

CYNTHIA MARIA CARNEIRO COSTA

**ESTUDOS DA ASSOCIAÇÃO MICORRÍZICA ARBUSCULAR EM  
MUDAS DE MANGABEIRA (*HANCORNIA SPECIOSA* GOMES)**

RECIFE  
FEVEREIRO / 2004

**CYNTHIA MARIA CARNEIRO COSTA**

**ESTUDOS DA ASSOCIAÇÃO MICORRÍZICA ARBUSCULAR EM  
MUDAS DE MANGABEIRA (*HANCORNIA SPECIOSA* GOMES)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Biologia de Fungos, do Departamento de  
Micologia, da Universidade Federal de  
Pernambuco, como parte dos requisitos para  
obtenção do grau de Doutor.

Orientadora: Dra. Leonor Costa Maia

**RECIFE  
FEVEREIRO / 2004**

# **ESTUDOS DA ASSOCIAÇÃO MICORRÍZICA ARBUSCULAR EM MUDAS DE MANGABEIRA (*HANCORNIA SPECIOSA* GOMES)**

Tese apresentada à banca examinadora:

Membros titulares:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Farto Botelho Trufem

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lilia Willadino

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Uided Maaze Tiburcio Cavalcante

---

Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Rildo Sartori Barbosa Coelho

Orientadora:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Leonor Costa Maia

## Simbiose entre a terra e o gênero humano

"Relações simbióticas significam parcerias criativas. A Terra não pode ser vista nem como um ecossistema a ser preservado inalterado nem como um canteiro para ser explorado por razões egoístas e econômicas de curto prazo, mas como um jardim a ser cultivado para o desenvolvimento das próprias potencialidades da aventura humana. O objetivo dessa relação não é a manutenção do "*status quo*" mas a emergência de novos fenômenos e de novos valores".

René Dubos (1901-1982), Bacteriologista.



Aos meus amados pais, Maria José Carneiro Costa e Judas Tadeu de Medeiros Costa, responsáveis pela minha existência. E a meus irmãos Maria Angélica Carneiro Costa e Paulo de Tarso Carneiro Costa, pela paciência e amor incondicional.

Dedico

## **Agradecimentos**

À energia Divina pela VIDA, SAÚDE, PAZ DE ESPÍRITO, ESPERANÇA, PERSEVERANÇA, ATITUDE E FORÇA.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

À orientadora, Dra. Leonor Costa Maia, pela confiança, aceitação e aprendizado desde o início da minha caminhada no mundo das micorrizas.

A Uided Maaze Tiburcio Cavalcante, pela amizade, dedicação, compreensão e iniciação nos caminhos científicos.

Às conselheiras Rejane Mansur e Sônia Valéria Pereira, pelo valoroso aprendizado em suas respectivas áreas de estudo.

À companheira Ana Luiza da Silva, pela verdadeira amizade, incentivo, confiança e força, sempre disponível em ajudar nas horas de apuro e desespero, e por transmitir a certeza da finalização de mais uma etapa da minha vida.

Aos amigos Guilherme Chaves Maranhão e Luciana Barreto Silveira de Souza que, mesmo distantes, devido a seus estudos, sempre incentivaram e acreditaram na conclusão desse trabalho.

A Manoel Bandeira, pessoa de enorme humildade, caridade e disponibilidade, pela imprescindível ajuda na realização dessa tese.

Aos colegas do Laboratório de Fisiologia Vegetal da UFRPE, nas pessoas de Elizamar Ciríaco da Silva e André Dias de Azevedo Neto, pelos valiosos ensinamentos na área de Fisiologia Vegetal.

Ao colega Misael Rodrigues de Lima Júnior, pela importante participação e ajuda na realização de algumas etapas.

Ao colega Bruno Goto, pelas imprescindíveis contribuições na identificação das espécies de FMA contidas nesse trabalho.

E aos colegas do Laboratório de Micorrizas, pelo convívio e troca de conhecimentos durante todos esses anos de trabalho.

## SUMÁRIO

	<b>Pág.</b>
LISTA DE TABELAS	X
LISTA DE FIGURAS	XII
RESUMO GERAL	XIII
ABSTRACT	XIV
INTRODUÇÃO	16
<b>CAPÍTULO 1- REVISÃO GERAL</b>	
<b>1. Mangabeira</b>	19
<b>2. Simbiose micorrízica</b>	21
<b>2.1. Benefícios proporcionados por FMA às fruteiras</b>	25
<b>2.2. Efeito da adubação fosfatada em plantas associadas com FMA</b>	28
<b>2.3. Dependência micorrízica</b>	32
<b>2.4. Densidade de inoculo</b>	34
<b>3. Trocas gasosas em plantas sob estresse hídrico</b>	35
<b>3.1. Efeito do estresse hídrico no crescimento e na concentração de solutos</b>	39
<b>4. Referências bibliográficas</b>	44
<b>CAPÍTULO 2- Efeito da associação com fungos micorrízicos arbusculares e da adubação fosfatada no desenvolvimento de mudas de mangabeira (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes)</b>	
<b>Resumo</b>	63
<b>Abstract</b>	64
<b>Introdução</b>	65
<b>Material e Métodos</b>	66
<b>Resultados e Discussão</b>	67
<b>Conclusões</b>	81
<b>Referências</b>	82
<b>CAPÍTULO 3- Inoculum density of arbuscular mycorrhizal fungi needed to promote growth of <i>Hancornia speciosa</i> Gomes seedlings</b>	
<b>Conclusion</b>	94
<b>References</b>	94
<b>Resumen</b>	96
<b>CAPÍTULO 4- Influência do estresse hídrico nas trocas gasosas de mudas de mangabeira (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes), associadas com fungos micorrízicos</b>	

arbusculares

<b>Resumo</b>	99
<b>Abstract</b>	100
<b>Introdução</b>	101
<b>Material e métodos</b>	102
<b>Resultados e discussão</b>	103
<b>Referências bibliográficas</b>	114

**CAPÍTULO 5-** Crescimento e concentração de solutos orgânicos em mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) micorrizadas, submetidas a estresse hídrico

<b>Resumo</b>	119
<b>Abstract</b>	120
<b>Introdução</b>	121
<b>Material e métodos</b>	123
<b>Resultados e discussão</b>	125
<b>Conclusões</b>	134
<b>Referências</b>	135

**CAPÍTULO 6-**Atividade microbiana em solo cultivado com mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), associadas com fungos micorrízicos arbusculares

<b>Resumo</b>	141
<b>Abstract</b>	142
<b>Introdução</b>	143
<b>Material e métodos</b>	144
<b>Resultados e discussão</b>	145
<b>Conclusões</b>	150
<b>Referências</b>	150

**CAPÍTULO 7-** Estabelecimento em campo de mudas micorrizadas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes)

<b>Resumo</b>	154
<b>Introdução</b>	155
<b>Material e métodos</b>	156
<b>Resultados</b>	157
<b>Conclusões parciais</b>	160
<b>Referências bibliográficas</b>	161

<b>CONCLUSÕES GERAIS</b>	165
<b>ANEXOS</b>	167

## LISTA DE TABELAS

<b>Capítulo 2</b>	<b>Pág.</b>
Tabela 1 Efeito da desinfestação do solo, da associação com fungos micorrízicos arbusculares e dose de fósforo na altura de mudas de mangabeira, 150 dias após a inoculação, em casa de vegetação.....	71

Tabela 2	Efeito da desinfestação do solo, da associação com fungos micorrízicos arbusculares e dose de fósforo na biomassa seca da parte aérea de mudas de mangabeira, 150 dias após a inoculação, em casa de vegetação .....	72
Tabela 3	Efeito da desinfestação do solo e da associação com fungos micorrízicos arbusculares na área foliar de mudas de mangabeira, independentemente dos níveis de fósforo, 150 dias após a inoculação, em casa de vegetação.....	73
Tabela 4	Efeito da associação com FMA e da desinfestação do solo na concentração de fósforo na parte aérea, na percentagem de arbúsculos, hifas e na colonização total das raízes de mangabeira, em casa de vegetação, 150 dias após a inoculação.....	74
Tabela 5	Efeito da associação com FMA e da adubação com fósforo sobre a percentagem de arbúsculo e colonização total das raízes de mangabeira, em casa de vegetação, 150 dias após a inoculação, independentemente do tratamento de solo.....	75
Tabela 6	Efeito dos níveis de fósforo e da desinfestação do solo em relação à associação com FMA sobre a percentagem de hifas e a colonização total das raízes de mangabeira, em casa de vegetação, 150 dias após a inoculação.....	77
Tabela 7	Dependência micorrízica em mudas de mangabeira, 150 dias após inoculação com FMA.....	78

### Capítulo 3

Table 1	Effect of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth parameters and respective increment of <i>Hancornia speciosa</i> , independent of inoculum density. ....	91
Table 2	Increment (%) in shoot dry biomass, height, shoot diameter and leaf area, in relation to control, of <i>Hancornia speciosa</i> seedlings, 120 days after inoculation with different spore densities of <i>Gigaspora albida</i> . ....	93
Table 3	Correlation coefficient ( $r^2$ ) between plant growth parameters of <i>Hancornia speciosa</i> and those related to arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), independent of the spore density, 120 days after inoculation of seedlings. ...	93

### Capítulo 4

Tabela 1	Matriz de correlação simples entre temperatura foliar (Tf), transpiração (E), resistência difusiva (Rs), temperatura do ar (Tar), umidade relativa do ar (UR), radiação fotossinteticamente ativa (PAR) e déficit de pressão de vapor (DPV) em mudas de mangabeira associadas com FMA, independentemente do estresse hídrico.....	113
----------	---	-----

### Capítulo 5

Tabela 1	Efeito da associação com fungos micorrízicos arbusculares e do estresse hídrico na biomassa seca da parte aérea e da raiz de mudas de mangabeira cultivadas em casa de vegetação.....	125
Tabela 2	Efeito da inoculação com FMA na área foliar e na altura de mudas de mangabeira, independentemente do estresse hídrico.....	127
Tabela 3	Densidade de esporos e percentagem colonização micorrízica em mudas de mangabeiras, em solo desinfestado, independentemente dos tratamentos de estresse hídrico.....	127

## Capítulo 6

Tabela 1	Atividade da fosfatase ácida e emissão de CO <sub>2</sub> em solo cultivado com mudas de mangabeira ( <i>Hancornia speciosa</i> Gomes), associada a <i>Gigaspora albida</i> e <i>Glomus etunicatum</i> , em casa de vegetação, independentemente dos tratamentos do solo, referentes ao fósforo e desinfestação.....	146
Tabela 2	Influência da adubação fosfatada e da associação com <i>Gigaspora albida</i> e <i>Glomus etunicatum</i> , na emissão de CO <sub>2</sub> , independentemente da desinfestação do solo, quando cultivado com mudas de mangabeira ( <i>Hancornia speciosa</i> Gomes), em casa de vegetação.....	147
Tabela 3	Efeito da desinfestação do solo e da associação com <i>Gigaspora albida</i> e <i>Glomus etunicatum</i> , independentemente do P, na atividade da fosfatase ácida em solo cultivado com mangabeira ( <i>Hancornia speciosa</i> Gomes), em casa de vegetação.....	148
Tabela 4	Efeito da desinfestação do solo e da adubação fosfatada, independentemente da associação com <i>Gigaspora albida</i> e <i>Glomus etunicatum</i> , na atividade da fosfatase ácida em solo cultivado com mangabeira ( <i>Hancornia speciosa</i> Gomes), em casa de vegetação.....	149

## Capítulo 7

Tabela 1	Número de esporos de FMA nativos antes do transplântio das mudas de mangabeira para o campo da Estação Experimental de Itapirema-IPA, Goiana-PE (julho, 2003).....	158
Tabela 2	Espécies de FMA nativos encontrados na Estação Experimental de Itapirema-IPA, Goiana-PE, antes do transplântio das mudas de mangabeira micorrizadas ao campo (julho, 2003).....	159
Tabela 3	Taxa de sobrevivência e crescimento das mudas de mangabeira associadas a FMA, 93 dias após o transplântio ao campo da Estação Experimental de Itapirema-IPA, Goiana-PE (outubro, 2003).....	160

## LISTA DE FIGURAS

Pág.

## Capítulo 2

Figura 1	Incrementos (%) na altura (a e b) e na biomassa seca da parte aérea (c e d)	
----------	---	--

	das mudas de mangabeira; efeito da desinfestação do solo e dose de fósforo, 150 dias após a inoculação com FMA, em casa-de-vegetação.....	80
Figura 2	Incremento (%) na área foliar das mudas de mangabeira, 150 dias após a inoculação com FMA, em casa-de-vegetação: (a) efeito do tratamento de solo entre os FMA e (b) efeito do FMA entre os tratamentos de solo, independentemente das doses de fósforo.....	81

### Capítulo 3

Figure 1	Effect of inoculum density of <i>Gigaspora albida</i> and <i>Glomus etunicatum</i> on plant growth parameters of <i>Hancornia speciosa</i> seedlings, 120 d after inoculation. ....	92
----------	---	----

### Capítulo 4

Figura 1	Curso diário da transpiração (E) em mudas de mangabeira ( <i>Hancornia speciosa</i> Gomes) associadas com <i>G. albida</i> e <i>G. etunicatum</i> e submetidas a estresse hídrico (controle, 50% e 40% da capacidade de água) em casa de vegetação.....	106
Figura 2	Curso diário da resistência difusiva (Rs) em mudas de mangabeira ( <i>Hancornia speciosa</i> Gomes) associadas com <i>G. albida</i> e <i>G. etunicatum</i> e submetidas a estresse hídrico (controle, 50% e 40% da capacidade de pote) em casa de vegetação.....	108
Figura 3	Curso diário da temperatura foliar (Tf) em mudas de mangabeira ( <i>Hancornia speciosa</i> Gomes) associadas com <i>G. albida</i> e <i>G. etunicatum</i> e submetidas a estresse hídrico (controle, 50% e 40% da capacidade de pote) em casa de vegetação.....	112

### Capítulo 5

Figura 1	Potencial da água na folha ( $\psi_f$ ) em mudas de mangabeira associadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico.....	129
Figura 2	Concentração de carboidratos em folhas de mangabeira associadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico por 52 dias, em casa de vegetação.....	131
Figura 3	Concentração de prolina em folhas de mangabeira associadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico por 52 dias, em casa de vegetação.....	133

## RESUMO GERAL

A associação micorrízica em mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) foi estudada em cinco experimentos utilizando isolados de *Gigaspora albida* Schenck & Smith e *Glomus*



*etunicatum*. Becker & Gerd. Em casa de vegetação foram avaliados: dependência micorrízica, densidade de inóculo necessária para promover o crescimento de mudas e influência do estresse hídrico nas trocas gasosas, na concentração de solutos e na atividade microbiana do solo; em campo foram determinados: espécies, número de esporos e infectividade de FMA, crescimento e taxa de sobrevivência das mudas. *G. albida* proporcionou incrementos no crescimento da mangabeira, que se mostrou dependente da micorrização em solo com baixo teor de P (3 mg dm<sup>-3</sup>). Redução no tempo para transplantio foi obtida com 180 esporos de *G. albida*/planta. Mudas com *G. albida* apresentaram maior ajustamento osmótico na hora de maior demanda evaporativa e maior crescimento com 50% de estresse hídrico. A presença de *G. albida* induziu maior concentração de carboidratos, enquanto mudas com *G. etunicatum* apresentaram menor teor de prolina. Os níveis de concentração de solutos induzidos pela micorrização possibilitaram ajustamento osmótico em cada tratamento, o que permitiu maior tolerância ao estresse moderado. A micorrização também contribuiu para o aumento da atividade da fosfatase ácida no solo. Após 90 dias em campo, 100% das mudas sem inoculação e as associadas a *G. albida* e 81% das inoculadas com *G. etunicatum* sobreviveram. A micorrização proporcionou benefícios no desenvolvimento, antecipou o transplantio para o campo e tornou as mangabeiras tolerantes ao estresse moderado.

**Palavras-chave:** associação micorrízica, FMA, densidade de inóculo, crescimento, dependência micorrízica, estresse hídrico, trocas gasosas, concentração de solutos, *Hancornia speciosa*

## ABSTRACT

The mycorrhizal association of *Hancornia speciosa* was investigated in five experiments using *Gigaspora albida* and *Glomus etunicatum* as inoculum. Mycorrhizal dependency,

inoculum density needed for growth promotion and effect of water stress on gases exchange, solutes concentration and soil microbial activity were evaluated at the greenhouse. Native species, number of spores and infectivity of AMF as well as growth and survival of the mycorrhized plants were investigated in the field. *G. albida* increased growth of the seedlings, that were dependent of mycorrhization in soil with low P ( $3 \text{ mg dm}^{-3}$ ). Reduction on time for transplanting was obtained in treatments with 180 spores of *G. albida*/seedling. Treatments with *G. albida* presented higher osmotic adjustment in the hour of higher evaporative demand and higher growth with 50% of water stress. The presence of *G. albida* induced higher concentration of carbohydrates, while seedlings associated with *G. etunicatum* presented lower level of proline. The levels of solute concentration induced by mycorrhization allowed osmotic adjustment in each treatment, and higher tolerance to moderate stress. Mycorrhization also contributed for increasing the activity of acid phosphatase in the soil. After 90 days in the field, 100% of the seedlings non inoculated and associated with *G. albida* and 81% of those with *G. etunicatum* had survived. Mycorrhization benefited growth, anticipated the time for transplanting to the field and became the seedlings tolerant to moderate stress.

**Key words:** mycorrhizal association, AMF, inoculum density, growth, mycorrhizal dependency, water stress, gases exchange, solutes concentration, *Hancornia speciosa*

## **INTRODUÇÃO**

## INTRODUÇÃO

A fruticultura no Brasil tem se destacado em virtude das condições climáticas favoráveis durante quase o ano todo, propiciando a produção. Muitas das frutas desenvolvidas aqui também estão adaptadas em outros países, acarretando com isso concorrência direta com os produtos brasileiros. No entanto, os diversos sabores oferecidos pelas frutas nativas brasileiras são, sem dúvida, um dos maiores trunfos na luta por fatia maior no mercado externo de sucos de frutas e derivados. A solução seria investimento mais pesado nas frutas típicas, tais como a mangaba, mas o volume de produção ainda não justifica a divulgação desses produtos (Revista Exportar & Gerência 2000).

A mangabeira é fruteira nativa do Brasil, cujos frutos têm grande aceitabilidade no mercado devido ao peculiar sabor que apresentam; a polpa tem sido destinada principalmente à fabricação de sucos e sorvetes. Entretanto, para aumentar a produção dessa fruteira, são necessários maiores estudos sobre desenvolvimento, exigências nutricionais, multiplicação, polinização, pragas e doenças, além de conhecimento para instalação em ambientes diferentes do seu hábitat natural, uma vez que este está sendo dizimado pela especulação imobiliária. Por esses motivos, a mangabeira é explorada apenas de forma extrativista, e raros são os ambientes destinados à produção comercial.

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) encontram-se freqüentemente associados à maioria dos representantes das famílias botânicas (Gianinazzi-Pearson *et al.* 1995) sendo as plantas não micorrizadas consideradas uma exceção na natureza (Gerdemann 1968); desse modo, a simbiose micorrízica é considerada a mais prevalente, importante e antiga associação existente na natureza (Peterson & Farquhar 1994). Nesta íntima relação mutualista os participantes coexistem em perfeita integração fisiológica e ecológica (Harley 1989), resultando em inúmeras melhorias no estado nutricional da planta hospedeira. O funcionamento da simbiose é baseado em troca bidirecional de nutrientes. Carboidratos sintetizados pela planta são liberados e absorvidos pelos fungos como sua maior fonte de carbono. Em troca, os nutrientes minerais do solo, adquiridos pelo micélio extraradicular do fungo, são transportados para a planta, onde são liberados e ativamente absorvidos pelas raízes (Bago *et al.* 1998).

A colonização das raízes por FMA e os benefícios resultantes da simbiose têm sido relatados por vários autores. O aumento da absorção de nutrientes pouco móveis no solo, tais como o Cu, Zn e principalmente o P, que é o mais importante do ponto de vista nutricional do hospedeiro, pois além de proporcionar maior tolerância a patógenos de raiz, condições de

seca, altas temperaturas, choques de transplântio e solos salinos, estimulam a fixação do nitrogênio e a produção de hormônios (Smith & Read 1997; Schachtman *et al.* 1998; Liu *et al.* 2000; Yano-Melo *et al.* 2003).

