

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

**DESINFESTAÇÃO DE SUBSTRATOS E FUNGOS MICORRÍZICOS NA
PRODUÇÃO DE PORTA-ENXERTOS DE CITROS**

**Sandra Rieth
Engenheira Agrônoma/ UFRGS**

Dissertação apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia
Ênfase Horticultura

Porto Alegre (RS), Brasil
Março de 2012

SANDRA RIETH
Engenheira Agrônoma - UFRGS

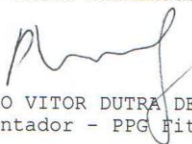
DISSERTAÇÃO

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: 01.03.2012
Pela Banca Examinadora




PAULO VITOR DUTRA DE SOUZA
Orientador - PPG Fitotecnia

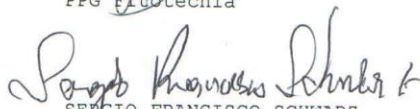
Homologado em: 17.04.2012
Por




GILMAR ARDUINO BETTIO MARODIN
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia



GILMAR SCHÄFER
PPG Fitotecnia



SÉRGIO FRANCISCO SCHWARZ
PPG Fitotecnia



MÁRCIA WULFF SCHUCH
Faculdade de Agronomia
Eliseu Maciel - UFPel



PEDRO ALBERTO SELBACH
Diretor da Faculdade de
Agronomia

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer inicialmente a Deus por ter guiado meu caminho em momentos de dificuldade, que não superaram os de felicidade.

Agradeço a minha família pelo apoio e compreensão pelos momentos de ausência; especialmente a minha mãe Suzana, que nunca mediu esforços e incentivos para eu continuar no caminho acadêmico.

Ao meu colega, meu amigo, e meu amor Cristian, que sempre esteve ao meu lado, acreditando na minha capacidade, incentivando meu aprendizado e atenuando minhas angústias. Agradeço teu carinho, amor e principalmente a tua paciência.

Ao professor Paulo Vitor Dutra de Souza pelos ensinamentos e incentivos, pela amizade e orientação, além dos momentos de descontração com muito chimarrão e piadas.

Aos professores do DHS, principalmente a professora Magnólia e os professores Gilmar Schäfer, Gilmar Marodin e Sérgio pela boa vontade de auxiliar sempre que precisei.

Aos queridos amigos da 'Salinha DHS' que muito contribuíram para minha formação, em especial a amiga Daiane S. Lattuada por todo apoio e amizade; e aos bolsistas e colegas, principalmente Gil Vicente Lourosa e Wagner Soares pelo auxílio nas avaliações, sempre com um bom chimarrão para acompanhar. Agradeço a amizade, o companheirismo, as mateadas na salinha, e os momentos de descontração com muitas, muitas risadas.

Aos funcionários do DHS, especialmente o Antônio e o Idenir pelas idas à EEA/UFRGS, além dos auxílios na agronomia.

Muito obrigada!

DESINFESTAÇÃO DE SUBSTRATOS E FUNGOS MICORRÍZICOS NA PRODUÇÃO DE PORTA-ENXERTOS DE CITROS¹

Autor: Sandra Rieth

Orientador: Paulo Vitor Dutra de Souza

RESUMO

A citricultura brasileira é um dos setores mais competitivos do agronegócio mundial, contudo, o setor de produção de mudas de citros apresenta inúmeras limitações. A produção de porta-enxertos cítricos carece de substratos de qualidade, opções para diversificação de variedades porta-enxerto e plantas bem formadas num breve período para que o pomar alcance o sucesso. Objetivou-se avaliar o desenvolvimento de porta-enxertos cítricos cultivados em diferentes substratos, submetidos ou não à desinfestação e à inoculação micorrízica. Desenvolveu-se dois estudos: o primeiro, verificando o desenvolvimento de seis porta-enxertos (tangerineira 'Sunki', citrumeleiro 'Swingle', citrangeiro 'Fepagro C 37', 'Flying Dragon', limoeiro 'Volkameriano' e *Poncirus trifoliata*) em dois substratos comerciais. O segundo estudo, compreendendo 3 experimentos, que avaliaram duas variedades porta-enxerto (tangerineira 'Sunki' e citrangeiro 'Fepagro C 37') cultivadas em dois substratos comerciais (denominados Comercial 1 e 2) submetidos ou não a desinfestação e inoculação micorrízica (nos experimentos 1 e 2 utilizou-se *Scutellospora heterogama* e no experimento 3 inoculou-se *Glomus etunicatum*, *S. heterogama* e *Gigaspora margarita*). Avaliou-se a emergência de plântulas e o seu desenvolvimento vegetativo durante todo o experimento, além da colonização micorrízica em cada fase de crescimento. O substrato Comercial 1, em geral, proporcionou mais rápida emergência das variedades porta-enxerto. Os substratos Comercial 1 e 2, autoclavados e manejados adequadamente, proporcionaram desenvolvimento satisfatório às plantas, sendo recomendados, para citricultura. Altos teores de sais solúveis (TTSS (g.L⁻¹)) dos substratos podem prejudicar a emergência das plântulas. *P. trifoliata* foi pouco vigoroso, o limoeiro 'Volkameriano' foi altamente vigoroso; o citrumeleiro 'Swingle' e a tangerineira 'Sunki' apresentaram vigor intermediário. A desinfestação do substrato do substrato foi fundamental para o bom desenvolvimento das plantas.

¹ Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (104p.) Março, 2012.

SUBSTRATES AND MYCORRHIZAL FUNGI IN THE PRODUCTION OF CITRUS ROOTSTOCKS²

Author: Sandra Rieth
Adviser: Paulo Vitor Dutra de Souza

ABSTRACT

The Brazilian citrus industry is one of the most competitive sectors of the agribusiness world, however, the production sector of citrus seedlings has several limitations. The citrus production rootstocks lacks quality of substrates, options for diversification of rootstock varieties and plants well-formed in a short time to reach success of the orchard. The objective was evaluate the development of citrus rootstocks grown on different substrates, submitted or not to disinfection and mycorrhizal fungi. There were developed two studies: first, checking the development of six rootstocks ('Sunki' mandarin, citrumelo, citrange 'Fepagro C 37', 'Flying Dragon' lemon 'Volkameriano' and *Poncirus trifoliata*) in two commercial substrates and the second, comprising 3 experiments that evaluated two rootstock varieties ('Sunki' mandarin and 'Fepagro citrange C 37') growned in two commercial substrates (called Commercial 1 and 2) subjected or not to disinfestation and mycorrhizal inoculation (experiments 1 and 2 was used *Scutellospora heterogama* and in experiment 3 was inoculated *Glomus etunicatum*, *Gigaspora margarita* and *S. heterogama*). We have evaluated the seedling emergence and vegetative development throughout the experiment, besides the mycorrhizal colonization at each stage of growth. The substrate Commercial 1, in general, provided faster emergence of varieties rootstock. The substrates 1 and Commercial 2, autoclaved and handled properly, provided satisfactory development of the plants, being recommended for citrus. High levels of soluble salts (TTSS (gL⁻¹)) of the substrates may hinder seedling emergence. *P. trifoliata* was little vigorous, lemon trees 'Volkameriano' was highly vigorous, the citrumelo and 'Sunki' mandarin showed an intermediary effect. The sterilization of the substrate was essential for the good plant growth.

²Master of Science dissertation in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (104p.) March, 2012.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
2.1 Produção de mudas cítricas em ambiente protegido.....	6
2.1.1 Importância do porta-enxerto.....	7
2.2 Os substratos.....	13
2.3 Fungos Micorrízicos Arbusculares.....	18
2.3.1 O estabelecimento da colonização micorrízica.....	20
2.3.2 MAs em plantas frutíferas.....	23
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1 Estudo 1. Desenvolvimento de seis variedades de porta-enxertos cítricos cultivadas em dois substratos comerciais na fase de sementeira.....	29
3.2 Estudo 2. Utilização de substratos desinfestados na fase de sementeira e inoculação micorrízica para o desenvolvimento de duas variedades de porta-enxertos cítricos.....	31
3.2.1 Experimento 1. Desinfestação de substratos comerciais utilizados na fase de sementeira e inoculação com <i>Scutellospora heterogama</i> no desenvolvimento de citrangeiro Fepagro 'C 37'.....	32
3.2.2 Experimento 2. Desinfestação de substratos comerciais utilizados na fase de sementeira e inoculação com <i>Scutellospora heterogama</i> no desenvolvimento de tangerineira 'Sunki'.....	32
3.2.3 Experimento 3. Desinfestação do substrato Comercial 1 (utilizado na fase de sementeira) e inoculação de três espécies de FMA no cultivo de duas variedades de porta-enxertos cítricos.....	37

	Página
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.1 Estudo 1 Desenvolvimento de seis variedades de porta- enxertos cítricos cultivadas em dois substratos comerciais na fase de sementeira.....	39
4.2 Estudo 2 Utilização de substratos desinfestados na fase de sementeira e inoculação micorrízica para o desenvolvimento de duas variedades de porta-enxertos cítricos.....	52
4.2.1 Experimento 1. Desinfestação de substratos comerciais utilizados na fase de sementeira e inoculação com <i>Scutellospora heterogama</i> no desenvolvimento de citrangeiro Fepagro 'C 37'.....	52
4.2.2 Experimento 2. Desinfestação de substratos comerciais e inoculação com <i>Scutellospora heterogama</i> no desenvolvimento de tangerineira 'Sunki'.....	63
4.2.3 Experimento 3. Desinfestação do substrato Comercial 1 (utilizado na fase de sementeira) e inoculação de três espécies de FMA no cultivo de duas variedades de porta-enxertos cítricos.....	72
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	88
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	89
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91
8. APÊNDICES.....	102

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Altura (cm), diâmetro do caule (mm), número de folhas e área foliar (cm ²) de quatro variedades de porta-enxerto cítrico cultivadas em dois substratos comerciais na fase de sementeira ao final do experimento. Porto Alegre, 2011.....	48
2. Massa fresca de raízes (M.F.R.) e parte aérea (M.F.P.A.), massa seca de parte aérea (M.S.P.A.) de quatro variedades de porta-enxerto cítrico cultivadas em dois substratos comerciais na fase de sementeira. Porto Alegre, 2011.....	50
3. Massa seca de raiz (M.S.R.) de quatro variedades de porta-enxerto cítrico cultivadas em dois substratos comerciais na fase de sementeira. Porto Alegre, 2011.....	50
4. Emergência (%) e altura (cm) de citrangeiro 'Fepagro C 37' em fase de sementeira, cultivado em dois substratos comerciais (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de <i>Scutellospora heterogama</i> . Porto Alegre, 2011.....	53
5. Massa fresca de raiz e parte aérea (M.F.R. e M.F.P.A.) (g), massa seca de raiz e parte aérea (M.S.R. e M.S.P.A.) (g) de citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivado em 2 substratos comerciais (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de <i>Scutellospora heterogama</i> . Porto Alegre, 2011.....	58
6. Presença de estruturas de MA (hifas e arbúsculos) nas fases de sementeira e viveiro de citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivado em 2 substratos comerciais (na fase de emergência), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de <i>Scutellospora heterogama</i> . Porto Alegre, 2011.....	60
7. Emergência (%) e altura (cm) de plântulas na fase de sementeira de T. 'Sunki' cultivada em dois substratos comerciais (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de <i>Scutellospora heterogama</i> . Porto Alegre, 2011.....	64
8. Altura (cm) e diâmetro do caule (mm) ao final da fase de viveiro de plantas de T. 'Sunki' cultivada em dois substratos comerciais (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de <i>Scutellospora heterogama</i> . Porto Alegre, 2011.....	65

9. Número de folhas, área foliar, massa fresca de raiz e parte aérea (M.F.R. e M.F.P.A.) (g), massa seca de raiz e parte aérea (M.S.R. e M.S.P.A.) (g) de plantas de tangerineira 'Sunki' cultivada em dois substratos comerciais (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de <i>Scutellospora heterogama</i> . Porto Alegre, 2011.....	69
10. Presença de arbúsculos em segmentos de raízes em fase de sementeira e viveiro, de plantas de tangerineira 'Sunki' cultivada em dois substratos comerciais (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de <i>Scutellospora heterogama</i> . Porto Alegre, 2011.....	70
11. Emergência (%) e altura (cm) em fase de sementeira de tangerineira 'Sunki' e citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivadas no substrato Comercial 1 (na fase de sementeira), inoculados com MA. Porto Alegre, 2011.....	74
12. Altura (cm), diâmetro do caule (mm), número de folhas e área foliar (cm ²) de tangerineira 'Sunki' e citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivadas no substrato Comercial 1 (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de MA. Porto Alegre, 2011.....	79
13. Massa fresca de raiz e parte aérea (M.F.R. e M.F.P.A.) (g), massa seca de raiz e parte aérea (M.S.R. e M.S.P.A.) (g) de tangerineira 'Sunki' e citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivadas no substrato Comercial 1 (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de MA. Porto Alegre, 2011.....	81
14. Presença de estruturas de tangerineira 'Sunki' e citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivadas no substrato Comercial 1 (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de MA em fase de sementeira. Porto Alegre, 2011.....	83
15. Presença de estruturas de tangerineira 'Sunki' e citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivadas no substrato Comercial 1 (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de MA em fase de viveiro. Porto Alegre, 2011.....	84

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Esquema da colonização micorrízica demonstrado as fases assimbiótica, pré-simbiótica e simbiótica. Destacam-se o apressório (Ap) responsável pelo início da fase simbiótica e o arbúsculo (Arb) que é a presença do fungo nas células. Fonte: Lambais & Ramos (2010).....	23
2. Escala de intensidade de presença de hifas A índice 1; B índice 3.....	36
3. Escala de intensidade de presença de arbúsculos A índice 1; B índice 3.....	37
4. Evolução da emergência de plântulas (%) de seis variedades de porta-enxertos cítricos cultivadas em diferentes substratos comerciais na fase de sementeira. Comercial 1 (A), Comercial 2 (B). Porto Alegre, 2011.....	40
5. Evolução da altura de plantas (cm) de quatro variedades de porta-enxertos cítricos cultivadas em diferentes substratos comerciais (na fase de sementeira) até o ponto de enxertia. Comercial 1 (A), Comercial 2 (B). Momento da repicagem (seta). Porto Alegre, 2011.....	44
6. Evolução do diâmetro do caule (mm) de quatro variedades de porta-enxertos cítricos cultivadas em diferentes substratos comerciais (na fase de sementeira) até o ponto de enxertia. Comercial 1 (A), Comercial 2 (B). Porto Alegre, 2011.....	47
7. Evolução da altura (cm) das plantas conforme os dias após semeadura (DAS) de citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivado em dois substratos comerciais (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação. Momento da repicagem (seta). *Médias diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Porto Alegre, 2011.....	55

8. Evolução do diâmetro do caule (mm) de citrangeiro 'Fepagro C 37' ao longo do período experimental após repicagem paras recipientes de quatro litros cultivados originalmente em 2 substratos comerciais na fase de sementeira, submetidos ou não a desinfestação e inoculação. *Médias diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Porto Alegre, 2011..... 57
9. Incremento em altura (cm) das plantas ao longo dos dias após semeadura (DAS) de T. 'Sunki' cultivada em dois substratos comerciais na fase de sementeira, submetidos ou não a desinfestação e inoculação de *Scutellospora heterogama*. Momento da repicagem (seta). *Médias diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Porto Alegre, 2011..... 67
10. Incremento em diâmetro do caule (mm) das plantas ao longo dos dias após semeadura (DAS) de T. 'Sunki' cultivada em dois substratos comerciais na fase de sementeira, submetidos ou não a desinfestação e inoculação de *Scutellospora heterogama*. *Médias diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Porto Alegre, 2011..... 68
11. Evolução do percentual de plântulas emergidas ao longo dos dias após semeadura (DAS) de tangerineira 'Sunki' e citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivados no substrato Comercial 1 na fase de sementeira, submetidos ou não a desinfestação. Médias diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Porto Alegre, 2011..... 73
12. Evolução da altura das plântulas (cm) ao longo dos dias após semeadura (DAS) de tangerineira 'Sunki' e citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivados no substrato Comercial 1 (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação. Momento da repicagem (seta) *Médias diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Porto Alegre, 2011..... 77
13. Evolução do diâmetro do caule (mm) das plântulas ao longo dos dias após semeadura (DAS) de tangerineira 'Sunki' e citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivados no substrato Comercial 1 (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação. *Médias diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Porto Alegre, 2011..... 78
14. Imagem da colonização micorrízica, destacando-se as estruturas do fungo Ves = vesículas; Arb = arbúsculos e H = hifas. (Aumento de 400x). Foto: Sandra Rieth..... 85

1 INTRODUÇÃO

A citricultura brasileira é um dos setores mais competitivos do agronegócio citrícola mundial detendo 26% da produção mundial de laranjas e 53% do suco de laranja de acordo com a FAO (Food and Agriculture Organization of United Nations, 2012). Gerando hoje no Brasil cerca de 230 mil empregos diretos e indiretos e uma massa salarial anual em torno de R\$ 670 milhões. São cerca 19,1 milhões de toneladas de laranjas produzidas anualmente em 843 mil hectares (FAO, 2012; IBGE, 2012).

De acordo com Silva & Costa (2007) no que se refere ao setor industrial, o processamento de sucos de fruta apresentava-se em franca expansão, ocupando papel de relevância no agronegócio mundial, com destaque para os países em desenvolvimento que são responsáveis pela metade das exportações mundiais. Esse crescimento gradativo que ainda presenciamos atualmente vem se caracterizando por uma série de fatores, dentre os quais a preocupação de consumidores com a saúde, o que redundou em aumento do consumo de produtos naturais com pouco ou nenhum aditivo químico.

Na produção orgânica são 200 toneladas de suco de laranja e 200 toneladas de suco de limão produzidas e exportadas anualmente para Europa e Estados Unidos, com preços que chegam a 70% acima dos processados com

frutas produzidas de forma convencional (Simarelli & Martinez, 2008).

No entanto, o Brasil precisa evoluir muito no que tange ao aspecto qualidade de frutas produzidas, principalmente para conquistar o mercado internacional de frutas frescas. As pragas são uma das principais ameaças à citricultura nacional, impedindo que as frutas cheguem ao mercado consumidor; tanto nacional como internacional, com aspecto saudável (Laranjeira *et al.*, 2005). Tais pragas podem atingir os frutos prejudicando ou impedindo sua venda, ou atacar a planta, sendo a escolha do porta-enxerto uma das principais garantias de uma planta resistente às pragas ou doenças que possam afetar as raízes e também, as adversidades climáticas. Para minimizar a ocorrência e disseminação de pragas/doenças, os produtores de mudas de estados como São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul estão adequando-se ao sistema de produção mudas de citros em ambiente protegido, utilizando substratos, sementes e borbulhas isentos de patógenos (Oliveira & Scivittaro, 2003).

Devido às condições climáticas, o tempo de produção de mudas cítricas no Rio Grande do Sul pelo sistema tradicional é longo (três anos) (Koller, 1994; Souza *et al.*, 2005). Por sua vez, em ambiente protegido, o período de produção pode ser reduzido em 30% do tempo de produção da muda à céu aberto, além de permitir maior garantia sanitária às mudas.

As mudas certificadas, que devem ser produzidas em ambiente protegido, são as que oferecem maiores garantias de qualidade genética e fitossanitária, justificando o seu uso pelos agricultores, embora seu custo seja significativamente maior do que o daquelas produzidas sob condições de campo (Oliveira & Scivittaro, 2004). Conseqüentemente, pesquisas necessitam

ser implementadas com a finalidade de otimizar o sistema de produção de mudas em virtude do alto custo das sementes e da estrutura do ambiente protegido. Um dos pontos relevantes que impulsionam o uso desse sistema seria a possibilidade de semeadura durante todo o ano reduzindo assim perdas de sementes, além da obtenção de altas taxas de germinação e maior uniformidade de desenvolvimento das plantas (Oliveira *et al.*, 2003; Oliveira & Scivittaro, 2004).

É de fundamental importância que as mudas desenvolvam-se em substratos que promovam o seu desenvolvimento, sendo estes uniformes, com características físicas adequadas ao tipo de cultura e ao recipiente utilizado e sem a presença de propágulos de doenças e plantas daninhas (Spier, 2008). A demanda de substratos no ano de 2005, no Brasil, foi estimada em um milhão de metros cúbicos ao ano (Kämpf, 2005) e, para tanto, muitas empresas têm se dedicado a produção desses. Atualmente há grande carência de substratos no mercado de produção de mudas em vaso sendo que há poucas opções atualmente no mercado. Muitos substratos que tem surgido vem apresentando problemas de elevada salinidade ou outros problemas de constituição química, além de por vezes ocorrer problemas na parte física dos substratos.

Devido a essa carência de substratos de qualidade para o desenvolvimento das plantas, pesquisas vêm sendo feitas, avaliando diversos materiais alternativos para a produção de substratos com o apelo de uso de produtos baratos e de fácil aquisição. Porém, o que se percebe é que muitos materiais utilizados apresentam deficiências como: problemas de granulometria (partículas com diferenças muito grande de tamanho), salinidade (passíveis de causar prejuízo às plantas), pH alcalino (dificultando a disponibilidade de

alguns nutrientes para as plantas) ou, ainda, falta de homogeneidade de lotes (devido aos materiais serem alternativos, as concentrações de cada material podem variar de um lote para outro).

Os substratos precisam ser cada vez mais elaborados, uma vez que com a adoção da automação pelas empresas acaba sendo ainda mais restritiva. Ainda, outro problema recorrente dos substratos tem sido a presença de propágulos, principalmente de plantas daninhas, que podem causar prejuízo às plantas nele cultivadas, além de ser vetada também a presença de microorganismos patogênicos no substrato. Estudos vêm sendo realizados lançando-se mão de desinfestação de substratos com intuito de impedir a interferência de qualquer microorganismo patogênico ou planta daninha no desenvolvimento de mudas (Souza *et al.*, 2005; Spier, 2008).

Visando a obtenção de mudas vigorosas, bem nutridas e uniformes para um melhor índice de sobrevivência e um melhor desempenho a campo, tem-se utilizado a contribuição de microorganismos, principalmente de fungos micorrízicos arbusculares (MAs), simbiontes obrigatórios, ou seja, necessitam estar atrelados a um organismo fotossintetizante.

Dentro da microbiota do solo, os fungos micorrízicos arbusculares destacam-se por possuírem a capacidade de influenciar significativamente o crescimento das plantas. Esse crescimento pode variar em razão da espécie, da planta, do ambiente e especialmente do substrato (Tristão *et al.*, 2006). São habitantes comuns do solo e, colonizando as raízes, estabelecem uma série de inter-relações biotróficas: a planta fornece substrato energético ao fungo, e este, através da rede de hifas externas, capta nutrientes da solução do solo e os transfere à planta hospedeira. Esta simbiose desempenha um papel

importante na evolução e sobrevivência das plantas e contribui, de forma efetiva, para a produção vegetal atuando como prolongamento do sistema radicial da planta hospedeira, capaz de aumentar a absorção de nutrientes (P, Zn e Cu, íons de difusão lenta no solo), promover proteção contra patógenos, suavização dos impactos adversos causados por elementos tóxicos às raízes como o Al, Mn, metais pesados e outros fatores químicos tais como o pH, salinidade, estresse hídrico, pesticidas e poluentes orgânicos (Cardoso *et al.*, 1992; Moreira & Siqueira, 2002; Diniz, 2007). Como consequência, as MAs contribuem para um maior crescimento vegetativo e maior sobrevivências de plantas no momento do transplante (Souza *et al.*, 2000; Souza *et al.*, 2005).

Diante disso, o uso de MAs se faz importante para produção de porta-enxertos cítricos, uma vez que são provenientes de uma espécie com carência de pelos radiculares (Graham *et al.*, 1991) e com auxílio de FMA sua capacidade de absorção de água e nutrientes pode ser ampliada. Isso porque os vários filamentos que compõem os fungos associam-se as raízes e ocupam maior volume do solo, passando a funcionar como um sistema radicial adicional à planta (Parniske, 2008).

Nesse trabalho, objetivou-se avaliar o desenvolvimento de porta-enxertos cítricos cultivados em diferentes substratos, submetidos ou não à desinfestação e à inoculação micorrízica.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Produção de mudas cítricas em ambiente protegido

Num sistema de produção de mudas de qualidade, há que se atentar para aspectos fundamentais ligados a garantia genética, aos métodos de propagação, sistemas de produção e legislação vigente (Koller, 2009).

A muda é considerada o insumo mais importante na formação de um pomar uma vez que é cultivada por seis a oito anos antes de revelar seu máximo potencial na produtividade e qualidade da fruta (Lima, 1986; Schäfer *et al.*, 2001; Martins, 2005).

As normas para a produção de mudas encontram-se descritas na Instrução Normativa nº 24 que trata das “Normas para produção, comercialização e utilização de mudas” no Rio Grande do Sul (BRASIL, 2005) e essas devem ser seguidas.

Atualmente as mudas cítricas certificadas devem ser produzidas a partir de plantas matrizes, utilizando substrato isento de patógenos e de propágulos de plantas daninhas, também sob condições de ambiente protegido (com telados a prova de insetos vetores). As plantas básicas e matrizes podem ser mantidas por entidades governamentais ou pelos próprios viveiristas, porém sempre sob condições de ambiente protegido de vetores de pragas e de doenças. Estas devem ser indexadas em relação às viroses e adequadamente

caracterizadas quanto à fidelidade genética (Souza *et al*, 2010).

Esse sistema possibilita a obtenção das mudas de haste única, em menor tempo desde a sementeira do porta-enxerto redução do tempo estimado para produção da muda, com raízes mais abundantes e desenvolvidas, além de facilitar o seu crescimento no pomar, quando comparado com as mudas produzidas a céu aberto (Oliveira *et al.*, 2001, Schäfer, 2004).

A produção de mudas certificadas ocorre em duas fases, sempre utilizando substrato isento de patógenos e de propágulos de plantas daninhas, iniciando pela produção dos porta-enxertos e posteriormente a produção da muda propriamente dita (Oliveira *et al.*, 2001). Os porta-enxertos são produzidos em bandejas ou tubetes (Souza & Schäfer, 2006) e ao atingirem 10 a 15 cm de altura são transferidos para vasos (citrospotes) ou sacos plásticos (capacidade de 4 - 5 L). Procede-se a primeira fase de produção da muda que inclui o período da repicagem até a enxertia, no qual ocorre o desenvolvimento vegetativo do porta-enxerto até atingir o diâmetro de 0,7 cm a uma altura de 10 cm acima da superfície do substrato, ponto de enxertia, esta é realizada pela borbulhia de “T” invertido. A seguinte fase consiste do desenvolvimento vegetativo do enxerto até a muda pronta (Oliveira & Scivittaro, 2003; Souza & Schäfer, 2006; Fochesato *et al*, 2007).

2.1.1 Importância dos porta-enxertos

A citricultura vem apresentando vários problemas de ordem fitossanitária, o que muitas vezes está relacionado à qualidade da muda utilizada (Schäfer, 2004). Novas pragas que prejudicam o desenvolvimento de porta-enxertos cítricos podem ocorrer devido a falta de diversificação destes

nos pomares (Fochesato *et al.*, 2006; Schäfer *et al.*, 2006a). A citricultura nacional está formada sobre um pequeno número de porta-enxertos, havendo, nessas condições, risco fitossanitário bastante elevado (Oliveira *et al.*, 2011). Historicamente a produção de citros vem sofrendo os efeitos negativos dessa base genética limitada como a morte de milhões de árvores enxertadas sobre laranjeira 'Caipira' [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] pela gomose de *Phytophthora* spp. no início do século 20; de árvores enxertadas sobre laranjeira 'Azeda' (*Citrus aurantium* L.) pelo vírus da tristeza na década de 40; e a partir da década de 70 e no ano de 2001, de árvores enxertadas sobre limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck), respectivamente, pelo declínio e pela morte súbita dos citros (Oliveira & Scivittaro, 2005a; Koller, 2009).

