong-Kong'.



## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Alguns aspectos relevantes da execução do estudo devem ser levados em consideração no intuito de contribuir com uma possível continuidade de trabalhos semelhantes a esse:

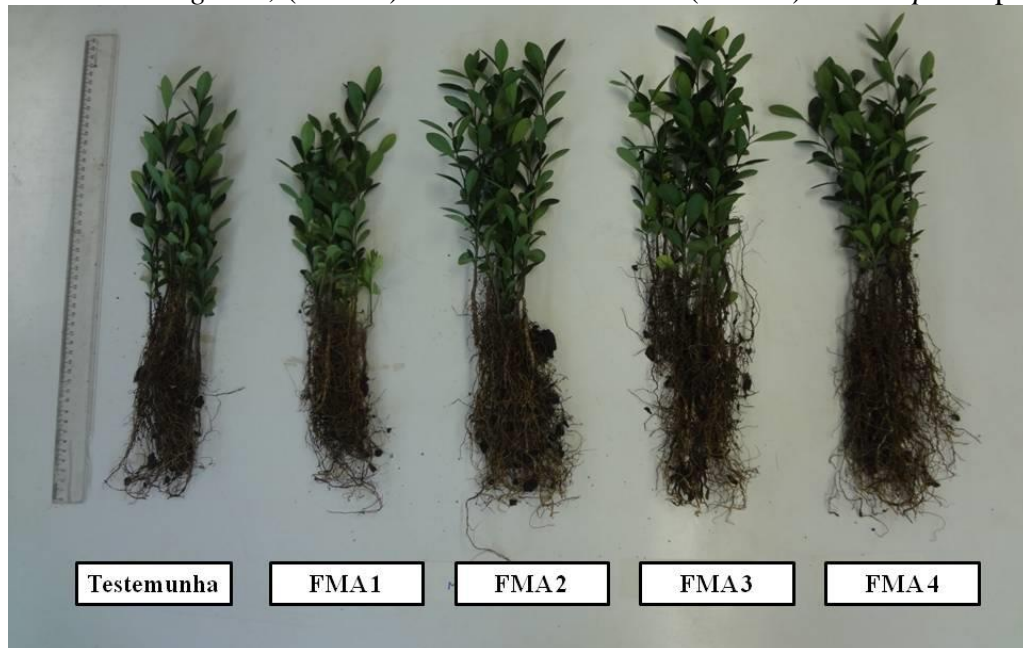
- 1) O inóculo deve ser testado previamente com objetivo de verificar se há presença somente da espécie de fungo micorrízico arbuscular desejada;
- 2) Quanto ao cultivo das plantas inoculadas em sementeira, deve-se evitar ao máximo a contaminação entre tratamentos principalmente nos procedimentos de instalação do experimento e irrigação;
- 3) Realizar uma avaliação de colonização inicial das FMAs no momento de transplante, para acompanhar a evolução da colonização e verificar se foi eficaz a inoculação;
- 4) Utilizar métodos alternativos para desinfestação dos substratos, pois o Formol é um produto cancerígeno não ideal para esse tipo de uso;
- 5) Deve-se ter cuidado com adubação adotada durante a fase de viveiro, utilizando fertilizantes com baixa concentração, principalmente, de fósforo e de nitrogênio;
- 6) Sugere-se que sejam feitos testes preliminares para o processo de preparo das raízes para quantificação das estruturas do FMA, pois o protocolo adotado varia com a espécie vegetal, tipo do substrato e condição do ambiente.

Para aprimorar ainda mais o estudo do uso de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de citros, sugere-se:

- 1) Estudar métodos alternativos para a produção de inóculos que viabilize o uso de micorrizas arbusculares no sistema de produção de mudas;
- 2) Testar o método convencional para produção de mudas e o método com micorrizas arbusculares e comparar os custos e o tempo de produção;
- 3) Avaliar o desenvolvimento vegetativo e a fisiologia das plantas micorrizadas após a enxertia e nos primeiros anos pós-plantio;
- 4) Estudar a anatomia das plantas micorrizadas para saber que influência faz nos tecidos vegetais.