Em solos deficientes em P, os FMA aparecem como alternativa para o aumento do crescimento das plantas; no entanto, elevadas quantidades desse nutriente podem inibir a colonização. O P tem participação nos vários e complexos processos metabólitos da planta (Malavolta 1980) por isso é considerado um dos nutrientes mais importantes disponíveis no solo, controlando o grau de formação da simbiose micorrízica, pelo efeito que exerce no metabolismo de carboidratos da planta hospedeira (Siqueira *et al.* 1984). Os fatores inerentes à planta e ao fungo regidos pelo ambiente também têm influência na formação e funcionamento da micorriza (Siqueira 1984).

O emprego de FMA no sistema de produção e manutenção de mudas apresenta grande potencial como alternativa para o desenvolvimento de cultivo racional e eficiente de mudas de diversas fruteiras (Jaizme-Vega & Azcón 1995). A inoculação de FMA, além de minimizar o uso de fertilizantes e antecipar o tempo de transplântio para o campo (Cavalcante *et al.* 2002a), pode favorecer o crescimento de plantas mais vigorosas, com maior poder de pegamento e maiores possibilidades de resistir a condições adversas do ambiente.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivos: (i) identificar os fungos micorrízicos presentes na rizosfera de mangabeiras em condições naturais; (ii) avaliar a dependência micorrízica; (iii) determinar a melhor densidade de inóculo de FMA para aplicação em mudas de mangabeira; (iv) analisar o efeito do estresse hídrico sobre o crescimento, o acúmulo de solutos e respostas fisiológicas; (v) observar a influência da micorrização sobre a atividade da fosfatase ácida e da emissão de CO<sub>2</sub> em solo e (vi) avaliar o estabelecimento de mangabeiras associadas com FMA, em condições de campo.

## **CAPÍTULO 1**

## **REVISÃO GERAL**

## 1. Mangabeira

Dentre as 29 espécies de Apocynaceae referidas para o cerrado, a mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) se destaca pela produção de frutos comestíveis (Heringer *et al.* 1976). A planta, nativa de regiões de clima tropical, encontra-se distribuída, no país, desde os cerrados da região Centro-Oeste, até o Norte e Sudeste, sendo mais abundante nas áreas de tabuleiros e baixadas litorâneas do Nordeste, onde se destacam como maiores produtores os estados da Paraíba, Bahia e Sergipe (Cavalcante 1976; Vieira Neto 1994).

O nome mangaba tem origem na língua tupi-guarani (mã gawa) que significa “coisa boa de comer” (Ferreira 1980). Outros sinônimos que variam de acordo com a cultura e o local de origem têm sido referidos: “corruptela de mongaba”, que significa grude ou visgo, devido ao látex da planta; “tembiú-catu” usado pelos índios tupis e “manga-icé”, empregado pelos índios guaranis do Paraguai (Braga 1960; Monachino 1945), respectivamente. Segundo este último autor, no Brasil, pode-se encontrar a fruta referida como mangaíba, mangareíba, mangava, mangaúva, manguba, catu, fruta-de-doente, tembiú e tembiucatinga.

A árvore apresenta porte médio, medindo de 2 a 10m de altura, podendo chegar a 15m; o fruto é do tipo baga, variando de 2,5 a 6,0 cm, com grande quantidade de polpa com aroma e sabor *sui generis*. Essas características típicas da mangaba são fatores de grande relevância na cadeia de comercialização das frutas ou de produtos agroindustriais produzidos a partir delas.

Os frutos possuem alto valor protéico, variando entre 1,3 a 3%, superior ao encontrado na maioria das frutas (Parente *et al.* 1985). A polpa apresenta valores nutricionais relevantes de vitamina C, alguns minerais como magnésio, sódio, zinco e cálcio, ácidos palmítico, linoléico, essencial ao homem, e oléico, muito utilizado na indústria alimentícia por gerar produtos de melhor qualidade e menor quantidade de produtos indesejáveis (Almeida 1998). Com até 80% de aproveitamento, a polpa é empregada na fabricação de sucos, sorvetes, doces, vinhos, vinagre, licor e xaropes, além do consumo *in natura*. Da planta pode-se extrair o látex, usado contra tuberculose, herpes e úlceras (Donadio *et al.* 2002), além desses benefícios, a planta também pode ser utilizada na recuperação de áreas degradadas (Vieira Neto 2001).

A mangabeira desenvolve-se bem nas épocas de temperatura mais elevada e em solos arenosos, ácidos, pobres em nutrientes e matéria orgânica e com baixa retenção de água, típicos de áreas de cerrados, tabuleiros costeiros e baixadas litorâneas. No estado de

Pernambuco, a época de maior produção é de dezembro a maio, com mais ênfase de janeiro a abril (Lederman *et al.* 2000; Vieira Neto 2001).

A forma mais utilizada de propagação da mangabeira é por meio de sementes, entretanto, esse processo não é muito aconselhável por se tratar de uma planta em vias de domesticação, pois acarreta desuniformidade populacional nas gerações futuras devido à maior segregação genética. Por via assexuada atualmente se recorre à enxertia por borbulhia. Nesse processo todas as características da planta matriz são mantidas com obtenção de material uniforme e com características desejadas. Estudos para obtenção de plantas a partir de cultura *in vitro* foram iniciados, mas até o momento não se dispõe de protocolos que viabilizem a produção por esse método (Aguar Filho *et al.* 1998; Vieira Neto 2001; Lederman *et al.* 2000).

O cultivo limitado de espécies alternativas, como a mangaba decorre, principalmente, da preferência do mercado interno pelas frutas exóticas, tanto as de clima temperado aclimatadas que exercem forte pressão no mercado, como aquelas de climas tropicais e subtropicais já adaptadas (Giacometti 1993). A permanência da cultura nativa está perdendo campo devido ao avanço descontrolado da construção imobiliária, seja residencial ou industrial, restringindo sua permanência a pequenas áreas na faixa litorânea.

A insuficiência de dados relativos à propagação, desenvolvimento, exigências hídricas e nutricionais, adubação e práticas culturais, limita a exploração e o desenvolvimento do cultivo comercial da mangabeira, tornando seu aproveitamento restrito, por ser explorada apenas de forma extrativista. No entanto, esses conhecimentos são imprescindíveis para a definição de métodos de exploração mais racionais, pois foi observado que, ano a ano, o número de mangabeiras vem diminuindo no Nordeste, devido à crescente devastação da vegetação nativa à qual está associada (Santos & Nascimento 1999; Vieira Neto 1994).

A maioria das pesquisas com mangabeira é referente a estudos sobre germinação, testando diferentes substratos em casa de vegetação ou *in vitro* (Oliveira & Valio 1992; Santos & Nascimento 1999; Pinheiro *et al.* 2001; Nogueira *et al.* 2003). Em relação ao comportamento fisiológico dessa planta, Andrade *et al.* (1999) observaram diminuição da taxa de transpiração de plântulas cultivadas em substrato com mistura de areia, terço vegetal e húmus. Estudos em campo evidenciaram que folhas de mangabeira expostas ao sol apresentaram variações na resistência difusiva ( $R_s$ ), mantendo menores valores de  $R_s$  no horário de maior demanda evaporativa, o que implica em maior absorção do  $CO_2$  para a fotossíntese (Nogueira *et al.* 1999). Testando o comportamento fisiológico em casa-de-vegetação, Nogueira *et al.* (2003) concluíram que plantas cultivadas em solo natural



apresentam maior adaptação ao ambiente devido à diminuição da  $R_s$ , facilitando as trocas gasosas nas horas mais quentes do dia.

Estudos com FMA associados à mangabeira são raros. No entanto, é importante maior conhecimento nesta área por se tratar de um campo de pesquisa pouco explorado para essa cultura e que pode render resultados indispensáveis para o desenvolvimento mais direcionado, visando o cultivo em áreas com condições adversas. Respostas de mudas de mangabeiras à fertilização do substrato e à inoculação com FMA nativos foram obtidas em viveiro. Ao final de 12 meses, observou-se que as maiores taxas de desenvolvimento e sobrevivência ocorreram nas plantas inoculadas, evidenciando a eficiência desta associação para a mangabeira (Andrade *et al.* 1999).

Os FMA encontram-se colonizando um grande número de plantas nativas na região dos cerrados como gramíneas, leguminosas e espécies arbóreas, distribuídas em diferentes tipos de solos. Nada se conhece a respeito da população nativa de FMA associada às raízes de mangaba e em relação ao potencial de infectividade desses fungos em pomares naturais ou programados. Assim, diante da escassez de trabalhos com mangabeiras associadas a FMA, há necessidade de estudos nessa área, para compreensão do processo e avaliação dos possíveis benefícios produzidos por esses fungos no desenvolvimento da planta hospedeira, sob diferentes condições de cultivo.

## **2. Simbiose micorrízica**

A associação micorrízica é considerada a mais antiga e amplamente distribuída simbiose mutualista encontrada na Terra (Allen 1996). Formada a partir da interação entre raízes de plantas e fungos do solo, evidências fósseis e análise de seqüências de DNA provaram o estabelecimento desta simbiose há mais de 410 milhões de anos (Logi *et al.* 1998).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) estão atualmente classificados no filo *Glomeromycota* (Schübler *et al.* 2001) e colonizam cerca de 97% dos representantes das famílias de plantas (Siqueira & Franco 1988) como as Briófitas, Pteridófitas, algumas Gimnospermas e a maioria das Angiospermas (Gianinazzi-Pearson 1996).

Os FMA mantêm íntima relação com a planta hospedeira, sendo a principal característica da associação o fornecimento de fotoassimilados pelo vegetal ao fungo, que por sua vez capta nutrientes e água do solo transferindo-os à planta por estruturas presentes nas células corticais, os arbúsculos (Siqueira & Klauber Filho 2000). Várias etapas estão

envolvidas no processo de reconhecimento entre os simbiontes. A percepção de sinais químicos emitidos pela raiz do hospedeiro é o passo inicial para que ocorra a germinação do esporo, após o que ocorre a formação de apressório, seguido da ramificação e proliferação das hifas (Giovannetti *et al.* 1994). Para colonizar as raízes, os FMA utilizam mecanismos enzimáticos e mecânicos (Bonfante & Perotto 1995), ocorrendo variação em relação à estratégia de colonização e efetividade entre as espécies (Hart & Reader 2002; Duddridge 1986). Embora não específicos, os FMA apresentam “preferência” por hospedeiros (Costa *et al.* 2001; Bever *et al.* 1996), sendo que o processo controlado por genes de ambos os organismos (Barker *et al.* 1998).

Apesar das condições ambientais influenciarem a distribuição dos FMA, estes habitam os mais variados tipos de solo e colonizam raízes de plantas em diversificados ecossistemas, estando presentes em regiões de dunas (Gemma & Koske 1997), mangues (Sengupta & Chaudhuri 2002), florestas tropicais (Zhao *et al.* 2001) e solos de área vulcânica (Rubio *et al.* 2003). Foram também registrados em áreas de mineração (Silva *et al.* 2001; Melloni *et al.* 2003), colonizando raízes de plantas crescendo em locais contaminados com metais pesados (Turnau *et al.* 2001) e em sedimentos de regiões industrializadas (Oliveira *et al.* 2001).

No Brasil existem poucos relatos sobre a formação e a distribuição de FMA em áreas naturais. Trabalhos mais recentes foram realizados por Santos *et al.* (2000) e Silva *et al.* (2001) que estudaram a condição micorrízica em Monocotiledôneas no estado de Pernambuco e relataram ampla distribuição dos FMA entre espécies de Alismatidae, Arecidae e Zingiberidae, e Commelinidae, respectivamente. Andrade *et al.* (2000) verificaram que de 26 espécies de plantas presentes em floresta de Araucária e Mata Atlântica em Santa Catarina, 24 apresentavam algum tipo de estrutura fúngica característica da associação micorrízica arbuscular. A diversidade e o potencial de infectividade de FMA em área de caatinga (Xingó-Alagoas) foram investigados, sendo constatado que 95% das 71 espécies botânicas encontradas na área formavam simbiose micorrízica. No local foram identificados 24 táxons de FMA, na maioria pertencentes às famílias Acaulosporaceae e Glomaceae (Souza *et al.* 2003).

A associação micorrízica gera vários benefícios às plantas, entre eles efeitos nutricionais (absorção, disponibilidade de nutrientes e nutrição balanceada) e não-nutricionais, com ação biorreguladora (substâncias de crescimento, relação água-planta, alterações bioquímicas e fisiológicas) e ação biocontroladora (redução de danos, estresses abióticos, agregação das partículas do solo). Os efeitos nutricionais são os principais e os

demais são em geral considerados secundários, decorrentes de melhor nutrição das plantas micorrizadas (Siqueira & Klauber Filho 2000).

Além dos efeitos nutricionais, a associação micorrízica pode induzir maior resistência das plantas a patógenos de raiz e da parte aérea, conforme observado em plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Early Mech) acometidas por infecções causadas por fitoplasma (Lingua *et al.* 2002) e por *Verticillium dahliae* Kleb. (Karagiannidis *et al.* 2002) e em batatas micropropagadas infectadas com *Rhizoctonia solani* Kuhn (Yao *et al.* 2002).

Entre os nutrientes, o fósforo, encontrado em níveis baixos nas regiões tropicais, freqüentemente é considerado fator limitante da produção de culturas de interesse econômico em regiões áridas e semi-áridas, sendo melhor aproveitado pela associação micorrízica (Collozzi-Filho & Balota 1994; Al-Karaki 1998). Entretanto, a condição micorrízica aumenta a absorção não apenas do fósforo, mas de outros elementos como zinco, cobre, ferro, nitrogênio e cádmio (George 2000).

O emprego de FMA em culturas perenes e de importância agrícola, tais como as fruteiras, tem despertado interesse em vários países, uma vez que estas são produzidas em sementeiras e mantidas em viveiros durante o início do desenvolvimento, podendo ser mais facilmente inoculadas na fase de muda. A inoculação com FMA favorece a produção de mudas mais vigorosas, com maiores possibilidades de resistir a estresses bióticos e abióticos, além de minimizar, nesta fase, os gastos com fertilizantes fosfatados em solos com deficiência em P (Hall 1988; Diederichs & Moawad 1993) e reduzir o tempo para transplântio ao campo. Nos agrossistemas onde se quer reduzir o uso de insumos, utilizando-se o cultivo mínimo e a rotação de culturas, a ocorrência desses fungos é mais observada (Jansa *et al.* 2002) em relação às áreas com freqüentes práticas culturais.

Estudos com FMA em condições de campo são limitados, provavelmente pelas dificuldades na produção de inóculo, que deve ser efetivo em vários tipos de solo e para diferentes culturas; nestas condições, as plantas são expostas a fatores abióticos que interagem podendo causar alterações no crescimento, além da competição com outros microrganismos do solo (Sylvia *et al.* 1993a). Por isso, o processo de pré-inoculação das mudas que passam por fase de viveiro pode ser uma solução promissora antes da etapa de transplântio ao campo (Sasa *et al.* 1987), pois as plantas inoculadas previamente apresentam melhores condições de resistir às situações de estresse causadas pelo transplântio. Respostas positivas da pré-inoculação (Charron *et al.* 2001) foram verificadas em mudas de aceroleiras (Costa *et al.* 2001), maracujazeiro-amarelo (Cavalcante *et al.* 2002b), goiabeiras (Schiavo & Martins 2003), entre outras fruteiras.

Sob condições de campo, plantas de cevada apresentaram ampla resposta para a adição de fosfato, com ou sem inoculação de FMA, tendo os tratamentos com fungo e sem P contribuído para o aumento, em dobro, do crescimento das plantas, com poucas diferenças na ação dos FMA aplicados (Clarke & Mosse 1981). Plantas de milho (*Zea mays* L.) associadas com *Glomus etunicatum* Becker & Gerde. cultivadas em campo, sob três regimes hídricos (controle, estresse moderado e severo) e avaliadas após três anos de experimento apresentaram, em solo com alto teor de P, respostas positivas da micorrização na produção. Os autores observaram que a produção de biomassa e grãos nas plantas colonizadas foi proporcional ao aumento do estresse hídrico que, possivelmente, foi provocado pela maior absorção de P e Cu, especialmente sob condições de estresse (Sylvia *et al.* 1993b).

As enzimas do solo têm origem tanto de micro como de macrorganismos, como plantas e animais. Por outro lado, a atividade microbiana é incrementada pela adubação orgânica, presença de vegetação e rotação de culturas, favorecendo a atividade enzimática, que muitas vezes está correlacionada positivamente com a qualidade e a produtividade do solo (Moreira & Siqueira 2002). Frequentemente o cultivo de vegetais aumenta a atividade de várias enzimas, principalmente em solos onde foram aplicados fertilizantes e corretivos de origem orgânica (Aon & Colaneri 2001).

A fosfatase ácida é detectada em células animais, vegetais e microbianas (Burns 1978); no entanto, ainda não está claro se a atividade de fosfatase por FMA contribui significativamente para a nutrição de fósforo pelas plantas micorrizadas (Joner *et al.* 2000). Krishna *et al.* (1983) constataram que a detecção da atividade de fosfatase foi altamente correlacionada com a percentagem de raiz colonizada por FMA, sugerindo que o aumento de atividade dessa enzima é causado pela colonização micorrízica.

A atividade microbiana do solo cultivado com plantas de tomate foi estudada por Kim *et al.* (1998) após co-inoculação de FMA e bactérias solubilizadoras de fosfato. A atividade da fosfatase ácida foi significativamente maior nos tratamentos inoculados com *Enterobacter agglomerans*, *Glomus etunicatum* e com a mistura desses dois microrganismos do que nos tratamentos controle, aos 35 e 55 dias. A mais alta atividade de fosfatase ácida foi detectada nos tratamentos com *E. agglomerans*, aos 35 dias, entretanto, a atividade dessa enzima foi marcadamente reduzida com o tempo.

Foi avaliada a atividade da fosfatase ácida e alcalina no micélio extra-radical e nos substratos cultivados com *Plantago lanceolata* L. colonizado com *Scutellospora calospora* (Nicol. & Gerd.) Walker & Sanders e *Glomus intraradices* Schenck & Smith estudaram em substrato com diferentes valores de pH (van Aarle *et al.* 2002). A atividade das fosfatases

ácida e alcalina produzidas pelo micélio extraradical contribuiu significativamente para a detecção total de atividade de fosfatase; dessa forma a atividade dessa enzima pode ser considerada nos estudos dessa enzima. No compartimento de raiz, a atividade de fosfatase ácida observada no substrato, provavelmente não foi originada do FMA, uma vez que os valores encontrados foram similares para todos os tratamentos fúngicos. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Joner *et al.* (2000), indicando que as fosfatases dos FMA não são ativamente liberadas no solo.

A contribuição dos fungos micorrízicos arbusculares em conferir melhorias aos solos e às plantas está registrada em diversos relatos. Como exemplo temos o relevante papel desempenhado pela simbiose micorrízica, seja na conservação e recuperação de áreas degradadas, bem como no melhor desenvolvimento e produção de mudas de interesse econômico.

### **2.1. Benefícios proporcionados por FMA às fruteiras**

Ultimamente a associação micorrízica arbuscular tem despertado maior interesse, devido às evidências do papel ecológico que exerce, relacionado com a preservação ambiental, aumento da produção vegetal e menor necessidade de insumos manufaturados por parte das plantas (Siqueira & Klauberg Filho 2000). Os FMA possuem relevante importância na nutrição e crescimento de espécies frutíferas (Weber & Amorim 1994) destacando-se pelo potencial em melhorar o desenvolvimento (Jaizme-Veja & Azcón 1995), reduzir o uso de fertilizantes na produção de mudas e antecipar o tempo de transplante ao campo (Cavalcante *et al.* 2002b).

A utilização de FMA tem sido considerada como alternativa viável para aumentar o crescimento de mudas frutíferas micropropagadas, especialmente durante a fase inicial de aclimação. Rapparini *et al.* (1994) avaliaram a influência da associação com FMA em plântulas micropropagadas de pera (*Pyrus communis* L.) e pêsego (*Prunus persica* x *Prunus amygdalus*) e observaram que durante as primeiras semanas de crescimento a micorrização aumentou em duas vezes o desenvolvimento das plântulas em relação às não inoculadas. A habilidade dos fungos em promover melhor desempenho dessas plantas permaneceu mesmo depois do período de aclimação.

A simbiose com FMA na fase inicial de enraizamento de porta-enxerto micropropagado de macieira (Marubakaido) mostrou-se importante e apresentou potencial de aplicação, pois acarretou maior produção das mudas com melhores condições de

estabelecimento no viveiro ou em campo. Os efeitos de redução ou aumento do sistema radicular estiveram ligados ao crescimento das mudas (Locatelli *et al.* 2002). Plantas de banana (*Musa* spp. cv. Grand Naine) micropropagadas foram inoculadas com FMA produzidos *in vitro* e posteriormente avaliadas em casa de vegetação. Maiores incrementos no crescimento e na biomassa seca da parte aérea e raiz também foram observados em bananeiras micorrizadas e cultivadas em solo pausterizado (Declerck *et al.* 2002).