A utilização de porta-enxertos na citricultura é preconizada porque eles são capazes de proporcionar o bom desenvolvimento das mudas uma vez que induzem várias alterações hortícolas e tolerância à patógenos às variedades copa. Destaca-se as características de tamanho da planta, precocidade de produção, época de maturação, quantidade e qualidade da produção, coloração da casca e do fruto, peso dos frutos, teores de açúcares e ácidos dos frutos e sua permanência na planta, conservação dos frutos após a colheita, transpiração das folhas, capacidade de absorção de nutrientes, tolerância à salinidade, resistência a seca e ao frio e tolerância a pragas e doenças (Schäfer *et al.*, 2001; Souza *et al.*, 2010).

A diferença entre os porta-enxertos é atribuída às diferentes características genéticas, que influenciam na capacidade de uso de luz e CO₂, afetando a absorção, o transporte e a interação dos nutrientes dentro da planta (Fochesato *et al.*, 2006). Por isso, vários especialistas reiteram a importância

da escolha de porta-enxertos adequados ao sistema de produção a ser implantado em cada propriedade (Oliveira *et al.*, 2011).

A importância de se adotar a diversidade varietal em um pomar está relacionada com a sua garantia de sobrevivência, sendo a variabilidade genética um dos principais pilares da sobrevivência de um pomar (Oliveira *et al.*, 2011). Isso é preocupante no Rio Grande do Sul uma vez que, segundo estimativas, mais de 90% das mudas são enxertadas sobre *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. tornando esses pomares vulneráveis no caso de alguma enfermidade (Schäfer, 2000).

Muitos porta-enxertos estão sendo testados para obtenção de plantas com características desejáveis ao pomar (principalmente longevidade e qualidade de frutos).

Atualmente os mais preconizados são os citrangeiros (*C. sinensis* x *P. trifoliata*) desenvolvidos pela FEPAGRO; os citrangeiros 'Troyer' e 'Carrizo', o citrumeleiro 'Swingle' (*C. paradisi* Macf. x *P. trifoliata*); a tangerineira 'Sunki' (*C. sunki* Hort. ex Tan), o limoeiro 'Cravo' (*Citrus limolia* Osb.), além do mais representativo no Estado, o *Poncirus trifoliata* (Souza *et al.*, 2010).

O 'Trifoliata' tem sido o porta-enxerto mais utilizado no Estado principalmente por ser tolerante ao frio e proporcionar alta qualidade à fruta (Oliveira & Scivittaro, 2003). Apresenta caráter caducifólio, que em resposta às temperaturas amenas reduz seu desenvolvimento, ou seja, sua atividade metabólica drasticamente, chegando a perder suas folhas para manter-se em repouso (Leite Junior, 1992, Oliveira *et al.*, 2001). A espécie *P. trifoliata*, tem sido explorada em programas de melhoramento genético de citros em cruzamentos com diferentes espécies de *Citrus*, resultando na obtenção de

inúmeras variedades porta-enxerto, dentre as quais se encontram os citrangeiros 'Carrizo' e 'Troyer' [*C. sinensis* (L.) Osbeck x *P. trifoliata*] e o citrumeleiro 'Swingle' (*C. paradisi* Macf. x *P. trifoliata*), de ampla utilização comercial (Soost & Roose, 1996). A razão do uso de Trifoliata em hibridações deve-se às suas características de interesse agrônomo, podendo-se destacar a imunidade à tristeza dos citros, resistência à gomose de *Phytophthora* e ao nematóide dos citros, tolerância à morte súbita dos citros e à xiloporose, indução às copas nela enxertadas, de precocidade de produção, de boa produção de frutos, de excelente qualidade e maturação tardia (Pompeu Junior, 2005; Oliveira *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2010).

Além dessas características, o 'Trifoliata' possui grande número de sementes por fruto, cerca de 38 sementes/fruto sendo que os demais porta-enxerto contam, geralmente, com menos de 20 sementes/fruto (Koller, 2009). As sementes do *P. trifoliata* são grandes e isso indica que elas apresentam uma maior quantidade de reserva e, portanto, apresentam maior chance de sucesso na emergência e formação da plântula (Pádua *et al.*, 2010). O 'Trifoliata' apresenta poliembrionia elevada, ou seja, mais de um embrião por semente o que irá gerar a emergência de mais uma plântula por semente. Todas essas características são desejáveis para os viveiristas na produção de mudas e, isso, além das demais características que ele induz às plantas explica a grande utilização desse porta-enxerto no Estado.

O *P. trifoliata* possui baixo vigor em viveiro e também em condições de campo sendo considerado um porta-enxerto que proporciona longevidade as plantas (Souza *et al.*, 2010). Cabe acrescentar seu potencial relativo à obtenção de porta-enxertos híbridos que reduzem o porte das plantas cítricas,

permitindo maiores adensamentos de plantio, especialmente a seleção 'Flying Dragon' (Soares Filho *et al.*, 2008).

Já os citrangeiros, possuem vigor mediano em viveiro e à campo. Proporcionam boa qualidade aos frutos, maturação tardia e mediana longevidade de plantas (Oliveira *et al.*, 2008).

A tangerina 'Sunki' hoje é utilizada basicamente como porta-enxerto para laranjeira 'Pêra' em regiões com alta incidência de Declínio ou próximas à Morte Súbita dos Citros, como alternativa ao limoeiro 'Cravo', altamente suscetível a estas doenças. De acordo com Oliveira *et al.* (2008) apresenta vigor mediano em viveiro e grande porte em pomar com início da produção e longevidade também medianas. A qualidade dos frutos produzidos em variedades copa sobre 'Sunki' é considerada boa e a maturação desses frutos é tardia.

O limoeiro 'Cravo' é o porta-enxerto mais utilizado para a formação de pomares no Brasil (cerca de 75 % do total de plantas formadas de 1999 -2004), porém, a suscetibilidade ao declínio e à morte súbita dos citros reduziram seu uso para cerca de 45% em média nos anos seguintes (Pompeu Junior *et al.*, 2004). Apresenta alto vigor em viveiro proporcionando médio porte as plantas, além de sofrer menos por estresses hídricos por ser um excelente extrator de umidade do solo (Pompeu Júnior, 2005). Segundo o mesmo autor, além de iniciar a produção precocemente, proporciona maturação precoce dos frutos e alto rendimento. Proporciona grande longevidade às plantas, no entanto a qualidade de frutos é considerada regular (Oliveira *et al.*, 2008)

O limoeiro 'Volkameriano' é indicado para solos arenosos e argilosos por sua resistência a seca e induz alta produção de frutos por planta (Koller, 2009).

Induz às copas nele enxertadas início da produção e maturação de frutos precoce, grande longevidade e médio porte de plantas (Oliveira *et al.*, 2008).

O citrumeleiro 'Swingle' apresenta alta tolerância a moléstias e seu uso é indicado porque confere a planta precocidade e alta produção de frutos, sendo esses de boa qualidade, com maturação tardia e bom rendimento de suco (Oliveira *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2010). Sua utilização como porta-enxerto limita-se devido a sua incompatibilidade com diversas variedades comerciais, como é o caso da laranjeira 'Pera', limoeiro 'Siciliano' e do tangor 'Murcott' (Souza *et al.*, 2010).

Com intuito de preconizar um desenvolvimento rápido, menos oneroso e de qualidade das mudas, vêm-se testando várias práticas de manejo na produção de porta-enxertos de citros em ambiente protegido. Tem-se testado tratamentos de escarificação química ou física de sementes evidenciando a maximização de germinação destas, principalmente quanto ao que diz respeito ao *P. trifoliata* devido ao tegumento de suas sementes que muitas vezes prejudica a germinação (Oliveira *et al.* 2002, Oliveira *et al.* 2003, Oliveira *et al.* 2006; Oliveira & Scivittaro, 2007; Zucareli *et al.*, 2009; Teixeira, *et al.*, 2009a; Rodrigues *et al.*, 2010). As MAs também são utilizadas em viveiro para mais rápida formação da muda e melhor resistência ao transplante (Souza *et al.*, 2000; Miranda & Miranda, 2001; Nunes, 2004; Souza *et al.*, 2005).

Alguns autores mencionam que a absorção de nutrientes varia conforme o porta-enxerto utilizado, indicando que a adubação e os níveis nutricionais do substrato influenciam na formação da muda (Schmitz, 1998; Schäfer, 2004; Fochesato, *et al.*, 2006). O uso de substratos e recipientes adequados também deve ser levado em consideração no sistema de produção de mudas, sendo

alvo de testes principalmente devido a escassez de substratos para desenvolvimento de mudas no mercado e custo dos recipientes empregados (Schäfer, 2004; Fochesato, *et al.*, 2006; Schäfer *et al.*, 2006a, Schäfer *et al.*, 2006b; Fochesato, *et al.*, 2007; Fochesato, *et al.*, 2008; Teixeira, *et al.*, 2009b). Segundo Schäfer (2004), o desenvolvimento inicial da muda está relacionado diretamente com o volume do recipiente utilizado, sendo indicado o emprego de tubetes de 120 cm³ para o desenvolvimento de mudas de porta-enxertos cítricos de qualidade.

2.2 Os substratos

Na produção de mudas, segundo Kämpf (2000), entende-se como substrato para plantas, o meio em que se desenvolvem as raízes das plantas cultivadas fora do solo *in situ*. Considera-se, como sua função primordial, prover suporte às plantas podendo regular a disponibilidade de nutrientes e de água. Faz-se necessário então, o conhecimento da qualidade dos substratos através da avaliação de suas características físicas, químicas e biológicas (Fermino *et al.*, 2000). O manejo das plantas cultivadas em recipientes requer irrigações e fertilizações frequentes e, para tanto, conhecer as características dos substratos é importante por serem fatores determinantes no controle de qualidade dos cultivos (Schmitz *et al.*, 2002).

O preparo de substratos é fundamental para a obtenção de mudas de qualidade (Ghini, 2003). A utilização de substratos mais específicos permite um rápido desenvolvimento da muda (Fermino, 1996). A escolha de um substrato ideal na produção de mudas é vital, podendo este contribuir para a qualidade da muda, existindo materiais orgânicos com grande potencial para uso em

citricultura (Schmitz *et al.*, 2002). Há uma grande gama de materiais sendo utilizados como substratos para as plantas, sendo as matérias-primas mais utilizadas nos substratos comerciais: casca de pinus compostada, turfa, serragem, vermiculita, perlita, fibra de coco, casca de acácia compostada, casca de arroz carbonizada ou queimada, entre outros (Spier, 2008). A utilização de resíduos na produção de substratos propicia a obtenção de produtos alternativos eficientes, muitas vezes mais baratos, que podem melhorar as características físico-químicas do substrato e ainda proporcionar a preservação do meio ambiente (Souza *et al.*, 2005).

No Rio Grande do Sul ainda se utiliza misturas, principalmente usando a terra de barranco como um dos compostos da mistura (Calgaro, 2000), porém é uma prática caseira, não permitida pela legislação de produção de substratos comerciais vigente (Brasil, 2004). A ela são adicionados casca ou turfa (Schmitz, 2000; Calgaro, 2000), subprodutos da indústria madeireira (serragem ou maravalha), composto de lixo domiciliar, vermicomposto, bagaço de cana ou outros componentes, conforme resíduo acessível a cada produtor (Kämpf, 2005; Spier, 2008). O uso de diferentes substratos, puros ou de misturas, tem mostrado grande variação nos efeitos sobre o crescimento de plantas cítricas na fase de produção de mudas (Metzner, 2009).

A Instrução Normativa número 14 (Brasil, 2004), determina que o substrato utilizado para a produção de mudas não pode conter terra de qualquer origem, deve apresentar boa porosidade e ser isento de plantas daninhas, nematóides, fungos do gênero *Phytophthora* e outros patógenos comprovadamente nocivos às culturas. Pode-se adicionar aditivos para melhorar a qualidade física, química ou biológica deste.

De forma geral, o substrato utilizado deve apresentar propriedades físicas e químicas adequadas ao desenvolvimento das plantas, sendo as físicas determinantes por serem de difícil correção (Oliveira & Scivittaro, 2003). Os aspectos principais que determinam as propriedades físicas de um substrato são as características das partículas que compõem a fração sólida do mesmo; em especial, sua forma e tamanho, sua superfície específica e sua característica de interação com a água, bem como a geometria do espaço poroso formado entre essas partículas. Essa, por sua vez, é dependente não somente das propriedades das partículas, mas também da forma de manuseio do material, em especial da densidade de empacotamento do substrato no recipiente (Gruszynski, 2002; Schäfer, 2004). De acordo com Oliveira & Scivittaro (2003) o substrato deve ser leve para facilitar o manuseio e o transporte, ser suficientemente consistente para fixar as plantas, não conter componentes de fácil decomposição, possuir composição uniforme para facilitar o manejo das plantas e apresentar custo compatível com a atividade.

As características físicas mais importantes de um substrato, são: a densidade, a porosidade total, o espaço de aeração, a retenção de água. Com relação às características químicas, em substratos são avaliados o pH, a capacidade de troca de cátions (CTC), a condutividade elétrica (CE), teor total da sais solúveis (TTSS) e a quantidade de macro e micronutrientes. As características biológicas referem-se à ausência de pragas, bem como sementes ou propágulos de plantas daninhas (Oliveira *et al.*, 2001; Fochesato *et al.*, 2006; Spier, 2008).

Além de ter características físicas e nutricionais adequadas, é necessário que o substrato seja isento de microorganismos, sendo que a

produção de mudas saudáveis, especialmente livres de patógenos veiculados pelo solo, constitui um dos mais importantes métodos preventivos de controle de doenças de plantas (Ghini, 2004). Existem métodos utilizados para a promoção da desinfestação de substrato. A esterilização dos solos ou substratos pode ser feita por produtos químicos. Em sua maioria, os produtos fumigantes têm sido banidos do mercado não somente em consequência às restrições ambientais, mas também à exigência do consumidor, por produtos de qualidade e sem riscos de contaminação por resíduos químicos. Seu uso pode promover a seleção de patógenos cada vez mais resistentes a esses produtos químicos aplicados (Ritzinger & Rocha, 2010). O gás brometo de metila, um dos produtos mais utilizados para desinfestação de substratos para produção de mudas, por exemplo, elimina todos os organismos do solo, inclusive os benéficos. Sua utilização acabou sendo proibida, devido a destruição da camada de ozônio provocada por esse produto (Ghini, 2004).

Uma alternativa para a substituição do brometo de metila é a aplicação de vapor de água ao substrato, uma vez que a combinação de umidade e temperatura alta favorece a eliminação de microorganismos e sementes de plantas invasoras (Silva *et al.*, 2001). Esse método é utilizado em praticamente todas as indústrias de processamento de alimentos e também em laboratórios, existindo inúmeros equipamentos para pasteurização ou esterilização, tanto de matérias primas quanto de produtos processados. Os equipamentos mais conhecidos que utilizam vapor de água são as autoclaves e as panelas de pressão. Segundo os mesmos autores, embora sejam utilizados para esterilização de substrato para o cultivo de plantas, estes equipamentos não possuem mecanismos que forcem a circulação do vapor através das camadas

internas da massa de substrato, ocorrendo um gradiente de temperatura entre a superfície que fica em contato direto com o vapor e as camadas internas da massa de substrato, exigindo-se um longo tempo de tratamento para que ocorra a uniformidade de temperatura. A aplicação de vapor deve ser feita por uma hora, para que ocorra total uniformidade na distribuição do calor na massa de substrato (Silva *et al.*, 2001).

Há também a solarização que consiste no aquecimento do substrato por meio da energia da radiação solar sendo assim considerado um método ecologicamente correto e de baixo custo, porque a energia utilizada provém unicamente das altas temperaturas produzidas pela captura da energia de radiação do sol (Ritzinger & Rocha, 2010; Sharma *et al.*, 2011). Temperaturas de 60°C eliminam a maioria dos microorganismos fitopatogênicos do solo, incluindo nematóides, enquanto permitem a sobrevivência de vários microorganismos benéficos que são termotolerantes, dificultando a reinfestação por patógenos do solo (Ritzinger & Rocha, 2010). Essa temperatura é alcançada devido a cobertura (*mulching*) do solo ou substrato com filmes de polietileno transparente com intuito de aprisionar o calor gerado pela radiação solar incidente um período em torno de 4 a 6 semanas. Realiza-se esse método preferencialmente durante os períodos quentes do ano, quando o solo vai receber a luz do sol mais direta (Sharma *et al.*, 2011). As temperaturas alcançadas durante o processo são letais, nas camadas superficiais (e sub-letais nas mais profundas) para muitas pragas e plantas daninhas, provocando alterações biológicas, químicas e físicas nos solos, e resultando, frequentemente, em aumento de produção das culturas (Katan & De Vay, 1991; Souza, 1994).

Pesquisadores da Embrapa Meio Ambiente e Instituto Agrônômico de Campinas (Divisão de Engenharia Agrícola) criaram um método de coletor solar, descrito por Ghini (2004). Esse foi desenvolvido para desinfestar substratos utilizados para produção de mudas em viveiros de plantas através do uso da energia solar. O solo é colocado nos tubos por uma abertura superior e, após o tratamento de um dia de radiação plena, é retirado pela inferior, através do efeito da gravidade, e podendo este ser imediatamente utilizado. Quando comparado com outros sistemas tradicionais de desinfestação (autoclaves, fornos à lenha ou aplicação de brometo de metila) apresenta diversas vantagens: não consome energia elétrica ou lenha, é de fácil manutenção e construção, não apresenta riscos para o operador, tem baixo custo e mostra-se extremamente eficiente no controle de fungos fitopatogênicos no solo (Ghini, 2004).

2.3 Fungos Micorrízicos Arbusculares

A diversidade e atividade da microbiota influenciam diretamente várias características do substrato, tais como a agregação de suas partículas, a disponibilidade de determinados nutrientes, a aeração e o armazenamento de água; o que acaba refletindo no desenvolvimento das mudas e posteriormente da planta, quando levada à campo. Pesquisas envolvendo esses organismos 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 (Cripps, 2001).

Na natureza, há maior ocorrência de dois tipos de micorrizas, as

ectomicorrizas (EcM) e as endomicorrizas (ou micorrizas arbusculares – MAs), sendo que 82% de todas as espécies de plantas estão associadas com MAs e esta é considerada uma das associações mais importantes entre microorganismos e plantas (Lin, 2005; Lopes, 2009).

As MAs destacam-se por possuírem a capacidade de influenciar significativamente o crescimento das plantas, visto que sua capacidade de promover tal crescimento pode variar em razão do fungo, da planta e do ambiente, especialmente do substrato e no que diz respeito ao nível de P disponível e ao teor de matéria orgânica (Cardoso *et al.*, 1986; Souza *et al.*, 2005; Tristão *et al.*, 2006). A MA é uma das mais relevantes devido a sua maior abrangência (geográfica e vegetal), ocorrendo na maioria dos solos e plantas, sobretudo nas culturas economicamente importantes, sejam elas anuais ou perenes, nativas ou cultivadas, de regiões temperadas ou tropicais (Miranda, 2006).

As MAs fazem parte da classe *Glomeromycota*, ordem *Glomerales*, contendo duas sub-ordens, *Diversisporales* e *Glomerales*. Na *Diversisporales*, tem-se a família *Gigasporaceae*, contendo dois gêneros, *Gigaspora* e *Scutellospora*. A sub-ordem *Glomerales* inclui a família *Glomeraceae*, *Glomus* Group A e *Glomus* Group B, possui os gêneros *Glomus*, *Sclerocystis* e *Acaulosporaceae*, com os gêneros *Acaulospora* e *Entrophospora*. Recentemente surgiram duas novas famílias, a *Archaeosporaceae*, dentro da sub-ordem *Paraglomerales*, com *Paraglomus* (Schüßler *et al.*, 2001; Nunes, 2004). São descritas 180 espécies de MAs diferenciadas segundo a eficiência na absorção de fósforo, efeitos no crescimento do hospedeiro, tolerância aos fatores estressantes, entre outros (Nunes, 2004).

As micorrizas ocorrem na maioria das plantas vascularizadas. Apenas poucas famílias de plantas fanerogâmicas não apresentam micorrizas; estas incluem a família das *Brassicaceae* e *Cyperaceae* (Souza *et al.*, 2006). A condição não micorrízica pode resultar de compostos fungistáticos, insuficiência de fatores estimulantes ou sinais moleculares nos exsudatos de certas espécies ou deficiências na aderência ou existência de barreiras físicas na parede do hospedeiro (Muchovej, 2001 - apud - Nunes, 2004). Grande número de plantas arbóreas beneficia-se da inoculação, como exemplo: cafeeiro, abacateiro, citros, pessegueiro, maracujazeiro, mirtáceas, palmeiras, além de plantas medicinais e plantas destinadas à recuperação de áreas degradadas e matas de galeria (Souza, 1995, Miranda, 2006; Silveira, 2006; Nunes, 2007; Lopes, 2009; Soares, 2010; Anzanello, 2011).

2.3.1 O estabelecimento da colonização micorrízica

As MAs são simbioses obrigatórias, sendo necessário o uso de microscópio para verificar sua ocorrência e para observação e avaliação de estruturas típicas como arbuscúlos, hifas e vesículas (Moreira & Siqueira, 2002). A formação da associação se inicia a partir da interface formada entre os propágulos do fungo no solo, que podem ser esporos, células auxiliares e hifas que crescem de raízes colonizadas (infecção secundária) (Lambais & Ramos, 2010). A troca de sinais entre simbioses inicia-se antes do contato físico por meio de exsudação pelas raízes de certos compostos capazes de estimular a ramificação das hifas esporofíticas das MAs (Parniske, 2008; Lambais & Ramos, 2010). Dos propágulos, formam-se as hifas infectivas que, estimuladas pelos componentes bióticos dos exsudatos e pelas condições

físico-químicas da rizosfera, crescem abundantemente, aumentando as chances de contato entre a raiz e o fungo. Essas hifas, ao encontrarem as raízes, aderem à sua superfície (epiderme ou pêlos radiculares) e diferenciam-se em um apressório, através do qual penetram as células da epiderme na zona de diferenciação e alongamento, formando a "unidade de infecção". Assim, as hifas se espalham pelo córtex intercelularmente, através da lamela média tornando-se, posteriormente, intracelulares, quando formam as hifas enoveladas nas camadas mais externas do córtex, diferenciando-se em arbúsculos nas camadas mais internas e, finalmente, em vesículas e esporos. O arbúsculo é uma estrutura de troca de nutrientes formada pela ramificação da hifa do fungo no espaço entre a parede celular e a membrana plasmática da célula vegetal. As vesículas intra-radiculares, estruturas de armazenamento de nutrientes para o caso de situações adversas, são formadas em alguns gêneros (*Glomus* e *Acaulospora*, por exemplo) em outros são ausentes (*Gigaspora* e *Scutellospora*), pois, ao invés de vesículas existem células auxiliares que são formadas em hifas extra-radiculares (Lambais & Ramos, 2010). Cabe salientar que o fungo envolve, mas não penetra nas células vivas das raízes (cilindro vascular) e nem na região meristemática.

Em algumas células corticais, hifas intracelulares diferenciam-se em arbúsculos, os quais são circundados por uma membrana plasmática diferenciada de origem vegetal, chamada periarbuscular. Os arbúsculos são estruturas extremamente importantes nos processos de troca de metabólitos/nutrientes entre os simbioses (Lambais & Ramos, 2010). As MAs formam um micélio extrarradicular que cresce no solo formando a extensa rede micelial, que explora microambientes não alcançados pelas raízes não

colonizadas sendo responsável pela absorção de nutrientes da solução do solo que posteriormente são transferidos para a planta hospedeira (Cruz *et al.*, 2008; Ramos *et al.*, 2008c; Ramos *et al.*, 2009b).

Segundo Lambais & Ramos (2010) são três as fases de desenvolvimento de micorrizas arbusculares, sendo elas a fase assimbiótica (compreende os momentos desde a germinação dos esporos até o crescimento do tubo germinativo), a fase pré-simbiótica (compreende os eventos dos efeitos associados à ramificação das hifas esporofídicas em resposta a fatores da ramificação produzidos pela planta) e, finalmente, a fase simbiótica relacionando-se aos eventos associados à diferenciação do apressório, penetração, colonização, intrarradicular e diferenciação e funcionamento do arbúsculo (Figura 1).

O desenvolvimento e a velocidade de espalhamento do micélio da micorriza na rizosfera são determinados pelo fungo, condições ambientais e idade da planta ou da simbiose, sendo de grande importância para o funcionamento da associação, além de representar uma extensão do órgão de absorção das plantas com vantagens geométricas e espaciais em relação às raízes absorventes (Siqueira & Franco, 1988; Lambais & Ramos, 2010). Segundo os mesmos autores a quantidade de micélio extra-radicial pode atingir até $1,5 \text{ m cm}^{-1}$ de hifa de raiz colonizada, ou 55 m g^{-1} de solo rizosférico.

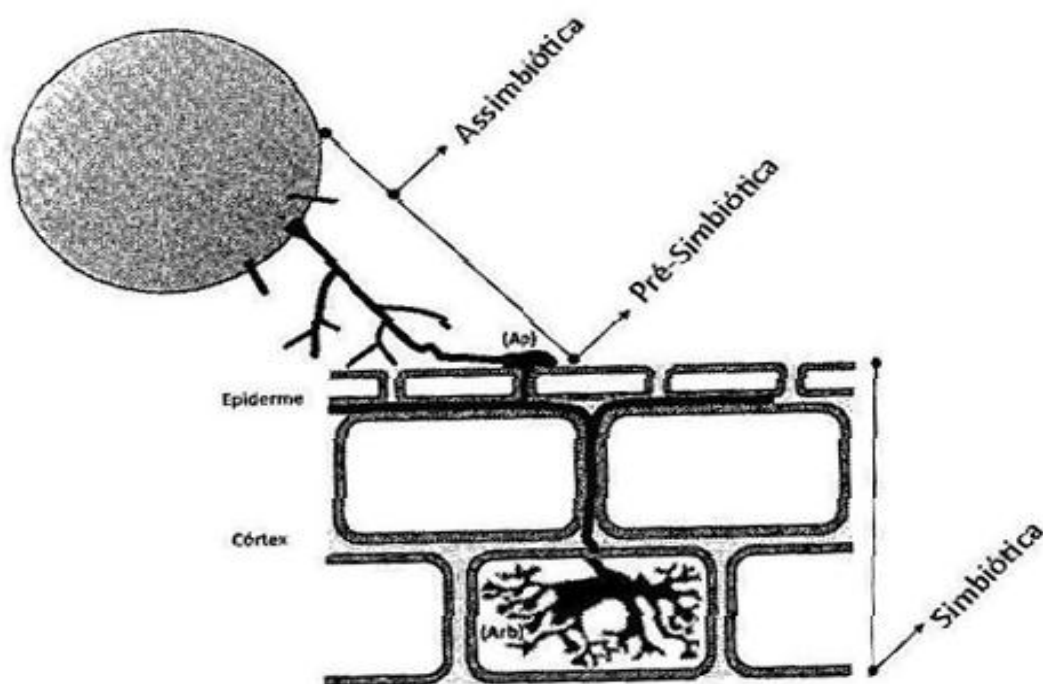


FIGURA 1. Esquema da colonização micorrízica demonstrando as fases assimbiótica, pré-simbiótica e simbiótica. Destacam-se o apressório (Ap) responsável pelo início da fase simbiótica e o arbúsculo (Arb) que é a presença do fungo nas células. Fonte: Lambais & Ramos (2010).

2.3.2 MAs em plantas frutíferas

Sabe-se que várias plantas frutíferas exibem alto micotrofismo e dependência micorrízica (Silva & Siqueira, 1991; Azevedo *et al.*, 1995). O mecanismo de absorção de nutrientes promovido pela MA assume grande relevância em plantas perenes, como a maioria das espécies frutíferas, nas quais o sistema radicular é pouco fasciculado, com superfície específica de absorção reduzida, devido ao diâmetro avantajado das raízes (Silveira *et al.*, 2003).

O emprego de MAs constitui-se em uma das alternativas para otimização da obtenção de mudas frutíferas, pois permite abreviar o tempo de formação da muda. Isso aumenta a produtividade do viveiro, a rotatividade na

ocupação da infra-estrutura e a eficiência de utilização de mão-de-obra especializada (Silveira *et al.*, 2003). De acordo com Miranda (2001) em viveiros, a inoculação de mudas com MA é recomendável uma vez que acelera o crescimento e melhora a qualidade das plantas. O potencial de uso de fungos micorrízicos na formação de mudas de fruteiras torna-se ainda maior quando se evidencia que o tratamento do substrato ou o uso de terra de subsolo, pobre em nutrientes é uma prática normalmente recomendada para a eliminação de patógenos e de plantas daninhas (Endo *et al.*, 1992). A vantagem da inoculação dirigida é que as plantas cítricas recebem inóculos específicos. Essa deve ser feita durante a formação da muda, com possíveis efeitos favoráveis já nesta fase (Lima, 1986; Cardoso, 1992; Metzner, 2009).