## 9 APÊNDICES

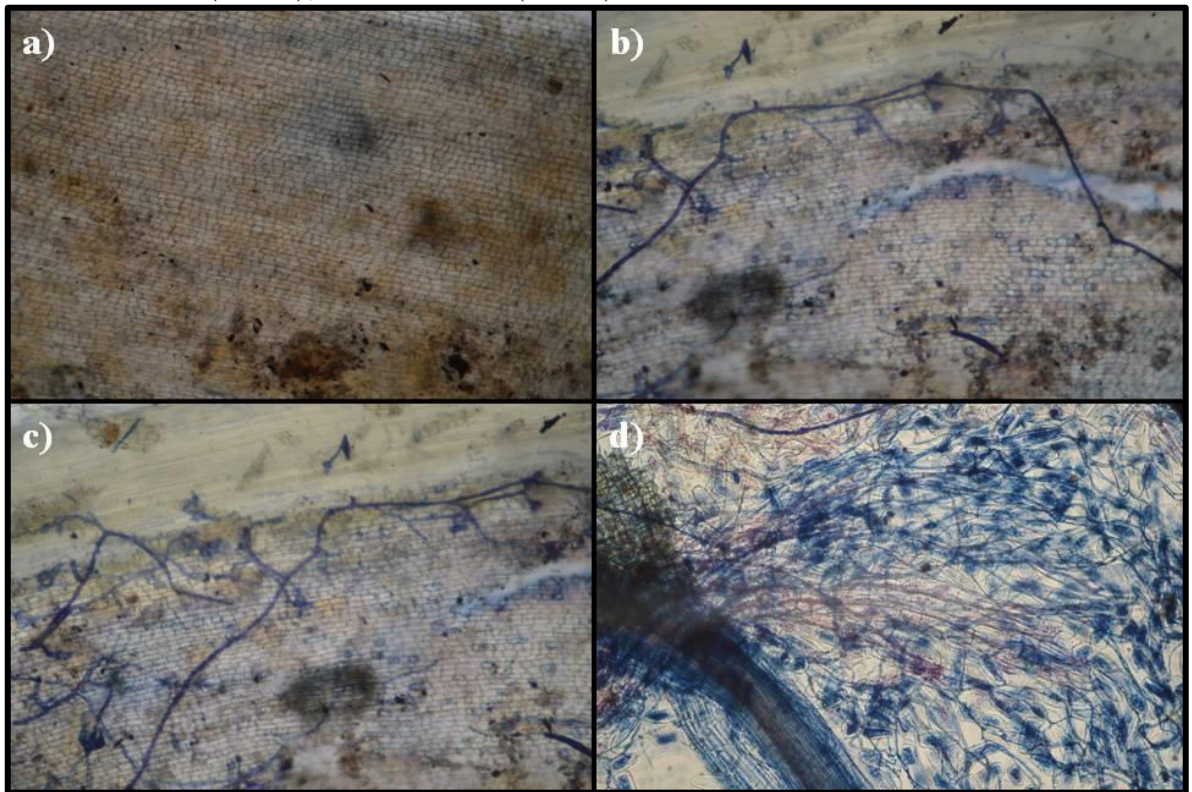
APÊNDICE 1. Plantas de cunquateiro ‘Hong-Kong’ (*Fortunella hindsii*) inoculadas ou não com 4 espécies de fungos micorrízicos arbusculares. Onde: (Testemunha) não inoculado, (FMA 1) *Scutelospora heterogama*, (FMA 2) *Gigaspora margarita*, (FMA 3) *Glomus etunicatum* e (FMA 4) *Acaulospora* sp.



APÊNDICE 2. Plantas de Citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ inoculadas ou não com 4 espécies de fungos micorrízicos arbusculares. Onde: (Testemunha) não inoculado, (FMA 1) *Scutelospora heterogama*, (FMA 2) *Gigaspora margarita*, (FMA 3) *Glomus etunicatum* e (FMA 4) *Acaulospora* sp.



APÊNDICE 3. Densidade de hifas de fungos micorrízicos arbusculares em porta-enxerto de citros. a) sem presença de hifas (nota 0); b) baixa (nota 1); c) média (nota 2); alta densidade (nota 3).



APÊNDICE 4. Estruturas vesículas (a) e arbúsculos (b) dos fungos micorrízicos arbusculares em porta-enxertos de citros.