O efeito da associação com *Gigaspora margarita* Becker & Hall na redução do tempo de formação de mudas de bananeira micropropagadas foi avaliado em três estádios de desenvolvimento do sistema radicular, usando cultivo em dois substratos à base de turfa, vermiculita e esterco. As mudas foram beneficiadas pela micorrização em todos os estádios de crescimento; no substrato composto de turfa+ vermiculita+ 5% de esterco (Lins *et al.* 2003). Para avaliar o benefício da associação micorrízica na fase de aclimação de bananeiras, Trindade *et al.* (2003) avaliaram 13 substratos na formação das mudas, observando que a simbiose com *G. margarita* proporcionou melhor desenvolvimento, sendo que o substrato de crescimento influenciou esse efeito.

Souza *et al.* (1997) testaram o efeito de vários substratos no crescimento vegetativo de plântulas de citros associadas com *G. intraradices* Schenck & Smith. A presença do FMA produziu maior incremento na altura, independentemente do substrato de cultivo; entretanto, maiores diferenças entre plântulas micorrizadas em relação ao controle foram observadas naquelas cultivadas em substrato com turfa negra + turfa *Sphagnum* (1:1), onde ocorreu maior diâmetro do colo, o que poderia indicar antecipação da época de enxertia para essas plântulas.

Maior desenvolvimento de mamoeiros (*Carica papaya* L. var. Formosa) ocorreu em mudas associadas com FMA nativos do que em mudas formando simbiose com *Gigaspora albida* Schenck & Smith, ou com *Scutellospora heterogama* (Nicol. & Gerd.) Walker & Sanders, independentemente da presença de esterco bovino (Lins *et al.* 1999). Por outro lado, em *C. papaya* cv. Sunrise Solo, o desenvolvimento máximo de mudas foi alcançado no cultivo com 20 e 30% de esterco, sendo a micorrização com *G. etunicatum* mais eficiente em promover o crescimento de mudas sem sintomas de deficiência nutricional e apropriadas para o transplântio ao campo (Trindade *et al.* 2000a).

Em morangueiros (*Fragaria x ananassa* Duch cv. Elvira), apenas a associação com *G. intraradices* e *G. margarita* promoveu o crescimento das raízes; em geral, todos os isolados de FMA promoveram aumento da concentração de Mn e Mg na parte aérea das mudas; entretanto, *Glomus clarum* Nicol. & Schenck elevou a concentração de P, Mg, Ca, S, Fe, Cu e

Zn e *Gigaspora rosea* Nicol. & Schenck de N, Mg, Ca, Na, S, Fe, Cu, Mn e Zn (Taylor & Harrier 2001).

Mudas de cacau (*Theobroma cacao* L. var. Ocumare 60) foram avaliadas em viveiro quanto ao efeito da inoculação com FMA, em diferentes tratamentos de solo. Em solo desinfestado com brometo de metila, a altura das mudas variou de acordo com o fungo associado; entretanto, enquanto em solo não desinfestado a presença do FMA nativo resultou em incrementos na altura, a adição de fungos introduzidos acarretou redução no crescimento das mudas (Cuenca *et al.* 1990). A eficiência simbiótica de *G. margarita*, *Acaulospora scrobiculata* Trappe e *G. clarum*, foi testada em solo não fumigado na presença de FMA nativos, em mudas de mamoeiro (Tainung nº 1). Todos os fungos inoculados mostraram-se eficientes, com destaque para *G. clarum*, *G. margarita* e o isolado 29 de *Gigaspora* sp., que apresentaram alta eficiência (Trindade *et al.* 2000b).

Cinco comunidades de FMA coletados de pomares de citros foram testadas em plantas de limão (*Citrus volkamericana* Tan. & Pasq.) cultivados em casa de vegetação sob duas condições de rega: continuamente úmido e periodicamente seco. Após quatro meses, observou-se que a frequência de rega não influenciou o crescimento, mas os isolados micorrízicos promoveram respostas diferenciadas no desenvolvimento das plantas (Fidelibus *et al.* 2000). Estudando dois genótipos de aceroleiras (*Malpighia emarginata* D.C.), Costa *et al.* (2001) relataram que as plantas do genótipo Miró apresentaram melhor crescimento quando associadas com *G. margarita* e *G. etunicatum* e as do genótipo Barbados foram mais beneficiadas na simbiose com *G. margarita*; além disso, a micorrização reduziu em dois meses o tempo para produção de mudas dos dois genótipos.

A associação de graviroleiras (*Anona muricata* L.) com *S. heterogama* e *G. margarita* promoveu incremento no crescimento, em solo fumigado. O efeito da inoculação foi reduzido no solo natural, mas ainda assim a associação com *G. margarita*, *Entrophospora colombiana* Spain & Schenck e *Gigaspora* sp. acarretou aumento significativo no crescimento das mudas. A micorrização beneficiou a absorção de nutrientes, com respostas diferenciadas em relação aos FMA utilizados e os tratamentos de solo (Chu *et al.* 2001).

Mudas de goiabeira (*Psidium guajava* L.) apresentaram aumentos significativos na produção de matéria seca e no conteúdo de N e P da parte aérea, quando associadas com *G. clarum* em relação ao controle sem micorrização (Schiavo & Martins 20002).

Foi avaliado o efeito da inoculação com *G. maragarita* no crescimento de mudas de pêssgo (*Prunus persica* Batsch) submetidas a tratamentos com e sem excesso de água. As plantas micorrizadas mostraram rápido desenvolvimento antes da aplicação do estresse e

registraram altas concentrações de P, K e Zn na parte aérea e produção de biomassa. Após o estresse, a condição micorrízica promoveu significativa diferença no raio das raízes, que permaneceram viáveis após a exposição ao excesso de água, além de minimizar o declínio causado na saúde das plantas em relação às não colonizadas. Esses resultados sugerem que a simbiose desempenha relevante papel em reduzir os efeitos do estresse por alagamento em mudas de pêssogo (Rutto *et al.* 2002).

O comportamento de plantas de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) inoculadas com sete espécies de FMA foi estudado por Chu (1999), em solo não desinfestado. Efeitos diferenciados foram observados entre as espécies; no entanto, a associação com *Scutellopora gilmorei* Walker & Sanders foi mais efetiva em promover o crescimento e a absorção de nutrientes pelas plantas. Silveira *et al.* (2002) avaliaram a influência de seis espécies de FMA no desenvolvimento do abacateiro (*Persea* sp. Mill.). A dependência do hospedeiro ao FMA variou de acordo com o fungo; mas o efeito produzido por *S. heterogama*, *A. scrobiculata* e *G. etunicatum* foi destacado, proporcionando maior desenvolvimento vegetativo, melhor aporte de nutrientes e maior conteúdo em substâncias de reserva para as plantas.

## **2.2. Efeito da adubação fosfatada em plantas associadas com FMA**

A simbiose micorrízica exerce papel importante na aquisição de nutrientes minerais pela planta hospedeira, principalmente aqueles com baixa mobilidade no solo, como o fósforo, o zinco e o cobre (Hayman 1983). O aumento na absorção de nutrientes é relevante, principalmente em solos tropicais, onde o fósforo está disponível em baixos teores, sendo considerado o nutriente que freqüentemente limita a produção das plantas (Drozdowicz 1997).

A ocorrência generalizada e a importância do emprego de FMA, principalmente na agricultura tropical, estão bem documentadas (Sieverding 1989). Assim, dada a afinidade dos FMA pela absorção e transporte de fósforo para o hospedeiro, a formação de micorrizas constitui alternativa para aumentar a produção de plantas em solos marginais, reduzir o uso de fertilizantes químicos e contribuir para tornar a agricultura mais sustentável e menos dependente de insumos (Siqueira 1996). Quando o crescimento e a produção da planta são limitados pela taxa de aquisição de nutrientes, os FMA podem ser usados a fim de aumentar esta eficiência e o uso desse recurso torna-se importante no ganho de biomassa ou de outros parâmetros mensuráveis da planta.



Aplicações de pequenas doses de fósforo podem favorecer o desenvolvimento das micorrizas em solos com quantidades muito baixas deste nutriente; por outro lado, quantidades elevadas podem inibir a colonização (Johnson 1993; Treseder & Allen 2002). Entretanto, esses mecanismos diferem entre as espécies fúngicas e os diferentes sistemas fungo-planta (Saggin-Júnior *et al.* 1994). Trimble & Knowles (1995) avaliaram a influência da nutrição com fósforo durante o crescimento inicial até a maturidade em plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) associadas a *G. intraradices*. A fase de produção de frutos foi mais sensível à nutrição com fósforo, enquanto a associação micorrízica acelerou o desenvolvimento inicial das plantas pelo aumento da eficiência de absorção do P; as plantas em simbiose produziram frutos ligeiramente mais cedo do que as plantas sem a associação. A utilização de FMA nessas condições experimentais demonstrou que a simbiose foi vantajosa na fase de inicial de produção.

Saggin-Júnior *et al.* (1994) estudaram a influência de FMA no crescimento e nos teores de nutrientes em mudas de café (*Coffea arabica* L. cv. Mundo Novo) em solo não fumigado e adubado com superfosfato simples, de maneira que apresentasse P disponível variando de 1,5 a 588 µg/g de P no solo; plantas não micorrizadas em solo fumigado e não fumigado serviram como controle. Ao final do experimento todos os tratamentos micorrizados e em solo não fumigado apresentaram maior produção de matéria seca da parte aérea do que aqueles cultivados em solo fumigado, com respostas diferenciadas entre os fungos e as doses de fósforo. Os efeitos benéficos da micorrização foram maiores nas doses intermediárias de fósforo; entretanto, a elevação do fósforo mostrou-se depressiva para o crescimento das plantas micorrizadas. A colonização também variou entre os fungos e foi reduzida pelo aumento do P disponível.

A colonização micorrízica e o crescimento de duas espécies de alface (*Lactuca sativa* L.), uma selvagem (*L. serriola* L.) e outra cultivada, foram estudados em resposta à adição de fósforo. As duas espécies apresentaram peso seco similar e resposta semelhante no crescimento em solo sem fósforo e na associação com *G. intraradices*. As plantas não micorrizadas mostraram resposta positiva com o suplemento de fósforo; no entanto, nas plantas micorrizadas o peso seco foi reduzido nesse tratamento suplementado com fósforo (Jackson *et al.* 2002). Dois cultivares de cevada (*Hordeum vulgare* L.) foram testados em potes de diferentes tamanhos para avaliar o efeito do volume do solo na absorção do P e a resposta à micorrização. Independente das condições de crescimento, a cultivar Sahara apresentou maior biomassa de raiz do que a cv. Clipper e, conseqüentemente, mais fósforo foi alocado para as raízes da primeira do que da segunda cultivar. O maior volume de solo

propiciou aumento na percentagem de raiz colonizada no crescimento da planta e na absorção de fósforo; a cultivar Sahara foi mais sensível às mudanças de volume de solo do que a outra cultivar. Por outro lado, a cv. Clipper foi mais responsiva ao FMA em termos de concentração de fósforo nos tecidos. Quanto à absorção específica do P (mg P/g de biomassa de raiz) proporcionada pelo fungo, esta foi maior na cultivar Clipper, sugerindo que a simbiose teve importante papel na absorção desse elemento (Zhu *et al.* 2003).

A resposta de seis espécies arbóreas *Senna macronthera* (Collad) Irwin et Barneby (fedegoso); *Guazuma ulmifolia* Lamark (mutamba); *S. multijuga* (Rich.) Irwin et Barneby (cássia-verrugosa), *Solanum granuloso-leprosum* Dunal (gravitinga); *Schinus terebenthifolius* Raddi (aroeira) e *Trema micrantha* (L.) Blume (trema) associadas com *G. etunicatum* e cultivadas com níveis de fósforo muito baixo (0,002), baixo (0,02) e alto (0,2) na solução do solo (mg L<sup>-1</sup>) foi investigada. Apenas em solo com fósforo muito baixo e baixo o FMA promoveu resposta no crescimento das mudas. No tratamento em solo com elevado nível de fósforo não houve resposta à inoculação. As plantas de gravitinga sobreviveram apenas em fósforo baixo e alto; enquanto fedegoso, foi dominante em fósforo muito baixo, mostrando-se adaptado à baixa fertilidade. A simbiose com *G. etunicatum* exerceu forte influência na dominância das espécies, auxiliando as menos competitivas e gerando maior equilíbrio (Flores-Aylas *et al.* 2003).

O efeito da inoculação com *G. etunicatum* e da utilização de superfosfato simples sobre o crescimento de mudas de abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merr) cv. Smooth Cayenne foi observado por Siqueira (1996). A colonização aumentou com a elevação do P até 60mg dm<sup>-3</sup> de solo, decrescendo a partir desse valor; porém, mesmo com elevada colonização não se registrou benefícios da micorrização no crescimento da planta. Resultados contrários foram observados por Matos & Silva (1996) quando inocularam *G. clarum*, *G. margarita* e *Acaulospora* sp. em abacaxizeiros cv. Pérola micropropagados. Durante a fase de aclimação não houve diferença significativa entre as plantas micorrizadas e as controle; no entanto, seis meses depois do transplante ao campo, as plantas inoculadas eram maiores do que as não inoculadas e, após 12 meses, apresentaram também maior acúmulo de biomassa e conteúdo de fósforo e potássio nas folhas.

Melloni & Cardoso (1999) avaliaram o efeito da inoculação com *G. intraradices*, *G. etunicatum* e *G. clarum* no desenvolvimento de tangerina Cleópatra (*Citrus reshni*) e laranja caipira [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], cultivadas em solo com diferentes níveis de fósforo. A colonização radicular foi reduzida com o aumento das doses de fósforo, enquanto altura,

diâmetro do caule, matéria seca da parte aérea e quantidade total de macro e micronutrientes aumentaram nos dois porta-enxertos estudados.

Para avaliar o efeito da micorrização no crescimento de limoeiro cv. Mexicano, Bello *et al.* (1992) submeteram as plantas a três níveis de fertilização fosfatada. As plantas com FMA nativos destacaram-se por apresentar 63,25% de colonização, quando fertilizadas com 60Kg P ha<sup>-1</sup>. Nas plantas inoculadas com *G. intraradices* a colonização foi semelhante em todos os níveis de fertilização. Após 16 semanas, a biomassa seca das plantas inoculadas e adubadas com 120 Kg P ha<sup>-1</sup> aumentou em 130% em relação às sem inoculação. Graham *et al.* (1997) observaram o efeito da inoculação com *G. intraradices* em cinco genótipos de citros. A micorrização aumentou a concentração de P nas plantas em solo com concentração de P < 0,10% e > 0,19%. A biomassa das plantas micorrizadas foi significativamente afetada pelo suplemento de fósforo e pelo genótipo estudado.

A influência da adubação com seis doses de fósforo (0, 50, 100, 150, 200 e 250 mg Kg<sup>-1</sup> de substrato) e da inoculação com *G. etunicatum* e *G. intraradices* foi testada para avaliar o crescimento e a nutrição mineral de limoeiro cravo [*Citrus limonia* (L.) Osbeck]. O porta-enxerto limoeiro cravo revelou alta dependência micorrízica na absorção dos nutrientes, apenas em associação com *G. intraradices*, resultando em maior altura, diâmetro do caule e matéria seca da parte aérea (Melloni *et al.* 2000).

Souza (2000) avaliou o efeito de *G. intraradices* no desenvolvimento vegetativo de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.), após sete meses de cultivo, em casa de vegetação. A presença do fungo promoveu maior número de folhas e aumentou: área foliar, altura, diâmetro do caule e biomassa seca das raízes e parte aérea das plantas, confirmando a dependência do citros ao FMA.

Mudas de goiabeira (*Psidium guajava* L.) foram inoculadas com *G. clarum* e *G. margarita* e adubadas com três doses de fósforo (0, 10 e 50 mg.kg<sup>-1</sup>). Aumentos significativos na produção de matéria seca e nos conteúdos de fósforo e potássio foram alcançados nas plantas cultivadas em solo com até 10 mg kg<sup>-1</sup> de P; nos tratamentos com 50 mg kg<sup>-1</sup> as plantas diferiram apenas das demais no conteúdo de fósforo na parte aérea (Samarão & Martins 1999).

Em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) associados com *G. albida*, *S. heterogama* e inóculo misto (*G. albida*, *G. margarita*, *Acaulospora longula* Spain & Schenck e *S. heterogama*) as mudas apresentaram maiores valores de altura, diâmetro do caule, número de folhas e gavinhas quando cultivadas em solo esterilizado. Nos

tratamentos em solo esterilizado a concentração de fósforo na parte aérea foi reduzida nas mudas sem inoculação e nas associadas com *S. heterogama* (Cavalcante *et al.* 2002a).

### 2.3. Dependência micorrízica

As plantas que formam associação com FMA variam na dependência a estes simbiontes (Janos 1980). De acordo com Gerdemann (1975), a dependência é definida como o grau a partir do qual as espécies de planta dependem da condição micorrízica para alcançar máximo crescimento sob determinado nível de fertilidade do solo.

Plenchette *et al.* (1983) propuseram o termo “dependência micorrízica relativa” (RDM), a qual é determinada pela diferença entre a massa seca das plantas micorrizadas e das não micorrizadas/massa seca das plantas micorrizadas, expressa em percentagem. Por sua vez, Habte & Manjunath (1991), baseados em Plenchette *et al.* (1983), descreveram categorias de dependência, em relação à concentração de fósforo na solução do solo, que variavam de excessivamente dependentes a independentes.

Mudas de maracujazeiro foram consideradas extremamente dependentes da associação micorrízica quando cultivadas em solo desinfestado e com 4 mg dm<sup>-3</sup> P. Em solo com 11 mg dm<sup>-3</sup> P, as mudas foram consideradas de marginal a moderadamente dependentes, de acordo com a espécie de FMA utilizada. Todas as mudas inoculadas, sem considerar os tratamentos de solo, foram marginalmente dependentes com 30 mg dm<sup>-3</sup> P. Plantas mantidas em solo desinfestado, independentemente do teor de fósforo no solo, foram consideradas moderadamente dependentes (Cavalcante *et al.* 2001a).

Em mudas de quatro variedades de mamoeiro (*Carica papaya* L.), associadas com FMA, maior eficiência micorrízica foi obtida nos tratamentos com até 20 mg dm<sup>-3</sup> de P disponível. O uso de fungos micorrízicos nas variedades Baixinho de Santa Amália e Tainung nº 1 reduziu em até sete vezes a necessidade de fósforo no solo, para atingir máxima produção de matéria seca. Com base nestas observações, Trindade *et al.* (2001) concluíram que o mamoeiro apresenta alto grau de dependência à micorrização.

Sete cultivares de banana (*Musa acuminata* grupo AAA) foram inoculados com *Glomus mosseae* e *Glomus macrocarpum* Tul. & Tul. e avaliados quanto à dependência micorrízica. A micorrização produziu geralmente maior peso seco da parte aérea e concentração de fósforo em relação às plantas não inoculadas. Uma grande variação na dependência micorrízica relativa (RDM) foi observada entre os cultivares; a cv. Williams

mostrou a mais alta e a cv. Poyo a menor RDM; nessas duas cultivares maior RDM ocorreu nos tratamentos com *G. macrocarpum* (Declerck *et al.* 1995).

A compatibilidade funcional entre 30 espécies frutíferas e dois FMA (*Glomus aggregatum* Schenck & Smith emend. Schenck e *G. intraradices*) foi investigada por Bâ *et al.* (2000). Diferenças marcantes foram observadas em termos de formação micorrízica, colonização radicular, dependência micorrízica relativa e concentração de fósforo nos tecidos da parte aérea. *Alfelia africana* Smith., *Landolphia heudelottii* A. DC. e *Saba senegalensis* (A. DC.) Pichon não formaram associação simbiótica; o crescimento de *A. africana* foi menor nas plantas inoculadas; *L. heudelottii* e *S. senegalensis* não apresentaram dependência micorrízica. Por outro lado, *Adansonia digitata* L., *Aphania senegalensis* Radlk., *Anacardium occidentale* L., *Balanites aegyptica* (L.) Del. e *Sclerocarya birrea* (A. Roch.) Hochst. foram colonizadas, mas não apresentaram aumento significativo de biomassa. Cinco das fruteiras mostraram-se dependentes da associação com *G. agregatum*, *Ziziphus mauritiana* Lam. foi excessivamente dependente (RMD > 75%), *Tamarindus indica* L. foi altamente dependente (RMD 50-75%) e *Dialium guineensis* Wild., *Parkia biglobosa* (Jacq.) e *Cordyla pinnata* (Lerpr. ex A. Rich.) Milne-Redhesd. foram moderadamente dependentes (RMD 25-50%). Esses dados indicam que várias frutíferas tropicais podem ser beneficiadas pela associação com FMA.