Segundo Nunes (2007), mudas e plantas de pessegueiros (*Prunus persica*), quando inoculados com MAs isolados provenientes de pomares de pessegueiros promovem um maior desenvolvimento das plantas, além de diminuir a alelopatia que alguns gêneros de *Prunus* desenvolvem em áreas de replantio (doenças de replantio).

Testando a pré-inoculação com diferentes espécies de MAs em porta-enxertos de pessegueiro em áreas novas e de replantio, Soares (2010) verificou que a colonização foi superior a 97% em todos tratamentos, ocorrendo colonização de MA autóctones nos tratamentos testemunhas. Além disso, após três anos do plantio houve equiparação no desenvolvimento vegetativo e produção das plantas testadas.

Porta-enxertos de videira tem se mostrado dependentes de MAs, apesar de haver variação de acordo com a espécie de fungo, havendo incremento no desenvolvimento vegetativo nas plantas inoculadas (Silva *et al.*, 1999; Souza *et*

al., 1999).

Em experimento realizado com videiras (*Vitis vinifera*), Nogales *et al.* (2009) compararam dois porta-enxertos (161-49 Couderc (*Vitis riparia* Michx. x *Vitis berlandieri* Planch.) e 140 Ruggeri (*Vitis rupestris* L. x *V. berlandieri*)) e dois tipos de solo e inoculação micorrízica. A resposta à inoculação micorrízica foi influenciada pelas características intrínsecas do solo do vinhedo, do porta-enxerto e do tempo após o plantio.

Schreiner & Pinkerton (2008) realizaram um experimento que avaliou videiras 'Pinot noir' e objetivou verificar a hipótese que nematóides competem com as MAs pelos carboidratos das plantas hospedeiras. Essa interação foi avaliada com 3 densidades de nematóides (*Mesocriconema xenoplax*) no solo (0; 0,1; 1,0 g solo), dois níveis de luz (luz solar e 50% de luz solar) em um solo com deficiência de fósforo. Os autores observaram que a biomassa radicial, os açúcares redutores e as concentrações de amido em raízes finas foram reduzidas em condições de pouca luz, mas ao final, as populações de nematóides e frequência de MA nas raízes não foram afetadas pela luz. A população de nematóides não causou prejuízo ao desenvolvimento das MAs nas condições testadas evidenciando que não é somente a luz que influencia a relação das raízes com MA e nematóides.

Em trabalho realizado por Anzanello *et al.* (2011) verificou-se que *Glomus etunicatum* e *Scutellospora heterogama* proporcionaram melhor nutrição e maior crescimento vegetativo de porta-enxertos de videira micropropagados.

Há trabalhos sendo realizados no Rio Grande do Sul com espécies de plantas nativas e sua relação com as MAs. De acordo com Lopes (2009), as

mirtáceas são intensamente colonizadas por MAs, com grande riqueza de espécies presentes, tendo variações quanto aos genótipos, locais e épocas de amostragem. A mesma autora acrescenta que o desenvolvimento vegetativo de cerejeira do mato (*Eugenia involucrata* D.C.) é acelerado utilizando-se MAs, dependendo da espécie de endomicorriza utilizada e tamanho do recipiente de cultivo.

As plantas cítricas são altamente dependentes da associação micorrízica, podendo ocorrer a paralisação do crescimento das plantas, quando cultivadas em solo esterilizado e com baixa fertilidade (Menge *et al.*, 1978; Ortas *et al.*, 2002). O grau de dependência micorrízica varia de acordo com a genética das mudas (genótipos), espécies MAs e em função da fertilidade do solo, principalmente da disponibilidade de fósforo, uma vez que em solos ricos em fósforo a simbiose deixa de ser mutualística e torna-se uma relação de parasitismo. Isso em razão do elevado custo de carbono para a manutenção do fungo na raiz e o baixo benefício, em termos de absorção de nutrientes (Peng *et al.*, 1993; Graham & Eissenstat, 1998; Melloni & Cardoso, 1999).

Ocorrem altas taxas de colonização micorrízica em plantas cítricas, mesmo em solos com elevado nível de fósforo (o que poderia prejudicar a simbiose planta-MA) (Graham & Eissenstat, 1998).

A importância das associações micorrízicas no crescimento, na nutrição e na tolerância a estresses bióticos e abióticos dos citros tem sido relatada por diversos autores (Nunes *et al.*, 2006). Rocha *et al.* (1994) não detectaram diferenças expressivas na colonização micorrízica por *Glomus clarum*, *Acaulospora morrowae* e *Glomus etunicatum*, em que todos mostraram-se eficientes quando testados em tangerineira 'Cleópatra', mesmo quando houve

incremento de adubação fosfatada.

No manejo de produção mudas cítricas, é viável a inoculação de MAs, em vista da exigência de pequena quantidade de inóculo necessária (Metzner, 2009). Mudas de citros respondem bem à inoculação com MAs, com crescimento superior, comparadas às mudas não micorrizadas e com redução na necessidade de fertilizantes para obtenção do seu potencial de crescimento máximo (Melloni & Cardoso, 1999; Ortas *et al.*, 2002).

A paralisação no crescimento de mudas cítricas, devido à eliminação de fungos micorrízicos nos substratos utilizados para a produção de mudas, tem sido observada por diversos autores, demonstrando a elevada dependência micorrízica desta cultura (Menge *et al.*, 1978; Melloni & Cardoso, 1999; Ortas *et al.*, 2002). A colonização, das MAs em *Citrus* depende basicamente dos genótipos das plantas de citros, das espécies de fungos micorrízicos, da presença de outros fungos no solo e ainda da disponibilidade de nutrientes do solo. A dependência micorrízica de tangerineiras (*Citrus deliciosa*) e seus efeitos sobre o ajuste osmótico das plantas e taxa de fotossíntese foi testada por Wu & Xia (2006) num contexto de diferentes disponibilidades de água para as plantas (bem drenado e deficiência hídrica). Utilizou-se a MA *Glomus versiforme* no estudo e este fungo estimulou significativamente o crescimento das plantas e de biomassa, independentemente da disponibilidade de água. A colonização foi 34% maior em condições de boa drenagem das plantas o que conseqüentemente alterou o crescimento da planta, o ajuste osmótico e características da fotossíntese das tangerineiras.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram desenvolvidos no período de março de 2010 a setembro de 2011, nas instalações 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 e na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EEA/UFRGS), localizada no município de Eldorado do Sul (Km 146, BR 290).

Realizou-se dois estudos. Num deles (Estudo 1) avaliou-se o desenvolvimento de seis variedades porta-enxertos cítricos cultivados em diferentes substratos comerciais. Em outro estudo (Estudo 2) avaliou-se o desenvolvimento de duas variedades de porta-enxertos cítricos cultivadas em diferentes substratos comerciais, submetidos ou não a desinfestação e com inoculação micorrízica.

Para ambos estudos as sementes utilizadas foram extraídas de frutos maduros colhidos de plantas cultivadas na coleção de citros da EEA/UFRGS e da Fazenda Panoramas Citrus localizada em Butiá (RS) 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) com intuito de eliminação de patógenos para sua melhor conservação

(Koller, 2009), permanecendo essas em geladeira (4 a 6 °C), dentro de sacos plásticos, com fungicida Captan®, até o momento da semeadura (em torno de 30 dias de armazenamento).

Os inóculos de fungos micorrízicos arbusculares utilizados nos experimentos foram reproduzidos no Laboratório do DHS através do inóculo inicial obtido do Banco de Inóculos do DHS.

Dois diferentes substratos comerciais foram utilizados para emergência das sementes: o Carolina Soil® composto basicamente por turfa, cascas de arroz carbonizada e vermiculita (denominado neste estudo de substrato Comercial 1) e o substrato Beifiur® que se caracteriza pela presença de turfa, cascas de arroz queimadas e também cascas de arroz carbonizadas, além de um composto orgânico constituído de cama de aviário e engaço de uva (denominado neste estudo de substrato Comercial 2). As características físicas e químicas dos substratos estão no apêndice 1.

3.1 Estudo 1. Desenvolvimento de seis variedades de porta-enxertos cítricos cultivadas em dois substratos comerciais na fase de sementeira

O estudo um objetivou a verificação do incremento no desenvolvimento de seis variedades de porta-enxertos cítricos [‘Trifoliata’ (*Poncirus trifoliata* [L.] Raf), Tangerineira ‘Sunki’ (*Citrus sunki* Hort. ex Tan.), Citrumeleiro ‘Swingle’ (*P. trifoliata* x *C. paradisi* Macf.), Citrangeiro ‘Fepagro C 13’ (*P. trifoliata* x *C. sinensis* (L.) Osbeck, Citrangeiro ‘Fepagro C 37’ (*P. trifoliata* x *C. sinensis*), Limoeiro ‘Volkameriano’ (*C. volkameriana* Ten & Pasq.) e ‘Flying Dragon’ (*P. trifoliata* var. *monstrosa*)] cultivados em dois diferentes substratos (Comercial 1

e Comercial 2).

O experimento foi implantado no final de maio de 2010, e para a semeadura, utilizou-se bandejas de isopor com 72 células (volume útil de 120 cm³), forradas com plástico. Inicialmente realizou-se a hidratação do substrato Comercial 1 conforme recomendação do fabricante. Não havia essa instrução para o substrato Comercial 2. Nesta fase as bandejas foram mantidas em bancadas de concreto em casa de vegetação do Laboratório de Biotecnologia em Horticultura do DHS. O sistema de irrigação adotado foi por regador, adicionando-se 20 mL por alvéolo a cada 2 dias.

Posteriormente, em meados de dezembro de 2010, foi realizado o transplante das mudas para recipientes de polietileno, denominados Citrospote (5L de capacidade) preenchidos com o substrato Casca de Eucalipto ES (fabricado pela empresa Vida Produtos e Serviços em Desenvolvimento Ecológico - segundo informações do fabricante é composto de casca de eucalipto compostada). Acondicionou-se os citrospotes em bancadas e em ambiente protegido, no Setor de Horticultura da EEA/UFRGS, onde permaneceram até o final do experimento (setembro de 2011) recebendo água 2 vezes ao dia, durante 10 minutos, em sistema de irrigação por gotejamento.

Na fase de sementeira avaliou-se a emergência de plântulas semanalmente a partir de 46 dias após a semeadura e, depois de 84 dias da semeadura, passou-se a avaliar quinzenalmente o desenvolvimento vegetativo das plantas, através de medições da altura da parte aérea (cm), medida com trena do colo até o ápice da planta. Após o transplante iniciou-se a fase de viveiro e as avaliações de desenvolvimento continuaram onde além da altura das plantas, passou-se a mensurar o diâmetro do caule (mm) das plantas,

medido a 1 cm da superfície do colo com paquímetro digital.

Ao final do experimento (início de setembro de 2011) avaliou-se, além de altura e diâmetro final, o número de folhas/planta, área foliar (medida em cm², no equipamento da marca LI-Cor AREA METER, modelo LI-3100C), massa fresca de raiz e parte aérea (g) (pesada em balança analítica no momento da chegada do material ao laboratório) e massa seca de raiz e parte aérea (g) (obtidas após secagem em estufa à temperatura de 65°C, até peso constante).

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados em esquema de parcelas subdivididas em esquema fatorial 6x2 (porta-enxertos x substratos), com quatro repetições de 4 plantas por parcela para a variável emergência de plântulas. Para as demais variáveis, o delineamento experimental utilizado foi de parcelas subdivididas em esquema fatorial 4x2 (porta-enxertos x substratos), com quatro repetições de 4 plantas por parcela devido ao fato de não haver plantas suficientes dos porta-enxertos 'Flying Dragon' e citrangeiro 'Fepagro C 37'. Portanto, as avaliações seguiram somente tratando das variedades porta-enxerto tangerineira 'Sunki', citrumeleiro 'Swingle', 'Trifoliata' e limoeiro 'Volkameriano'.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias diferenciadas estatisticamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) e quando necessário procedeu-se a análise de regressão polinomial e transformação dos dados para \sqrt{x} .

3.2 Estudo 2. Utilização de substratos desinfestados na fase de sementeira e inoculação micorrízica para o desenvolvimento de duas variedades de porta-enxertos cítricos

Este estudo englobou três experimentos concomitantemente com o intuito de verificar a eficiência da desinfestação do substrato e inoculação micorrízica no desenvolvimento de mudas de porta-enxertos cítricos.

3.2.1 Experimento 1. Desinfestação de substratos comerciais na fase de sementeira e inoculação com *Scutellospora heterogama* no desenvolvimento de citrangeiro Fepagro ‘C37’

No experimento 1, instalado no dia 18 de junho de 2010, foram avaliados os seguintes fatores: a variedade de porta-enxerto citrangeiro Fepagro ‘C37’ [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. x *Citrus sinensis* (L.) Osbeck.]; dois substratos comerciais (Comercial 1 e Comercial 2); desinfestação ou não dos substratos; inoculação ou não com *Scutellospora heterogama*.

3.2.2 Experimento 2. Desinfestação de substratos comerciais na fase de sementeira e inoculação com *Scutellospora heterogama* no desenvolvimento de tangerineira ‘Sunki’

No experimento 2, instalado no dia 18 de junho de 2010, foram avaliados os seguintes fatores: a variedade de porta-enxerto tangerineira ‘Sunki’ (*C. sunki* hort. ex Tan.); dois substratos comerciais (Comercial 1 e Comercial 2); desinfestação ou não dos substratos; inoculação ou não com *Scutellospora heterogama*.

A desinfestação dos substratos foi realizada no Laboratório de Horticultura do DHS em autoclave vertical Primatec mantendo-se o substrato por uma hora à 127°C (1 atm), repetindo-se a operação mais duas vezes em

intervalos de 24 horas. Novamente realizou-se a análise em laboratório das características físicas e químicas dos substratos após autoclavagem e essas estão representadas no Apêndice 2.

Para a semeadura, em ambos experimentos, utilizou-se bandejas de isopor com 72 células (volume útil de 120 cm³), forradas com plástico para evitar contaminação entre tratamentos pela percolação da água de irrigação. Inicialmente, conforme recomendação do fabricante, realizou-se a hidratação do substrato Comercial 1 (somente para aquele que não foi desinfestado em autoclave; isso porque o substrato que foi autoclavado já estava úmido devido a própria desinfestação). Não havia essa instrução para o substrato Comercial 2. Nas bandejas do tratamento testemunha procedeu-se somente o preenchimento total das células com o substrato. Já nos tratamentos com MA inicialmente preencheu-se cada célula da bandeja, até 2/3 do seu volume e, sobre esse, adicionou-se 5 g de inóculo de MA (areia autoclavada com raízes de aveia (*Avena sativa*) inoculada), completando-se o restante do volume do recipiente com substrato.

No momento da semeadura, colocou-se duas sementes por célula à aproximadamente 1 cm de profundidade. Os experimentos foram irrigados de forma manual, durante todo o período de sementeira, duas vezes por semana e mantidos sobre bancada de concreto em casa de vegetação do Laboratório de Biotecnologia do DHS.

Posteriormente, em meados de dezembro de 2010, foi realizado o transplante das mudas para sacos de polietileno (volume de 5 L) preenchidos com substrato Rendmax citrus da empresa Eucatex®. Foram acondicionados em bancadas e ambiente protegido, no setor de Horticultura da EEA/UFRGS,

onde permaneceram até o final do experimento recebendo água 2 vezes ao dia, durante 10 minutos cada, por sistema de irrigação por gotejamento.

Na fase de sementeira, avaliou-se semanalmente a emergência de plântulas a partir de 56 dias após a semeadura e, depois de 88 dias da semeadura passou-se a avaliar quinzenalmente o desenvolvimento vegetativo, através de medições da altura da parte aérea (cm), medida com trena do colo até o ápice da planta.

No momento do transplante das mudas, coletou-se quatro plantas por tratamento e repetição, com objetivo de utilizar as raízes das plantas para a verificação da presença de estruturas das MAs.

Durante a fase de viveiro seguiu-se monitorando quinzenalmente a altura (cm) das plantas e também do diâmetro do caule (mm), medido a 1 cm da superfície do colo das plantas com paquímetro digital.

Ao final dos experimentos, em meados de setembro de 2011, avaliou-se além de altura e diâmetro final das plantas, o número de folhas/planta, área foliar (medida em cm², no equipamento da marca LI-Cor AREA METER, modelo LI-3100C), massa fresca de raiz e parte aérea (g) (medida em balança analítica no momento da chegada do material ao laboratório) e massa seca de raiz e parte aérea (g) (obtidas através da secagem em estufa à temperatura de 65°C, até peso constante). Novamente coletou-se as raízes das plantas para a quantificação das estruturas das MAs.

O delineamento experimental utilizado nos experimentos 1 e 2 foi de blocos casualizados em esquema de parcelas subdivididas em esquema fatorial 2x2x2 (substratos x desinfestação x inoculação), com quatro repetições com 4 plantas por parcela. Os resultados foram submetidos à análise de

variância, sendo as médias diferenciadas estatisticamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) e quando necessário procedeu-se a análise de regressão polinomial e transformação dos dados para \sqrt{x} , $\log(x)$ ou $x+10$.

Para quantificar a presença de MA nas raízes seguiu-se os seguintes procedimentos adaptados de Phillips & Hayman (1970) adaptado por Horunbia *et al.*, 1993; Schmitz, 1998; Lopes, 2009).

- Selecionou-se, ao acaso, 80 segmentos de radículas com aproximadamente 1 cm de comprimento. Esses foram armazenados em solução F.A.A. (Formaldeído a 5%, Ácido acético glacial a 5% e Álcool etílico a 90%) para posterior determinação da presença e quantificação das estruturas dos fungos;
- Dos segmentos fixados selecionou-se 45 segmentos de raiz por tratamento e procedeu-se a imersão desses em solução de hidróxido de potássio (KOH) a 10% em copos de Becker de 200 mL, mantendo-os em banho-maria por 40 minutos na temperatura de 90°C;
- A seguir, os copos de Becker foram retirados da solução de KOH e os segmentos radiciais foram lavados por três vezes em água destilada, três vezes em solução de Hipoclorito de Sódio ($\text{NaClO} + \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$) + Ácido clorídrico (HCl), sendo a solução formulada da seguinte forma: 100mL de $\text{NaClO} + \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$ a 1% + 0,5 mL de HCl com pH 4,9-5,0. Posteriormente realizam-se duas lavagens com água destilada;
- Ao final, os segmentos foram corados com auxílio do corante Azul de Tripiano (lactofenol+azul de tripano). Adicionou-se algumas gotas do corante ao copo de Becker e esse foi colocado sob o equipamento do

banho-maria que ainda encontrava-se quente, o que acabou auxiliando no processo de tingimento dos segmentos radiculares.

Após seu preparo, os segmentos foram dispostos em lâminas para visualização em microscópio óptico com aumento de 100 X. O índice de avaliação da colonização por hifas e a contagem de arbúsculos e vesículas da MA, foi executado conforme descrição do Índice de Nemeç (1992). De acordo com esse índice, contabiliza-se a quantidade de estruturas do fungo no córtex através de uma escala de 0 a 3. A presença de hifas nos segmentos radiculares foi contabilizada de acordo com o seguinte critério: 0, para ausência de hifas; 1, para escasso desenvolvimento de hifas; 2, para moderado desenvolvimento de hifas e 3, para amplo desenvolvimento de hifas (Figura 2A e 2B).

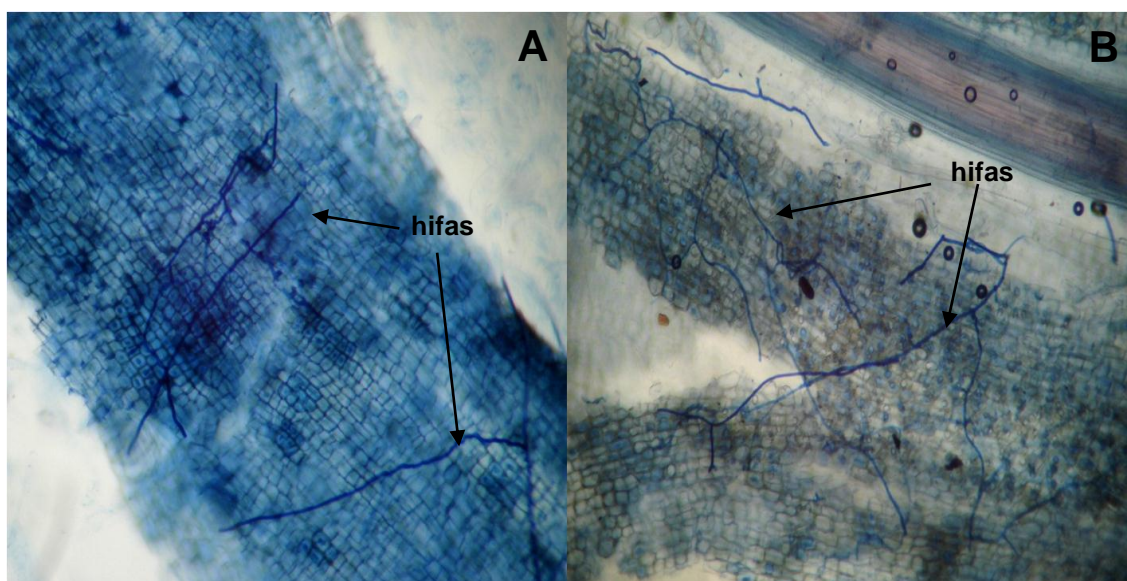


FIGURA 2. Escala de intensidade de presença de hifas A índice 1; B índice 3 (aumento 100 x). Foto: Sandra Rieth.

Com relação a classificação quanto a presença de arbúsculos e vesículas, essa seguiu da seguinte forma: 0, para inexistência de estruturas no segmento; 1, quando houve presença de até 50 estruturas; 2, para quando

houve de 51 a 100 estruturas e 3, para presença de mais de 100 estruturas por segmento (Figura 3A e 3B).

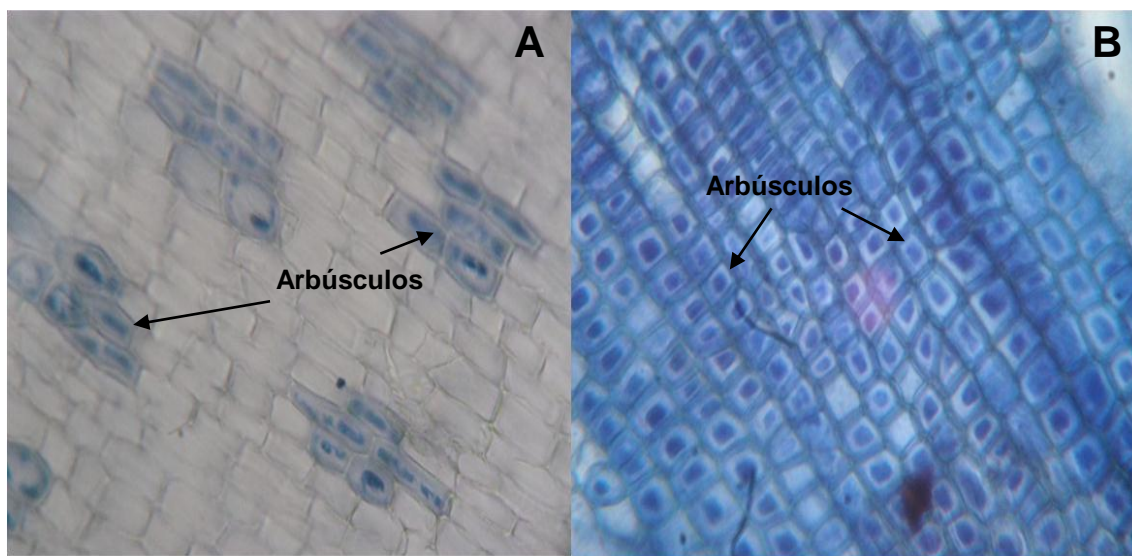


FIGURA 3. Escala de intensidade de presença de arbúsculos A índice 1; B índice 3 (aumento 100 x). Foto: Sandra Rieth.

3.2.3 Experimento 3. Desinfestação do substrato Comercial 1 (utilizado na fase de sementeira) e inoculação de três espécies de FMA no cultivo de duas variedades de porta-enxertos cítricos

Instalado no dia 18 de junho de 2010, o experimento objetivou comparar o desenvolvimento dos porta-enxertos (citrangeiro Fepagro 'C 37' e tangerineira 'Sunki') cultivados no substrato Comercial 1, sendo este autoclavado ou não (testemunha) e inoculado com três diferentes MAs: *Scutellospora heterogama* (MA 1), *Glomus etunicatum* (MA 2) e *Gigaspora margarita* (MA 3); além de testemunha não inoculada.

Os tipos de recipientes, o processamento das sementes, a inoculação e a avaliação deste experimento seguiu os mesmos procedimentos descritos para os experimentos 1 e 2.

As variáveis analisadas foram emergência e altura de plântulas em fase de sementeira, altura e diâmetro ao nível do colo em fase de viveiro. No final do experimento procedeu-se as avaliações de altura, diâmetro ao nível do colo, número de folhas, área foliar, matéria fresca e seca de raiz e parte aérea e presença de estruturas de MA nas raízes. As avaliações foram realizadas da mesma forma e época que os experimentos 1 e 2, em fase de sementeira, viveiro e ao final do experimento (setembro de 2011)

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados em esquema de parcelas subdivididas em esquema fatorial 2x2x4 (porta-enxertos x desinfestação x inoculação), com quatro repetições de 4 plantas por parcela. Os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias diferenciadas estatisticamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) e quando necessário procedeu-se a análise de regressão polinomial e transformação dos dados para $\log(x)$.

Os experimentos foram avaliados em duas épocas: fase de sementeira e fase de viveiro. A fase de sementeira ocorreu da sementeira até o momento da repicagem, realizado em meados de abril de 2011, para o Estudo 1, e em meados de dezembro de 2010, para o Estudo 2. Considerou-se a fase de viveiro o desenvolvimento das plantas após a realização da repicagem para recipientes de 5 litros até a finalização do experimento (determinado quando pelo menos um tratamento atingiu o ponto de enxertia, considerado 7 mm de diâmetro ao nível do colo).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estudo 1. Desenvolvimento de seis variedades de porta-enxertos cítricos cultivadas em dois substratos comerciais na fase de sementeira

Avaliando-se o percentual de emergência de plântulas das seis variedades porta-enxerto verificou-se que o substrato Comercial 1 induziu uma aceleração neste parâmetro para todos os porta-enxertos, com exceção do 'Flying Dragon', que foi prejudicado neste substrato (Figura 4). O substrato Comercial 2 apresentava originalmente alto índice de sais solúveis (TTSS) (g L^{-1}) (Apêndices 1 e 2). Esse fato pode ter prejudicado ou atrasado a emergência das plantas, uma vez que esse alto teor de sais pode impedir a absorção de água além de causar queima das radículas, quando iniciam a germinação culminando com morte precoce das plântulas antes mesmo de sua emergência. Estudos com plantas ornamentais fornecem subsídios para a interpretação, em que no geral, para a fase de sementeira, recomenda-se o uso de substratos com TTSS no máximo de 2g L^{-1} , com a finalidade de evitar problemas futuros de excesso de salinidade (Kämpf, 2000).

Ambos os substratos apresentavam propriedades físicas adequadas ao desenvolvimento das plantas.

Entre as variedades percebeu-se que 'Sunki' e 'Swingle' destacaram-se

por uma antecipação na emergência em relação aos demais, já apresentando o máximo percentual de emergência na primeira avaliação, mantendo-se até o final (Figura 4A). O comportamento do 'Flying Dragon' merece destaque, pois ocorreu antecipação de sua emergência no substrato Comercial 1, mas não ultrapassando os 50% de emergência aos 118 DAS. Ao ser semeado no substrato Comercial 2, somente iniciou sua emergência 90 dias após a semeadura (DAS), mas ultrapassou os 90% de emergência aos 118 DAS.