Resultados semelhantes foram encontrados em 29 espécies arbóreas brasileiras associadas com FMA e cultivadas em solo com três níveis de P na solução do solo (0,002, 0,02 e 0,2 mg L<sup>-1</sup>). Houve grandes diferenças entre as espécies nas respostas à inoculação, à dependência e à eficiência na absorção de fósforo. Esses parâmetros foram influenciados pela disponibilidade de P na solução do solo; a colonização micorrízica variou de zero, em 10 espécies consideradas não micotróficas, a > 60% naquelas 19 espécies altamente micotróficas (Siqueira & Saggin-Júnior 2001).

O emprego de FMA em culturas perenes e de importância agrícola, tais como as fruteiras, tem despertado interesse em vários países, uma vez que estas são produzidas em sementeiras e mantidas em viveiros durante o início do desenvolvimento, podendo ser mais facilmente inoculadas. A inoculação de espécies apresentando comprovada dependência micorrízica pode favorecer o crescimento de mudas mais vigorosas, com melhor poder de pegamento e maiores possibilidades de resistir a estresses bióticos e abióticos, além de minimizar os custos com fertilizantes em solos com deficiência em P (Hall 1988; Diederichs & Moawad 1993), antecipando ainda o tempo de transplante ao campo.

## 2.4. Densidade de inóculo

Inúmeros fatores podem influenciar os estádios iniciais da micorrização, desde a germinação dos esporos até o estabelecimento completo da simbiose. As condições de pH, umidade, luz, temperatura, matéria orgânica, biocidas, microrganismos, (Hayman 1983; Siqueira *et al.* 1985) e a interação fungo-planta exercem importante papel no sucesso da associação (Bonfante & Perotto 1995; Barker *et al.* 1998). Isolados de FMA coletados de diferentes solos ou isolados de um mesmo solo conferem diferentes benefícios a uma mesma espécie de planta (Allen *et al.* 1995).

A quantidade mínima de inóculo é parâmetro importante para o uso comercial do FMA, pois conseguir melhor crescimento do hospedeiro com densidade reduzida de inóculo pode minimizar os custos de inoculação por planta (Hass & Krikun 1985). A densidade de propágulos promove diferentes taxas de colonização radicular (McGee *et al.* 1999), bem como respostas diferenciadas ao vegetal (Siqueira *et al.* 1994).

Clapperton & Reid (1992) avaliaram a relação entre o crescimento da planta e a aplicação de doses crescentes de inóculo de FMA (0,5; 0,25; 0,125; 0,063; 0,031 g de solo g<sup>-1</sup>), em solos com ou sem fertilização e observaram que as proporções de solo inóculo afetaram significativamente o crescimento das plantas. O número de folhas foi maior nas plantas fertilizadas, crescendo em solo não diluído; o peso seco da parte aérea aumentou com a elevação das proporções de inóculo, acima de 0,5 para solo fertilizado e 0,125 em solo não fertilizado. Estudos semelhantes foram desenvolvidos em plantas de citros utilizando cinco diluições de solo inóculo contendo fragmentos de raízes colonizadas por *G. intraradices*; a inoculação com 20-40mg fragmentos 100 cm<sup>-3</sup> de solo foi efetiva para o crescimento das plantas, enquanto densidades abaixo de 2,5 mg 100 cm<sup>-3</sup> reduziram a colonização sem alterar o crescimento e a absorção de nutrientes das plantas inoculadas (Graham & Fardelmann 1986).

A eficiência de dois tipos de inóculo de FMA foi testada em limão 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck) e limão 'Rugoso' (*C. jambhiri* Lush), com aplicação de 50 mL de solo contendo micélio, fragmentos de raízes colonizadas e suspensão de 500 e 1000 esporos de *G. mosseae* e *G. etunicatum* por planta. A maior altura foi alcançada em todos os tratamentos com o inóculo composto de solo, raízes e esporos, especialmente na associação com *G. etunicatum* e limão 'Rugoso', e o maior incremento no peso da matéria seca foi observado nas plantas que receberam solo inóculo + suspensão de esporos, independentemente do FMA e do porta-enxerto (Oliveira *et al.* 1992).

Também em estudos com citros, Fonseca *et al.* (1994) observaram benefícios em plantas de tangerina ‘Cleópatra’ (*C. reshni* Hort. Ex Tan.), utilizando 530 esporos de *G. clarum*/planta. Resultados positivos foram igualmente obtidos com a inoculação de 2.500 esporos, hifas e segmentos de raízes colonizadas com *G. etunicatum* em plantas de tangerina, onde se observou aumento na matéria seca e incrementos significativos na absorção e no acúmulo de nutrientes (Cardoso & Lambais 1993).

Plântulas de café foram inoculadas com densidades crescentes de esporos de *G. margarita* (0, 50, 100, 200, 400 e 800). O aumento da densidade de esporos acelerou a colonização, mas não promoveu benefícios no crescimento das plântulas com concentrações maiores do que 100 esporos (Siqueira *et al.*, 1994). Estudando o efeito de três níveis (200, 300 e 400 esporos/planta) de inóculo de FMA em mudas de maracujazeiro-amarelo, Cavalcante *et al.* (2002b) constataram que a inoculação de 300 esporos de *G. albida*, *G. margarita* e *G. etunicatum* era suficiente para produzir incrementos significativos na biomassa seca da parte aérea e na área foliar das mudas.

### **3. Trocas gasosas em plantas sob estresse hídrico**

A água é um dos mais importantes fatores ambientais, limitando o crescimento das plantas, a produtividade e a distribuição geográfica das espécies (Gupta 1991; Nelsen 1987). O excesso e a falta de água podem causar severos estresses às plantas terrestres, as quais, há milhões de anos, vêm desenvolvendo estratégias para lidar com condições ambientais adversas (Taylor 1996; Riederer & Schreiber 2001), que induzem mudanças nos parâmetros fisiológicos e bioquímicos (Romo *et al.* 2001). Embora as espécies variem quanto à resposta frente a qualquer tipo de estresse, seja causado pela água, temperatura ou salinidade, é admitido que todos os vegetais têm capacidade de percepção, sinalização e resposta frente ao estresse (Bohnert *et al.* 1995).

A escassez de água está relacionada a processos meteorológicos e pedológicos (Lier 2000) e a disponibilidade desse elemento é muitas vezes restrita em ambientes áridos e semi-áridos, influenciando de forma decisiva o crescimento e a produção de culturas (Ellis *et al.* 1985).

As condições hídricas dos vegetais estão diretamente relacionadas com o teor de água nos tecidos e a forma mais conveniente de expressar o déficit de água nesses tecidos, especialmente nas folhas, é a medida do status de energia da água, ou seja, seu potencial total

(Slatyer 1967). Este estado energético resulta da interação da demanda evaporativa da atmosfera, com o potencial de água do solo, a densidade e a distribuição do sistema radicular, além de processos fisiológicos (Kramer 1969). Algumas variáveis fisiológicas como fotossíntese líquida, nível de ácido abscísico, transpiração, condutância estomática etc, são correlacionadas com o potencial total de água na planta ou seus componentes; por isso, essas variáveis têm importante valor nos estudos das relações hídricas (Hsiao 1973; Ismail *et al.* 2002).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) estão em interação com as raízes das plantas na maioria dos ecossistemas terrestres e nos sistemas de produção de culturas economicamente importantes (George 2000). Por outro lado, a simbiose micorrízica sofre influência de vários fatores como: temperatura do solo, luminosidade, umidade, estresse hídrico, pH etc. (Bagyaraj 1991). O estabelecimento e o desenvolvimento desta simbiose resultam em modificações bioquímicas, nutricionais e fisiológicas na planta hospedeira, influenciando seu comportamento. Como exemplo podem ser citados: alterações na fotossíntese (Augé 2000), teor de clorofila, síntese de proteínas, compostos secundários (Vierheilig *et al.* 2000), produção de substâncias de crescimento (Goicoechea *et al.* 1998; Kaldorf & Ludwig-Müller 2000; Shaul-Keinan *et al.* 2002), favorecimento na absorção (Al-Karaki 1998), utilização de nutrientes e água (Al-Karaki & Al-Raddad 1997; Ruiz-Lozano & Azcón 1995), etc.

O micélio externo do fungo micorrízico proporciona uma ligação física entre o hospedeiro e os recursos do solo (Miller & Jastrow 2000). A partir desse conhecimento, alguns estudos têm sido realizados para testar essa premissa. Em experimentos com *Vigna unguiculata* (L.) Walp. associada a *G. intraradices*, Augé *et al.* (2001) observaram que a simbiose micorrízica induziu mudanças nas características de umidade e estrutura do solo. Resultados de experimentos com trevo (*Trifolium pratense* L.) e alho (*Allium porrum* L.) indicaram que o micélio externo do fungo micorrízico aumentou a superfície de absorção de água, independentemente do aumento do teor de nutrientes nas plantas (Hardie 1985). Braunberger *et al.* (1996) constataram a capacidade do micélio externo e de hifas, presentes na raiz, de sobreviver tanto em solo seco como em solo úmido. Estudos para avaliar a absorção de água pela hifa de FMA em condições de estresse hídrico mostraram variações quanto à habilidade de cada fungo em responder aos níveis de água no solo (Ruiz-Lozano & Azcón 1995).

Efeitos do estresse hídrico foram avaliados em *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. e *Gliricidia sepium* (Jacq.). Walp, leguminosas que crescem rápido sob condições limitadas



de água. A inoculação de *L. leucocephala* com *Glomus deserticola* Trappe, Bloss & Menge proporcionou elevada pressão no potencial da água do xilema, indicando a eficiência da associação em extrair mais água do solo sob condições de estresse. A simbiose de *G. sepium* com *G. deserticola* elevou o conteúdo de água nas folhas das plantas sob estresse, indicando que a simbiose eficientemente ajudou a planta na absorção e retenção de água nas folhas, aumentando assim as atividades fisiológicas e proporcionando incremento na produção (Fagbola *et al.* 2001).

As respostas das espécies vegetais ao estresse hídrico têm sido estudadas através de vários parâmetros fisiológicos, como as trocas gasosas e o potencial de água da folha, condutância estomática, transpiração, resistência estomática, temperatura foliar e acúmulo de solutos (Rocha & Moraes 1997; Regina & Carbonneau 1997; Pimentel & Hébert 1999; Nogueira & Silva 2001; Fumis & Pedras 2002; Castro Neto 2003). Conforme revisão realizada por Augé (2001), vários trabalhos relatam o efeito da simbiose micorrízica sobre a alteração dessas variáveis fisiológicas e das respostas de crescimento das plantas quando submetidas a estresse. Entretanto, outros estudos têm demonstrado que, em alguns casos, a simbiose micorrízica não altera o comportamento estomático e as relações hídricas das plantas (Bryla & Duniway 1997a, b, c; Diallo *et al.* 2001).

O papel principal dos estômatos é manter a hidratação dos tecidos vegetais quando o suplemento de água do solo é menor do que a demanda evaporativa; dessa forma, o fechamento dos estômatos limita a perda de água e diminui as chances da planta alcançar um potencial hídrico que seja letal (Raven 2002). Entretanto, essa redução estomática limita as trocas gasosas, acarretando queda na assimilação de CO<sub>2</sub>, prejudicando a atividade fotossintética (Boyer 1971).

A simbiose micorrízica influencia o comportamento estomático das plantas hospedeiras, podendo afetar, conseqüentemente, a fotossíntese, processo fisiológico intimamente ligado a esse comportamento (Augé 2002). No entanto, não está bem claro se as mudanças nas plantas micorrizadas em relação às não micorrizadas acontecem em decorrência do aumento de nutrientes, ou ocorrem independentemente da nutrição, principalmente do fósforo. Augé *et al.* (1986) observaram que o ajustamento osmótico e a manutenção do turgor em roseiras (*Rosa hybrida* L. cv Samantha) colonizadas com *G. deserticola* e *G. intraradices* e sob estresse hídrico, foram devidos à micorrização e não ao maior aporte de nutrientes.

Aumento nas taxas de fotossíntese e transpiração foram relatadas em bananeiras associadas com *G. clarum* e *G. etunicatum*; tais efeitos podem ter sido causados pela maior absorção de fósforo pelas plantas (Yano-Melo *et al.* 1999). Em plantas de citros inoculadas

com quatro espécies de *Glomus*, isolados de áreas com diferentes condições edáficas e climáticas, foi constatada a contribuição da simbiose no aumento da transpiração das mudas sob condições de estresse hídrico e após reirrigação, sugerindo rápida recuperação das plantas micorrizadas, provavelmente devido à maior exploração da água do solo pelas raízes. Além disso, também foi sugerido que os efeitos causados pela micorrização podem ter sido consequência secundária do aumento do P proporcionado pelo fungo à planta, como indicado pela alta correlação entre o crescimento da raiz e a concentração de P nas folhas (Fidelibus *et al.* 2001).

Resultados contrários foram observados em plantas de citros colonizadas com *G. intraradices*, onde o aumento da taxa fotossintética nas plantas micorrizadas foi explicado pelo aumento na assimilação de fotossintatos e/ou biossíntese de hormônios. Isso indica que o nível de P presente nos tecidos do vegetal não foi fator limitante em relação à taxa fotossintética das plantas micorrizadas (Johnson 1984).

Aumento na absorção de água em plantas de *Bouteloua gracilis* (H.B.K.) Leg ex Steud associadas com *Glomus fasciculatum* (Thax. sensu Gerd.) Gerd. & Trappe foi constatado através da redução em 50% nas taxas de resistência estomática, sem alteração nos potenciais de água das folhas e raízes, aumentando, conseqüentemente, a transpiração em 100%; isso provavelmente aconteceu devido à maior absorção de água pelas hifas do FMA (Allen 1982).

Maiores taxas fotossintéticas e de condutância estomática foram observadas em plantas micropropagadas de goiaba associadas com FMA; o aumento foi relacionado com os melhores resultados de desenvolvimento das plantas (Estrada-Luna *et al.* 2000). Em plantas de *Rosa hybrida* (L) sob estresse, a micorrização elevou a transpiração e a absorção de água em relação às não inoculadas, independentemente de algum efeito nutricional (Henderson & Davies 1990). A associação de macieiras (*Malus hupehensis* Rehd) com *Glomus versiforme* Daniels & Trappe e *G. macrocarpum* também conferiu aumento nas taxas de transpiração e reduziu a resistência estomática, ajudando a planta a se recuperar do estresse hídrico por maior absorção e translocação de água pelo micélio externo (Runjin 1989).

A tolerância de plantas de alfafa (*Medicago sativa* L. cv Tierra de Campos) ao estresse hídrico aumentou pela associação com *G. mosseae*, através da manutenção dos valores de troca de CO<sub>2</sub> em estresse médio (-1.1 MPa) e severo (-2,6 MPa) e da elevação da condutância estomática (Sánchez-Díaz *et al.* 1990). Plantas de pimenta (*Capsicum annuum* L.) em simbiose com *G. deserticola* mostraram-se mais tolerantes ao estresse provavelmente devido a maiores fluxos fotossintéticos, condutância estomática e turgor nas folhas. A combinação desses efeitos, atribuídos principalmente ao maior desenvolvimento do micélio extraradicular,

foi responsável pelo melhor desempenho das plantas micorrizadas frente à redução de água no solo (Davies *et al.* 1993). Maior potencial hídrico nas folhas (menos negativo), transpiração e menor resistência difusiva foram observados em plantas de milho em simbiose com *G. intraradices* quando submetidas a estresse hídrico, sugerindo, mais uma vez, que o FMA aumentou significativamente a tolerância do hospedeiro ao estresse (Subramanian *et al.* 1995). Resultados semelhantes foram relatados em feijão caupi cv. White Acre inoculado com o mesmo FMA, sob condições de baixo potencial de água no solo (Duan *et al.* 1996).

Como exposto, o estresse hídrico altera o desenvolvimento da planta e os FMA podem ajudar a amenizar essas modificações através de maior absorção e transporte direto de água pela hifa do fungo. Diferenças significativas têm sido registradas em relação aos isolados micorrízicos, aos genótipos das plantas e ao ambiente, no que se refere às respostas conferidas sob condições de estresse hídrico. Maior absorção do fósforo, melhor disponibilidade de água pelo micélio externo ou os altos custos de carbono requeridos pelo FMA são algumas das causas indicadas como responsáveis pelos diversificados resultados encontrados nestes estudos e que ainda precisam ser melhor esclarecidos.

### **3.1. Efeito do estresse hídrico no crescimento e na concentração de solutos**

O déficit hídrico é um dos importantes fatores limitantes da produção agrícola devido à redução no crescimento das plantas (Gutiérrez-Boem & Thomas 1999; Chartzoulakis *et al.* 2002); entretanto, o efeito da deficiência de água na produção depende da época de ocorrência e de sua severidade (Casagrande *et al.* 2001). A falta de água também pode afetar a eficiência do processo fotossintético, tanto de forma direta, causando desidratação do citoplasma, como indireta, provocando alterações estomáticas (Miyasaka & Medina 1981). O déficit hídrico também é conhecido por causar alterações em uma variedade de processos bioquímicos e fisiológicos, desde a fotossíntese, à síntese de proteínas e acumulação de solutos (Hu & Schmidhalter 1998).

A retenção de água nos tecidos das plantas depende do equilíbrio entre a absorção de água do solo através das raízes e a água perdida por transpiração. Dessa forma, a quantidade de água disponível no solo e outros fatores que reduzam o processo de absorção e o transporte desse elemento podem induzir alguma deficiência hídrica nos tecidos das plantas; no entanto, o estágio de desenvolvimento da planta e sua possibilidade de aclimação ao estresse são fatores que podem pesar no processo de recuperação (Calbo & Moraes 2000).

A colonização do hospedeiro com FMA representa uma condição especial na relação água-plantas em condições de déficit hídrico (Paula & Siqueira 1987), pois as hifas do fungo aumentam a área de absorção da planta e, conseqüentemente, captam maior quantidade de água e nutrientes (Ruiz-Lozano & Azzcón 1995), fato que na maioria das vezes contribui para aliviar os efeitos causados pelo estresse hídrico (Subramanian & Charest 1998; Al-Karaki *et al.* 1998; Diallo *et al.* 2001). No entanto, os isolados de FMA apresentam respostas diferentes frente às situações de estresse (Simpson & Daft 1990).

Tanto em condições normais de rega, como sob estresse hídrico, plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) associadas com *G. fasciculatum* e plantas não micorrizadas apresentaram igual biomassa seca da parte aérea; por outro lado, a simbiose com *G. mosseae* reduziu o crescimento das plantas nas duas situações. A associação com *G. fasciculatum* parece ter aumentado a tolerância das plantas ao estresse, enquanto nas associadas com *G. mosseae* isso não aconteceu (Allen & Boosalis 1983). A micorrização do milho com *G. fasciculatum* e *G. deserticola* proporcionou melhorias no crescimento das plantas, após 63 dias de estresse (Ellis *et al.* 1985). A colonização de plantas de trigo com *Glomus monosporum* promoveu o crescimento, a aquisição mineral e a habilidade de resistência ao estresse hídrico. As taxas de colonização radicular foram consideravelmente reduzidas nos tratamentos sob estresse; entretanto isso não gerou mudanças nos benefícios promovidos nos hospedeiros (Al-Karaki & Clark 1998).

Paula & Siqueira (1987) relataram os benefícios da associação micorrízica traduzidos por maior crescimento e conteúdo de água em plantas de soja. Os autores propõem que esses benefícios estejam mais relacionados com as modificações morfo-fisiológicas provocadas pela simbiose do que pelas modificações nutricionais, especialmente as causadas pelo P. Resultados contrários foram obtidos por Bethlenfalvay *et al.* (1988), onde plantas de soja associadas com *G. mosseae* apresentaram maior biomassa e comprimento do micélio extraradicular quando sob estresse hídrico severo do que quando sem estresse, o maior crescimento nas plantas micorrizadas e adubadas com P, sob estresse, foi atribuído à maior absorção de água e maior eficiência na absorção do P.

Contribuições da micorrização em proporcionar melhores taxas de crescimento em plantas sob estresse devido à maior absorção de água e nutrientes também foram relatados em maçã (*Malus hupehensis* Rehd) (Runjin 1989), alface (*Lactuca sativa* L.) (Ruiz-Lozano & Azzcón, 1995) e milho (*Zea mays*) L. (Subramanian & Charest 1997).

Em mudas de maracujazeiro-amarelo associadas com *G. albida*, *G. margarita* e *G. etunicatum*, o estresse hídrico não provocou mudanças no crescimento; o contrário foi

verificado nos tratamentos sem inoculação, cujas plantas não cresceram quando submetidas a estresse (Cavalcante *et al.* 2001b).

Os estômatos exercem importante papel nas trocas gasosas e na transpiração (Razen & Davis 2002). Sob condições de déficit hídrico, uma das respostas mais comuns em plantas é a produção e/ou acumulação de osmólitos compatíveis e acúmulo de ácido abscísico (Gomes *et al.* 1997), pois estes não interferem nas reações bioquímicas normais, além de funcionarem como reguladores dos estômatos em situações de estresse. Alguns desses osmólitos, como os compostos orgânicos neutros (açúcares), certos aminoácidos e compostos quaternários são considerados osmoticamente ativos. Esses solutos neutralizam os efeitos imediatos causados pela queda do potencial hídrico nas plantas, ajudando na osmorregulação e na proteção de proteínas e membranas (Gzik 1996).

Tem sido observada correlação entre o acúmulo de compostos e o ambiente natural de cada espécie, ou seja, as espécies que crescem em ambientes secos acumulam derivados de prolina; as que vivem em ambiente salino sintetizam mais  $\beta$ -alanina-betaína. O fato de diferentes condições abióticas favorecerem o acúmulo de diferentes osmólitos em membros de uma única família ainda não é bem entendido (Taylor 1996; Bohnert *et al.* 1995).

Provavelmente as estratégias utilizadas pelas plantas para suportar condições de estresse sejam controladas geneticamente (Hare *et al.* 1999; Casagrande *et al.* 2001). Uma resposta fisiológica específica ao déficit hídrico representa combinações de eventos moleculares que são ativados ou desativados pela percepção do estresse (Bray 1993). O estresse induz genes que codificam proteínas, as quais supostamente têm importante papel na resposta à redução da disponibilidade de água. Essas proteínas auxiliam na tolerância à dessecação, proteção de estruturas celulares ou estão envolvidas na tradução de sinais que são induzidos sob essas condições (Romo *et al.* 2001).

A prolina talvez seja o aminoácido mais amplamente distribuído entre os osmólitos compatíveis (Taylor 1996); o acúmulo dessa substância tem sido registrado em bactérias, algas e plantas superiores (Goicoechea *et al.* 1998) e sua presença não acontece apenas em resposta ao déficit de água (Nogueira *et al.*, 2001), mas também por estresse salino (Lacerda, *et al.* 2001), variações na temperatura (Ceccardi & Ting 1996) e luminosidade. Durante o estresse hídrico a prolina, nas folhas, serve como uma reserva orgânica de nitrogênio que pode ser utilizada durante a recuperação dos tecidos frente ao estresse (Taylor 1996). Há registros de aumento na concentração de prolina como osmorregulador em plantas sob estresse hídrico (Argandona & Pahlich 1991; Gzik 1996; Girousse *et al.* 1996; Fumis & Pedras 2002).

Alterações na concentração de carboidratos também são relatadas em plantas sob estresse, uma vez que a concentração e partição desses solutos estão envolvidas no ajustamento osmótico, importante processo que garante a manutenção do turgor das plantas sob déficit hídrico (Clifford *et al.* 1998). Os carboidratos agem primariamente como fonte de energia química e como materiais permanentes na construção de estruturas biológicas, além do seu fornecimento ser essencial para a alta demanda de energia utilizada nos processos de fixação do nitrogênio (Chinnasamy & Bal 2003).

Mudanças no metabolismo de açúcares foram registradas em plantas de *Ziziphus mauritiana* (Lam.) quando submetidas à suspensão de rega; no entanto, não há certeza de que o ajustamento osmótico observado foi resultado da remobilização dos açúcares de folhas senescentes de volta ao caule e raízes ou de novas assimilações de carbono (Clifford *et al.* 1998). Outro fator que pode influenciar a partição de carboidratos nas plantas é a presença da simbiose micorrízica (Davies *et al.* 1993; Graham *et al.* 1997). Plantas de milho micorrizadas e cultivadas sob estresse apresentaram maiores concentrações de açúcares solúveis. Feng *et al.* (2002) sugeriram que o fato era devido à maior capacidade de osmorregulação dessas plantas.

Alguns trabalhos relatam a influência dos FMA nas concentrações de prolina e carboidratos, usadas como indicadores da recuperação de plantas submetidas a condições de estresse. Diferentes isolados de *Glomus* foram avaliados quanto à habilidade de manter o ajustamento osmótico em plantas de alface (*Lactuca sativa* L. cv. Romana) sob estresse hídrico. Como indicação de alívio ao estresse, a associação com *G. deserticola* e *G. etunicatum* elevou o conteúdo de prolina no hospedeiro em apenas 50% como consequência do estresse, enquanto *Glomus occultum* Walker, *G. fasciculatum* e *G. mosseae* aumentaram a produção de prolina em 73, 89 e 107%, respectivamente. Os autores sugerem que menor acúmulo desse aminoácido é indicação de melhor tolerância ao estresse (Ruiz-Lozano *et al.* 1995). Respostas semelhantes foram encontradas em plantas de soja [*Glycine max* (L.) Merr.], onde se observou que a colonização com *G. mosseae* proporcionou menor quantidade desse aminoácido do que a encontrada em plantas sem FMA, indicando que as plantas micorrizadas sofreram menos com o estresse (Bethlenfalvay *et al.* 1988).

Por outro lado, também existem registros de que a simbiose micorrízica não altera os níveis de prolina. Este fato foi relatado em plantas de alfafa (*Medicago sativa* L. cv. Aragon) associada com *G. fasciculatum* sob deficiência hídrica (Goicoechea *et al.* 1998). No entanto, quando há constatação do aumento desse aminoácido em condições de estresse hídrico, os pesquisadores sugerem que o fato pode estar positivamente relacionado à integridade das

membranas (Goicoechea *et al.* 1998), estabilidade de proteínas e enzimas do citosol (Lahrer *et al.* 1993), além do controle do pH celular (Venekamp 1989).

A assimilação de carboidratos pelos FMA é decorrente dos fotossintatos transferidos pela planta hospedeira. Esses fungos são inteiramente dependentes dos carboidratos produzidos pelo hospedeiro, com as raízes de plantas inoculadas chegando a utilizar 4 a 17% mais carbono que as plantas sem micorriza (Smith *et al.* 1989). Maior concentração de carboidratos foi observada em raízes de pepino (*Cucumis sativus* L.) inoculadas com FMA, indicando aumento na demanda de carboidratos para suportar a simbiose (Trimble & Knowles 1995).

Subramanian *et al.* (1997) relataram que a associação de plantas de milho (*Zea mays* L.) com *G. intraradices* em período de estresse hídrico proporcionou aumento na concentração de açúcares na parte aérea, seguido da manutenção do turgor e do aumento no conteúdo de água. Por outro lado, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos de rega para os níveis de açúcar em folhas de limoeiro (*Citrus volkamericana* Tem. & Pasq.), mas os níveis de amido foram menores nas plantas crescendo em solo seco, do que naquelas mantidas continuamente em solo úmido. Nas raízes, as concentrações de açúcares e amido foram maiores em plantas sob estresse; entretanto, as diferenças no acúmulo de solutos variaram de acordo com o local de origem dos inóculos de FMA (Fidelibus *et al.* 2000).

Embora sejam conhecidos muitos dos efeitos dos FMA sobre as plantas, muito ainda há a esclarecer no que se refere à relação fungo-hospedeiro, daí a importância da continuidade de trabalhos nessa área.

#### 4. Referências bibliográficas

- van Aarle, I.M.; Olsson, P.A.; Söderström, B. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi respond to the substrate pH of their extraradical mycelium by altered growth and root colonization. **New Phytologist**, **155**: 173-182,
- Aguiar Filho, S.P.; Bosco, J. & Araújo, I.A. 1998. **A mangabeira (*Hancornia speciosa*) Domesticação e técnicas de cultivo**. João Pessoa: EMEPA-PB, 26p. (EMEPA-PB. Documentos, 24).
- Allen, M.F. 1982. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on water movement through *Bouteloua gracilis* (H.B.K.) Lag ex Steud. **New Phytologist** **91**: 191-196.
- Allen, M.F. 1996. The ecology of arbuscular mycorrhizas: a look back into the 20th century and a peek into the 21st. **Mycological Research** **7**: 769-782.
- Allen, E.B.; Allen, M.F.; Helm, D.J.; Trappe, J.M.; Molina, R. & Rincon, E. 1995. Patterns and regulation of mycorrhizal plant and fungal diversity. Pp. 47-62. In: Collins, H.P.; Robertson, G.P. & Klug, M.J. (eds). **The significance and regulation of soil biodiversity**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Allen, M.F. & Boosalis, M.G. 1983. Effects of two species of VA mycorrhizal fungi on drought tolerance of winter wheat. **New Phytologist** **93**: 67-76,
- Al-Karaki, G.N. 1998. Benefit, cost and water-use efficiency of arbuscular mycorrhizal durum wheat grown under drought stress. **Mycorrhiza** **8**: 41-45.
- Al-Karaki, G.N. & Al-Raddad, A. 1997. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress on growth and nutrient uptake of two wheat genotypes differing in drought resistance. **Mycorrhiza** **7**: 83-88.
- Al-Karaki, G.N. & Clarck, R.B. 1998. Growth, mineral aquisição, and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress. **Journal of Plant Nutrition** **21**(2): 263-276.
- Al-Karaki, G.N; Al-Raddad, A. & Clarck, R.B. 1998. Water stress and mycorrhizal isolates effects on growth and nutrient acquisition of wheat. **Journal of Plant Nutrition** **21**(5): 891-902.
- Almeida, S.P. 1998. Frutas nativas do Cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes. Pp. 247-285. In: Sano, S.M. & Almeida, S.P. (eds). **Cerrado: ambiente e flora**. Embrapa, Planaltina –DF.
- Andrade, A.C.S.; Queiroz, M.H.; Hermes, R.A.L. & Oliveira, V.L. 2000. Mycorrhizal status of some plants of the *Araucaria* forest and the Atlantic rainforest in Santa Catarina, Brasil. **Mycorrhiza** **10**: 131-136.



- Andrade, L.R.M.; Junqueira, N.T.V.; Silva, J.A.; Barbosa, D.; Leão, A. P. & Barros, L.H. 1999 Fertilização do substrato e inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em mudas de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). In: **Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, Brasília, 1999. Brasília: Embrapa Cerrados/SBCS (Disponível em CD-ROM).
- Aon, M.A. & Colaneri, A.C. 2001. Temporal and spatial evolution of enzymatic activities and physico-chemical properties in agricultural soil. **Applied Soil Ecology** **18**: 255-270.
- Argandona, V. & Pahlich, E. 1991. Water stress on proline content and enzyme activities in barley seedlings. **Phytochemistry** **30** (4): 1093-1094.
- Augé, R.M. 2000. Stomatal behavior of arbuscular mycorrhizal plants. Pp. 201- 237. In: Kapulnik, Y. & Douds, D.D. Jr. (eds). **Arbuscular mycorrhizas: physiology and function**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Augé, R.M. 2001. Water relations, drought, and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Mycorrhiza** **11**: 3-42.
- Augé, R.M.; Schekel, K. A. & Wample, R. L. 1986. Osmotic adjustment in leaves of VA mycorrhizal and nonmycorrhizal *Rose* plants in response to drought stress. **Plant Physiology** **82**: 765-770,
- Augé, R.M.; Stodola, A.J.W.; Tims, J.E. & Saxton, A. M. 2001. Moisture retention properties of a mycorrhiza soil. **Plant and Soil** **230**: 87-97.
- Bâ, A.M.; Plenchette, C.; Danthu, P.; Duponnois, R. & Guissou, T. 2000. Functional compatibility of two arbuscular mycorrhizae with thirteen fruit trees in Senegal. **Agroforestry Systems** **50**: 95-105.
- Bago, B.; Azcón-Aguilar, C.; Goulet, A. & Piché, Y. 1998. Branched absorbing structures (BAS): a feature of the extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist** **139**: 375-388.
- Bagyaraj, D.J. 1991. Ecology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. Pp. 4-34. In: Arora, D.K.; Rai, B.; Mukerji, K. G. & Knudsen, G.R. (eds). **Handbook of applied micology: soil and plant**. Marcel Dekker, New York.
- Barker, S.J.; Tagu, D. & Delp, G. 1998. Regulation of root and fungal morphogenesis in mycorrhizal symbioses. **Plant Physiology** **116**: 1201-1207.
- Bello, R. F.; Aguiar, S. & Valdés, M. 1992. La micorrización y el crecimiento del limón mexicano en relación a la fertilización fosforada. **Revista Latino Americana de Microbiologia** **34**: 149-152.

- Bethlenfalvai, G.J.; Brown, M.S.; Ames, R.N. & Thomas, R.S. 1988. Effects of drought on host and endophyte development in mycorrhizal soybeans in relation to water use and phosphate uptake. **Physiologia Plantarum** **72**: 565-571.
- Bever, J.D.; Morton, J.B.; Antonovics, J. & Schultz, P.A. 1996. Host-dependent sporulation and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a mown grassland. **Journal of Ecology** **84**: 71-82.
- Bohnert, H.J.; Nelson, D.E. & Jensen, R.G. 1995. Adaptations to environmental stresses. **The Plant Cell** **7**: 1099-1111.
- Bonfante, P. & Perotto, S. 1995. Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. **New Phytologist** **130**: 3-21.
- Boyer, J.S.G. 1971. Recovery of photosynthesis in sunflower after a period of low water potential. **Plant Physiology** **47**: 816-820.
- Braga, R. 1960. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 4. ed. Editora Universitária, UFRN, Natal.
- Braunberger, P.G.; Abbott, L.K. & Robson, A.D. 1996. Infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi after wetting and drying. **New Phytologist** **134**: 673-684.
- Bray, E.A. 1993. Molecular responses to water deficit. **Plant Physiology** **103**: 1035-1040.
- Bryla, D.R. & Duniway, J.M. 1997a. Growth, phosphorus uptake, and water relations of safflower and wheat infected with an arbuscular mycorrhizal fungus. **New Phytologist** **136**: 581-591.
- Bryla, D.R. & Duniway, J.M. 1997b. Water uptake by safflower and wheat roots infected with arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist** **136**: 591-601.
- Bryla, D.R. & Duniway, J.M. 1997c. Effects of mycorrhizal infection on drought tolerance and recovery in safflower and wheat. **Plant and Soil** **197**: 95-103.
- Burns, R.G. 1978. **Soil enzymes**. Academic Press, New York.
- Calbo, M.E.R. & Moraes, J.A.P.V. 2000. Efeitos da deficiência de água em plantas de *Euterpe oleracea* (açai). **Revista Brasileira de Botânica** **23** (3): 225-230.
- Cardoso, E.J.B.N. & Lambais, M.R. 1993. Efeito de Aldicarb e Fosetil-Al no desenvolvimento e na colonização micorrízica de tangerina Cleópatra. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** **17**: 179-184.
- Castro Neto, M. T. 2003. Efeito do déficit hídrico na transpiração e resistência estomática da mangueira. **Revista Brasileira de Fruticultura** **25** (1): 93-95.

- Casagrande, E.C.; Farias, J.R.B.; Neumaier, N.; Oya, T.; Pedroso, J.; Martins, P.K.; Breton, M.C. & Nepomuceno, A. L. 2001. Expressão gênica diferencial durante déficit hídrico em soja. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** **13** (2): 168-184.
- Cavalcante, P.B. 1976. Frutos comestíveis da Amazônia. 3º ed. Belém, INPA. In: Parente, T.V.; Borgo, L.A. & Machado, J.W.B. 1984. Características físico-químicas de frutos de mangaba (*Hancornia speciosa*) do Cerrado da região geoeconômica do Distrito Federal. **Ciência e Cultura** **37** (1): 95-98.
- Cavalcante, U.M.T.; Maia, L.C.; Costa, C.M.C. & Santos, V.F. 2001a. Mycorrhizal dependency of passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Fruits** **56** (5): 317-324.
- Cavalcante, U.M.T.; Maia, L.C.; Costa, C.M.C.; Cavalcante, A.T. & Santos, V.F. 2002a. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares, da adubação fosfatada e da esterilização do solo no crescimento de mudas de maracujazeiro amarelo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** **26**: 1099-1106.
- Cavalcante, U.M.T.; Maia, L.C.; Melo, A.M.M. & Santos, V.F. 2002b. Influência da densidade de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **37** (5): 634-649.
- Cavalcante, U. M.T.; Maia, L.C.; Nogueira, R. J.M.C. & Santos, V.F. 2001b. Respostas fisiológicas em mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims. F. *Flavicarpa* Deg.) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico. **Acta Botanica Brasilica** **15** (3): 379-390.
- Ceccardi, T.L. & Ting, I.P. 1996. Effect of temperature and water stress on gas exchange, fluorescence kinetics, and solute levels of jojoba. **Industrial Crops and Products** **5**: 279-290.
- Charron, G.; Furlan, V.; Bernier-Cardou, M. & Doyon, G. 2001. Response of onion plants to arbuscular mycorrhizae 1. Effects of inoculation method and phosphorus fertilization on biomass and bulb firmness. **Mycorrhiza** **11**: 187-197.
- Chartzoulakis, K.; Patakas, A.; Kofidis, G.; Bosabalidis, A. & Nastou, A. 2002. Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. **Scientia Horticulturae** **95**: 39-50.
- Chinnasamy, G. & Bal, A.K. 2003. Seasonal changes in carbohydrates of perennial root nodules of beach pea. **Journal of Plant Physiology** **160**: 1-8.
- Chu, E.Y. 1999. The effects of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) seedlings. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **34** (6): 1019-1024.

- Chu, E.Y.; Möller, M.R.F. & Carvalho, J.G. 2001. Efeitos da inoculação micorrízica em mudas de gravioleira em solo fumigado e não fumigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **36** (4): 671-680.
- Costa, C.M.C.; Maia, L.C.; Cavalcante, U.M.T. & Nogueira, R.J.M.C. 2001. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de dois genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **36** (6): 893-901.
- Clapperton, M.J. & Reid, D.M. 1992. A relationship between plant growth and increasing VA mycorrhizal inoculum density. **New Phytologist** **120**: 227-234.
- Clarke, C. & Mosse, B. 1981. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza XII. Field inoculation responses of barley at two soils P levels. **New Phytologist** **87**: 695-703.
- Clifford, S.C.; Arndt, S.K.; Corlett, J.E.; Joshi, S. & Sankhla, N. 1998. The role of solute accumulation, osmotic adjustment and changes in cell wall elasticity in drought tolerance in *Ziziphus mauritiana* (Lamk.). **Journal of Experimental Botany** **49** (323): 967-977.
- Collozzi-Filho, A. & Balota, E.L. 1994. Micorrizas arbusculares. In: Hungria, M. & Araújo, R.S. (eds). Pp. 383-418. **Manual de Métodos Empregados em Estudos de Microbiologia Agrícola**. EMBRAPA, Brasília.
- Cuenca, G.; Herrera, R. & Meneses, E. 1990. Effects of VA mycorrhiza on the growth of cacao seedlings under nursery conditions in Venezuela. **Plant and Soil** **126**: 71-78.
- Davies, Jr. F.T.; Potter, J.R. & Linderman, R.G. 1993. Drought resistance of mycorrhizal pepper plants independent of leaf P concentration – response in gas exchange and water relations. **Physiologia Plantarum** **87**: 45-53.
- Declerck, S.; Plenchette, C. & Strullu, D.G. 1995. Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. **Plant and Soil** **176** (1): 183-187.
- Declerck, S.; Risede, J.M. & Delvaux, B. 2002. Greenhouse response of micropropagated bananas inoculated with *in vitro* monoxenically produced arbuscular mycorrhizal fungi. **Scientia Horticulturae** **93**: 301-309.
- Diallo, A. T.; Samb, P.I. & Roy-Macauley, H. 2001. Water status and stomatal behaviour of cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp plants inoculated with two *Glomus* species at low soil moisture levels. **European Journal Soil Biology** **37**: 187-196.
- Diederichs, Chr. & Moawad, A. M. 1993. The potencial of VA mycorrhizae for plant nutrition in tropics. **Angewandte Botanik** **67**: 91-96.
- Donadio, L.C.; Môro, F.V.; & Servidone, A. A. 2002. In: **Frutas Brasileiras**. Pp. 288. Ed. Novos Talentos. Jaboticabal, SP.