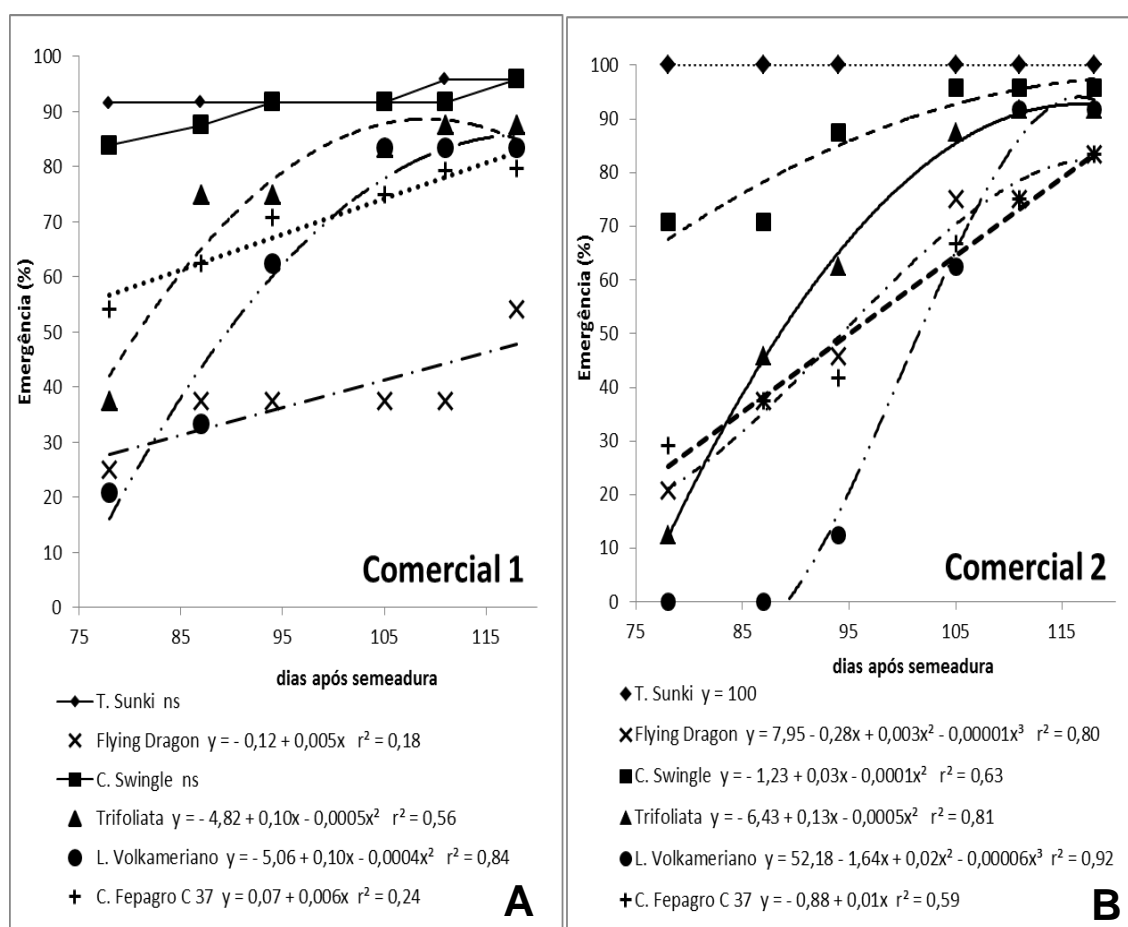


FIGURA 4. Evolução da emergência de plântulas (%) de seis variedades de porta-enxertos cítricos cultivadas em diferentes substratos comerciais na fase de sementeira. Comercial 1 (A), Comercial 2 (B) ns= dados não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Porto Alegre, 2011.

Aos 118 dias após semeadura observa-se que o porta-enxerto 'Flying Dragon' apresentou comportamento inferior aos demais quando cultivado no substrato Comercial 1 (Figura 4). Os outros porta-enxertos apresentaram

comportamento semelhante entre si estatisticamente tanto no substrato Comercial 1 como no substrato Comercial 2, todos com percentual de emergência de plântulas acima de 80% (Figura 4).

A tangerineira 'Sunki' foi a única variedade porta-enxerto que atingiu 100% de emergência de plantas no substrato Comercial 2, porém não diferindo estatisticamente do comportamento visualizado no substrato Comercial 1 e das demais variedades (Figura 4).

De acordo com Ono *et al.* (1995) as sementes de citrumeleiro 'Swingle' apresentam baixa germinação, e por consequência, baixa emergência de plântulas. Esse fato está relacionado provavelmente à recalcitrância das sementes de *Citrus*, ou seja, não toleram dessecação a graus de umidade entre 15 e 20% (Roberts, 1973; King & Roberts, 1979). Nesse estudo, contrariando os referido autores, o citrumeleiro 'Swingle' apresentou porcentagem de emergência semelhante aos demais porta-enxertos analisados, chegando a 96% aos 118 DAS em ambos substratos (Figura 4). O fato da sementeira ter sido realizada poucos dias após a extração das sementes e em período em que as temperaturas foram favoráveis à emergência (superiores a 12°C) pode ter contribuído para os altos percentuais de emergência verificados (Koller, 2006).

Segundo Oliveira *et al.* (2003), que testaram o poder germinativo de *Poncirus trifoliata*, quanto maior o período de armazenagem das sementes, maior a perda de poder germinativo. De acordo com Schäfer (2000), o substrato e a temperatura são os fatores que mais influem na emergência das plântulas das variedades porta-enxerto cítricas, uma vez que verificou que em sementeira realizada em períodos de temperaturas baixas (outono-inverno), as sementes de diversas variedades levaram até 140 DAS para atingir

germinação máxima.

O limoeiro 'Volkameriano', por sua vez, apresentou também bom percentual de emergência de plântulas, coincidindo com o observado por ONO *et al.* (1993), que já relataram ser desnecessária a aplicação de fitorreguladores para promoção de germinação de sementes deste porta-enxerto.

O *Poncirus trifoliata* atingiu alto percentual de emergência de plântulas em ambos substratos (Figura 4). Oliveira & Scivittaro (2007) testaram a emergência de plântulas de 'Trifoliata' em diferentes épocas e com retirada ou não de tegumento da semente, verificando que semeando-se o 'Trifoliata' no inverno (primeira semana de julho), houve 84% de emergência 60 DAS e, semeando-se no verão (primeira semana de outubro), também aos 60 DAS, houve 96% de emergência. Esse porta-enxerto é bastante afetado pela época de semeadura, uma vez que para a germinação de sementes de 'Trifoliata' a melhor temperatura gira em torno de 25°C (Rouse, 1997).

A emergência de 'Trifoliata' também é afetada pela presença de tegumento na semente, sendo que atinge precocemente a maior emergência de plântulas quando o tegumento é removido (Radhamani *et al.*, 1991; Oliveira & Scivittaro, 2007; Teixeira *et al.*, 2009a). Ainda, esse porta-enxerto possui a característica de dormência em resposta à temperaturas amenas, reduzindo então drasticamente sua atividade metabólica destas, o que poderia afetar seu potencial de emergência e posteriormente seu vigor no desenvolvimento das plântulas.

No presente estudo não foi realizada a remoção do tegumento das sementes das variedades porta-enxertos testadas. Contudo, à exceção do

'Flying Dragron', houve emergência acima de 80% de plântulas, independentemente do substrato utilizado, indicando que quando a semeadura é realizada poucos dias após a extração das sementes e em meses onde as temperaturas são superiores a 12°C, caso ocorrido no presente estudo, o tegumento não é prejudicial (Oliveira *et al.*, 2003; Koller, 2006).

Devido ao fato da emergência de 'Flying Dragon' ter sido inferior aos demais porta-enxertos testados, não houve plantas suficientes para que se fizesse as demais avaliações com essa variedade. Com relação ao citrangeiro 'Fepagro C 37', mesmo havendo elevada emergência de plântulas, não foi possível seguir as avaliações com essa variedade, devido à morte de plântulas após sua emergência, também não havendo repetições suficientes para seguir-se realizando as demais avaliações de desenvolvimento das plantas. Portanto, tratar-se-á somente das variedades porta-enxerto tangerineira 'Sunki', citrumeleiro 'Swingle', 'Trifoliata' e limoeiro 'Volkameriano' para os demais parâmetros de desenvolvimento tratados a seguir.

Avaliou-se a altura dos porta-enxertos durante o período de sementeira e também durante o período de viveiro (Figuras 5A e 5B). Verifica-se que, tanto o substrato Comercial 1, como o substrato Comercial 2, proporcionaram um bom incremento em altura para os porta-enxertos avaliados, havendo diferenças no comportamento de crescimento de cada variedade devido, provavelmente, às suas diferenças genéticas (Schäfer, 2004).

O comportamento de crescimento em altura do 'Volkameriano' diferiu dos demais porta-enxertos avaliados, sendo o único a apresentar incremento linear ao longo das avaliações (Figuras 5A e 5B). As demais variedades porta-enxerto apresentaram crescimento duplo sigmoidal, com incremento no

primeiro terço do período (fase de sementeira), uma estagnação no terço intermediário, e uma retomada do crescimento no terço final.

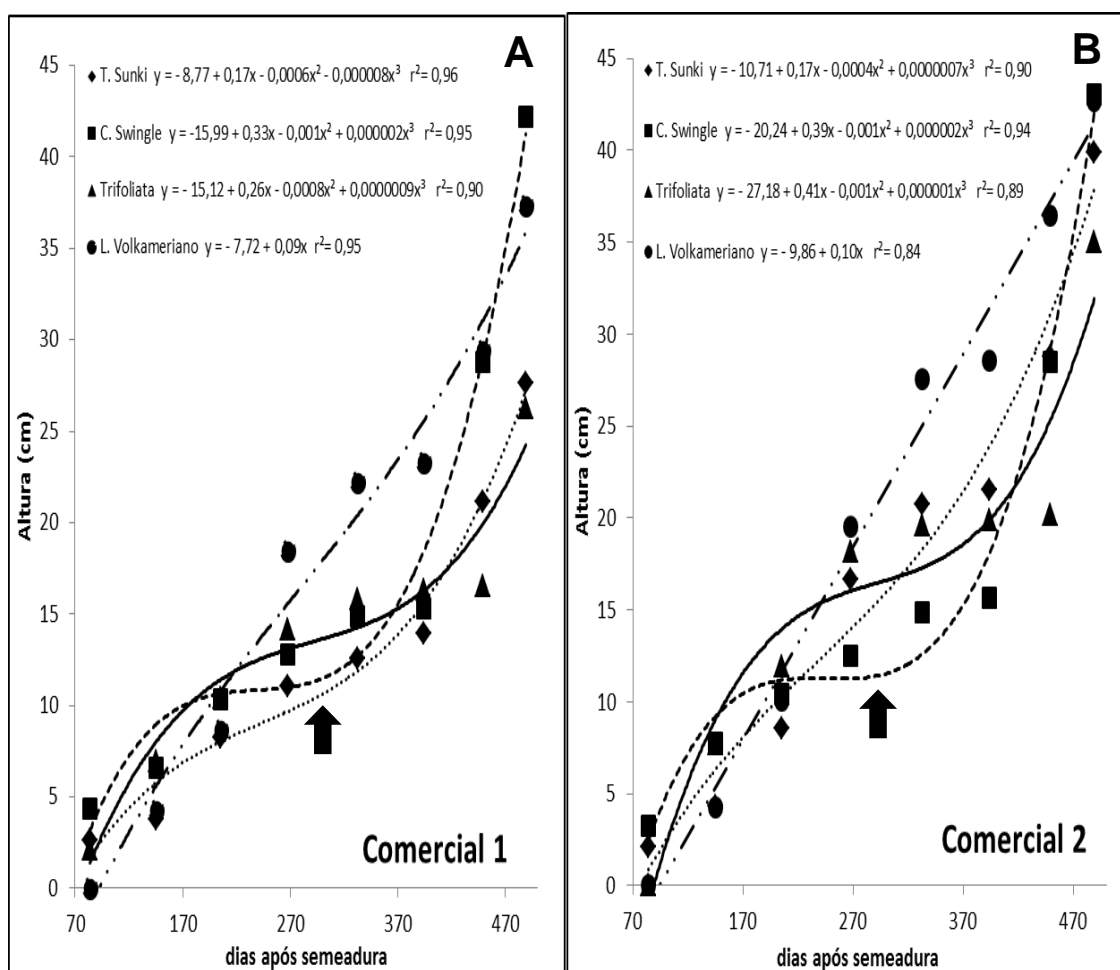


FIGURA 5. Evolução da altura de plantas (cm) de quatro variedades de porta-enxertos cítricos cultivadas em diferentes substratos comerciais (na fase de sementeira) até o ponto de enxertia. Comercial 1 (A), Comercial 2 (B), momento da repicagem (seta). Porto Alegre, 2011.

O 'Volkameriano' inicialmente apresentou a menor altura em valores absolutos, mas em poucas semanas superou os demais, somente sendo igualado ao final do experimento. Esse comportamento é explicado pelo grande vigor característico da variedade (Siqueira *et al.*, 2008).

Nas demais cultivares percebeu-se uma redução da velocidade de incremento em altura, no final da fase de sementeira, talvez pela limitação de volume do recipiente, que dificulta a expansão radicial e, conseqüentemente, a

aérea. Na fase intermediária do estudo, o fator que pode ter atuado na redução da velocidade de crescimento em altura seria relacionado a repicagem das bandejas para recipiente, de cinco litros. Quando isso ocorre, há o fator estresse, até que haja adaptação da planta ao novo recipiente, associado ao fato da mesma inicialmente repor volume de raízes, para somente após retomar crescimento da parte aérea.

No terço final, com temperaturas adequadas e sistema radicial recuperado, as plantas voltaram a acelerar seu crescimento.

Levando-se em consideração que a altura indicada para se realizar a repicagem das mudas gira em torno de 10 cm (Oliveira & Scivittaro, 2003), nota-se que a 'Sunki' quando cultivada no substrato Comercial 1 demorou mais tempo para atingir essa altura (Figura 5). Em estudo realizado por Teixeira *et al.* (2009b e 2010) verificou-se que a altura média atingida pelas plantas dessa variedade foi inferior a altura média das plantas das variedades citrangeiro 'Fepagro C 37', citrumeleiro 'Swingle' e 'Trifoliata', porém, semelhante estatisticamente ao citrangeiro 'Troyer'.

O 'Swingle' apesar de também ter apresentado redução drástica do crescimento com fase pós-repicagem, foi o que apresentou maior aceleração na fase final, superando os 40 cm em ambos os substratos (Figura 5).

A variável diâmetro do caule, para todos porta-enxertos analisados, em ambos substratos, apresentou comportamento quadrático positivo (Figura 6). Os maiores valores foram encontrados em 'Volkameriano', e os menores para 'Trifoliata', sendo 'Swingle' e 'Sunki' intermediários a esses. Os dados diferem de Teixeira *et al.* (2009b e 2010) onde 'Sunki' apresentou diâmetro ao nível do colo inferior ao 'Trifoliata'.

O limoeiro 'Volkameriano' foi o porta-enxerto mais vigoroso, tanto para altura de plantas como para o diâmetro do caule. Já o 'Trifoliata' foi o porta-enxerto que apresentou menor altura e diâmetro das plantas (Figuras 5 e 6). Os dados diferem de Teixeira *et al.* (2009b e 2010) em que o 'Trifoliata' foi semelhante a 'Swingle' em altura, e também superior a 'Sunki' em altura e diâmetro ao nível do colo. Esse comportamento do 'Trifoliata' está relacionado à sua genética, sendo considerado um porta-enxerto com baixo vigor em viveiro (Souza *et al.*, 2010).

O diâmetro do caule é uma variável de grande importância, pois determina o momento da enxertia, e a precocidade de produção da muda, sendo que essa deve ser realizada quando a planta atinge 7 mm (Oliveira & Scivittaro, 2003; Fochesato *et al.*, 2007). Neste estudo somente o limoeiro 'Volkameriano', cultivado no substrato Comercial 2, aproximou-se desse parâmetro. O incremento insuficiente em diâmetro nos diferentes porta-enxertos devem ser consequência de deficiências no manejo da temperatura, irrigação e nutrição ao longo do cultivo (Figura 6).

A análise estatística somente revelou efeito isolado dos substratos e dos porta-enxertos para as variáveis altura, diâmetro do caule, número de folhas e área foliar (Tabela 1). Ao término do experimento observou-se que as mudas de porta-enxertos de sementeira com substrato Comercial 2 apresentavam maior altura, diâmetro do caule e número de folhas não havendo diferença significativa para a variável área foliar.

Comparando-se os porta-enxertos verifica-se que o citrumeleiro 'Swingle' apresentou maior altura e 'Trifoliata' a menor, com limoeiro 'Volkameriano' e tangerineira 'Sunki' apresentando alturas intermediárias. Já o

maior diâmetro do caule foi encontrado em 'Volkameriano'; o menor em 'Trifoliata' e os demais foram intermediários a estes (Tabela 1).

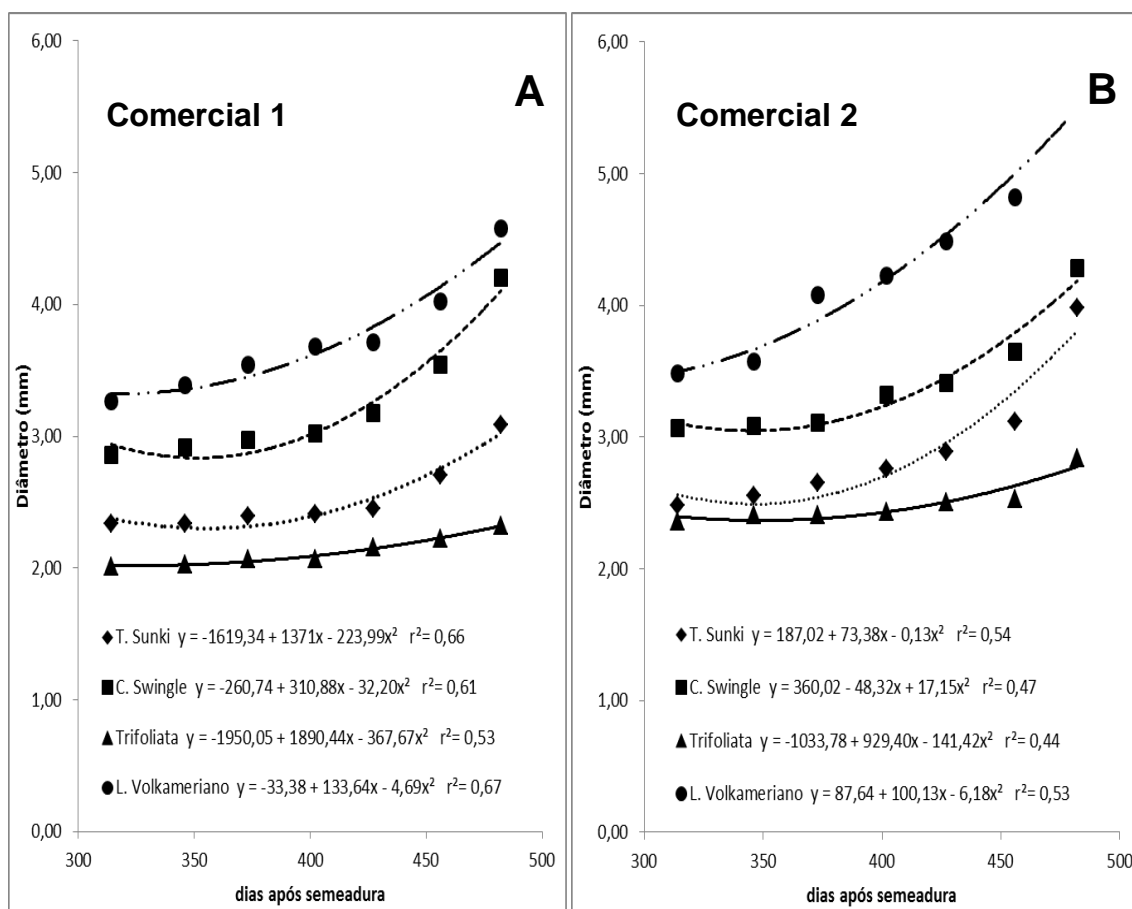


FIGURA 6. Evolução do diâmetro do caule (mm) de quatro variedades de porta-enxertos cítricos cultivadas em diferentes substratos comerciais (na fase de sementeira) até o ponto de enxertia. Comercial 1 (A), Comercial 2 (B). Porto Alegre, 2011.

Houve maior número de folhas nas plantas de 'Sunki', seguido de 'Swingle' e posteriormente por 'Trifoliata' e 'Volkameriano', que apresentaram comportamento semelhante entre si nesta variável. A área foliar por planta foi semelhante entre os porta-enxertos exceto para o 'Trifoliata', onde foi inferior aos demais (Tabela 1). Em experimento desenvolvido por Teixeira *et al.* (2009b) foi observado maior número de folhas para o porta-enxerto 'Sunki', porém não diferindo de 'Trifoliata'. Já, com relação a área foliar, os dados coincidem com os deste trabalho, sendo que 'Sunki' apresentou maior área

foliar que 'Trifoliata'.

TABELA 1. Altura (cm), diâmetro do caule (mm), número de folhas e área foliar (cm²) de quatro variedades de porta-enxerto cítrico cultivadas em dois substratos comerciais (na fase de sementeira) ao final do experimento. Porto Alegre, 2011.

	Altura (cm)	Diâmetro (mm)	Nº de folhas	Área foliar (cm ²) ¹
Comercial 1	33,27	3,55	16,14	603,50
Comercial 2	41,06 *	4,24 **	19,65 *	871,89 ^{ns}
T. Sunki	34,43 bc	3,57 c	26,35 a	1024,23 a
C. Swingle	42,62 a	4,24 b	19,71 b	852,74 a
Trifoliata	31,19 c	2,59 d	11,31 c	286,44 b
L. Volkameriano	40,62 ab	5,16 a	14,22 c	787,38 a
C.V.%	11,39	9,54	13,58	20,24

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. *, ** = significativo a 5% e 1%, respectivamente pelo teste de Tukey; ^{ns}=dados não significativos estatisticamente ; (¹) Dados transformados \sqrt{x} .

Variações no desenvolvimento de porta-enxertos são comuns e devem-se as diferenças genéticas peculiares a cada variedade (Schäfer, 2004). Apesar de não ter apresentado a maior altura, 'Sunki' obteve o maior número de folhas e semelhante área foliar comparativamente a 'Swingle' e 'Volkameriano'. O 'Trifoliata' foi o menos vigoroso em altura, diâmetro e área foliar; sendo semelhante ao 'Volkameriano' em número de folhas.

A variável número de folhas nem sempre apresenta relação com a área foliar, devido ao formato e tamanho das folhas de cada variedade testada. Esses resultados em área foliar são considerados normais, corroborando aos de Teixeira (2009b), devido às características intrínsecas do próprio porta-enxerto, pois o 'Trifoliata' apresenta folhas pequenas, quando comparado a outros porta-enxertos cítricos (Schäfer, 2004). Neste caso 'Trifoliata' e 'Swingle' apresentam morfologia foliar trifoliolada, sendo as folhas do 'Trifoliata' menores que as de 'Swingle'. Ainda, a discrepância encontrada pode ser devido ao vigor intrínseco de cada variedade, neste caso, as variedades mais vigorosas seriam

o limoeiro 'Volkameriano' e o citrumeleiro 'Swingle'.

A massa fresca de raiz e massa fresca e seca da parte aérea não foram afetadas pelos substratos, porém, quando se verifica o comportamento dos porta-enxertos referente as mesmas variáveis nota-se que houve maior incremento das variáveis em 'Sunki', 'Swingle' e 'Volkameriano', que não diferiram entre si, corroborando os valores de altura e diâmetro do caule (Tabela 2). O 'Trifoliata' apresentou os menores valores de massa fresca de raízes, massa fresca e seca de parte aérea em relação aos demais. Isso é decorrência do seu menor vigor e do seu menor incremento nas demais variáveis já avaliadas anteriormente.

Esses dados diferem do estudo de Teixeira *et al.* (2009b), que avaliaram o desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos produzidos em diferentes recipientes e verificaram que os valores de massa seca de raízes e parte aérea de 'Sunki' e 'Trifoliata' foram semelhantes estatisticamente, sendo que 'Fepagro C 37' apresentou comportamento superior a estes. O comportamento do porta-enxerto 'Trifoliata' observado nas tabelas 1, 2 e 3 pode ser explicado pelo seu caráter caducifólio, que em resposta às temperaturas amenas, reduz drasticamente sua atividade metabólica e vigor (Leite Junior, 1992; Oliveira *et al.*, 2001).

Em experimento realizado por Teixeira *et al.* (2010) verificou-se o desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos produzidos em diferentes doses de adubo e a massa seca de parte aérea de 'Swingle' foi superior a 'Sunki' e 'Trifoliata', que obtiveram comportamento semelhante.

TABELA 2. Massa fresca de raízes (M.F.R.) e parte aérea (M.F.P.A.), massa seca de parte aérea (M.S.P.A.) de quatro variedades de porta-enxerto cítrico cultivadas em dois substratos comerciais na fase de sementeira. Porto Alegre, 2011.

	M.F.R. (g)	M.F.P.A (g)	M.S. P.A (g) ¹
T. Sunki	43,38 a	33,41 a	11,45 a
C. Swingle	40,81 a	32,65 a	11,23 a
Trifoliata	17,92 b	10,03 b	3,27 b
L. Volkameriano	59,52 a	41,07 a	14,36 a
C.V.%	28,15	25,30	29,37

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. (1) Dados transformados \sqrt{x} .

A massa seca de raiz foi afetada pela interação entre os fatores substratos comerciais e porta-enxertos (Tabela 3). O citrumeleiro ‘Swingle’ e o ‘Trifoliata’ não foram afetados pelos substratos utilizados no parâmetro massa seca de raiz, enquanto que a massa seca de raiz foi maior em ‘Sunki’ e ‘Volkameriano’ quando cultivados no substrato Comercial 2. A massa seca de raiz variou distintamente entre os porta-enxertos segundo o substrato de cultivo (Tabela 3). Ao ser cultivado no Comercial 1, o citrumeleiro ‘Swingle’ e o limoeiro ‘Volkameriano’ apresentaram massa seca de raiz semelhantes entre si e superior ao ‘Trifoliata’, com a ‘Sunki’ apresentando valores intermediários. Ao ser cultivado no substrato Comercial 2 o ‘Volkameriano’ apresentou maior massa seca de raiz, ‘Trifoliata’ a menor, e os demais porta-enxertos mostraram-se intermediários aos anteriores (Tabela 3).

TABELA 3. Massa seca de raiz (M.S.R.) de quatro variedades de porta-enxerto cítrico cultivadas em dois substratos comerciais na fase de sementeira. Porto Alegre, 2011.

	M.S.R. (g)			
	T. Sunki	C. Swingle	Trifoliata	L. Volkameriano
Comercial 1	2,35 ABb	3,08 Aa	1,88 Ba	3,24 Ab
Comercial 2	3,73 ABa	3,09 Ba	2,14 Ca	4,06 Aa
C.V.%	13,05			

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e maiúsculas na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade de erro.

Resultado semelhante a esse foi verificado por Fochesato *et al.* (2008), onde comparado com limoeiro 'Cravo' e 'Fepagro C 13', o 'Trifoliata' apresentou menor massa seca. Diferindo do presente estudo, Teixeira *et al.* (2010) testaram o desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos produzidos em diferentes doses de adubo e verificaram que os valores de massa seca de raízes de 'Sunki' foram inferiores ao 'Trifoliata' e ambos inferiores a 'Swingle'. Essas respostas diversas são explicadas pelas diferenças no manejo dos experimentos, pois foram utilizados substratos diferentes, bem como nutrição.

Ainda, essa divergência pode ser devido as diferentes épocas de cultivo sendo que as avaliações realizadas pelos referidos autores aconteceram em dezembro (período em que os porta-enxertos apresentam acréscimos no seu desenvolvimento) enquanto que as deste experimento foram no início de outubro, logo após o inverno (onde as baixas temperaturas podem prejudicar a evolução das plantas).

O substrato Comercial 2 proporcionou menor emergência de plântulas porém, nas avaliações de altura, número de folhas, área foliar e diâmetro - a principal característica a ser atingida para o momento de enxertia - foi alcançada antes por esse substrato. A menor influência sobre a emergência pode ser devido a presença de constituintes hidrofóbicos (turfa) no substrato que são incapazes de absorver e armazenar água e favorecer a germinação das sementes e posterior emergência das plântulas.

4.2 Estudo 2. Utilização de substratos utilizados na fase de sementeira e inoculação micorrízica para o desenvolvimento de duas variedades de porta-enxertos cítricos

4.2.1 Experimento 1. Desinfestação dos substratos comerciais utilizados na fase de sementeira e inoculação de *Scutellospora heterogama* no desenvolvimento de citrangeiro 'Fepagro C 37'

No decorrer da fase de sementeira, avaliou-se a emergência e a altura de plântulas sendo a emergência afetada pelos fatores substrato, desinfestação e MA (Tabela 4). A variável altura apresentou influência dos fatores desinfestação de substrato e inoculação micorrízica. O substrato Comercial 1 proporcionou maior porcentagem de plântulas emergidas comparativamente ao Comercial 2, porém sem diferir na altura (Tabela 4). Conforme já comentado anteriormente (Estudo 1), o substrato Comercial 2 apresentava originalmente alto índice de sais solúveis (TTSS) (g L^{-1}) (Apêndices 1 e 2), tanto autoclavado como não autoclavado. Esse fato pode ter prejudicado a emergência das plantas, haja visto que esse alto teor de sais pode prejudicar a absorção de água pelas sementes (osmose) além de causar queima das radículas, quando iniciam a germinação culminando com morte precoce das plântulas antes mesmo de sua emergência.

Para ambas variáveis (emergência e altura) foi constatado efeito isolado da autoclavagem dos substratos, sendo incrementadas quando se utilizou o substrato autoclavado (Tabela 4). Essa resposta pode estar relacionada a uma maior umidade inicial do substrato autoclavado, uma vez que a autoclavagem, além de proporcionar a eliminação de patógenos, acaba deixando-o úmido pela

utilização de vapor de água no sistema e assim, hidratando precocemente as sementes. Ou ainda, conforme já comentado anteriormente no estudo 1, a turfa é um constituinte do substrato que é hidrofóbico, portanto pode acabar por impedir a hidratação dos substratos e causando assim prejuízo na germinação quando há maior concentração deste constituinte no substrato (o que pode ser o caso do substrato Comercial 2).

TABELA 4. Emergência (%) e altura (cm) de citrangeiro 'Fepagro C 37' em fase de sementeira, cultivado em dois substratos comerciais (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de *Scutellospora heterogama*. Porto Alegre, 2011.

	Emergência (%)	Altura (cm)
Comercial 1	90,25 *	6,97 ^{ns}
Comercial 2	73,58	6,80
S. autoclavado	88,12 **	7,26 **
S. não autoclavado	75,71	6,51
Testemunha	81,83 ^{ns}	7,20 *
<i>Scutellospora heterogama</i>	82,00	6,58
C.V.%	15,88	11,76

*, ** = significativo a 5% e 1%, respectivamente; ^{ns} = dados não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey. Testemunha = sem inoculação.

Na variável emergência de plântulas, não houve diferença estatística entre o tratamento testemunha e a inoculação com *Scutellospora heterogama* (Tabela 4). No entanto, houve maior altura das plântulas procedentes do tratamento sem inoculação micorrízica (testemunha).

O fato da inoculação não apresentar incremento em altura nas plantas ao final da fase de sementeira (87 DAS) pode ser explicado pelo pouco tempo decorrido desde a semeadura até a avaliação. Normalmente, as MAs necessitam um período para colonizar as raízes (fase parasítica) e, somente após esse período a simbiose passa a ser efetiva. Agostini (2002) e Anzanello *et al.* (2011) comprovaram que esse período da interferência da micorriza no

desenvolvimento das plantas pode variar, sendo que o referidos autores constataram que aos 91 e aos 58 DAS, respectivamente, a inoculação ainda era ineficiente em promover o crescimento das plantas de porta-enxertos de videira.

Verificando a evolução da altura das plantas desde a fase de sementeira até o final do experimento, observa-se incremento linear, para o fator desinfestação do substrato da sementeira (Figura 7A).

A superioridade do substrato desinfestado verificada na fase de sementeira não se evidenciou na fase de viveiro, sendo inexistente a diferença significativa no fator desinfestação de substrato ao final do experimento (Figura 7A). Esse fato pode estar relacionado, em parte, com a repicagem das mudas para outro substrato da fase de sementeira para a fase de viveiro.

Também não houve diferença significativa no desenvolvimento em altura nos fatores diferentes substratos e inoculação (Figura 7B).

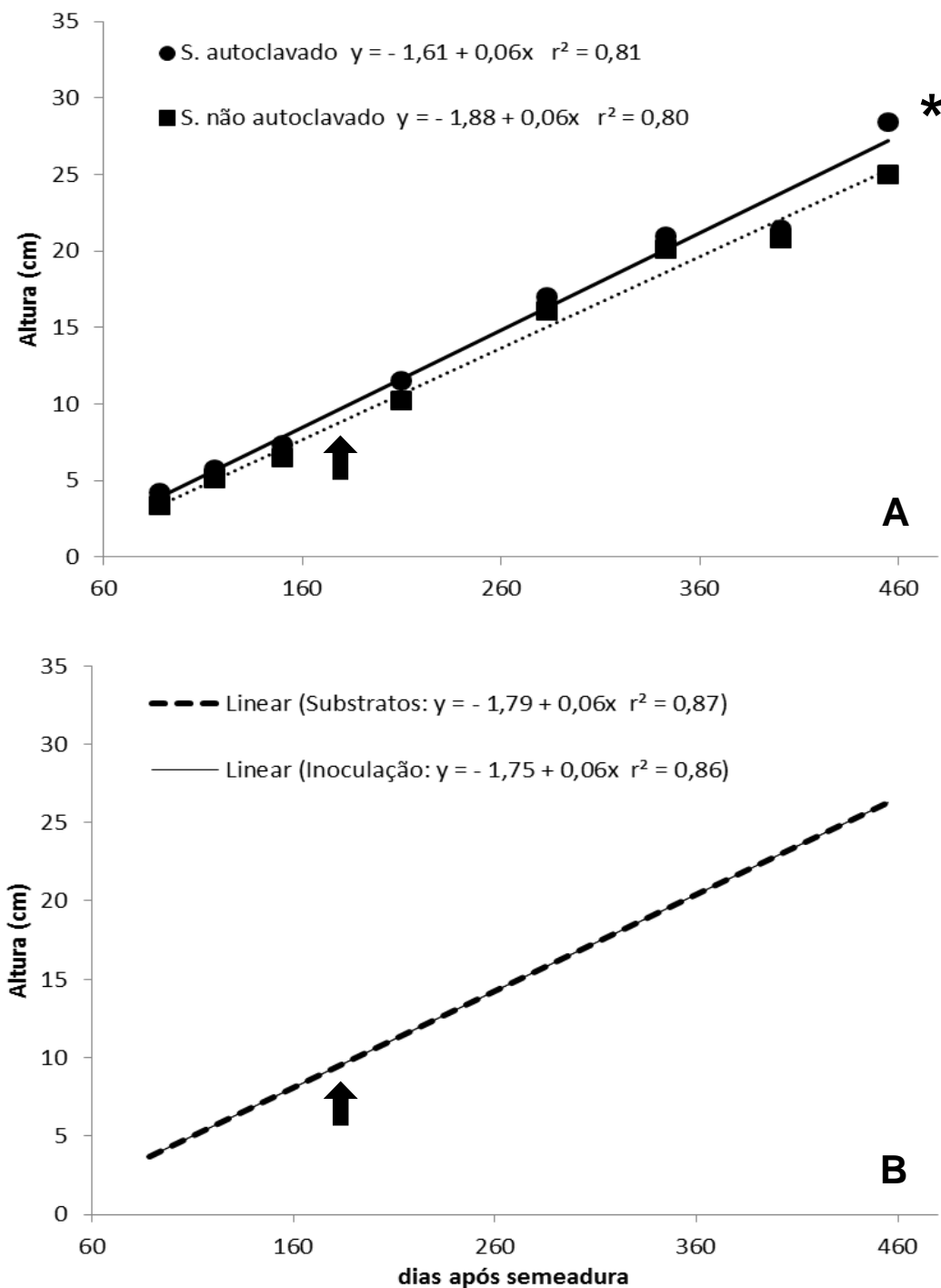


FIGURA 7. Evolução da altura (cm) das plantas conforme os dias após semeadura (DAS) de citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivado em dois substratos comerciais na fase de sementeira, **(A)** submetidos ou não a desinfestação, **(B)** inoculados ou não. Momento da repicagem (seta). *Médias diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Porto Alegre, 2011.

Houve diferença significativa entre os fatores avaliados para a variável diâmetro ao final do experimento, sendo maiores os diâmetros do caule das

plantas que se desenvolveram em substrato autoclavado (Figura 8A). Observa-se que o padrão de incremento em diâmetro do caule das plantas foi duplo sigmoidal, em que nos meses de junho (358 DAS) e agosto (387DAS), provavelmente devido às baixas temperaturas do período hibernar, houve um menor incremento em diâmetro (Apêndice 3). Cabe salientar que o citrangeiro 'Fepagro C 37', por ter *Poncirus trifoliata* em sua genética, é uma planta caducifólia e em baixas temperaturas pode vir a perder suas folhas e diminuir seu desenvolvimento até que essa condição esteja superada, ou seja, as temperaturas mais altas sejam reestabelecidas.

De acordo com Oliveira *et al.* (2001) os porta-enxertos têm seu desenvolvimento otimizado quando cultivados em temperaturas de 26 – 28°C. A temperatura média do local, segundo o apêndice 1, esteve abaixo do adequado entre os meses de abril e outubro, justificando o menor incremento no diâmetro ao nível do colo das plantas no período intermediário do experimento correspondente a estes meses.

A exemplo do verificado para a altura, nos fatores diferentes substratos e inoculação, não houve diferença significativa no desenvolvimento em diâmetro do caule (Figura 8B).

Houve interação significativa entre os fatores desinfestação de substratos e inoculação micorrízica para as variáveis massa fresca de raiz (M.F.R.), massa seca de raiz e de parte aérea (M.S.R. e M.S.P.A.) (Tabela 5). Esse fato deve-se provavelmente a indiferença em altura das plantas e conseqüentemente em número de folhas, área foliar e massa fresca de parte aérea.

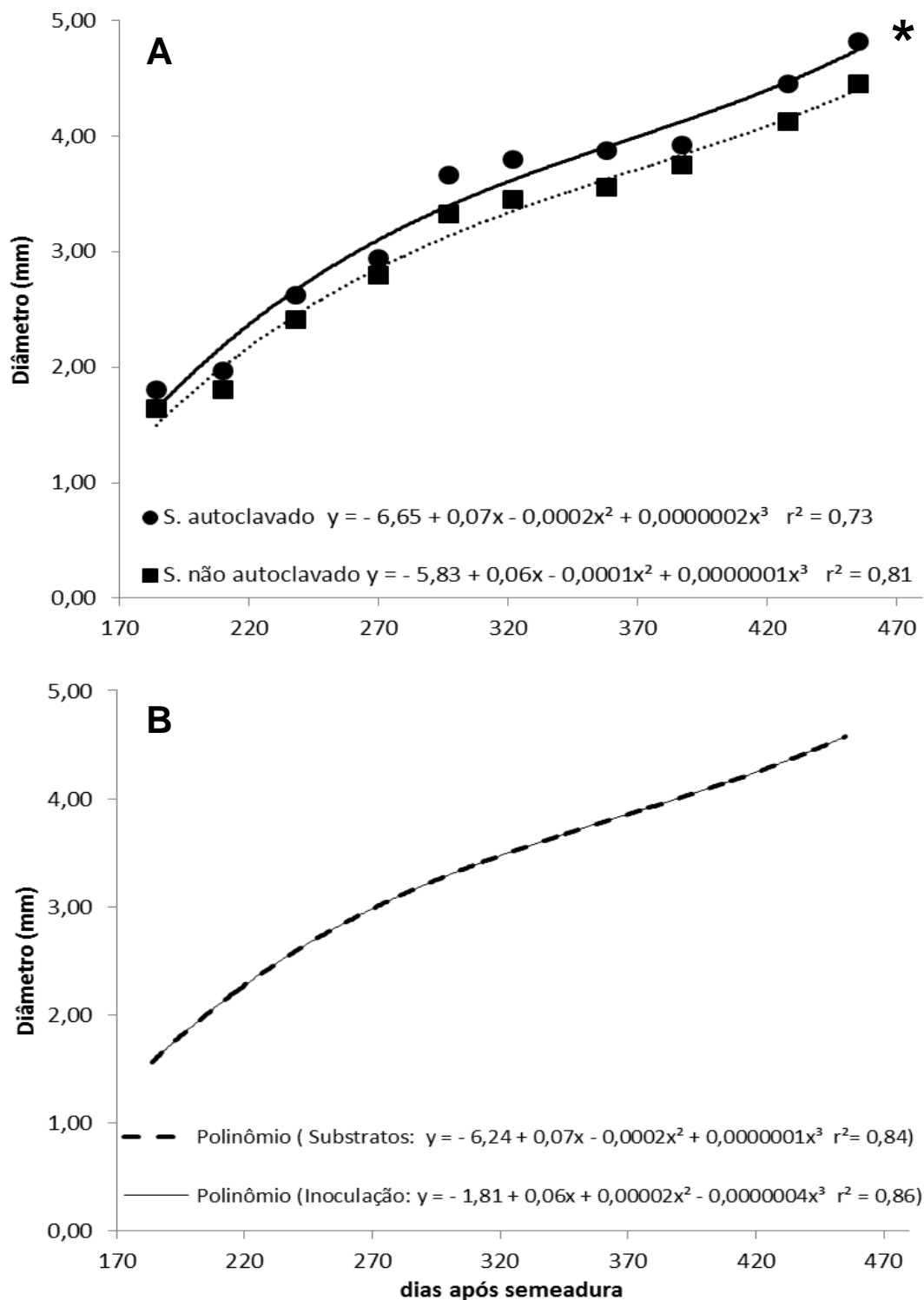


FIGURA 8. Evolução do diâmetro do caule (mm) de citrangeiro 'Fepagro C 37' ao longo do período experimental após repicagem para recipientes de quatro litros cultivados originalmente em 2 substratos comerciais na fase de sementeira, **(A)** submetidos ou não a desinfestação, **(B)** inoculados ou não. *Médias diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Porto Alegre, 2011.

Nas plantas testemunha a autoclavagem proporcionou incrementos nas

M.F.R., M.S.R. e M.S.P.A. As mesmas variáveis foram reduzidas na presença de MA, quando o substrato foi previamente autoclavado (Tabela 5). Para a variável massa fresca da parte aérea (M.F.P.A.) não houve diferença significativa entre os fatores testados.

Notou-se, pelo comportamento das plantas da variedade avaliada que a micorrização não garantiu o maior desenvolvimento das plantas, sendo os tratamentos com utilização micorrízica algumas vezes com desenvolvimento similar ou até mesmo inferior ao tratamento testemunha.

TABELA 5. Massa fresca de raiz e parte aérea (M.F.R. e M.F.P.A.) (g), massa seca de raiz e parte aérea (M.S.R. e M.S.P.A.) (g) de citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivado em 2 substratos comerciais na fase de sementeira, submetidos ou não a desinfestação e inoculação de *Scutellospora heterogama*. Porto Alegre, 2011.

	M.F.R. (g)		M.F.P.A. (g)	
	Testemunha	<i>S. heterogama</i>	Testemunha	<i>S. heterogama</i>
S. autoclavado	61,98 Aa	40,38 Bb	27,63	20,84
S. não autoclavado	45,93 Ab	43,64 Aa	22,54	25,18
C.V.%	7,25		28,60 ^{ns}	
	M.S.R. (g)		M.S.P.A. (g)	
	Testemunha	<i>S. heterogama</i>	Testemunha	<i>S. heterogama</i>
S. autoclavado	17,67 Aa	10,42 Bb	11,47 Aa	7,56 Bb
S. não autoclavado	13,08 Ab	13,67 Aa	8,83 Ab	10,08 Aa
C.V.%	8,49		32,77	

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e maiúsculas na linha indicam diferença significativa, ^{ns} = dados não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Testemunha = sem inoculação. (*) Dados transformados \sqrt{x} .

O número de folhas e a área foliar das plantas dos porta-enxertos não foram alteradas pelo substrato, nem pela desinfestação ou inoculação com FMA. Essas variáveis estão relacionadas ao incremento das plantas em altura. Como as plantas não diferiram em altura acabaram por não diferir em número de folhas e área foliar. Esses resultados diferem dos encontrados por Souza *et al.* (2000) em que houve maior número de folhas e área foliar em plantas de citrangeiro 'Carrizo' nos tratamentos em que se utilizou inoculação com *Glomus*

intraradices. A ausência de diferença entre os tratamentos pode ser explicada em parte à mudança de substratos da fase de sementeira para o viveiro.

Através da análise microscópica constatou-se colonização micorrízica tanto na fase de sementeira como na fase de viveiro, inclusive nas plantas não inoculadas, indicando contaminação em todos os tratamentos (Tabela 6). Na fase de sementeira houve interação entre todos os fatores avaliados no quesito presença de arbúsculos.

Na interação entre substratos e desinfestação, o número de arbúsculos foi superior no substrato Comercial 1, tanto para o fator desinfestação como para o inoculação. O número de arbúsculos presentes no substrato Comercial 2 foi inferior ao Comercial 1 quando foi autoclavado e não inoculado, porém não diferindo deste ao ser autoclavado (Tabela 6).

Houve menor número de arbúsculos nas plantas pré-inoculadas com *S. heterogama* cultivadas no substrato Comercial 2, porém, quanto a presença de hifas, não houve diferença significativa entre os fatores avaliados neste estudo (Tabela 6).

Cabe destacar que índices acima de 2,0 são considerados elevados para colonização micorrízica e índices em torno de 1,0 são baixos. Portanto, a presença de arbúsculos foi, em geral, elevada e, a de hifas, foi baixa.

Na fase de viveiro, seguiu-se encontrando estruturas de MA em todos os tratamentos, não havendo diferença significativa na variável presença de arbúsculos, sendo constatada ampla quantidade destas estruturas nos segmentos radiculares avaliados (Tabela 6).

TABELA 6. Presença de estruturas de MA (hifas e arbúsculos) nas fases de sementeira e viveiro de citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivado em 2 substratos comerciais (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de *Scutellospora heterogama*. Porto Alegre, 2011.

Fase de sementeira		
Presença de arbúsculos		
	Comercial 1	Comercial 2
S. autoclavado	2,90 Aa	1,06 Bb
S. não autoclavado	3,00 Aa	1,83 Ab
Testemunha	2,90 Aa	1,12 Bb
<i>Scutellospora heterogama</i>	3,00 Aa	1,77 Ba
C.V.%		1,92
Fase de viveiro¹		
Presença de hifas		
	S. autoclavado	S. não autoclavado
Comercial 1	1,07 Ba	1,34 Aa
Comercial 2	1,00 Aa	1,00 Ab
Testemunha	1,07 Aa	1,07 Ab
<i>Scutellospora heterogama</i>	1,00 Ba	1,28 Aa
C.V.%		11,81

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e maiúsculas na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Testemunha = sem inoculação. (1) Dados transformados x+10.

Houve interação significativa para a variável presença de hifas entre os fatores desinfestação de substratos, substratos e inoculação na fase de viveiro (Tabela 6). A presença de hifas foi superior quando o substrato Comercial 1 não foi autoclavado e, para o substrato Comercial 2, quando este foi autoclavado. Pode-se inferir que já havia originalmente presença de MA nos substratos e quando se adicionou o inóculo houve competição entre *S. heterogama* e os outros microorganismos dos substratos (Tabela 6).

O mais surpreendente foi ter-se encontrado estruturas de MA nas plantas cultivadas nos substratos autoclavados. Supõe-se que o processo de autoclavagem tenha sido ineficaz ou que tenha havido contaminação ao longo do experimento.

Verificou-se que em alguns casos houve maior presença de estruturas de MAs quando não houve inoculação e desinfestação dos substratos. Observou-se na fase de sementeira a emergência de estruturas reprodutivas de fungos (cogumelos) supondo-se que o substrato tenha vindo da empresa contendo estruturas de MAs mais eficientes que *S. heterogama*. Assim, pode ter ocorrido contaminação no tratamento testemunha (através de substrato com inóculo) ou competição entre fungos, quando houve inoculação em substrato não autoclavado. Isso explicaria a pouca eficiência observada da MA no desenvolvimento do citrangeiro 'Fepagro C 37'. Em estudo realizado por Nunes (2004) comparando o desenvolvimento de vários porta-enxertos com ou sem adição de MA, *Scutellospora heterogama* apresentou menor influência sobre o desenvolvimento das plantas, possivelmente, segundo a autora, devido a uma baixa afinidade entre o genótipo dos porta-enxertos testados e o fungo.

Cabe salientar que existe diferença entre os conceitos de dependência micorrízica e responsividade da planta (Moreira & Siqueira, 2002). Assim, a dependência varia em função das plantas e das condições de crescimento e a responsividade (magnitude do efeito da micorrização) varia em função do ambiente e do fungo. Nesse caso, não houve correlação entre o desenvolvimento das plantas e a grande presença de estruturas observada, provavelmente devido a falta de necessidade das plantas pela micorrização (uma vez que as plantas testemunhas desenvolveram-se plenamente) ou pela não influência da MA nessa variedade porta-enxerto (falta de compatibilidade).

O desenvolvimento e o vigor apresentado pelas plântulas acabaram sendo em decorrência do tamanho das sementes que tem correlação com o teor de reservas e posterior vigor das plantas. As sementes de maior tamanho

ou mais densas são aquelas que possuem, normalmente, embriões bem formados e com maiores quantidades de reservas, sendo potencialmente as mais vigorosas e com maior probabilidade de sucesso no estabelecimento da plântula (permite a sobrevivência por maior tempo em condições ambientais desfavoráveis) (Pádua *et al*, 2010).

Segundo Metzner (2009) são vários os fatores que concorrem para o estabelecimento e desempenho da micorriza, sendo a compatibilidade entre a espécie vegetal, a espécie ou isolado da MA e o meio de cultivo (solo ou substrato) as mais relevantes para garantir a máxima expressão de eficiência da simbiose. Assim, a seleção de fungos eficientes e a adequação do substrato são dois aspectos que devem ser avaliados concomitantemente.

No presente estudo, os substratos envolvidos apresentavam características físicas semelhantes (Apêndices 1 e 2) porém com relação as características químicas, diferindo em teor total de sais solúveis e composição. O substrato Comercial 1 foi considerado mais leve e estável química e fisicamente.

Já o substrato Comercial 2, por ser constituído de maior variedade de substâncias orgânicas, tinha aspecto instável, com maior dificuldade de absorção de água durante a irrigação. Além disso, observou-se a emergência de diversas plantas daninhas e cogumelos neste substrato durante a execução dos experimentos. Normalmente, substratos ricos em matéria orgânica prejudicam a colonização das raízes por MAs (Menge *et al.*, 1982). Devido a maior presença de nutrientes (matéria orgânica) no substrato a função da micorriza em buscar nutrientes para a planta fica desnecessária.

4.2.2 Experimento 2. Desinfestação de substratos comerciais utilizados na fase de sementeira e inoculação com *Scutellospora heterogama* no desenvolvimento de tangerineira 'Sunki'

A emergência e altura foram maiores nas plântulas de tangerineira 'Sunki' não inoculadas com *S. heterogama* na fase de sementeira (Tabela 7). Na fase inicial do desenvolvimento das plantas, o efeito negativo das MAs pode ser explicado por essas estarem iniciando a colonização das raízes e portanto, atuando como parasitas, somente consumindo os carboidratos das plantas (Lambais & Ramos, 2010; Anzanello *et al.*, 2011).

Para emergência e altura de plântulas, observou-se interação significativa entre os fatores substratos e desinfestação (Tabela 7). Encontrou-se menor número de plântulas emergidas e altura das mesmas quando se utilizou o substrato Comercial 2 não autoclavado; nos demais tratamentos foram superiores, não diferindo entre si.

O baixo percentual de plantas emergidas, no substrato Comercial 2 não desinfestado, pode ter sido consequência do alto teor total de sais solúveis deste (Apêndice 2), que pode ter prejudicado a germinação e posterior emergência das plântulas. Também, cabe ressaltar que o processo de autoclavagem inclui a hidratação inicial do substrato, fato que pode ter antecipado a embebição das sementes e intensificado a emergência de plântulas.

Por outro lado, o substrato Comercial 2 não autoclavado pode ter contido microorganismos nocivos competidores que podem ter matado as plântulas na fase de germinação.

TABELA 7. Emergência (%) e altura (cm) de plântulas na fase de sementeira de T. 'Sunki' cultivada em dois substratos comerciais (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de *Scutellospora heterogama*. Porto Alegre, 2011.

Emergência (%)		
Testemunha	91,62 **	
<i>Scutellospora heterogama</i>	79,17	
	S. autoclavado	S. não autoclavado
Comercial 1	93,08 Aa	95,83 Aa
Comercial 2	90,17 Aa	62,50 Bb
C.V.%	20,93	
Altura (cm)		
Testemunha	4,71 **	
<i>Scutellospora heterogama</i>	3,90	
	S. autoclavado	S. não autoclavado
Comercial 1	4,56 Aa	4,67 Aa
Comercial 2	5,13 Aa	2,87 Bb
C.V.%	21,77	

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e maiúsculas na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro; ** = significativo a 1% de probabilidade. Testemunha = sem inoculação.

Verificando-se a resposta das plantas em altura e diâmetro ao nível do colo ao término da fase de viveiro, observa-se interações entre os fatores testados (Tabela 8). As plantas de tangerineira 'Sunki' não inoculadas com *S. heterogama* apresentaram alturas semelhantes em ambos substratos, inclusive não diferindo das plantas inoculadas com MA e cultivadas no substrato Comercial 1. As plantas inoculadas com MA e cultivadas no substrato Comercial 2 apresentaram altura inferior aos demais tratamentos. Ao confrontar-se estatisticamente os fatores desinfestação e inoculação com MA, não houve diferença para os tratamentos na variável altura de plântulas (Tabela 8).

O diâmetro do caule das plantas não foi alterado pela desinfestação do substrato Comercial 1, mas foi reduzido no substrato Comercial 2 não autoclavado (Tabela 8). Nos substratos autoclavados as MAs não tiveram

influência sobre o diâmetro das plantas, mas o prejudicaram nas plantas cultivadas nos substratos não autoclavados.

O prejuízo em incremento proporcionado pelo substrato Comercial 2 não submetido a autoclavagem provavelmente ocorreu devido a constituição do substrato, conforme já comentado anteriormente, uma vez que a autoclavagem consegue minimizar os fatores nocivos desse.

TABELA 8. Altura (cm) e diâmetro do caule (mm) ao final da fase de viveiro de plantas de T. 'Sunki' cultivada em dois substratos comerciais (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de *Scutellospora heterogama*. Porto Alegre, 2011.

	Altura (cm)	
	Testemunha	<i>Scutellospora heterogama</i>
Comercial 1	29,00 Aa	27,18 Aa
Comercial 2	32,81 Aa	19,51 Bb
S. autoclavado	31,77 ^{ns}	32,25
S. não autoclavado	24,40	20,08
C.V.%	20,47	
	Diâmetro (mm)	
	S. autoclavado	S. não autoclavado
Comercial 1	3,55 Aa	3,81 Aa
Comercial 2	3,35 Aa	2,85 Bb
Testemunha	3,57 Aa	3,79 Aa
<i>Scutellospora heterogama</i>	3,33 Aa	2,87 Bb
	10,47	

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e maiúsculas na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro; ^{ns} = dados não diferem estatisticamente. Testemunha = sem inoculação.