- Drozdowicz, A. 1997. Bactérias do solo Pp. 19-65. In: Vargas, M.A.T. & Hungria, M. (eds). **Biologia dos Solos dos Cerrados**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC.
- Duan, X.; Neuman, D.S.; Reiber, J.M.; Green, C.D. Saxton, A. M. & Augé, R.M. 1996. Mycorrhizal influence on hydraulic and hormonal factors implicated in the control of stomatal conductance during drought. **Journal of Experimental Botany** **47** (303): 1541-1550.
- Düddridge, J.A. 1986. Specificity and recognition in mycorrhizal associations. Pp. 45-58. In: **Les Mycorrhizae: Physiologie et Génétique** SEM 1. Dijon-INRA, Paris.
- Ellis, J.R.; Larsen, H.J. & Boosalis, M.G. 1985. Drought resistance of wheat plants inoculated with vesicular-arbuscular mycorrhizae. **Plant and Soil** **86**: 369-378.
- Estrada-Luna, A. A.; Davies Jr., F.T. & Egilla, J.N. 2000. Mycorrhizal fungi enhancement of growth and gas exchange of micropropagated guava plantlets (*Psidium guajava* L.) during *ex vitro* acclimatization and plant establishment. **Mycorrhiza** **10**: 1-8.
- Fagbola, O.; Osonubi, O.; Mulongoy, K. & Odunfa, S.A. 2001. Effects of drought stress and arbuscular mycorrhiza on the growth of *Gliricidia sepium* (Jacq). Walp, and *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. in simulated eroded soil conditions. **Mycorrhiza** **11**: 215-223.
- Feng, G.; Zhang, F.S.; Li, X.L.; Tian, C.Y. & Tang, C. 2002. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhizal is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. **Mycorrhiza** **12**: 185-190.
- Ferreira, M.B. 1980. **Frutos Comestíveis Nativos do Cerrado**. Pp. 13-21. Informe Agropecuário, Belo Horizonte.
- Fidelibus, M. W.; Martin, C.A. & Stutz, J.C. 2001. Geographic isolates of *Glomus* increase root growth and whole-plant transpiration of *Citrus* seedlings grown with high phosphorus. **Mycorrhiza** **10**: 231-236.
- Fidelibus, M. W.; Martin, C.A.; Wright, G.C. & Stutz, J.C. 2000. Effect of arbuscular mycorrhizal (AM) fungal communities on growth of 'Volkamer' lemon in continually moist or periodically dry soil. **Scientia Horticulturae** **84**: 127-140.
- Fonseca, E.B.A.; Oliveira, E.; Souza, M. & Carvalho, J.G. 1994. Efeitos do fósforo e fungo MVA na nutrição de dois porta-enxertos de citros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **29** (12): 1889-1896.
- Flores-Aylas, W.W.; Saggin-Júnior, O.J.; Siqueira, J.O. & Davide, A.C. 2003. Efeito de *Glomus etunicatum* e fósforo no crescimento inicial de espécies arbóreas em semeadura direta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **38** (2): 257-266.

- Fumis, T.F. & Pedras, J.F. 2002. Variações nos níveis de prolina, diamina e poliaminas em cultivares de trigo submetidas a déficits hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 37 (4): 449-453.
- Gemma, J.N. & Koske, R.E. 1997. Arbuscular mycorrhizae in sand dune plants of the North Atlantic Coast of the U.S.: Field and greenhouse inoculation and presence of mycorrhizae in planting stock. **Journal of Environmental Management** 50: 251-264.
- George, E. 2000. Nutrient uptake. Contributions of arbuscular mycorrhizal fungi to plant mineral nutrition. Pp. 307-343. In: Kapulnik, Y. & Douds, D.D. Jr. (eds) **Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Gerdemann, J.W. 1975. Vesicular-arbuscular mycorrhizae. Pp. 575-591. In: Torrey, J.G. & Clarkson, D.T. (eds). **The development and function of roots**. Academic Press, New York.
- Gerdemann, J. W. 1968. Vesicular arbuscular mycorrhiza and plant growth. **Annual Review of Phytopathology** 6: 397-418.
- Giacometti, D.C. 1993. Recursos genéticos de fruteiras nativas do Brasil. In: **Simpósio Nacional de Recursos Genéticos de Fruteiras Nativas**, 1992. Cruz das Almas. EMBRAPA-CNPMF.
- Gianinazzi-Pearson, V. 1996. Plant cell response to arbuscular mycorrhizal fungi: getting to the roots of the symbiosis. **The Plant Cell** 8:1871-1883.
- Gianinazzi-Pearson, V.; Gollotte, A.; Lherminier, L.; Tisserant, B.; Franken, P.; Dumas-Gaudot, E.; Lemoine, M.C.; Tuinen, D.V. & Gianinazzi, S. 1995. Cellular and molecular approaches in the characterization of symbiotic events in functional arbuscular mycorrhizal associations. **Canadian Journal of Botany** 73 (Suppl.): S226-S532.
- Giovannetti, M.; Sbrana, C. & Logi, C. 1994. Early processes involved in host recognition by arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist** 127: 703-709.
- Girousse, C.; Bournoville, R. & Bonnemain, J.L. 1996. Water deficit-induced change in concentrations in proline and some other amino acids in the phloem sap of alfafa. **Plant Physiology** 111: 109-113.
- Gizik, A. 1996. Accumulation of proline and pattern of  $\alpha$ -amino acids in sugar beet plants in response to osmotic, water and salt stress. **Environmental and Experimental Botany** 36 (1): 29-38.

- Goicoechea, N.; Szalai, G. Antolín, M.C.; Sánchez-Díaz, M. & Paldi, E. 1998. Influence of arbuscular mycorrhizae and *Rhizobium* on free polyamines and proline levels in water-stressed alfafa. **Journal of Plant Physiology** **153**: 706-711.
- Gomes, M.M.A.; Lagôa, A.M.M.A.; Machado, E.C. & Furlani, P.R. 1997. Trocas gasosas e quantificação do ácido abscísico em duas cultivares de arroz de sequeiro submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** **9**: 177-183.
- Graham, J.H.; Duncan, L.W. & Eissenstat, D.M. 1997. Carbohydrate allocation patterns in citrus genotypes as affected by phosphorus nutrition, mycorrhizal colonization and mycorrhizal dependency. **New Phytologist** **135**: 335-343.
- Graham, J.H. & Fardelmann, D. 1986. Inoculation of citrus with root fragments containing chlamydospores of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. **Canadian Journal of Botany** **64**: 1739-1744.
- Gutiérrez-Boem, F. & Thomas, G.W. 1999. Phosphorus nutrition and water deficits in field-grown soybeans. **Plant and Soil** **207**: 87-96.
- Gupta, R.K. 1991. Drought response in fungi and mycorrhizal plants. **Handbook of Applied Mycology** **1**: 55-75.
- Haas, J.H. & Krikun, J. 1985. Efficacy of endomycorrhizal-fungus isolates and inoculum quantities required for growth response. **New Phytologist** **100**: 613-621.
- Habte, M.; Manjunath, A. 1991. Categories of vesicular-arbuscular mycorrhizal dependency of host species. **Mycorrhiza** **1**: p. 3-12.
- Hall, I. R. 1988. The Potential for exploiting vesicular-arbuscular mycorrhizas in agriculture. Pp. 141-174. In: Mizrali, A. (ed). **Biotechnology in Agriculture**. New York, Alan R. Liss Inc.
- Hardie, K. 1985. The effect of removal of extraradical hyphal on water uptake by vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. **New Phytologist** **101**: 677-684.
- Hare, P.D.; Cress, W.A. & Van Staden, J. 1999. Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. **Journal of Experimental Botany** **50** (333): 413-434.
- Harley, J. L. 1989. The significance of mycorrhiza. **Mycological Research** **92**: 129-139.
- Hart, M.M. & Reader, R.J. 2002. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist** **153**: 335-344.
- Hayman, D. S. 1983. The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. **Canadian Journal of Botany** **61**: 944-963.

- Henderson, J.C. & Davies Jr., F. T. 1990. Drought acclimation and the morphology of mycorrhizal *Rosa hybrida* L. cv. 'Ferdyn' is independent of leaf elemental content. **New Phytologist** **115**: 503-510.
- Heringer, E.P.; Barroso, G.H.; Rizzo, J.A. & Rizzini, C.T. 1976. A flora do cerrado. Pp. I. 211-232. In: **IV Simpósio sobre o cerrado**. Belo Horizonte, Ed. Itatiaia; São Paulo, EDUSP.
- Hsiao, T.C. 1973. Plant response to water stress. **Annual Review of Plant Physiology** **24**: 519-570.
- Hu, Y. & Schmidhalter, U. 1998. Spatial distributions of inorganic ions and carbohydrates contributing to osmotic adjustment in the elongating wheat leaf under saline conditions. **Australian Journal of Plant Physiology** **25**: 591-597.
- Ismail, M.R.; Davies, W.J. & Awad, M.H. 2002. Leaf growth and stomatal sensitivity to ABA in droughted pepper plants. **Scientia Horticulturae** **96**: 313-327.
- Jackson, L.E.; Miller, D. & Smith, S.E. 2002. Arbuscular mycorrhizal colonization and growth of wild and cultivated lettuce in response to nitrogen and phosphorus. **Scientia Horticulturae** **94**: 205-218.
- Jaizme-Veja, M.C. & Azcón, E.R. 1995. Responses of some tropical and subtropical cultures to endomycorrhizal fungi. **Mycorrhiza** **5**: 213-217.
- Jansa, J. Mozafar, A.; Anker, T.; Ruh, R.; Sanders, I.R. & Frossard, E. 2002. Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. **Mycorrhiza** **12**: 225-234.
- Janos, D.P. 1980. Mycorrhizae influence tropical succession. **Biotropica** **12**: 56-64.
- Joner, E.J.; van Aarle, I.M. & Vosatka, M. 2000. Phosphatase activity of extra-radical arbuscular mycorrhizal hyphae: a review. **Plant and Soil** **226**: 199-210.
- Johnson, N.C. 1993. Can fertilization of soil select less mutualistic mycorrhizae? **Ecological Applications** **3** (4): 749-757.
- Johnson, C.R. 1984. Phosphorus nutrition on mycorrhizal colonization, photosynthesis, growth and nutrient composition of *Citrus aurantium*. **Plant and Soil** **80**: 35-42.
- Kaldorf, M. & Ludwig-Müller, J. 2000. AM fungi might affect the root morphology of maize by increasing indole-3-butyric acid biosynthesis. **Physiologia Plantarum** **109**: 58-67.
- Karagiannidis, N.; Bletsos, F. & Stavropoulos, N. 2002. Effect of *Verticillium* wilt (*Verticillium dahliae* Kleb.) and mycorrhiza (*Glomus mosseae*) on root colonization, growth and nutrient uptake in tomato and eggplant seedlings. **Scientia Horticulturae** **94**: 145-156.



- Kim, K.Y.; Jordan, D. & McDonald, G.A. 1998. Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. **Biology and Fertility of Soils** **26**: 79-87.
- Kramer, P.J. 1969. **Plant and soil water relationships: a modern synthesis**. Pp. 347-390. New York, McGraw-Hill Book.
- Krishna, K.R.; Bagyaraj, D.J. & Papavinasundaram, K.G. 1983. Acid and alkaline phosphatase activities in mycorrhizal and uninfected roots of *Arachis hypogaea* L. **Annals of Botany** **51**: 551-553.
- Lacerda, C.F.; Cambraia, J.; Cano, M.A. O. & Ruiz, H.A. 2001. Plant growth and solute accumulation and distribution in two sorghum genotypes, under NaCl stress. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** **13**: 270-284.
- Lahrer, F.; Leport, L.; Petrivalski, M. & Chappart, M. 1993. Effects for the osmoinduced proline response in higher plants. **Plant Physiology Biochemistry** **31**: 911-922.
- Lederman, I.E.; Silva Júnior, J.F.; Bezerra, J.E.F. & Espíndola, A.C.M. 2000. **Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). Série Frutas Nativas – Funep, Jaboticabal, SP.**
- Lier, Q.D.J.V. 2000. Índices da disponibilidade de água para as plantas. Pp. 95-106 In: Novais, R.F.; Alvarez, V.H. & Schaefer, C.E.G.R. (eds). **Tópicos em Ciência do Solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa-MG.
- Lingua, G.; D'Agostino, G.; Antosiano, N.M.M. & Berta, G. 2002. Mycorrhiza-induced differential response to a yellow disease in tomato. **Mycorrhiza** **12**: 191-198.
- Lins, C.E.L.; Aguiar, R.L.F.; Cavalcante, U.M.T. & Maia, L.C. 1999. Influência da adubação com esteco bovino e inoculação de fungos micorrízicos arbusculares no crescimento de mudas de *Carica papaya* L. (var. Formosa). **Acta Botanica Brasilica** **13** (3): 257-261.
- Lins, G.M.L.; Trindade, A.V. & Rocha, H.S. 2003. Utilização de *Gigaspora margarita* em plantas micropropagadas de bananeira em diferentes estádios de enraizamento. **Revista Brasileira de Fruticultura** **25** (1): 143-147.
- Liu, A.; Hamel, C.; Hamilton, R.I.; Ma, B.L. & Smith, D.L. 2000. Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. **Mycorrhiza** **9**: 331-336.
- Locatelli, L.M.; Vitovski, C.A. & Lovato, P.E. 2002. Sistema radicular de porta-enxertos micropropagados de macieiras colonizados com fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **37** (9): 1239-1245.

- Logi, C.; Sbrana, C. & Giovannetti, M. 1998. Cellular events involved in survival of individual arbuscular mycorrhizal symbionts growing in the absence of the host. **Applied and Environmental Microbiology** **9** (64): 3473-3479.
- MacGee, P.A.; Torrisi, V. & Pattinson, G.S. 1999. The relationship between density of *Glomus mosseae* propagules and the initiation and spread of arbuscular mycorrhizas in cotton roots. **Mycorrhiza** **9**: 221-225.
- Malavolta, E. 1980. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. Editora Ceres, São Paulo.
- Matos, R. M. B. & Silva, E. M. R. 1996. Effects of inoculation by arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micropropagated pineapple plants. **Fruits** **51** (2): 115-119.
- Melloni, R. & Cardoso, E.J.B.N. 1999. Quantificação de micélio extrarradicular de fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas. II. Comparação entre diferentes espécies cítricas e endófitos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** **23**: 59-67.
- Melloni, R.; Nogueira, M.A.; Freire, V.F. & Cardoso, E.J.B.N. 2000. Fósforo adicionado e fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e nutrição mineral de limoeiro-cravo [*Citrus limonia* (L.) Osbeck]. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** **24**: 767-775.
- Melloni, R.; Siqueira, J.O. & Moreira, F.M.S. 2003. Fungos micorrízicos arbusculares em solos de área de mineração de bauxita em reabilitação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **38** (2): 267-276.
- Miller, R.M. & Jastrow, J.D. 2000. Mycorrhizal fungi influence soil structure. Pp. 3-18. In: Kapulnik, Y. & Douds, D.D. Jr. (eds). **Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Miyasaka, S. & Medina, J.C. 1981. **A soja no Brasil**. Pp. 1-174. ITAL, São Paulo.
- Monachino, J. 1945. **A revision of *Hancornia* (Apocynaceae)**. Lilloa, Tucumán, 11: 19-48.
- Moreira, F.M.S. & Siqueira, J.O. 2002. Micorrizas. Pp. 473-539. In: Moreira, F.M.S. & Siqueira, J.O. (eds). **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. UFLA, Lavras, MG.
- Nelsen, C.E. 1987. The water relations of vesicular-arbuscular mycorrhizal systems. Pp. 71-91 In: Safir, G.R (ed). **Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants**., CRC. Press, Boca Raton.
- Nogueira, R.J.M.C.; Albuquerque, M.B. & Silva Júnior, J.F. 2003. Efeito do substrato na emergência, crescimento e comportamento estomático em plântulas de mangabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura** **25** (1): 15-18.
- Nogueira, R.J.M.C.; Melo Filho, P.A. & Araújo, E. 1999. Expressões ecofisiológicas de germoplasma de *Hancornia speciosa* Gomes cultivado no litoral pernambucano. **Ciência Rural** **29** (4): 731-732.

- Nogueira, R.J.M.C. & Silva, Jr., J.F. 2001. Resistência estomática, tensão de água no xilema e teor de clorofila em genótipos de gravioleira. **Scientia Agrícola** **58** (3): 491-495.
- Nogueira, R.J.M.C.; Moraes, J.A.P.V.; Burity, H.A. & Bezerra Neto, E. 2001. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** **13** (1): 75-87.
- Oliveira, R.S.; Dodd, J.C. & Castro, P.M.L. 2001. The mycorrhizal status of *Phragmites australis* in several polluted soils and sediments of an industrialized region of Northern Portugal. **Mycorrhiza** **10**: 241-247.
- Oliveira, L.M.Q. & Valio, I.F.M. 1992. Effects of moisture content on germination of seeds of *Hancornia speciosa* Gom. (Apocynaceae). **Annals of Botany** **69**: 1-5.
- Parente, T.V.; Borgo, L.A. & Machado, J.W.B. 1985. Características físico-químicas de frutos de mangaba (*HANCORNIA SPECIOSA GOM.*) do cerrado da Região Geoeconômica do Distrito Federal. **Ciência e Cultura** **37** (1): 95-98.
- Paula, M.A. & Siqueira, J.O. 1987. Efeitos da umidade do solo sobre a simbiose endomicorrízica em soja: II. Crescimento, nutrição e relação água-planta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** **11**: 289-293.
- Peterson, R.L. & Farquhar, M.L. 1994. Mycorrhizas-integrated development between roots and fungi. **Mycologia** **86**: 311-326.
- Pimentel, C. & Hébert, G. 1999. Potencial fotossintético e condutância estomática em espécies de feijão caupi sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** **11** (1): 7-11.
- Pinheiro, C.S.R.; Medeiros, D. N.; Macedo, C.E.C. & Alloufa, M.A.I. 2001. Germinação *In vitro* de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em diferentes meios de cultura. Comunicação Científica. **Revista Brasileira de Fruticultura** **23** (2): 413-416.
- Plenchette, C.; Fortin, J. A. & Furlan, V. 1983. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. **Plant and Soil** **70**: 199-209.
- Rapparini, F.; Baraldi, R.; Bertazza, G.; Branzanti, B. & Predieri, S. 1994. Vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation of micropropagated fruit trees. **Journal of Horticultural Science** **69** (6): 1101-1109.
- Raven, J.A. 2002. Selection pressures on stomatal evolution. *New Phytologist* **153**: 371-386.
- Razem, F.A. & Davis, A. R. 2002. Stomatal frequency, maturity and index on developing bracts of four abscisic acid mutants and wild-type plants of *Arabidopsis thaliana*. **Environmental and Experimental Botany** **48**: 247-256.

- Regina, M. A. & Carbonneau, A. 1997. Trocas gasosas em *Vitis vinifera* sob regime de estresse hídrico. III. Ácido abscísico e comportamento varietal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **32** (6): 579-584.
- Revista Exportar & Gerência**, Brasília, n. 18, março / 2000.
- Riederer, M. & Schreiber, L. 2001. Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. **Journal of Experimental Botany** **52** (363): 2023-2032.
- Rocha, A. M. S. & Moraes, J.A. P. V. 1997. Influência do estresse hídrico sobre as trocas gasosas em plantas jovens envasadas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** **9** (1): 43-48.
- Romo, S.; Labrador, E. & Dopico, B. 2001. Water stress-regulated gene expression in *Cicer arietinum* seedlings and plants. **Plant Physiology Biochemistry** **39**: 1017-1026.
- Rubio, R.; Borie, F.; Schalhli, C. Castillo, C. & Azcón, R. 2003. Occurrence and effect of arbuscular mycorrhizal propagules in wheat as affected by the source and amount of phosphorus fertilizer and fungal inoculation. **Applied Soil Ecology** **23**: 245-255.
- Ruiz-Lozano, J.M. & Azcón, R. 1995. Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal plants as affected by the fungal species and water status. **Physiologia Plantarum** **95**: 472-478.
- Ruiz-Lozano, J.M.; Azcón, R. & Gómez, M. 1995. Effects of arbuscular-mycorrhizal *Glomus* species on drought tolerance: physiological and nutritional plant response. **Applied and Environmental Microbiology** **61** (2): 456-460.
- Runjin, L. 1989. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas and phosphorus on water status and growth of apple. **Journal of Plant Nutrition** **12** (8): 997-1017.
- Rutto, K.L.; Mizutani, F. & Kadoya, K. 2002. Effect of root-zone flooding on mycorrhizal and non-mycorrhizal peach (*Prunus persica* Batsch) seedlings. **Scientia Horticulturae** **94**: 285-295.
- Saggin-Júnior, O.J.; Siqueira, J.O.; Guimarães, P.T.G. & Oliveira, E. 1994. Interação fungos micorrízicos *versus* superfosfato e seus efeitos no crescimento e teores de nutrientes do cafeeiro em solo não fumigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** **18**: 27-36.
- Samarão, S.S. & Martins, M.A. 1999. Influência de fungos micorrízicos arbusculares, associadas à aplicação de rutina, no crescimento de mudas de goiabeira (*Psidium guajava* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura** **21** (2): 196-199.
- Sánchez-Díaz, M.; Pardo, M.; Antolín, M.; Peña, J. & Aguirreolea, J. 1990. Effect of water stress on photosynthesis activity in the *Medicago-Rhizobium-Glomus* symbiosis. **Plant Science** **71**: 215-221.