O efeito benéfico da autoclavagem foi observada ao longo do experimento, onde as plantas de tangerineira 'Sunki' cultivadas nos substratos autoclavados apresentaram velocidades de crescimento em altura e diâmetro maiores que aquelas cultivadas nos substratos não autoclavados (Figuras 9 e 10).

Houve incremento quadrático positivo na variável altura de plantas ao longo do experimento (Figura 9). A partir da repicagem (indicado pela seta no gráfico), verifica-se um maior distanciamento das curvas, evidenciando a

superioridade do tratamento de desinfestação. Também, observa-se que a partir da repicagem (174 DAS) ocorreu grande aumento na altura das plantas. Segundo Oliveira *et al.* (2001) o desenvolvimento dos porta-enxertos cítricos é otimizado quando cultivados em temperaturas de 26 – 28°C, portanto essa variável pode ter sido afetada pelas temperaturas favoráveis ao seu desenvolvimento observadas nos meses subsequentes (Apêndice 3). Também, o maior desenvolvimento das plantas observado após a repicagem pode estar relacionado a limitação de espaço do recipiente durante a fase de sementeira, uma vez que após esse procedimento, as plantas passaram a ter um maior volume de substrato a ser explorado.

Observou-se que após a repicagem que a velocidade de incremento no diâmetro do caule das plantas cultivadas no substrato autoclavado foi maior, mostrando um comportamento cúbico (Figura 10A). Os fatores substratos e inoculação não proporcionaram diferenças significativas entre si, com relação ao incremento da variável diâmetro do caule (Figura 10B).

Assim como na variável altura, visualizou-se no diâmetro do caule das plantas submetidas a substrato autoclavado maior desenvolvimento, o que será refletido posteriormente a campo. Vale salientar que a qualidade da muda é de suma importância e sendo essa bem formada nas fases iniciais do desenvolvimento tendem a formar pomares de sucesso (Schäfer, 2004).

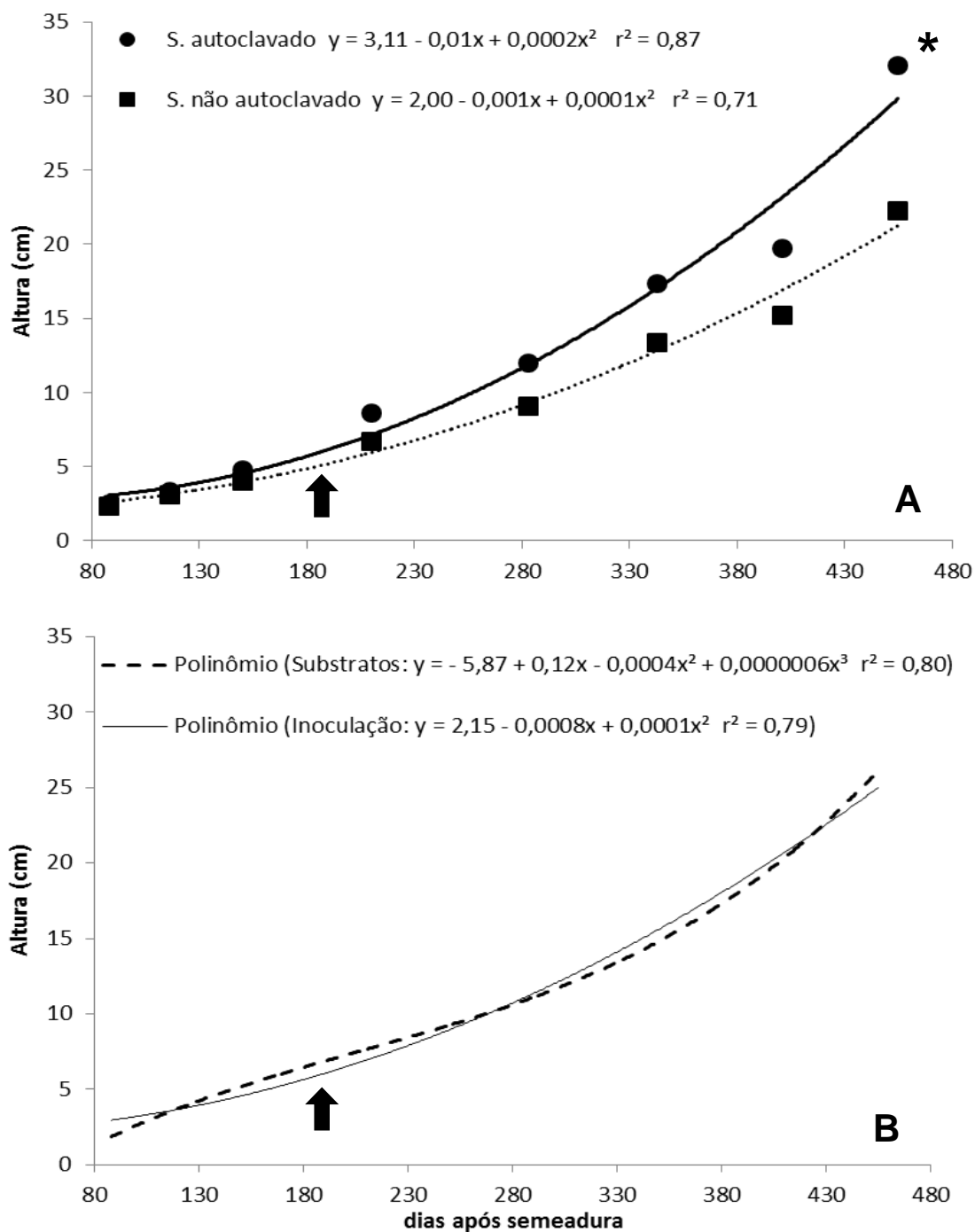


FIGURA 9. Incremento em altura (cm) das plantas ao longo dos dias após semeadura (DAS) de tangerineira 'Sunki' cultivada em dois substratos comerciais na fase de sementeira, (A) submetidos ou não a desinfestação e (B) inoculação de *Scutellospora heterogama* ou não. Momento da repicagem (seta). *Médias diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Porto Alegre, 2011.

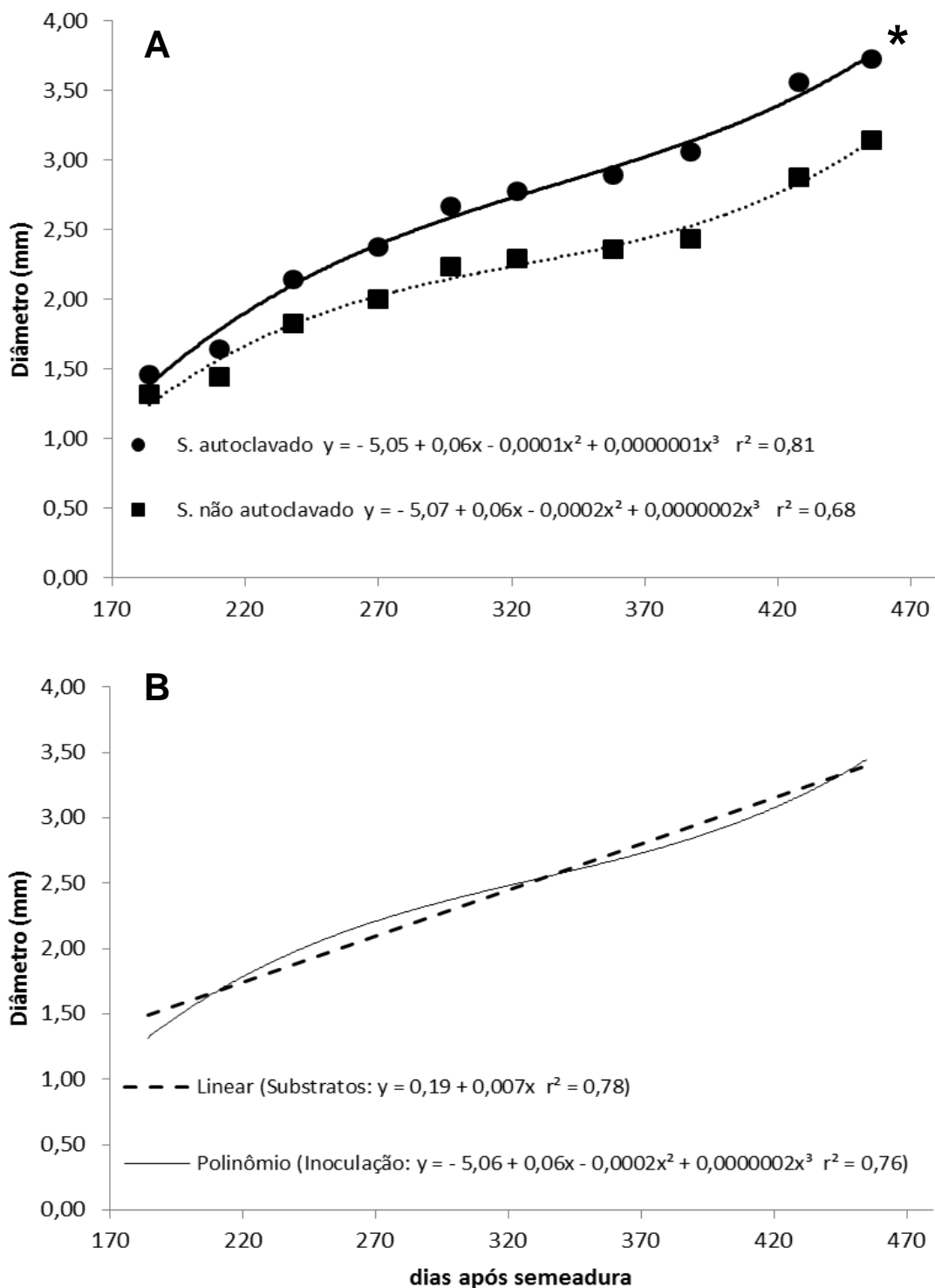


FIGURA 10. Incremento em diâmetro do caule (mm) das plantas ao longo dos dias após semeadura (DAS) de tangerineira 'Sunki' cultivada em dois substratos comerciais na fase de sementeira, **(A)** submetidos ou não a desinfestação e **(B)** inoculação de *Scutellospora heterogama* ou não. *Médias diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Porto Alegre, 2011.

Analisando-se as variáveis número de folhas, massa fresca e seca de

raiz e massa seca de raiz, observou-se maiores incrementos nas plantas de tangerineira 'Sunki' cultivadas em substrato submetido a autoclavagem (Tabela 9). Os fatores substratos e inoculação não proporcionaram diferenças significativas no incremento dessas variáveis. Conforme observado nas variáveis altura e diâmetro do caule, houve maior desenvolvimento nas plantas cultivadas em substrato desinfestado. Esse fato confirmou-se nas demais variáveis analisadas (Tabela 9). No entanto, não houve diferença entre os tratamentos de desinfestação de substratos para área foliar (comportamento também observado para o citrangeiro 'Fepagro C 37') e M.S.P.A.

TABELA 9. Número de folhas, área foliar, massa fresca de raiz e parte aérea (M.F.R. e M.F.P.A.) (g), massa seca de raiz e parte aérea (M.S.R. e M.S.P.A.) (g) de tangerineira 'Sunki' cultivada em dois substratos comerciais (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de *Scutellospora heterogama*. Porto Alegre, 2011.

	Nº de folhas	Área foliar (cm ²) ¹		
S. autoclavado	24,12 **	767,52 ^{ns}		
S. não autoclavado	17,64	598,89		
C.V.%	21,41	8,50		
	M. F. R. (g) ¹	M. F. P.A (g) ¹	M. S. R. (g) ¹	M. S. P. A (g)
S. autoclavado	37,47 **	36,88 *	9,87 **	13,15 ^{ns}
S. não autoclavado	24,86	25,25	6,22	10,33
C.V.%	12,22	15,92	20,75	35,71

*, ** = significativo a 5% e 1%, respectivamente pelo teste de Tukey. (1) Dados transformados log(x).

A semelhança do verificado no Estudo 2 – Experimento 1 com citrangeiro 'Fepagro C 37', visualiza-se que tanto na fase de sementeira como de viveiro há intensa colonização micorrízica nas raízes de tangerineira 'Sunki', inclusive nos tratamentos que não receberam *S. heterogama* (Tabelas 10).

Na interação ocorrida entre os diferentes substratos e a desinfestação, houve superioridade do substrato Comercial 1, sendo o menor número de arbúsculos encontrado no substrato Comercial 2 autoclavado (Tabelas 10). As

plantas submetidas ao cultivo em substrato Comercial 2 apresentaram comportamento intermediário a esses. O fato verificado foi semelhante ao ocorrido quando o porta-enxerto citrangeiro 'Fepagro C 37' foi testado nas mesmas condições desse experimento (Tabela 6). Já na interação entre os fatores desinfestação e inoculação, houve menor número de arbúsculos no tratamento testemunha autoclavado, sendo os demais tratamentos semelhantes entre si.

Os resultados obtidos confirmam que os substratos continham originalmente micorrizas arbusculares explicando a presença de estruturas de MA nas raízes de plantas não inoculadas (testemunha).

TABELA 10. Presença de arbúsculos em segmentos de raízes em fase de sementeira e viveiro, de tangerineira 'Sunki' cultivada em dois substratos comerciais (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de *Scutellospora heterogama*. Porto Alegre, 2011.

	Fase de sementeira		Fase de viveiro	
	Presença de arbúsculos ¹			
	S. autoclavado	S. não autoclavado		
Comercial 1	2,97 Aa	2,87 Aa	S. autoclavado	2,34
Comercial 2	1,77 Bb	2,24 Ab	S. não autoclavado	2,78*
Testemunha	2,28 Ba	2,63 Aa	Testemunha	2,30 ^{ns}
<i>Scutellospora heterogama</i>	2,46 Aa	2,48 Aa	<i>Scutellospora heterogama</i>	2,81
C.V.%	1,41		C.V.%	5,45

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e maiúsculas na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. ^{ns} = dados não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey. Testemunha = sem inoculação. (1) Dados transformados x+10.

Na fase de viveiro, observa-se maior presença de arbúsculos, quando o substrato não foi autoclavado (Tabela 10). Não houve diferença no número de arbúsculos para os fatores substratos e inoculação. A superioridade do substrato Comercial 1 e do tratamento de inoculação observada em sementeira não se manteve na fase de viveiro. Pode-se supor que, inicialmente na fase de sementeira, fatores antagonistas ao *Scutellospora heterogama* presentes no

substrato Comercial 2, como o alto teor de matéria orgânica, presença de microorganismos competidores, podem ter prejudicado o desenvolvimento de plantas e do MA. Ao ser transferido, após o transplante, para outro substrato, esses fatores deixaram de atuar, permitindo incremento na colonização radicial.

A matéria orgânica ou compostos orgânicos presentes no substrato podem retardar ou inibir a colonização micorrízica, pois fazem com que a micorriza não seja necessária. De acordo com Souza *et al.* (2005) em substratos comerciais as MAs são importantes, pois elas são capazes de buscar nutrientes mais distantes ao volume de substrato onde as raízes estão estabelecidas. Porém, quando o substrato é melhor nutrido, a planta pode ser independente da micorriza para absorvê-los, sendo as MAs nessas condições prejudiciais, uma vez que estarão atuando como parasitas. Essa pode ser uma das justificativas do ocorrido neste experimento, corroborando ao trabalho de Souza *et al.* (2005) onde testando dois inóculos micorrízicos verificaram que a MA *A. scrobiculata* foi prejudicial ao desenvolvimento de 'Flying Dragon' em substrato constituído de solo + areia + resíduo decomposto de casca de acácia.

Não houve diferença significativa na presença de hifas na fase de sementeira e de viveiro.

No geral, destaca-se a importância da correta escolha e tratamento dos substratos, bem como o seu bom manejo na fase de sementeira, pois o desenvolvimento das plantas nessa fase está diretamente ligado ao desenvolvimento nas fases posteriores ao transplante.

À semelhança do ocorrido no experimento 1 com o porta-enxerto citrangeiro 'Fepagro C 37', a presença de arbúsculos foi, em geral, elevada e, a de hifas, foi baixa.

4.2.3 Experimento 3. Desinfestação do substrato Comercial 1 (utilizado na fase de sementeira) e inoculação de três espécies de FMA no cultivo de duas variedades de porta-enxertos cítricos

Analisando-se a emergência relativa, verifica-se que, independentemente da autoclavagem, a tangerineira 'Sunki' emergiu mais rapidamente que 'Fepagro C 37', já atingindo o máximo percentual aos 65 DAS (Figura 11). O citrangeiro 'Fepagro C 37' somente atingiu o máximo da emergência próximo aos 90 DAS. Ao final do período experimental o percentual de emergência foi semelhante entre todos os tratamentos.

Analisando-se a evolução da emergência das plântulas das duas variedades pode-se notar que antes do 75 dias após a semeadura (DAS) a tangerineira 'Sunki' já expressou sua máxima emergência de plântulas, a qual só foi atingida pelo citrangeiro 'Fepagro C 37' após os 85 DAS (Figura 11). Esse comportamento é explicado pelas temperaturas ocorridas nos primeiros meses de avaliação. A maioria das avaliações ocorreu no mês de agosto, período de temperaturas baixas, que prejudicou consideravelmente o 'Fepagro C 37'. Essa variedade, por ter como parental o *Poncirus trifoliata*, é bastante afetada pela temperatura, uma vez que para a germinação de sementes de 'Trifoliata', segundo Rouse (1997), a melhor temperatura seria em torno de 25°C. Observando-se um incremento em emergência quando a temperatura torna-se mais favoráveis ao seu desenvolvimento (após 73 DAS) (Figura 11).

Com relação a desinfestação do substrato, observa-se superioridade no percentual de plântulas emergidas no substrato não autoclavado no período compreendido entre os 60 e 70 DAS para a tangerineira 'Sunki' (Figura 11).

Porém, para o 'Fepagro C 37', houve superioridade do substrato não autoclavado até os 73 DAS a partir do qual foi superado em número de plântulas emergidas pelo cultivo em substrato desinfestado. Neste caso, diferentemente do observado nos experimentos 1 e 2, as sementes que foram semeadas em substrato autoclavado parecem ter sofrido algum tipo de atraso na germinação e, por consequência, na emergência.

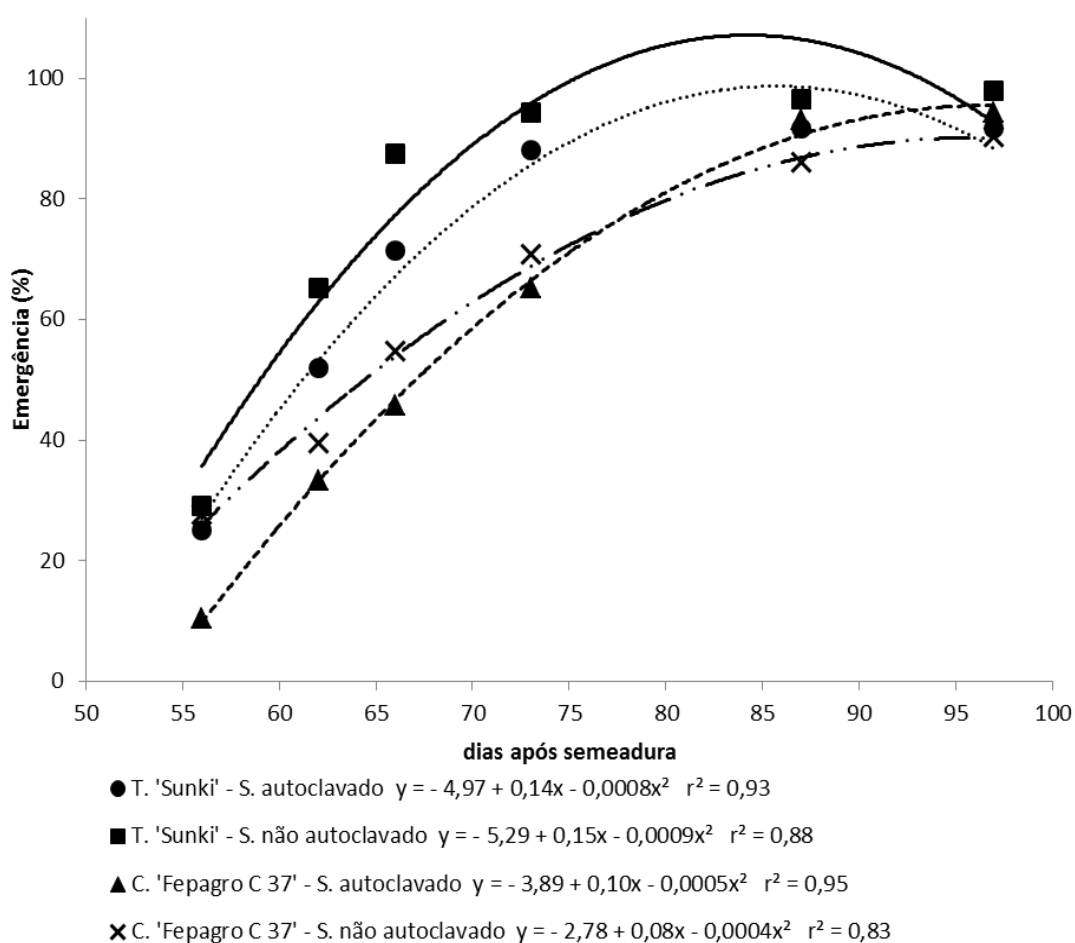


FIGURA 11. Evolução do percentual de plântulas emergidas ao longo dos dias após sementeira (DAS) de tangerineira 'Sunki' e citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivados no substrato Comercial 1 na fase de sementeira, submetidos ou não a desinfestação. Médias diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Porto Alegre, 2011.

A emergência de plântulas verificada na última data de avaliação (97

DAS) foi afetada por todos os fatores testados, havendo interação entre porta-enxertos e inoculação, desinfestação do substrato e porta-enxertos (Tabela 11).

TABELA 11. Emergência (%) e altura (cm) em fase de sementeira de tangerineira 'Sunki' e citrangeiro Fepagro 'C 37' cultivadas no substrato Comercial 1 (na fase de sementeira), inoculados com MA. Porto Alegre, 2011.

	Emergência (%)			
	Testemunha	<i>Scutellospora heterogama</i>	<i>Glomus etunicatum</i>	<i>Gigaspora margarita</i>
T. 'Sunki'	98,58 ABa	90,33 ABa	100,00 Aa	88,92 Ba
C. 'Fepagro C 37'	91,58 Aa	88,92 Aa	93,00 Aa	95,75 Aa
	S. autoclavado		S. não autoclavado	
T. 'Sunki'	91,00 Ba		97,92 Aa	
C. 'Fepagro C 37'	94,33 Aa		90,29 Ab	
C.V.%	10,62			
	Altura (cm) ¹			
	S. autoclavado	S. não autoclavado		
Testemunha	6,24 a			
<i>Scutellospora heterogama</i>	5,34 b			
<i>Glomus etunicatum</i>	6,08 a			
<i>Gigaspora margarita</i>	5,63 ab			
	S. autoclavado		S. não autoclavado	
T. 'Sunki'	4,46 Bb		4,76 Ab	
C. 'Fepagro C 37'	7,17 Aa		6,90 Aa	
C.V.%	6,50			

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e maiúsculas na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Testemunha=sem inóculo. (1) Dados transformados log(x).

Quanto à colonização micorrízica a tangerineira 'Sunki' atingiu 100% de emergência de plântulas somente quando inoculada com *Glomus etunicatum*. O menor número de plantas de 'Sunki' emergidas foi verificado quando se inoculou *Gigaspora margarita*, sendo a resposta dos demais tratamentos intermediários a esses (Tabela 11).

A emergência do citrangeiro 'Fepagro C 37' não foi afetada pelas diferentes MA inoculadas.

O comportamento já verificado na Figura 12, demonstra que para 'Sunki' houve maior emergência no substrato não autoclavado e para 'Fepagro C 37'

observou-se mais plântulas emergidas no substrato autoclavado (Tabela 11). No entanto, vale salientar que mesmo nos tratamentos em que houve algum atraso na germinação, houve mais de 90% de plântulas emergidas.

Para a variável altura de plântulas ao final da fase de sementeira (momento da repicagem) houve diferença significativa entre as MAs utilizadas e interação entre os fatores porta-enxerto e desinfestação (Tabela 11). Observou-se que nenhuma espécie de MA incrementou a altura das plantas, inclusive *Scutellospora heterogama* mostrou-se prejudicial ao crescimento primário das plantas (Tabela 11).

O fato da micorriza não proporcionar efeito na fase de sementeira, conforme já ocorrido nos experimentos 1 e 2, é explicado pelo pouco tempo decorrido desde a semeadura até a avaliação, uma vez que a micorriza precisa de um período para que colonize a raiz e estabeleça a simbiose com a planta. Esse resultado corrobora com os de Agostini (2002) e Anzanello *et al.* (2011), que realizaram estudo com porta-enxertos de videira, comparando efeito negativo das MAs nas fases iniciais de colonização.

Houve interação significativa entre os fatores porta-enxerto e desinfestação para a altura final na fase de sementeira (Tabela 11). O citrangeiro 'Fepagro C 37' não foi influenciado no quesito altura para a desinfestação do substrato. A tangerineira 'Sunki', além de apresentar menor altura que 'Fepagro C 37', teve seu crescimento primário prejudicado pela desinfestação.

A evolução do desenvolvimento vegetativo das plantas de tangerineira 'Sunki e citrangeiro 'Fepagro C 37' pode ser verificada nas figuras 12 e 13, que evidencia as fases de sementeira e viveiro, para a variável altura, e somente

fase de viveiro para a variável diâmetro. Com relação a altura das plantas, observa-se que houve diferenças significativas entre os porta-enxertos testados e a desinfestação do substrato (Figura 12A e 12B) , porém não houve diferença entre as MAs inoculadas (Figura 12C).

O incremento em altura do citrangeiro 'Fepagro C 37' foi linear e a tangerineira 'Sunki' foi quadrático (Figura 12A). Inicialmente 'Sunki' apresentou incremento em altura mais lento que o 'Fepagro C 37', porém, ao final do experimento ele ultrapassou o 'Fepagro C 37' em altura de plantas (Figura 12A).

Com relação aos tratamentos de desinfestação, observa-se no início do desenvolvimento o comportamento dos tratamentos foi semelhante entre si, porém, ao longo do crescimento das plantas, a desinfestação proporcionou ganhos mais acelerados de altura às plantas (Figura 12B).

O diâmetro do caule apresentou discrepância em desenvolvimento somente quando se comparou as variedades porta-enxerto onde 'Fepagro C 37' apresentou maior diâmetro ao longo do experimento (Figura 13A). Observa-se que a evolução em ambas variedades foi cúbica, havendo momentos de menor velocidade de desenvolvimento secundário das plantas devido a temperaturas baixas, inadequadas ao desenvolvimento das plantas (em torno de 20°C ou inferiores). De acordo com Oliveira *et al.* (2001) os porta-enxertos têm seu desenvolvimento otimizado quando cultivados em temperaturas de 26 – 28°C.

A desinfestação dos substratos e a inoculação com MA (Figura 13B) não influenciaram o crescimento secundário das plantas, verificando-se em todos os tratamentos um incremento linear positivo ao longo do período experimental.

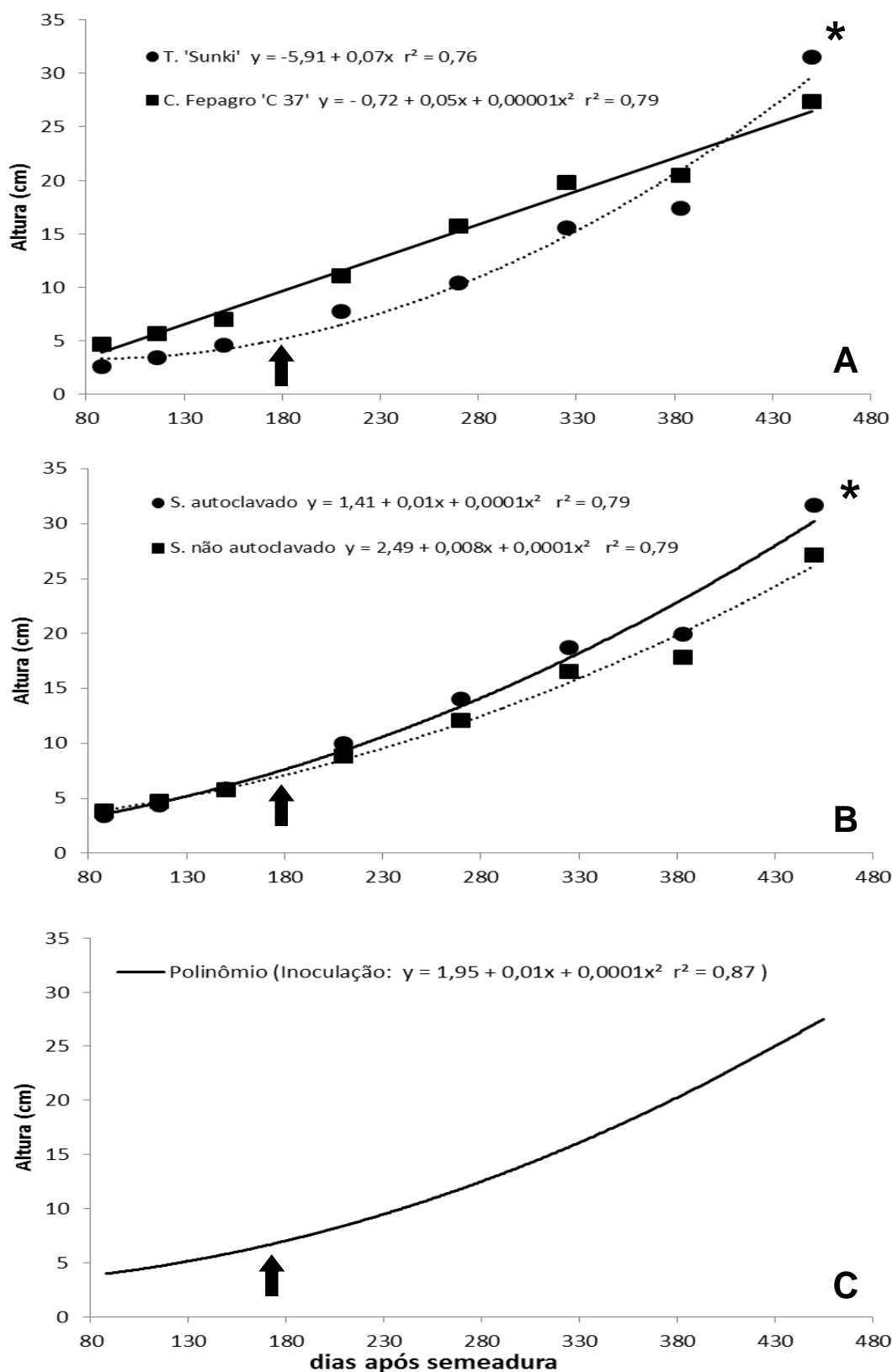


FIGURA 12. Evolução da altura das plântulas (cm) ao longo dos dias após semeadura (DAS) de (A) tangerineira 'Sunki' e citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivados no substrato Comercial 1 (na fase de sementeira), (B) submetidos ou não a desinfestação ou inoculação micorrízica (C). Momento da repicagem (seta) *Médias diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Porto Alegre, 2011.

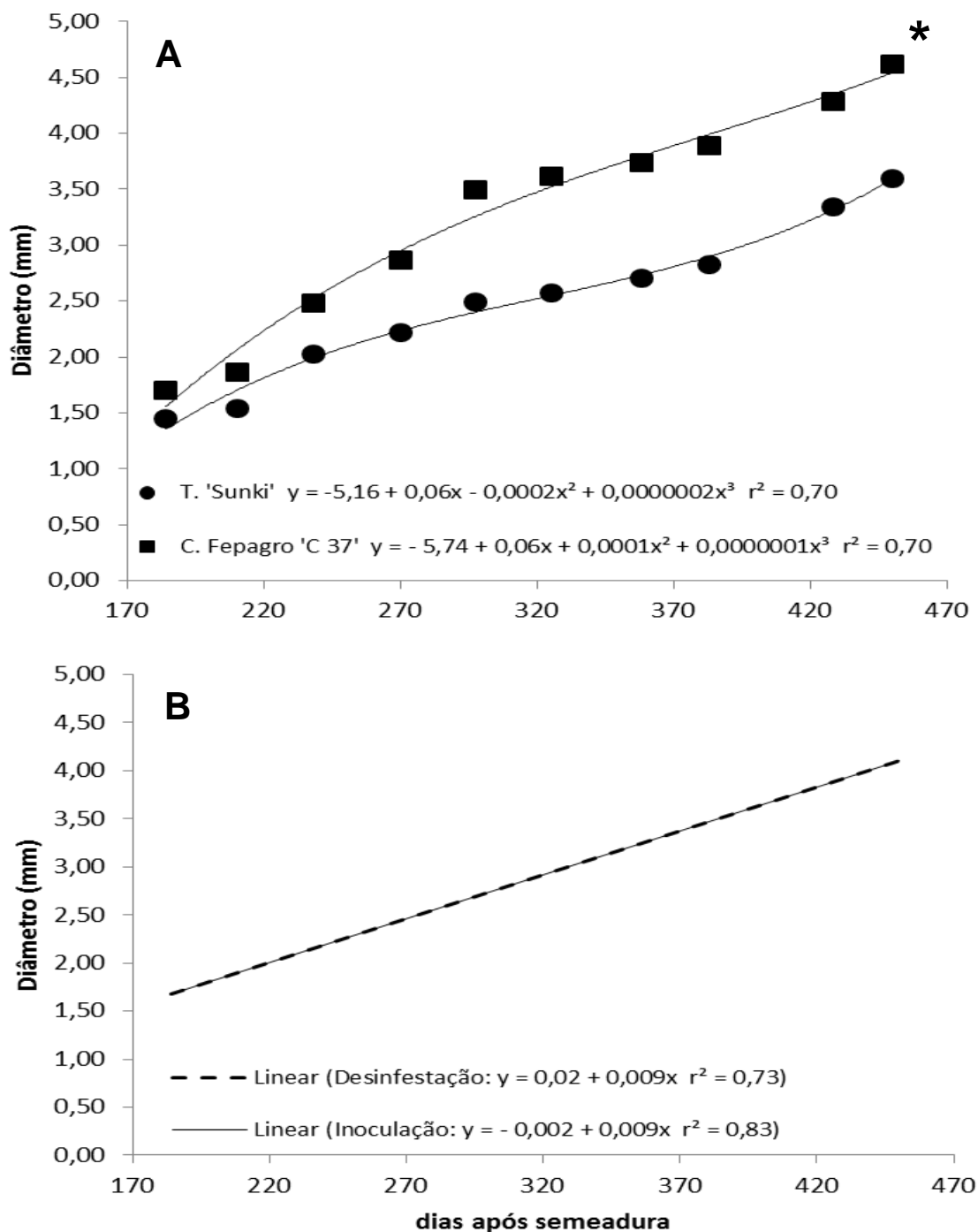


FIGURA 13. Evolução do diâmetro do caule (mm) das plântulas ao longo dos dias após semeadura (DAS) de (A) tangerineira 'Sunki' e citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivados no substrato Comercial 1 (na fase de sementeira), (B) submetidos ou não a desinfestação. *Médias diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Porto Alegre, 2011.

Verificando-se o desenvolvimento das plantas em fase de viveiro percebe-se que 'Sunki' e 'Fepagro C 37' diferiram em altura, diâmetro, número de folhas e área foliar (Tabela 12). O 'Fepagro C 37' somente superou a 'Sunki'

na variável diâmetro do caule.

TABELA 12. Altura (cm), diâmetro ao nível do colo (mm), número de folhas e área foliar (cm²) de tangerineira 'Sunki' e citrangeiro Fepagro 'C 37' cultivadas no substrato Comercial 1 (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de MA. Porto Alegre, 2011.

	Altura (cm)	Diâmetro (mm) ¹	Nº folhas ¹	Área foliar
T. 'Sunki'	31,55 **	3,54	24,95 **	855,30 **
C. 'Fepagro C 37'	27,03	4,70 **	14,97	473,92
S. autoclavado	31,49 **	4,23 ^{ns}	20,68 ^{ns}	688,47 ^{ns}
S. não autoclavado	27,09	4,00	19,24	640,79
C.V.%	21,08	8,64	7,34	30,35

*, ** = significativo a 5% e 1%, respectivamente; ^{ns} = dados não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey.
(1) Dados transformados log(x).

Comportamento semelhante a esse foi encontrado por Teixeira *et al.* (2009b), em experimento realizado com intuito de comparar recipientes. Os autores comentaram que a tangerineira 'Sunki' quando comparada ao citrangeiro 'Fepagro C 37' apresentou crescimento menos vigoroso em diâmetro da haste e apresentou maior área foliar.

Com relação ao fator desinfestação de substrato, esse somente surtiu efeito na variável altura, proporcionando maior altura para as plantas cultivadas em substrato autoclavado (Tabela 12). As demais variáveis não diferiram.

A inoculação micorrízica não mostrou eficiência no incremento de altura, diâmetro do caule, número de folhas e área foliar. Tal ausência de diferença entre os tratamentos pode estar relacionada à mudança de substrato após o transplante, bem como à contaminação, que serão discutidas mais adiante. Resposta semelhante foi encontrada no experimento 1 para o porta-enxerto 'Fepagro C 37', não havendo diferença significativa entre número de folhas e área foliar entre os fatores desinfestação de substratos e inoculação. No experimento 2, quando se avaliou a tangerineira 'Sunki', também não se verificou diferença significativa na variável área foliar entre os tratamentos de

autoclavagem e inoculação.

Ausência de efeitos positivos dos MAs já foram verificados por outros pesquisadores. Lopes (2009), testando desenvolvimento de mudas de grumixameira inoculadas com *Glomus etunicatum*, *Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita* e *Acaulospora* sp., e Souza *et al.* (2005), inoculando *G. clarum* e *Acaulospora* sp. em 'Flying Dragon' verificaram que não houve diferenças significativas no desenvolvimento vegetativo em altura e diâmetro do caule das plantas.

As variáveis massa fresca da raiz e massa fresca da parte aérea foram afetadas pelos fatores variedades porta-enxerto e desinfestação do substrato (Tabela 13). O citrangeiro 'Fepagro C 37' apresentou maior massa fresca de raiz, enquanto que a 'Sunki' apresentou maior massa fresca de parte aérea. No substrato autoclavado as plantas apresentaram maior massa fresca de raiz e semelhante massa fresca de parte aérea. A inoculação das diferentes MAs não foi eficiente no incremento de massa fresca de raiz e parte aérea (Tabela 13).

Com relação a massa seca das plantas, houve interação do fator porta-enxerto e desinfestação de substrato, sendo o citrangeiro 'Fepagro C 37' superior a tangerineira 'Sunki' (Tabela 13). O citrangeiro 'Fepagro C 37' apresentou maior massa seca de raiz no substrato desinfestado enquanto que 'Sunki' não foi afetada significativamente para este fator. A massa seca de raiz não foi afetada pela inoculação micorrízica (Tabela 13).

As MAs não alteraram a massa seca da parte aérea das plantas cultivadas em substrato autoclavado (Tabela 13). Porém, em ausência de autoclavagem todas as espécies proporcionam maior massa seca de parte aérea comparativamente às plantas testemunha.

Em estudo realizado por Lopes (2009) as micorrizas inoculadas não proporcionaram incremento em massa seca de raiz e parte aérea, sendo atribuído ao reduzido volume do recipiente em que as plantas foram cultivadas que não foram favoráveis ao desenvolvimento das raízes e, logicamente, das plantas.

TABELA 13. Massa fresca de raiz e parte aérea (M.F.R. e M.F.P.A.) (g), massa seca de raiz e parte aérea (M.S.R. e M.S.P.A.) (g) de tangerineira 'Sunki' e citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivadas no substrato Comercial 1 (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de MA. Porto Alegre, 2011.

	M. F. R. (g)		M. F. P. A. (g)	
T. 'Sunki'	31,13		36,17 **	
C. 'Fepagro C 37'	47,23 **		24,92	
S. autoclavado	43,95*		33,09 ^{ns}	
S. não autoclavado	34,41		28,00	
C.V.%	9,14		9,81	
M. S. R. (g)				
	S. autoclavado		S. não autoclavado	
T. 'Sunki'	9,14 Ab		7,42 Ab	
C. 'Fepagro C 37'	15,23 Aa		11,97 Ba	
C.V.%	13,29			
M. S. P. A. (g)				
	Testemunha	<i>Scutellospora heterogama</i>	<i>Glomus etunicatum</i>	<i>Gigaspora margarita</i>
S. autoclavado	13,24 Aa	12,21 Aa	13,06 Aa	10,37 Aa
S. não autoclavado	8,12 Ba	10,18 Aa	10,54 Aa	12,69 Aa
C.V.%	13,00			

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e maiúsculas na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. *, ** = significativo a 5% e 1%, respectivamente; ^{ns} = dados não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey. Testemunha= sem inóculo.. Dados transformados log(x).

Houve superioridade em número de arbúsculos nos tratamentos com MAs na fase de sementeira (Tabela 14). Porém, não houve diferença significativa quando utilizou-se diferentes porta-enxertos e desinfestação do substrato.

Com relação a presença de vesículas nas raízes, houve interação entre os fatores avaliados, sendo encontrada maior quantidade de vesículas, de forma geral, no porta-enxerto 'Fepagro C 37', embora não diferindo de 'Sunki'

no tratamento testemunha e *G. etunicatum*. Na interação entre desinfestação e MAs, quando se utilizou o substrato autoclavado houve maior presença de vesículas na *G. margarita*, enquanto que no substrato não autoclavado, houve maior quantidade de vesículas de *S. heterogama*, não diferindo de *G. etunicatum*.

As hifas estiveram presentes também em todos os tratamentos, inclusive no testemunha, sendo significativas as interações entre porta-enxertos e MAs; entre porta-enxertos e desinfestação do substrato e, ainda, entre inoculação e desinfestação (Tabela 14). A presença de hifas foi semelhante entre os dois porta-enxertos em todos os tratamentos de inoculação, com exceção da *S. heterogama*, que proporcionou maior quantidade de hifas na tangerineira 'Sunki' e a menor no citrangeiro 'Fepagro C 37'.

Houve interação entre autoclavagem e inoculação, sendo que a *G. margarita* se destacou em relação aos demais tratamentos no substrato autoclavado (Tabela 14). No substrato não autoclavado, *S. heterogama* proporcionou maior presença de hifas. Cabe destacar que para todos os tratamentos a presença de hifas foi muito baixa. Isso nos leva a crer que a desinfestação do substrato pode ter sido ineficiente no sentido que mesmo no tratamento testemunha foi verificada a presença de MAs. Ainda, pode-se supor que houve contaminação entre tratamentos, apesar de todo cuidado que foi demandado na realização do experimento.

A interação entre variedades porta-enxerto e desinfestação de substrato, quanto a presença de hifas evidencia que estas estruturas foram mais presentes na tangerineira 'Sunki' cultivadas no substrato não autoclavado (Tabela 14). O citrangeiro 'Fepagro C 37' apresentou a mesma quantidade de

hifas independentemente da desinfestação. Esta desinfestação não influenciou a presença de hifas entre os substratos, mas reduziu a mesma no 'Fepagro C 37' cultivado em substrato não desinfestado (Tabela 14).

TABELA 14. Presença de estruturas de tangerineira 'Sunki' e citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivadas no substrato Comercial 1 (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de MA em fase de sementeira. Porto Alegre, 2011.

Fase de sementeira				
Presença de arbúsculos				
Testemunha	2,34 b			
<i>Scutellospora heterogama</i>	2,96 a			
<i>Glomus etunicatum</i>	2,90 a			
<i>Gigaspora margarita</i>	2,98 a			
C.V.%	16,93			
Presença de vesículas ¹				
	T. 'Sunki'	C. 'Fepagro C 37'	S. autoclavado	S. não autoclavado
Testemunha	0,00 Aa	0,01 Ab	0,01 Ab	0,00 Ab
<i>Scutellospora heterogama</i>	0,03 Ba	0,36 Aa	0,00 Bb	0,39 Aa
<i>Glomus etunicatum</i>	0,05 Aa	0,12 Aab	0,03 Ab	0,14 Aab
<i>Gigaspora margarita</i>	0,07 Ba	0,33 Aa	0,34 Aa	0,05 Bb
C.V.%	1,84			
Presença de hifas				
	T. 'Sunki'	C. 'Fepagro C 37'	S. autoclavado	S. não autoclavado
Testemunha	1,07 Ab	1,23 Aa	1,18 Aa	1,12 Ab
<i>Scutellospora heterogama</i>	1,87 Aa	1,00 Ba	1,00 Ba	1,87 Aa
<i>Glomus etunicatum</i>	1,13 Ab	1,28 Aa	1,07 Ba	1,34 Ab
<i>Gigaspora margarita</i>	1,17 Ab	1,00 Aa	1,00 Ba	1,17 Ab
			S. autoclavado	S. não autoclavado
T. 'Sunki'			1,05 Ba	1,57 Aa
C. 'Fepagro C 37'			1,07 Aa	1,18 Ab
C.V.%	10,88			

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e maiúsculas na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. ** = significativo a 1%, respectivamente pelo teste de Tukey. Testemunha= sem inóculo. (1) Dados transformados x+10.

Na fase de viveiro observou-se maior número de arbúsculos nas raízes de citrangeiro 'Fepagro C 37' (Tabela 15). A quantidade de hifas e vesículas foi semelhante nas raízes dos dois porta-enxertos estudados. A presença de arbúsculos, hifas e vesículas não variou entre as plantas cultivadas nos substratos autoclavado e não autoclavado, bem como entre os tratamentos de inoculação (Tabela 15). Houve interação entre porta-enxertos e inoculação de

MA. Na interação verificou-se inferioridade na quantificação de arbúsculos somente no tratamento testemunha de tangerineira 'Sunki', sendo os demais tratamentos semelhantes entre si (Tabela 15). A presença de arbúsculos é considerada elevada em todos os tratamentos, enquanto que a de hifas é baixa e de vesículas muito baixa.

TABELA 15. Presença de estruturas de tangerineira 'Sunki' e citrangeiro 'Fepagro C 37' cultivadas no substrato Comercial 1 (na fase de sementeira), submetidos ou não a desinfestação e inoculação de MA em fase de viveiro. Porto Alegre, 2011.

	Fase de viveiro		
	arbúsculos	hifas	vesículas ¹
T. 'Sunki'	2,52	1,13 ^{ns}	0,04 ^{ns}
C. 'Fepagro C 37'	2,93 ^{**}	1,11	0,05
C.V.%	17,61	14,17	1,18

	Presença de arbúsculos	
	T. 'Sunki'	C. 'Fepagro C 37'
Testemunha	1,97 Bb	2,94 Aa
<i>Scutellospora heterogama</i>	2,71 Aa	2,85 Aa
<i>Glomus etunicatum</i>	2,64 Aa	2,96 Aa
<i>Gigaspora margarita</i>	2,77 Aa	2,97 Aa
C.V.%	17,16	

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e maiúsculas na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Testemunha= sem inóculo. (1) Dados transformados x+10.

Na família *Gigasporaceae*, que contém os gêneros *Gigaspora* e *Scutellospora*, não são encontradas vesículas e, sim, células auxiliares extraradiculares, que normalmente são encontradas agrupadas (Lambais & Ramos, 2010). Neste estudo verificou-se a presença de vesículas, mesmo que em pequena quantidade, tanto na fase de sementeira como em viveiro nos tratamentos de *S. heterogama* e *G. margarita*. Isso nos leva a crer que houve contaminação entre os tratamentos durante a execução do estudo, ou que já havia contaminação no próprio inóculo utilizado. Na figura 14 pode-se visualizar exemplos das estruturas dos fungos.

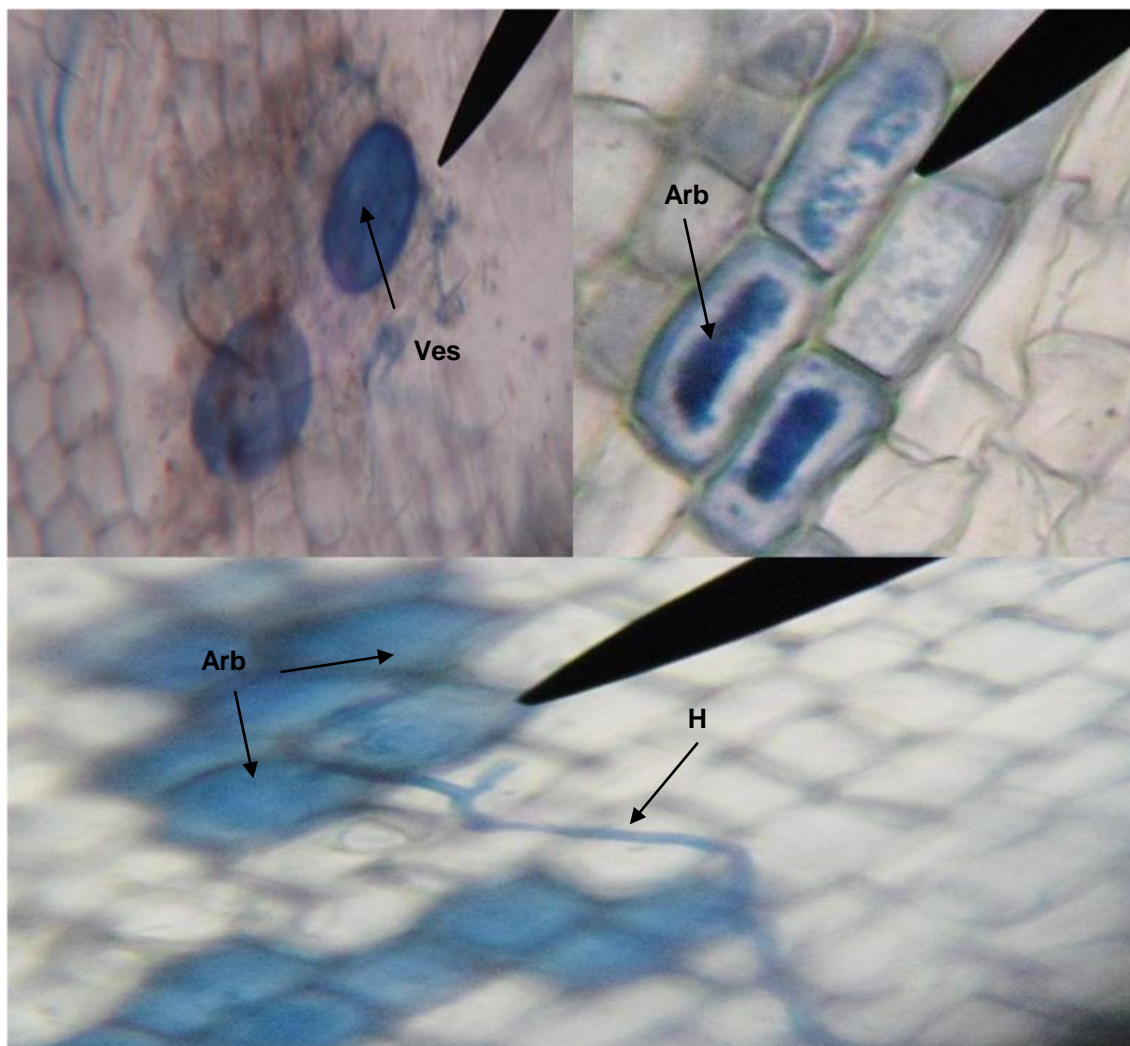


FIGURA 14. Imagem da colonização micorrízica, destacando-se as estruturas do fungo Ves = vesículas; Arb = arbúsculos e H = hifas (Aumento de 400x). Foto: Sandra Rieth

As MAs têm grande importância para as plantas cítricas, porém o bom funcionamento da simbiose depende de fatores ambientais, de características inerentes as variedades porta-enxerto (exigência nutricional, vigor, presença de radicelas) e do fungo (compatibilidade com a planta, capacidade de tolerância a circunstâncias desfavoráveis como competição com outros microorganismos, altos teores de sais no substrato, entre outros fatores) (Moreira & Siqueira, 2002). A combinação porta-enxerto e espécie de MA escolhidas podem ter apresentado pouca afinidade.

A contaminação verificada entre os tratamentos pode ter ocorrido

devido a algum descuido no manejo das bandejas ao longo do experimento, nas operações de irrigação ou até mesmo por insetos (formigas), que possam ter levado estruturas de MA de uma bandeja à outra.

Além disso, ocorreram períodos onde as plantas micorrizadas apresentaram menor desenvolvimento do que as testemunha. Pode-se supor que há microorganismos no substrato que estão prejudicando o desenvolvimento da MA inoculada, por competição (outros fungos) ou por inibição. Esses provavelmente estavam originalmente no substrato e quando esse não foi submetido a autoclavagem, houve prejuízo no desenvolvimento da MA. Por sua vez, supõe-se que a desinfestação por autoclavagem não tenha sido tão eficiente, uma vez que verificou-se durante o período de execução do experimento a emergência de plantas daninhas e cogumelos, tanto no substrato autoclavado como no não autoclavado.

No início do desenvolvimento das plantas a falta de efeito da micorriza pode ser explicada pelo processo de colonização radicial, onde as MAs podem atuar como parasita e utilizar todo carbono para o seu crescimento (Agostini, 2002; Anzanello *et al.*, 2011). Após essa fase, já com as raízes colonizadas, é formada a simbiose e então ela passa a contribuir para o crescimento das plantas em troca de nutrientes. Em alguns experimentos por sua curta duração, pode que não tenha havido tempo para as MAs expressarem seu potencial.

A nutrição do meio em que as MAs são cultivadas é de suma importância uma vez que elas não se desenvolvem bem onde há grande disposição de matéria orgânica (Menge *et al.*, 1982) e nutrientes, uma vez que a planta cultivada em substrato rico em nutrientes pode não necessitar da micorriza para absorvê-los (Silveira *et al.*, 2003; Souza *et al.*, 2005). Neste caso

é provável que a ação da MA seja prejudicial pois ela acaba consumindo os nutrientes das plantas (parasitando).

No que se refere aos recipientes onde as plantas foram cultivadas, devido ao pequeno tamanho das células e longo período em que as plantas permaneceram nessas, ocorreu a ocupação das raízes por todo o volume de substrato existente, ou seja, todo alvéolo. Assim, a micorriza torna-se desnecessária para as plantas porque elas já estão explorando todo o volume de substrato disponível para seu desenvolvimento. No entanto, quando repicadas para recipientes maiores normalmente proporcionam um intenso incremento em crescimento vegetativo, como verificado por Lopes (2009) em mirtáceas.

Há diferença nos conceitos de dependência micorrízica e responsividade da planta à micorriza. A dependência varia em função das plantas e das condições de crescimento; a responsividade varia em função do ambiente e do fungo (Silveira *et al.*, 2003; Nunes, 2004). Então, pode-se explicar que houve grande colonização micorrízica neste estudo, comprovando a dependência das plantas cítricas por MAs, porém, essa micorrização não foi eficiente por não apresentar incremento no desenvolvimento das plantas.

Muitos pesquisadores já relataram os efeitos benéficos de micorrizas em plantas cítricas e também sua dependência micorrizica (Cardoso *et al.*, 1986; Souza, 1995; Schmitz *et al.*, 2001; Nunes, 2004; Souza *et al.*, 2000; Souza *et al.*, 2005; Silveira, 2006). No entanto, as variedades porta-enxertos testadas nesse estudo podem não ser tão dependentes de micorrização como os demais porta-enxertos já avaliados e, portanto, a presença de MA não fez diferença no desenvolvimento das plantas.

5 CONCLUSÕES GERAIS

Nas condições do presente estudo conclui-se, que:

- O substrato Comercial 1, em geral, proporciona mais rápida emergência das variedades porta-enxerto.
- Altos teores de sais solúveis (TTSS (g.L^{-1}) dos substratos podem prejudicar a emergência das plântulas.
- Os substratos Comercial 1 e Comercial 2, manejados adequadamente, proporcionam desenvolvimento satisfatório às plantas, sendo recomendados para citricultura.
- *Poncirus trifoliata* é pouco vigoroso, o limoeiro 'Volkameriano' é altamente vigoroso; o citrumeleiro 'Swingle' e a tangerineira 'Sunki' apresentam vigor intermediário.
- A desinfestação do substrato é fundamental para o bom desenvolvimento das plantas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Alguns aspectos relevantes da execução do estudo serão relatados a seguir, no intuito de contribuir com uma possível continuidade de trabalhos tratando do mesmo tema.