- Santos, J. A. & Nascimento, T.B. 1999. Efeito do substrato e profundidade de semeadura na emergência e crescimento de plântulas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Revista Brasileira de Fruticultura** **21** (3): 258-261.
- Santos, B.A.; Silva, G.A.; Maia, L.C. & Alves, M.V. 2000. Mycorrhizae in Monocotyledonae of Northeast Brazil: subclasses Alismatidae, Arecidae and Zingiberidae. **Mycorrhiza** **10**: 151-153.
- Sasa, M.; Zahka, G. & Jakobsen, I. 1987. The effect of pretransplant inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the subsequent growth of leeks in the field. **Plant and Soil** **97**: 279-283.
- Schachtman, D. P.; Reid, R. J. & Ayling, S. M. 1998. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. **Plant Physiology** **116**: 447-453.
- Schiavo, J.A. & Martins, M.A. 2002. Produção de mudas de goiabeira (*Psidium guajava* L.), inoculadas com o fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum*, em substrato agro-industrial. **Revista Brasileira de Fruticultura** **24** (2): 519-523.
- Schiavo, J.A. & Martins, M.A. 2003. Produção de mudas de acácia colonizadas com micorrizas e rizóbio em diferentes recipientes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **38** (2): 173-178.
- Schüßler, A.; Schwarzott, D. & Walker, C. 2001. A new fungal phylum *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. **Mycological Research** **105** (12): 1413-1421.
- Sengupta, A. & Chaudhuri, S. 2002. Arbuscular mycorrhizal relations of mangrove plant community at the Ganges river estuary in India. **Mycorrhiza** **12**: 169-174.
- Shaul-Keinan, O.; Gadkar, V.; Ginzberg, I.; Grünzweig, J.M.; Chet, I.; Elad, Y.; Wininger, S.; Belausov, E.; Eshed, Y.; Atzmon, N. Ben-Tal, Y. & Kapulnik, Y. 2002. Hormone concentrations in tobacco roots change during arbuscular mycorrhizal colonization with *Glomus intraradices*. **New Phytologist** **154**: 501-507.
- Sieverding, E. 1989. Ecology of VAM fungi in tropical agrosystems. **Agricultura Ecosystems Environment** **29** (2): 369-390.
- Silva, G.A.; Santos, B.A.; Alves, M.V.; Maia, L.C. 2001. Arbuscular mycorrhiza in species of Commelinidae (Liliopsida) in the state of Pernambuco (Brazil). **Acta Botanica Brasilica** **15** (2): 155-165.
- Silva, G.A.; Maia, L.C.; Silva, F.S.B. & Lima, P.C.F. 2001. Potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares oriundos de área de caatinga nativa e degradada por mineração, no Estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **24** (2): 135-143.

- Silveira, S.V.; Souza, P.V. & Koller, O.C. 2002. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos de abacateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **37** (3): 303-309.
- Siqueira, J.O. 1984. Micorrizas. Pp. 151-194. In: **Microrganismos de importância agrícola**. EMBRAPA/CNPAP. (Série documentos 44).
- Siqueira, J. O. 1996. Micorrizas e Micorrizologia. Pp. 1-4. In: Siqueira, J. O. (ed). **Avanços em fundamentos e aplicações de micorrizas**. UFLA-DCS e DCF, Lavras, MG.
- Siqueira, J.O.; Colozzi-Filho, A. & Saggin Júnior, O.J. 1994. Efeitos da infecção de plântulas de cafeeiro com quantidades crescentes de esporos do fungo endomicorrízico *Gigaspora margarita*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **29** (6): 875-883.
- Siqueira, J.O. & Franco, A.A. 1988. **Biotechnology do Solo: Fundamentos e Perspectivas**. Pp.125-166. MEC-ESAL-FAEPE-EBEAS. Brasília, DF.
- Siqueira, J.O.; Hubbell, D.H. & Vallé, R.R. 1984. Effect of phosphorus on formation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **19** (2): 1465-1474.
- Siqueira, J.O. & Klauber Filho, O. 2000. Micorrizas arbusculares: a pesquisa brasileira em perspectiva. Pp. 235-259. In: Novais, R.F.; Alvarez, V.H. & Schaefer, C.E.G.R (eds). **Tópicos em Ciência do Solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do solo, Viçosa –MG.
- Siqueira, J.O. & Saggin-Júnior, O.J. 2001. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. **Mycorrhiza** **11**: 245-255.
- Siqueira, J. O.; Sylvia, D. M.; Gibson, J. & Hubbell, D. H. 1985. Spores, germination, and germ tubes of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Canadian Journal Microbiology** **31**: 965-972.
- Souza, P.V.D. 2000. Interação entre micorrizas arbusculares e ácido giberélico no desenvolvimento vegetativo de plantas de Citrange Carrizo. **Ciência Rural** **30** (5): 783-787.
- Souza, P.V.D.; Berjon, M.A.; Orença, V.A. & Fonfria, M.A. 1997. Desenvolvimento do Citrange ‘Troyer’ infectado com fungo micorrízico, em dois substratos de cultivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **32** (10): 1039-1045.
- Souza, R.G.; Maia, L.C.; Sales, M. & Trufem, S.F.B. 2003. Diversidade e potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares em áreas de caatinga, na Região de Xingó, Estado de Alagoas, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **26** (1): 49-60.

- Simpson, D. & Daft, M.J. 1990. Interactions between water-stress and different mycorrhizal inoculum on plant growth and mycorrhizal development in maize and sorghum. **Plant and Soil** **121**: 179-186.
- Smith, S.E.; McGee, P.A. & Smith, F.A. 1989. Physiological interactions between mycorrhizal fungi and host plants: an approach to determining the bases of symbiotic efficiency. **Endocytobiology** **4**: 91-98.
- Smith, S. E. & Read, D. J. 1997. **Mycorrhizal Symbiosis**. Academic Press, San Diego.
- Subramanian, K.S. & Charest, C. 1997. Nutritional, growth, and reproductive responses of maize (*Zea mays* L.) to arbuscular mycorrhizal inoculation during and after drought stress at tasselling. **Mycorrhiza** **7**: 25-32.
- Subramanian, K.S.; Charest, C.; Dwyer, L.M. & Hamilton, R.I. 1995. Arbuscular mycorrhizas and water relations in maize under drought stress at tasselling. **New Phytologist** **129**: 643-650.
- Subramanian, K.S.; Charest, C.; Dwyer, L.M. & Hamilton, R.I. 1997. Effects of arbuscular mycorrhizae on leaf water potential, sugar content, and P content during drought and recovery of maize. **Canadian Journal of Botany** **75**: 1582-1591.
- Subramanian, K.S.; Charest, C. 1998. Arbuscular mycorrhizae and nitrogen assimilation in maize after drought and recovery. **Physiologia Plantarum** **102**: 285-296.
- Sylvia, D.M.; Hammond, L.C.; Bennett, J.M.; Haas, J.H. & Linda, S.B. 1993a. Field response of maize to a VAM fungus and water management. **Agronomy Journal** **85**: 193-198.
- Sylvia, D.M.; Wilson, D.O.; Graham, J.H.; Maddox, J.J.; Millner, P.; Morton, J.B.; Skipper, H.D.; Wright, S.F. & Jarstfer, A.G. 1993b. Evaluation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in diverse plants and soils. **Soil Biological Biochemistry** **25** (6): 705-713.
- Taylor, C.B. 1996. Proline, and water deficit: ups, downs, ins and outs. **The Plant Cell** **8**: 1221-1224.
- Taylor, J. & Harrier, L.A. 2001. A comparison of development and mineral nutrition of micropropagated *Fragaria x ananassa* cv. Elvira (Strawberry) when colonized by nine species of arbuscular mycorrhizal fungi. **Applied Soil Ecology** **18**: 205-215.
- Treseder, K.K. & Allen, M.F. 2002. Direct nitrogen and phosphorus limitation of arbuscular mycorrhizal fungi: a model and field test. **New Phytologist** **155**: 507-515.
- Trindade, A.V.; Faria, N.G. & Almeida, F.P. 2000a. Uso de esterco no desenvolvimento de mudas de mamoeiro colonizadas com fungos micorrízicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **35** (7): 1389-1394.

- Trindade, A.V.; Siqueira, J.O. & Almeida, F.P. 2000b. Eficiência simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares em solo não fumigado, para mamoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** **24**: 505-513.
- Trindade, A.V.; Siqueira, J.O. & Almeida, F.P. 2001. Dependência micorrízica de variedades comerciais de mamoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **36** (12): 1485-1494.
- Trindade, A. V.; Lins, G.M. L. & Maia, I.C.S. 2003. Substratos e fungo micorrízico arbuscular em mudas micropropagadas de bananeira na fase de aclimação. **Revista Brasileira de Fruticultura** **25** (1): 137-142.
- Trimble, M.R. & Knowles, N.R. 1995. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus on growth, carbohydrates partitioning and mineral nutrition of greenhouse cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants during establishment. **Canadian Journal of Plant Science** **75**: 239-250.
- Trimble, M.R. & Knowles, N.R. 1995. Influence of phosphorus nutrition and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on growth and yield of greenhouse cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Canadian Journal of Plant Science** **75**: 251-259.
- Turnau, K.; Ryszka, P.; Gianinazzi-Pearson, V. & van Tuinen, D. 2001. Identification of arbuscular mycorrhizal fungi in soils and roots of plants colonizing zinc wastes in southern Poland. **Mycorrhiza** **10**: 169-174.
- Vieira Neto, R.D. 1994. **Cultura da mangabeira**. Embrapa-CPATC, Aracajú-SE. (Circular Técnica 2).
- Vieira Neto, R.D. 2001. **Recomendações Técnicas para o Cultivo da Mangabeira**. P. 26. Embrapa -CPATC/ Emdargo. Aracaju-SE. (Circular Técnica 20).
- Vierheilig, H.; Gagnon, H.; Strack, D. & Maier, W. 2000. Accumulation of cyclohexenone derivatives in barley, wheat and maize roots in response to inoculation with different arbuscular mycorrhizal fungi. **Mycorrhiza** **9**: 291-293.
- Vanekamp, J.H. 1989. Regulation of cytosol acidity in plants under conditions of drought. **Physiologia Plantarum** **76**: 112-117.
- Weber, O. B. & Amorim, S.M.C. 1994. Adubação fosfática e inoculação de fungos micorrízicos vesicular arbusculares em mamoeiro 'Solo'. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** **18**: 187-191.
- Yano-Melo, A.M.; Saggin, O.J.; Lima-Filho, J.M.; Melo, N.F. & Maia, L.C. 1999. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the acclimatization of micropropagated banana plantlets. **Mycorrhiza** **9**: 119-123.



- Yano-Melo, A.M.; Saggin, O.J. & Maia, L.C. 2003. Tolerance of mycorrhized banana (*Musa* sp. cv. Pacovan) plantlets to saline stress. **Agriculture, Ecosystems and Environment** **95**: 343-348.
- Yao, M.K.; Tweddell, R.J. & Désilets, H. 2002. Effect of two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micropropagated potato plantlets and on the extent of disease caused by *Rhizoctonia solani*. **Mycorrhiza** **12**: 235-242.
- Zhao, Z-W.; Xia, Y-M.; Qin, X-Z.; Li, X-W.; Cheng, L-Z.; Sha, T. & Wang, G-H. 2001. Arbuscular mycorrhizal status of plants and the spores density of arbuscular mycorrhizal fungi in the tropical rain forest of Xishuangbanna, southwest China. **Mycorrhiza** **11**: 159-162.
- Zhu, Y-G.; Smith, F.A. & Smith, S.E. 2003. Phosphorus efficiencies and responses of barley (*Hordeum vulgare* L.) to arbuscular mycorrhizal fungi grown in highly calcareous soil. **Mycorrhiza** **13**: 93-100.

## CAPÍTULO 2

Efeito da associação com fungos micorrízicos arbusculares e da adubação  
fosfatada no desenvolvimento de mudas de mangabeira  
(*Hancornia speciosa* Gomes)

Trabalho a ser enviado para o periódico Pesquisa Agropecuária Brasileira

Efeito da associação com fungos micorrízicos arbusculares e da adubação fosfatada no desenvolvimento de mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) <sup>(1)</sup>

Cynthia Maria Carneiro Costa<sup>(2)</sup>; Uided Maaze Tiburcio Cavalcante<sup>(2)</sup>; Bruno Tomio Goto<sup>(2)</sup>; Leonor Costa Maia<sup>(2)</sup>; Venézio Felipe dos Santos<sup>(3)</sup>

**Resumo** - O efeito da associação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e da adubação fosfatada foram avaliados em mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes.). O experimento em casa de vegetação foi inteiramente casualizado, em fatorial com dois tratamentos de solo (desinfestado-D e não desinfestado-ND) x seis doses de P (3\*, 3, 48, 93, 138 e 183 mg dm<sup>-3</sup>) x três tratamentos de inoculação (*Gigaspora albida* Schenck & Smith, *Glomus etunicatum* Becker & Gerd. e o controle), com quatro repetições. Com exceção do tratamento 3\* os demais receberam solução nutritiva isenta de P. No solo não desinfestado foram identificadas 13 espécies de FMA distribuídas em 5 gêneros: *Acaulospora* (5) *Archaeospora* (1), *Entrophospora* (1), *Gigaspora* (1) e *Glomus* (5). Após 150 dias, as mudas com *G. albida* apresentaram maior altura e biomassa seca da parte aérea em solo D, na dose mais baixa de P. Por outro lado, em solo ND, maior altura foi alcançada nas mudas associadas a *G. etunicatum* em solo com 3 e 93 mg de P dm<sup>-3</sup> e maior biomassa, em solo com 3 e 48 mg de P dm<sup>-3</sup>. Não houve interação entre área foliar e níveis de P; os maiores valores foram obtidos em solo D nas mudas com *G. albida* e em solo ND nas mudas controle ou em simbiose com *G. etunicatum*. Maiores incrementos na altura, biomassa e área foliar foram observados nos tratamentos com *G.albida*, em solo D. Respostas positivas à inoculação nos dois tratamentos de solo ocorreram nas mudas cultivadas em solo com o mais baixo teor de P. Assim, a mangabeira apresentou excessiva dependência da micorrização apenas na dose de 3 mg P dm<sup>-3</sup>, em solo D. Em geral, a associação com *G. albida* proporcionou melhor desenvolvimento das mudas de mangabeira tanto em solo desinfestado quanto natural.

**Termo para indexação:** associação micorrízica, desinfestação do solo, dependência micorrízica, FMA, *Hancornia speciosa*

<sup>(1)</sup> Extraído da tese de doutorado apresentada pelo primeiro autor à Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE. Financiado pela Capes

<sup>(2)</sup> UFPE, Centro de Ciências Biológicas (CCB), Dep. de Micologia. Av. Prof. Nelson Chaves, s/n, Cid. Universitária, CEP 50670-420 Recife, PE. E-mail: cynthiamccosta@hotmail.com, umaaze@bol.com.br, leonorcmaia@hotmail.com

<sup>(3)</sup> IPA- Instituto de Pesquisa Agropecuária de Pernambuco. Av. Gal. San Martin 1371, CEP 50761, Recife, PE.

Effect of the association with arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus supply on growth  
of *Hancornia speciosa* Gomes seedlings

**Abstract** - The effect of the association with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and phosphorus fertilization was evaluated in seedlings of “mangaba” (*Hancornia speciosa* Gomes). The experiment was developed at a greenhouse, in a completely randomized factorial design with two soil treatments (fumigated-F and non-fumigated-NF) x six doses of P (3\*, 3, 48, 93, 138 and 183 mg dm<sup>-3</sup>) x three treatments of inoculation (*Gigaspora albida* Schenck & Smith, *Glomus etunicatum* Becker & Gerd., and a control), with four replicates. All treatments received nutrient solution with P (exception for that with 3\* mg dm<sup>-3</sup> P). Thirteen species of AMF were identified in the NF soil, representing the genera: *Acaulospora* (5), *Archaeospora* (1), *Entrophospora* (1), *Gigaspora* (1) and *Glomus* (5). After 150 days, the seedlings with *G. albida* presented higher height and dry shoot biomass in F soil, in the lower dose of P. Conversely, in NF soil, higher height and shoot biomass were reached by seedlings associated with *G. etunicatum* in soil with 3 and 93 mg P dm<sup>-3</sup> and in soil with 3 and 48 mg P dm<sup>-3</sup>, respectively. There was no interaction between leaf area and P levels; larger leaf area occurred in fumigated soil with seedlings associated with *G. albida* and in NF soil with those in symbiosis with *G. etunicatum* or non inoculated. Higher increment on height, shoot biomass and leaf area were observed in the treatments with *G. albida*, in F soil. Positive response to inoculation in both soil treatments occurred in seedlings cultivated in soil with the lower P level. Thus, *H. speciosa* was excessively dependent of mycorrhization only when in soil desifested, with 3 mg P dm<sup>-3</sup>. In general, the association with *G. albida* enhanced growth of seedlings of *H. speciosa* in both, natural and fumigated soil.

**Index terms:** mycorrhizal association, soil fumigated, mycorrhizal dependency, AMF, *Hancornia speciosa*

## Introdução

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é fruteira nativa do Brasil; apresenta frutos com sabor peculiar, sendo 80% da polpa aproveitada na fabricação de sucos, sorvetes, doces, vinhos, vinagre, licor e xaropes, além do consumo *in natura*. No entanto, a falta de informações sobre essa cultura vem restringindo seu cultivo comercial, tornando o aproveitamento limitado a pequenos produtores e à exploração extrativista.

Os conhecimentos técnicos relativos à propagação, desenvolvimento, exigências hídricas e nutricionais, adubação e práticas culturais são passos imprescindíveis para a exploração racional de uma espécie nativa. Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) podem ser utilizados como biofertilizante natural na produção de mudas, pois nesse estágio de formação, a inoculação pode garantir o sucesso do estabelecimento da simbiose (Saggin Júnior & Lovato, 1999), reduzindo a necessidade de aplicação de insumos químicos.

A associação micorrízica gera vários benefícios às plantas pela maior absorção e disponibilidade de nutrientes (Siqueira & Klauber Filho, 2000), reduzindo o tempo de crescimento das mudas em viveiros, proporcionando maior resistência a patógenos (Karagiannidis et al., 2002; Yao et al., 2002) e a condições de estresses (Smith & Read, 1997; Cavalcante et al., 2001a), além de aumentar a absorção de P e outros elementos pouco móveis no solo como zinco, cobre e ferro (George, 2000).

Respostas positivas da pré-inoculação (Charron et al., 2001) foram verificadas em mudas de aceroleiras (Costa et al., 2001), maracujazeiro-amarelo (Cavalcante et al., 2001b), goiabeiras (Schiavo & Martins, 2002), bananeiras (Declerck et al., 2002), macieiras (Locatelli et al., 2002), entre outras fruteiras.

A dependência micorrízica de fruteiras tropicais tem sido alvo de vários estudos (Declerck et al., 1995; Cavalcante et al., 2001b; Trindade et al., 2000). Por outro lado, resultados de pesquisas com FMA associados à mangabeira foram divulgados apenas em encontros científicos. No entanto, é importante maior conhecimento nesta área por se tratar de um campo de pesquisa pouco explorado para essa cultura e que pode render resultados indispensáveis para o desenvolvimento mais direcionado, visando cultivo em áreas com condições adversas como a deficiência hídrica.

Este trabalho teve como objetivos identificar os FMA nativos presentes na rizosfera de mangabeiras, determinar a dose de fósforo mais adequada no estabelecimento da simbiose,

determinar a dependência micorrízica dessa planta e identificar um isolado de FMA que promovesse melhor desenvolvimento das mudas.