- Verificou-se que somente havia a recomendação do fabricante do substrato Comercial 1 indicando a necessidade de hidratação inicial do substrato. Sugere-se que essa hidratação prévia seja feita para todos os substratos que forem utilizados, pois este manejo pode favorecer a embebição inicial das sementes e, conseqüentemente, acelerar o processo germinativo e, posteriormente, a emergência de plântulas.
- Os substratos utilizados devem ser desinfestados para o melhor desenvolvimento das plantas e eliminação de microorganismos patogênicos e propágulos de plantas daninhas que possam estar presentes.
- Há necessidade de se testar mais métodos de desinfestação de substratos, uma vez que essa é de suma importância para o crescimento das plantas por proporcionar um ambiente mais favorável ao seu desenvolvimento vegetativo.
- O inóculo deve ser testado previamente com objetivo de testar se há

presença somente da MA desejada.

- 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.
- No processo de preparo das raízes para quantificação das estruturas de MA, teve-se que adaptar o método escolhido visto que o original não foi eficaz. Esse processo foi demorado e sugere-se que sejam feitos testes preliminares sempre que for de interesse a quantificação e visualização dos MAs, pois cada raiz varia em sua estrutura, segundo espécie vegetal, tipo de substratos usado, etc, necessitando ajustes para perfeita avaliação.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINI, S. **Fungos micorrízicos arbusculares e o desenvolvimento de porta-enxertos de videira**. 2002. 57 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Fitotecnia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

ANZANELLO, R.; SOUZA, P. V. de; CASAMALI, B. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em porta-enxertos micropropagados de videira. **Bragantia**, Campinas, v.70, n.2, p. 409-415, 2011.

AZEVEDO, I. C.; SILVEIRA, A. P. D.; OLIVEIRA, E. Efeito da adubação fosfatada e de fungos micorrízicos arbusculares na produção de muda de mangueira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 5., Lavras, 1995. **Resumos...** Lavras: ESAL, 225 p., 1995.

BRASIL. **Instrução normativa nº 14 de 15 de dezembro de 2004**. Estabelece as definições e normas sobre as especificações e as garantias, as tolerâncias, o registro, a embalagem e a rotulagem dos substratos para plantas. Disponível em:

<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>. Acesso em 26 de mar. 2012.

BRASIL. Instrução Normativa nº 24, de 16 de dezembro de 2005. Estabelece as Normas para produção, comercialização e utilização de mudas no estado do Rio Grande do Sul. **Diário Oficial da União**, Brasília, de 20/12/2005, Seção 1, p.5. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=15074>>. Acesso em: 27 mar. 2012.

CALGARO, S. A demanda de substrato no setor florestal. In: KÄMPF, A. N.; FERMINO, M. A. (Ed.) **Substrato para plantas**: a base da produção vegetal em recipientes. Porto Alegre: Gênese, p. 157-158, 2000.

CARDOSO, E. J. B. N., *et al.* Eficiência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em porta-enxertos de citros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.10, p. 25-30, 1986.

CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do Solo**. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 360 p., 1992.

CRIPPS, C. Endotrophic mycorrhiza. In: MALOY, O.C.; MURRAY, T.D. (Ed.) **Encyclopedia of Plant Pathology**. Nova York: John Willey & Sons, p. 405-407, 2001.

CRUZ, C., *et al.* Arbuscular mycorrhiza in plant physiological and morphological adaptations. In: AJIT, 5.ed. **Mycorrhiza; State of the Art, Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics**. Heidelberg, Springer-Verlag, p. 733-754, 2008.

DINIZ, P.F.A. **Influência do fungo micorrízico arbuscular (*Glomus clarum*) sobre características biofísicas, nutricionais, metabólicas e anatômicas em plantas jovens de seringueira**. 2007. 112 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

ENDO, A. M., *et al.* Formação de mudas de maracujá. Campinas: CATI, 1992. 3p. **(Comunicado técnico, 93)**. 1992.

FAO. **FAOSTAT**. Database results. Rome, 2012. Disponível em <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 03 mar. 2012.

FERMINO, M. H. **Aproveitamento de resíduos de industriais e agrícolas como alternativas de substratos hortícolas**. 1996. 90 f. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-graduação em Fitotecnia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1996.

FERMINO, M. H, TRENTIN, A. L.; KÄMPF, A. N. Caracterização física e química de materiais alternativos para composição de substratos para plantas: 1. resíduos industriais e agrícolas. In: KÄMPF, A. N.; FERMINO, M. H. **Substratos para plantas**. Porto Alegre: Gênese, p. 241-248, 2000.

FOCHESATO, M. L., *et al.* Alterações nas características químicas de três substratos comerciais na produção de mudas cítricas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, p. 1040-1046, 2008.

FOCHESATO, M.L., *et al.* Crescimento vegetativo de porta-enxertos de citros produzidos em substratos comerciais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, p. 970-975, 2007.

FOCHESATO, M. L., *et al.* Produção de mudas cítricas em diferentes porta-enxertos e substratos comerciais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p. 1397-1403, set-out, 2006.

GHINI, R. **Coletor solar para desinfestação de substratos para produção de plantas sadias**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 5p. Circular técnica

GHINI, R., *et al.* Efeito da solarização sobre propriedades físicas, químicas e biológicas de solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, n. 1, p. 71-79, 2003.

GRAHAM, J. H.; EISSENSTAT, D. M., DROVILLARD, D. L. On the relationship between a plants mycoeehizal dependency and rate of vesicular-arbuscular mycorrhiral colonization. **Functional Ecology**, Oxford, v.5, p. 773-779, 1991.

GRAHAM, J. H.; EISSENSTAT, D. M. Field evidence for carbon cost of citrus mycorrhizas. **New Phytologist**, USA, v.140, p.103-110, 1998.

GRUSZYNSKI, C. **Resíduo agro-industrial “casca de tungue” como componente de substrato para plantas**. 2002. 100 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós- Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

HONRUBIA, M.; *et al.* **Bioteconología forestal: micorrización y micropropagación**. Murcia: Universidad de Murcia, 92 p., 1993.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/>. Acesso em: 20 mar. 2012.

KÄMPF, A. N. Seleção de materiais para uso como substrato. In: KÄMPF, A. N.; FERMINO, M. H. (Ed.) **Substratos para plantas**. Porto Alegre: Gênese, p. 139-145, 2000.

KÄMPF, A. N., MAGALHÃES, R., MALTZ, R. Comparação de métodos na caracterização básica de substrato para plantas e condicionadores de solo. In: FÓRUM LATINO-AMERICANO DE PLANTAS ORNAMENTAIS, 2., 2005, [Nova Petrópolis]. **Livro de resumos...** Nova Petrópolis, p. 96-97, 2005.

KATAN, J.; VAY, J. E. de. Soil solarization: historical perspectives, principles, and uses. In: KATAN, J.; VAY, J. E. de (Ed.). **Soil solarization**. Boca Raton : CRC, p. 23-37, 1991.

KING, M.W.; ROBERTS, E.H. **The storage of recalcitrant seeds: achievements and possible approaches**. Rome: IBPGR, 22 p., 1979.

KOLLER, O.C. (Org.) **Citricultura: laranja, limão e tangerina**. Porto Alegre, Ed. Rígel. 446 p., 1994.

KOLLER, O.C. **Citricultura: cultura de tangerineiras: tecnologia de produção, pós-colheita e industrialização**. Porto Alegre: Ed. Rígel, 2009. 400 p.

KOLLER, O.C. Clima e Solo In: KOLLER, O.C. (Org.) **Citricultura: 1. laranja: tecnologia de produção, pós-colheita, industrialização e comercialização**. Porto Alegre: Ed. Cinco Continentes, 2006. Cap. 3, p. 27-40.

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.

LARANJEIRA, F. F., *et al.* Fungos, procariotos e doenças abióticas. In: CITROS. Campinas: IAC; Fundag, 2005. p. 511-566

LEITE JUNIOR, R. P. Cultivares copa e porta-enxertos. In: IAPAR. **A citricultura no Paraná**. Londrina, 1992. (Circular, 72) p. 91-116

LIMA, J. E. O. de. Novas técnicas de produção de mudas cítricas. **Laranja**, São Paulo, v. 7, n.2, p. 463-468, 1986.

LIN, M. T. Mycorrhizae: applications in agriculture, horticulture, silviculture and land reclamation. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 38., 2005, Brasília. [Anais]. Brasília, 2005. Publicado na revista Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.30, p. 511-514, 2005.

LOPES, P. Z. **Propagação vegetativa e interação com edomicorrizas arbusculares em mirtáceas nativas do sul do Brasil**. 2009. 120 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

MARTINS, F. V. **Comportamento de laranjeira 'Valência' e tangerineira 'Montenegrina' propagadas por estaquia e enxertia**. 2005. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

MELLONI, R.; CARDOSO, E. J. B. N. Quantificação de micélio extraradicular de fungos micorrízicos arbusculares de plantas cítricas. II. Comparação de diferentes espécies cítricas e endófitos. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, Campinas, v. 23, p. 59-67, 1999.

MENGE, J. A., *et al.* Predicting mycorrhizal dependency of Troyer Citrange on *Glomus fasciculatus* in California citrus soils and nursery mixes. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 46, p. 762-768, 1982.

MENGE, J. A.; JOHNSON, E. L. V.; PLATT, R. G. Mycorrhizal dependence of several citrus cultivars under three nutrient regimes. **New Phytologist**, Cambridge, v. 81, p. 553-559, 1978.

METZNER, A. F. M. **Aplicação de cobre em substratos orgânicos para a produção de mudas de limoeiro 'Cravo' associadas a fungo micorrízico arbuscular**. 2009. 95 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de pós-graduação em agricultura tropical e subtropical, Instituto Agronômico, Campinas, 2009.

MIRANDA, J. C. C de; MIRANDA, L. N. de. **Produção de mudas inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares em viveiros**. Planaltina, EMBRAPA CERRADOS, 2001. (Recomendação técnica, n. 24) p. 1-2.

MIRANDA, J. C. C. de. Porque a micorriza é importante para a produção agrícola, frutífera e florestal. **Agrosoft Brasil**, 2006. Disponível em: <www.agrosoft.org.br/agropag/20721.htm>. Acesso em: 21 set 2010.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Editora UFLA, 2002. p. 625

NEMEC, S. *Glomus intraradix* effects on citrus rootstock seedling growth in various potting media. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 118, p. 315-323, 1992.

NOGALES, A., *et al.* Differential Growth of Mycorrhizal Field-Inoculated Grapevine Rootstocks in Two Replant Soils. **American Journal Enology and Viticulture**. Davis, v. 60, n. 4, p. 484-489, 2009.

NUNES, J. L. da Silva. **Utilização de fungos micorrízicos arbusculares autóctones de pomares de pessegueiro para produção de mudas e estabelecimento em áreas novas e de replantio**. 2007. 261 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

NUNES, M. S. **Fungos micorrízicos arbusculares em porta-enxertos de citros**. 2004. 79 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Agronomia, Universidade Federal da Bahia, 2004, Cruz das Almas, 2004.

NUNES, M. S., *et al.* Colonização micorrízica natural de porta-enxertos cítricos em campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 3, p. 525-528, 2006.

OLIVEIRA, R. P. de; SCIVITTARO, W. B. Formação do porta-enxerto Trifoliata: época de semeadura e tegumento na emergência de plântulas. **Ciência Rural**. Santa Maria. v. 37, n. 1, p. 281-283, 2007.

OLIVEIRA, R. P. de; SCIVITTARO, W. B.; RADMANN, E. B. Escarificação química da semente para favorecer a emergência e o crescimento do porta-enxerto Trifoliata. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 41, n. 9, p. 1429-1433, 2006.

OLIVEIRA, R. P. de.; RADMANN, E. B; SCIVITTARO, W. B. **Tecnologia para Produção de Mudanças de Citros: Maximização da Germinação do Porta-Enxerto 'Trifoliata'**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2002. (Embrapa Clima Temperado. Comunicado técnico, 80)

OLIVEIRA, R. P. de; 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, 2005a 4 p. (Embrapa Clima Temperado. Comunicado técnico, 121)

OLIVEIRA, R. P. de; SCIVITTARO, W. B. **Infra-estrutura e custo de produção de mudas certificadas de citros**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. 27 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 118).

OLIVEIRA, R.P. de; SCIVITTARO, W.B. **Normas e padrões para produção de mudas certificadas de citros em parceria com a Embrapa**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2003. 18 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 114).

OLIVEIRA, R. P. de; SCIVITTARO, W. B.; RADMANN, E. B. Procedimentos para o armazenamento de sementes de *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 25, p. 461- 463, 2003.

OLIVEIRA, R. P.de, *et al.* **Mudas de citros**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2001. 32 p. (Embrapa Clima Temperado. Sistemas de produção, 1).

OLIVEIRA, R. P. de, *et al.* **Porta-enxertos para citros**. Pelotas : Embrapa Clima Temperado, 2008. 45 p. (Embrapa Clima Temperado. Documento 226).

OLIVEIRA, R. P., *et al.* **Produção Orgânica de Citros no Rio Grande do Sul**. Embrapa Clima Temperado. Sistemas de Produção, n. 20, 2011. Disponível em:

<http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/catalogo/tipo/sistemas/sistema20_novo/cap4_porta_enxertos_para_citros.htm>. Acesso em: 05 dez 2011.

ONO, E. O.; LEONEL, S.; RODRIGUES, J. D. Efeitos de fitorreguladores e nitrato de potássio na germinação de sementes do limão 'Volkameriano'. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 50, n. 3, p. 338-342, 1993.

ONO, E. O.; LEONEL, S.; RODRIGUES, J. D. Efeito de fitorreguladores na germinação de sementes de citrumelo 'Swingle'. **Semina**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 47- 50, 1995.

ORTAS, I., *et al.* Mycorrhizal dependency of sour orange in relation to phosphorus and zinc nutrition. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 25, p. 1263-1279, 2002.

PÁDUA, G. P. de; *et al.* Influência do tamanho da semente na qualidade fisiológica e na produtividade da cultura da soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, vol. 32, nº 3, p. 009-016, 2010.

PARNISKE, M. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. **Nature reviews microbiology**, London, v. 6, p. 763-775, 2008.

PENG, S., *et al.* Growth depression in mycorrhizal citrus at high-phosphorus supply (analysis of carbon costs). **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 101, p. 1063-1071, 1993.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions on the British Mycological Society**, London, v. 55, p. 158-160, 1970.

POMPEU JUNIOR, J. Porta-enxertos. In: CITROS. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag, , 2005. cap. 4, p. 61-104.

POMPEU JUNIOR, J.; SALVA, R.; BLUMER, S. Copas e porta-enxertos Nos viveiros de mudas cítricas do estado de São Paulo. **LARANJA**, Cordeirópolis, v.25, n.2, p.413-426, 2004.

RADHAMANI, J.; MALIK, S. K.; CHANDEL, K. P. S. Seedcoat characteristics in relation to the physiology of seed germination in *Citrus* and its allied genus. **Seed Science e Technology**, Zurich, v. 19, p. 611-621, 1991.

RAMOS, A. C.; FAÇANHA, A. R.; FEIJÓ, J. A. Ion dynamics during the polarized growth of arbuscular mycorrhizal fungi: from presymbiosis. In: VARMA, A.; HOCK, B. (Ed.) **Mycorrhiza: biology, genetics, novel endophytes and biotechnology**. Germany, Springer-Verlag, 2008c. p. 241-261,.

RAMOS, A. C., *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungi induce differential activation of the plasma membrane and vacuolar H⁺ pumps in maize roots. **Mycorrhiza**, Berlin, v. 19, p. 69-80, 2009b.

RITZINGER, C. H. S. P.; ROCHA, H. S. **Uso da técnica da solarização como alternativa para o prepare do solo ou substrato para produção de mudas isentas de patógenos de solo**. Cruz das Almas, Bahia: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2010. 13 p. (versão online) Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/25503/1/cartilharitzinger.pdf> Acesso em: 17 ago 2011.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, p. 499-514, 1973.

ROCHA, M. R. da; OLIVEIRA, E. de; CORRÊA, G. de C. Efeitos de doses de fósforo e fungos MVA no crescimento e nutrição mineral da tangerineira 'Cleópatra' (*Citrus reshni* HORT. ex TAN.) em sementeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 725-731, 1994.

ROGRIGUES, F. A., *et al.* Caracterização dos frutos e germinação de sementes dos porta-enxertos Trifoliata 'Flying dragon' e citrumeleiro 'Swingle'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 4, p. 1180-1188, 2010.

ROUSE, R. E. Optimum temperatures for germinating citrus seeds. **Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, Campeche, v. 41, p. 136-139, 1997.

SCHÄFER, G. **Produção de porta-enxertos cítricos em recipientes e ambiente protegido no Rio Grande do Sul**. 2004. 129 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

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.

SCHÄFER, G., *et al.* Desenvolvimento vegetativo inicial de porta-enxertos cítricos cultivados em diferentes substratos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 6, p. 1723-1729, 2006a.

SCHÄFER, G., *et al.* Desarrollo vegetativo de patrones citricos cultivados en condiciones de invernadero bajo dos sistemas de riego.. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v. 28, n. 2, p. 227-230, 2006b.

SCHÄFER, G. **Caracterização molecular, diagnóstico e avaliação de porta-enxertos na citricultura gaúcha**. 2000. 81 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

SCHMITZ, E. H. A demanda em substrato para a citricultura no RS. In: KÄMPF, A. N.; FERMINO, M. A. (Ed.) **Substrato para plantas: a base da produção vegetal em recipientes**. Porto Alegre: Gênese, 2000. p. 155-156

SCHMITZ, J. A. K., *et al.* Vegetative growth of *Poncirus trifoliata* L. Raf. Inoculated with Mycorrhizal fungi in three Growing media. **Communications in soil science and plant analysis**, New York, v. 32, n. 19/20, p. 3031–3043, 2001.

SCHMITZ, J. A. K.; SOUZA, P. V. D. ; KÄMPF, A. N. Propriedades químicas e físicas de substratos de origem mineral e orgânica para o cultivo de mudas em recipientes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 6, p. 937-944, 2002.

SCHMITZ, J. A. K. **Cultivo de *Poncirus trifoliata* L. Raf. em recipientes: influência de substratos e de fungos micorrízicos arbusculares**. 1998. 144 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.

SCHREINER, R. P.; PINKERTON, J. N.. Ring nematodes (*Mesocriconema xenoplax*) alter root colonization and function of arbuscular mycorrhizal fungi in grape roots in a low P soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 40, p. 1870 – 1877, 2008.

SCHÜßLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycological Research**, Cambridge, v. 105, n. 12, p. 1413-1421, 2001.

SHARMA, S. D., *et al.* Symbiotic effectiveness of arbuscular mycorrhizal technology and Azotobacterization in citrus nursery production under soil disinfestation and moisture conservation practices. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 132, p. 27–36, 2011.

SILVA, D. N.; COSTA, A. N. (Coord.). **NOVO PEDEAG 2007-2025: plano estratégico de desenvolvimento da agricultura capixaba**. Vitória, ES, 2007. Disponível em: <<http://www.seag.es.gov.br/pedeag/setores/fruticultura.pdf>>. Acesso em: 30 nov. 2011.

SILVA, J. B. C.; OLIVEIRA-NAPOLEÃO, I. T.; FALCÃO, L. L. Desinfestação de substratos para produção de mudas, utilizando vapor de água. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 155-158, 2001.

SILVA, L. F. C.; SIQUEIRA, J. O. Crescimento e teores de nutrientes de mudas de abacateiro, mangueira e mamoeiro sob influência de diferentes espécies de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares. **Revista brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 15, p. 283-288, 1991.

SILVA, R. P., *et al.* Influência de fungos micorrízicos arbusculares na aclimação do porta-enxerto de videira 101-14 micropropagado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 9., 1999, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: EMBRAPA-CNPV, p. 137, 1999.

SILVEIRA, S. V. **Caracterização de fungos micorrízicos arbusculares autóctones de parreirais da serra gaúcha e otimização de métodos de multiplicação em espécies aromáticas para aplicação na fruticultura**. 2006 149f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

SILVEIRA, A. P. D. da, *et al.* Desempenho de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo, em diferentes substratos. **Bragantia [online]**, v. 62, n. 1, p. 89-99, 2003. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-87052003000100012 Acesso em: 30 nov 2011

SIMARELLI, M.; MARTINEZ, G. H. Sustentável e economicamente viável. **Frutas e derivados**, São Paulo, Ano 3, edição 11, 2008. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/x_files/revista11.pdf>. Acesso em: 30/11/2011.

SIQUEIRA, D. L. DE, CECON, P. R., SALOMÃO, L. C. C. Desenvolvimento do limoeiro 'volkameriano' (*Citrus volkameriana* Pasq.) submetido a doses de paclobutrazole ácido giberélico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 3, p. 764-768, 2008.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. **Biotechnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC/ABEAS/ESAL/FAEPE, 1988. 236 p.

SOARES FILHO, W. S., *et al.* Potencial de obtenção de novos porta-enxertos em cruzamentos envolvendo limoeiro 'Cravo', laranjeira 'Azeda', tangerineira 'Sunki' e híbridos de *Poncirus Trifoliata*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 1, p. 223-228, 2008.

SOARES, R. da S. **Desenvolvimento e produção de pessegueiro "Maciel" enxertado sobre porta-enxertos pré-inoculados com endomicorrizas**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2010.

SOOST, R. K.; ROOSE, M. L. Citrus. In: JANICK, J.; MOORE, J.N. (Ed.). **Fruit breeding: tree and tropical fruits**. New York: John Wiley, 1996. v. 1, cap. 6, p. 257-323

SOUZA, N. L. Solarização do solo. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v. 20, n. 1, p. 3-15, 1994.

SOUZA, P. V. D. de.; 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, E. L. de S. *et al.* Porta-enxertos para citros no Rio Grande do Sul. In: INDICAÇÕES Técnicas para a Citricultura no Rio Grande do Sul. Porto Alegre: FEPAGRO, 126 p., 2010.

SOUZA, P. V. D. de. **Optimización de la producción de plantones de cítricos en vivero. Inoculación con micorrizas vesiculares-arbusculares**. 1995. 201 f. Tese (Doutorado). Universidad Politécnica de Valencia. Valência – Espanha, 1995.

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

SOUZA, P. V. D. de, *et al.* Efeito de fungos micorrízicos arbusculares na aclimação do porta-enxerto 1103 Palsen micropropagado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 9, 1999, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: EMBRAPA –CNPUV, p. 135, 1999.

SOUZA, P.V.D. de, *et al.* 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.

SPIER, M. **Ajuste de metodologias para análise física de substratos e teste do resíduo de cana-de-açúcar para o cultivo de plantas**. 2008. 102 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

TEIXEIRA, P. T. L., *et al.* A escarificação química e o desenvolvimento inicial de porta-enxertos cítricos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 3, 2009a.

TEIXEIRA, P. T. L., *et al.* Desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos de citros produzidos em diferentes recipientes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 6, 2009b.

TEIXEIRA, P. T. L., *et al.* Desenvolvimento vegetativo e acúmulo de massa seca com a adubação de porta-enxertos cítricos cultivados em tubetes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 12, p. 2603-2607, 2010.

TRISTÃO, F. S. M.; ANDRADE, S. A. L.; SILVEIRA, A. P. D. Fungos micorrízicos arbusculares na formação de mudas de cafeeiro, em substratos orgânicos comerciais. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n. 4, 2006.

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, p. 417 – 425, 2006.

ZUCARELI, V., *et al.* Tolerância à dessecação e influência do tegumento na germinação de sementes de citrumelo 'Swingle' (*Citrus paradisi* Macf x *Poncirus trifoliata* Rraf.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 291-295, 2009.

8 APÊNDICES

APÊNDICE 1. Análises físicas e químicas dos substratos utilizados. Porto Alegre, 2010.

	Substrato Comercial 1	Substrato Comercial 2
DU (kg m ⁻³)	370	625
DS (kg m ⁻³)	118	272
MS (g 100g ⁻³)	32	44
pH (em H ₂ O)	5,75	4,92
CE (mS cm ⁻¹)	0,63	1,08
TTSS (g L ⁻¹)	1,31	3,80
PT (m ³ m ⁻³)	0,89	0,78
EA (m ³ m ⁻³)	0,35	0,22
AFD (m ³ m ⁻³)	0,20	0,17
AT (m ³ m ⁻³)	0,04	0,04
AD (m ³ m ⁻³)	0,24	0,21
CRA ₁₀ (m ³ m ⁻³)	0,53	0,56
CRA ₅₀ (m ³ m ⁻³)	0,33	0,40
CRA ₁₀₀ (m ³ m ⁻³)	0,29	0,35

DU= densidade úmida; DS= densidade seca; MS= matéria seca (sólidos); pH= determinado em água, diluição 1:5 (v/v);

CE= condutividade elétrica obtida em solução 1:5 (v/v); TTSS= teor total de sais solúveis;

PT= porosidade total; EA= espaço de aeração; AFD= água facilmente disponível; AT= água tamponante; AD= água disponível.

CRA₁₀=capacidade de retenção de água sob sucção de 10 cm de coluna de água; CRA₅₀=capacidade de retenção de água sob sucção de 50 cm de coluna de água; CRA₁₀₀=capacidade de retenção de água sob sucção de 100 cm de coluna de água.

APÊNDICE 2. Análises físicas e químicas dos substratos após o procedimento de desinfestação em autoclave. Porto Alegre, 2010.

	Substrato Comercial 1	Substrato Comercial 2
DU (kg m ⁻³)	354	596
DS (kg m ⁻³)	125	334
MS (g 100g ⁻³)	35	56
pH (em H ₂ O)	5,55	5,68
CE (mS cm ⁻¹)	0,58	0,98
TTSS (g L ⁻¹)	1,16	3,29
PT (m ³ m ⁻³)	0,91	0,77
EA (m ³ m ⁻³)	0,42	0,16
AFD (m ³ m ⁻³)	0,16	0,20
AT (m ³ m ⁻³)	0,03	0,04
AD (m ³ m ⁻³)	0,19	0,25
CRA ₁₀ (m ³ m ⁻³)	0,49	0,61
CRA ₅₀ (m ³ m ⁻³)	0,33	0,41
CRA ₁₀₀ (m ³ m ⁻³)	0,30	0,37

DU= densidade úmida; DS= densidade seca; MS= matéria seca (sólidos); pH= determinado em água, diluição 1:5 (v/v);

CE= condutividade elétrica obtida em solução 1:5 (v/v); TTSS= teor total de sais solúveis;

PT= porosidade total; EA= espaço de aeração; AFD= água facilmente disponível; AT= água tamponante; AD= água disponível.

CRA₁₀=capacidade de retenção de água sob sucção de 10 cm de coluna de água; CRA₅₀=capacidade de retenção de água sob sucção de 50 cm de coluna de água; CRA₁₀₀=capacidade de retenção de água sob sucção de 100 cm de coluna de água.

APÊNDICE 3. Temperaturas mensais (mínimas, médias e máximas) em °C, de janeiro de 2010 a novembro de 2011. Porto Alegre, 2011.

Temperatura da localidade de Porto Alegre (°C)						
	2010			2011		
	máxima	média	mínima	máxima	média	mínima
Janeiro	30,2	25,8	21,3	31,6	27,0	22,3
Fevereiro	29,1	25,1	21,1	30,2	26,0	21,9
Março	28,9	24,5	20,0	29,3	24,4	19,5
Abril	26,0	20,9	15,9	26,7	21,7	16,7
Maiο	21,4	18,0	14,5	22,2	17,8	13,3
Junho	20,4	15,8	11,2	20,1	15,3	10,5
Julho	20,7	15,9	11,1	18,3	14,3	10,4
Agosto	20,0	15,8	11,6	19,5	15,6	11,8
Setembro	22,0	18,2	14,4	23,4	17,8	12,3
Outubro	23,9	18,3	12,6	25,8	20,9	13,9
Novembro	27,5	21,9	16,3	28,8	23,0	17,1
Dezembro	29,6	24,4	19,2	-	-	-

Fonte: adaptado de Boletins Fepagro/RS; (-) dados não disponíveis até o momento.