## **Material e Métodos**

Para identificação dos FMA nativos foi realizada coleta de solo rizosférico do pomar natural de mangabeiras, localizado em Sirinhaém-PE, onde foi coletado o solo para realização do experimento. As amostras de solo foram obtidas de dez plantas de mangaba escolhidas aleatoriamente; seguindo a projeção da copa, foram retiradas quatro subamostras, perfazendo total de 40 amostras. Em laboratório, cada amostra foi homogeneizada, sendo retiradas 50g para processamento pela técnica de peneiramento do solo por via úmida (Gerdemann & Nicolson 1963), seguido de centrifugações em água e sacarose (Jenkins 1964). Para identificação os esporos foram montados entre lâminas e lamínulas com PVLG (álcool-polivinílico em lactoglicerol) ou com reagente de Melzer + PVLG (1:1) e observados em microscópio, sendo consultados entre outros, o manual de Schenck & Pérez (1990) e o site do INVAM ([www.invan.wvu.edu](http://www.invan.wvu.edu)).

Os experimentos foram conduzidos em solo arenoso (pH 5.4, 3 mg/dm<sup>-3</sup> de P, 0.50, 0.60, 0.70 e 0.03 cmol<sub>c</sub> / dm<sup>-3</sup> de Al, Ca, Mg e K, respectivamente). Parte do solo foi desinfestado com brometo de metila, 20 dias antes da utilização. Seis doses de fósforo: 3 (solo natural), 3\*, 48, 93, 138 e 183 mg dm<sup>-3</sup> de P no solo, incorporadas utilizado-se fosfato monobásico de potássio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) em solução. Com exceção do tratamento 3\*, os demais receberam solução nutritiva por ocasião da inoculação.

Isolados de *Gigaspora albida* Schenck & Smith (UFPE 01) e *Glomus etunicatum* Becker & Gerd. (UFPE 08) foram multiplicados durante três meses em casa de vegetação em associação com painço (*Panicum milliactum* L.) e os esporos extraídos do solo por peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963) e centrifugação com sacarose a 40% (Jenkins, 1964) para uso no experimento.

Para obtenção das mudas, frutos maduros foram coletados em pomar natural localizado no município de Sirinhaém, região litorânea do Estado de Pernambuco (8° 35' 30''S, 35° 07' 00'' W), com altitude 49m. As sementes foram despulpadas com auxílio de calcário dolomítico e lavadas em água corrente, postas para secar em jornal e semeadas no mesmo dia em solo previamente desinfestado com brometo de metila. Quando as plantas

apresentaram dois pares de folhas não cotiledonares, foram transplantadas para sacos pretos de polietileno com 4,5kg de solo e inoculadas com 200 esporos/pote.

O experimento foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial, com dois tratamentos de solo (desinfestado ou não)  $\times$  seis doses de fósforo (3, 3\*, 48, 93, 138 e 183 mg de P dm<sup>-3</sup> de solo)  $\times$  três tratamentos de inoculação (com *G. albida*, *G. etunicatum* e controle não inoculado), com quatro repetições, totalizando 144 potes. No período do experimento os valores de temperatura e umidade relativa do ar, máximas e mínimas, foram 34,1°C e 82% e 22°C e 45%, respectivamente.

Após 150 dias, foram avaliados: altura, área foliar, biomassa seca da parte aérea, concentração de P na parte aérea, percentagem de colonização por arbúsculos e hifas, colonização total e incremento promovido pela inoculação. A área foliar foi calculada usando-se o Programa SIARCS (Embrapa) e o fósforo, extraído por digestão nitro-perclórica e quantificado em espectrofotômetro (Malavolta, 1989). As raízes foram clarificadas com KOH 10% /12 h e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10% /20 minutos (Phillips & Hayman, 1970), lavadas, acidificadas com HCl 1% / 3 minutos e coradas com Azul de Trypan 0,05%. Para avaliação da colonização, as raízes foram dispostas horizontalmente em lâminas, sendo observados no mínimo 15 campos por lâmina, correspondendo a 150 segmentos de raiz em média (McGonigle et al., 1990). O incremento foi calculado utilizando-se os dados dos tratamentos inoculados em relação às plantas controle não inoculadas, pela fórmula de Edigton et al. (1971) modificada:  $I (\%) = [(Tr - T)/T]100$ , onde  $I (\%)$  = incremento da variável,  $Tr$  = valor médio para o tratamento micorrizado e  $T$  = valor médio do controle não inoculado.

A dependência micorrízica relativa (DMR) da mangabeira foi calculada para cada tratamento de inoculação, desinfestação do solo e dose de fósforo, sendo determinada pela diferença entre a massa seca das plantas micorrizadas e das não micorrizadas/massa seca das plantas não micorrizadas e expressa em percentagem (Plenchette et al., 1983). Os graus de DMR foram estabelecidos usando as categorias propostas por Habte & Manjunath (1991), modificados considerando os valores obtidos em solo com os diversos níveis de fósforo.

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando o programa SANEST, e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Para regressão foram relacionadas doses de P, tratamentos de inoculação e condição de desinfestação do solo.

## Resultados e Discussão

Nas amostras de solo rizosférico da área estudada foram identificadas 13 espécies de fungos micorrízicos arbusculares; representantes de quatro famílias de Glomeromycota:

### **Acaulosporaceae**

*Acaulospora foveata* Trappe & Janos

*A. longula* Spain & Schenck

*A. mellea* Spain & Schenck

*A. scrobiculata* Trappe

*A. tuberculata* Janos & Trappe

*Entrophospora colombiana* Spain & Schenck

### **Archaeosporaceae**

*Archaeospora leptoticha* (Schenck & Smith) Morton & Redecker

### **Gigasporaceae**

*Gigaspora gigantea* (Nicolson & Gerdemann) Gerdermann & Trappe

### **Glomaceae**

*Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann

*G. fuegianum* (Spegazzini) Trappe & Gerdemann

*G. glomerulatum* Sieverding

*G. macrocarpum* Tulasne & Tulasne

*Glomus* sp.

Dentre essas espécies *Glomus fuegianum* constitui novo registro de ocorrência em solos brasileiros. Algumas espécies como *A. mellea*, *A. scrobiculata*, *A. tuberculata*, *E. colombiana*, *G. gigantea* e *G. etunicatum* foram citadas anteriormente em trabalhos feitos em solos de cerrado (Miranda & Miranda, 1997), tipo de vegetação à qual a mangabeira está associada.



## Crescimento da Planta

Diferenças significativas foram observadas entre os tratamentos de solo, FMA e fósforo, interação dupla entre solo e FMA para altura, biomassa seca da parte aérea e área foliar. Não houve interação entre solo e fósforo para qualquer das variáveis de crescimento, mas houve entre FMA e fósforo apenas para altura. Por outro lado, interação tripla entre solo, FMA e fósforo ocorreu para todas as variáveis estudadas, exceto para área foliar.

Em solo desinfestado apenas as mudas associadas com *Gigaspora albida* apresentaram diferenças significativas no crescimento, em relação aos níveis de fósforo. As mudas cultivadas no mais baixo nível de fósforo ( $3 \text{ mg dm}^{-3}$  com adição ou não de solução nutritiva) tiveram maior altura e biomassa seca da parte aérea do que as cultivadas nas demais doses de fósforo. Comparando os tratamentos de inoculação, maior altura e biomassa seca da parte aérea ocorreram apenas nas mudas com *G. albida* cultivadas em solo desinfestado com  $3 \text{ mg dm}^{-3}$ , independentemente da adição de solução nutritiva (Tabelas 1 e 2), por outro lado, neste nível de fósforo o tratamento com solução nutritiva e *Glomus etunicatum* também apresentou maior altura que o controle (Tabela 1).

O crescimento do maracujazeiro-amarelo também foi favorecido pela inoculação com *G. albida* (Cavalcante et al., 2002a). Em dois genótipos de aceroleira, a simbiose com *G. margarita* proporcionou maior altura e biomassa seca da parte aérea, em solo esterilizado e com  $4 \text{ mg de P dm}^{-3}$  (Costa et al., 2001). Respostas semelhantes com *G. margarita* foram observadas em mudas de goiabeira que apresentaram aumento no crescimento na dose mais baixa de fósforo (Samarão & Martins, 1999) e em bananeiras micropropagadas, onde o efeito benéfico desse FMA foi modulado pelo substrato de crescimento (Lins et al., 2003).

Mudas de mamoeiro ‘Solo’, apresentaram efeito benéfico da micorrização com *G. etunicatum* na altura e biomassa seca da parte aérea em solo com 20 ppm de fósforo (Weber & Amorim, 1994). Mudas arbóreas responderam à inoculação com *G. etunicatum* em solo com fósforo muito baixo ( $0,002 \text{ mg l}^{-1}$ ) e baixo ( $0,02 \text{ mg l}^{-1}$ ) (Siqueira & Saggin-Júnior, 2001). Entretanto, em limoeiro cravo, Melloni et al. (2000) observaram que o tratamento com *G. etunicatum* não diferiu do controle não inoculado em relação à altura, em todas as doses de fósforo aplicadas.

Em solo não desinfestado, em relação aos níveis de fósforo, diferença significativa na altura foi observada apenas nas mudas associadas com *G. etunicatum*, cultivadas em solo com 3 e  $48 \text{ mg dm}^{-3}$  (Tabela 1). Na biomassa seca da parte aérea só ocorreu diferença entre os

tratamentos com *G. etunicatum* em solo com 3 e 48 mg de P dm<sup>-3</sup> (Tabela 2). Entre os tratamentos de inoculação, registrou-se diferença apenas entre mudas mantidas em solo com 48 mg de P dm<sup>-3</sup>; o controle apresentou maior altura que os tratamentos com *G. etunicatum*, que não diferiu daquele com *G. albida*. Para biomassa, nenhuma diferença foi observada (Tabela 2). Em mudas de cacau cultivadas em solo não esterilizado, maior altura foi registrada nos tratamentos com FMA nativos, sendo o crescimento reduzido nas mudas associadas com *Acaulospora morrowiae* e *Glomus manihotis* (Cuenca et al., 1990).

A altura das mudas associadas com *G. albida*, em solo não desinfestado, foi maior do que a registrada em solo desinfestado e com doses de 48 e 93 mg de P dm<sup>-3</sup>. De modo geral, os tratamentos com *G. etunicatum* e o controle apresentaram maior altura em solo não desinfestado do que em solo desinfestado (Tabela 1). Para biomassa seca da parte aérea, em solo desinfestado, diferenças significativas foram observadas na inoculação com *G. albida* apenas na dose de 3 mg de P dm<sup>-3</sup>. Nos tratamentos com *G. etunicatum*, maior quantidade de biomassa ocorreu em solo com 3\*, 3 e 93 mg de P dm<sup>-3</sup> e no controle com 3\* e 3 mg de P dm<sup>-3</sup> em solo não desinfestado comparado com o desinfestado (Tabelas 1 e 2). Em macieiras inoculadas com *G. mosseae*, (Covey et al., 1981) e com *Glomus macrocarpum* Tul. & Tul. (Gnekow & Marschner, 1989) aumentos na biomassa seca total foram alcançados nas doses mais elevadas de P.

Em geral, as mudas apresentaram maior altura e biomassa nos tratamentos com e sem FMA, em solo natural (não desinfestado), o que demonstra a importância da microbiota nativa no desenvolvimento dessas plantas (Tabelas 1 e 2). Comportamento contrário foi constatado em mudas de maracujazeiro amarelo, onde a desinfestação do solo proporcionou maior altura, biomassa seca da parte aérea, diâmetro do caule, número de folhas e gavinhas (Cavalcante et al., 2002a). Benefícios da inoculação com FMA nativos do solo foram observados em cafeeiros inoculados com isolados de *G. etunicatum* procedentes da rizosfera dessas plantas (Saggin-Júnior et al., 1994), e a eficiência dos FMA nativos também foi comprovada em mamoeiro var. Formosa, em solo esterilizado acrescido ou não de esterco bovino (Lins et al., 1999). Em gravioleiras, a presença de FMA indígena variou as respostas de acordo com os fungos introduzidos, provocando efeito antagônico sobre a inoculação com *S. heterogama*, interação sinérgica com *Entrophospora colombiana*, mas não influenciou a eficiência de *G. margarita*, em relação à altura e biomassa seca da parte aérea (Chu et al., 2001). O comportamento do fungo introduzido no solo sem desinfestação depende da sua competitividade com o FMA nativo, onde a infectividade, densidade de inóculo, rapidez na colonização e habilidade em manter o nível de colonização em condição de competitividade,

são alguns dos fatores que contribuem para seu melhor desempenho (Wilson & Tommerup, 1992).

Houve interação entre *G. albida* x P x tratamento de solo, com regressão hiperbólica ajustada para altura, indicando o crescimento das mudas inoculadas com este FMA, quando cultivadas em solo desinfestado com 3 mg de P dm<sup>-3</sup>. Houve regressão cúbica na inoculação com *G. etunicatum*, em solo não desinfestado e com 3 e 93 mg de P dm<sup>-3</sup>. Interações também ocorreram entre os mesmos FMA, as doses de P e o solo, em relação à biomassa seca da parte aérea, com regressão hiperbólica para *G. albida* na menor dose de P (3\* e 3 mg de P dm<sup>-3</sup>), em solo desinfestado, e regressão cúbica para *G. etunicatum* com maior biomassa no tratamento com 3 mg de P dm<sup>-3</sup>.

**Tabela 1.** Efeito da desinfestação do solo, da associação com fungos micorrízicos arbusculares e dose de fósforo na altura de mudas de mangabeira, 150 dias após a inoculação, em casa de vegetação

Doses de P (mg dm <sup>-3</sup> )	Solo desinfestado (SD)			Solo não desinfestado (SND)		
	<i>Gigaspora albida</i>	<i>Glomus etunicatum</i>	Controle	<i>Gigaspora albida</i>	<i>Glomus etunicatum</i>	Controle
3*	36,55±7,02 abA	15,80±50,9 aB	9,03±0,68 aB	31,50±3,43 aA	29,92±1,27 abA	30,32±3,81 aA
3	41,30±22,66 aA	23,15±9,22 aB	8,02±1,83 aC	35,82±4,28 aA	38,75±1,78 aA	33,07±4,36 aA
48	14,92±2,40 cA	14,63±4,11 aA	14,23±0,97 aA	26,55±4,01 aAB	16,77±1,83 bB	30,37±5,34 aA
93	18,07±2,25 cA	13,45±2,72 aA	18,96±3,93 aA	30,25±3,15 aA	33,65±3,15 aA	27,05±1,80 aA
138	22,02±2,35 bcA	19,27±2,51 aA	15,82±3,12 aA	25,50±0,50 aA	27,73±8,72 abA	29,06±6,57 aA
183	18,00±1,74 cA	14,75±4,30 aA	16,12±2,45 aA	23,57±3,92 aA	32,70±3,06 abA	33,75±3,25 aA
Regressão	Hiperbólica	ns	ns	ns	Cúbica	ns
R <sup>2</sup>	0,92	ns	ns	ns	0,53	ns
Doses de P (mg dm <sup>-3</sup> )	<i>Gigaspora albida</i>		<i>Glomus etunicatum</i>		Controle	
	SND	SD	SND	SD	SND	SD
3*	31,50±3,43 aA	36,55±7,02 abA	29,92±1,27 abA	15,8±5,90 aB	30,32±3,18 aA	9,03±0,68 aB
3	35,82±4,28 aA	41,30±2,66 aA	38,75±1,78 aA	23,15±9,22 aB	33,07±4,36 aA	8,02±1,83 aB
48	26,55±4,01 aA	14,92±2,40 cB	16,77±1,83 bA	14,63±4,11 aA	30,37±5,34 aA	14,23±0,97 aB
93	30,25±3,15 aA	18,07±2,25 cB	33,65±3,15 aA	13,45±2,72 aB	27,05±1,80 aA	18,96±3,93 aA
138	25,50±0,50 aA	22,02±2,35 bcA	27,73±8,72 abA	19,27±2,51 aA	29,06±6,57 aA	15,82±3,12 aB
183	23,57±3,92aA	18,00±1,74 cA	32,70±3,06 abA	14,75±4,30 aB	33,75±3,25 aA	16,12±2,45 aB
CV (%)	31,94					

\*Isento de solução nutritiva. Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

No solo desinfestado, a área foliar das mangabeiras associadas com *G. albida* foi maior do que nas plantas em simbiose com *G. etunicatum*, ambos superiores ao controle. Tais resultados corroboram com os de Costa et al. (2001) que estudaram o efeito de FMA em aceroleiras e observaram que a simbiose dessa fruteira com *G. margarita* aumentou a área foliar em relação à associação com *G. etunicatum* e o controle. Relatos de que a inoculação com *G. etunicatum* também proporcionou aumento de área foliar foram descritos para bananeiras (Yano-Melo et al., 1999), abacateiros (Silveira et al., 2002), maracujazeiro-amarelo (Cavalcante et al., 2002b) e em citros com *G.intraradices* (Souza et al., 1997; Souza, 2000). No solo natural não se observou diferença entre os tratamentos de inoculação. De modo geral, as mudas desenvolveram maior área foliar quando em solo não desinfestado. A presença de fungos nativos favoreceu o crescimento das mudas e não inibiu a ação de *G. albida*, tendo em vista que os tratamentos com esse fungo não diferiram quanto à área foliar independentemente do solo estar ou não desinfestado (Tabela 3).

**Tabela 3.** Efeito da desinfestação do solo e da associação com fungos micorrízicos arbusculares na área foliar de mudas de mangabeira, independentemente dos níveis de fósforo, 150 dias após a inoculação, em casa de vegetação

Tratamentos de inoculação	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	
	Solo desinfestado	Solo não desinfestado
<i>Gigaspora albida</i>	214,16±26,26 aA	206,67±16,09 aA
<i>Glomus etunicatum</i>	118,68±21,71 bB	207,66±20,08 aA
Controle	38,78 ± 9,26 cB	242,23±26,68 aA
CV (%)	52,52	

Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Acompanhando a tendência observada na área foliar, nos tratamentos com solo não desinfestado houve maior concentração de P na parte aérea, maior percentagem de arbúsculos, hifas e de colonização total. Nesta condição de solo *G. albida* produziu mais hifas que *G. etunicatum* e os FMA nativos. Entretanto, com a desinfestação do solo a atuação de *G. albida* foi melhor observada, destacando-se em relação aos outros tratamentos de inoculação em todos os parâmetros, exceto percentagem de hifas. Por outro lado, os FMA nativos competiram eficientemente com os fungos introduzidos, colonizando o hospedeiro com a mesma intensidade (Tabela 4). A efetividade da população nativa de FMA também foi demonstrada pelo aumento no conteúdo de P na parte aérea de bananeiras (Declerck et al., 2002). Resultados similares foram obtidos em mudas de cacaueiros (Cuenca et al., 1990) e

graviroleiras (Chu et al., 2001). No maracujazeiro-amarelo a inoculação com *G. albida* não propiciou aumento na concentração de P na parte aérea quando o solo foi desinfestado (Cavalcante et al., 2002a); no entanto, isso ocorreu neste trabalho, com as mudas de mangabeira.

**Tabela 4.** Efeito da associação com FMA e da desinfestação do solo na concentração de fósforo na parte aérea, na percentagem de arbúsculos, hifas e na colonização total das raízes de mangabeira, 150 dias após a inoculação, em casa de vegetação

FMA	Fósforo (% na parte aérea)		Arbúsculo (%)		Hifa (%)		Colonização total (%)	
	SD	SND	SD	SND	SD	SND	SD	SND
Ga	0,129 aA	0,138 aA	24,05aB	33,10aA	1,35 aB	4,16 aA	25,40 aB	37,26 aA
Ge	0,008 bB	0,146 aA	1,75bB	32,02aA	0,49 abB	1,95 bA	2,27 bB	33,98 aA
C	0,008 bB	0,149 aA	2,01bB	35,89aA	0,10 bA	0,65 cA	2,11 bB	36,56 aA
CV (%)	36,61		33,02		31,38		32,15	

Ga= *Gigaspora albida*, Ge= *Glomus etunicatum*, C= Controle, SD= solo desinfestado e SND= solo não desinfestado. Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, entre tratamentos de esterilização do solo, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Nos tratamentos com solo desinfestado, *G. etunicatum* colonizou fracamente o hospedeiro, como comprovado pela percentagem de arbúsculos e hifas formadas nas raízes, que não diferiu significativamente do controle (Tabela 4). Os arbúsculos são considerados sítios de troca por excelência entre os simbiontes (Harley & Smith, 1983) e alguns estudos suportam o papel dos arbúsculos na absorção do carbono (Pfeffer & Shachar-Hill, 1996; Blee & Anderson, 1998). Assim, a simbiose micorrízica não estava realmente formada, pois a presença dessas estruturas nas raízes é geralmente considerada como sinal de funcionamento da simbiose (Regvar et al., 2003), e atesta a dinâmica da colonização. A percentagem de hifas formadas por *G. etunicatum* na raiz, embora não tenha diferido significativamente da registrada com *G. albida* e no controle, também foi baixa. A contribuição das hifas de FMA em absorver e transferir nutrientes à planta é bem conhecida (George et al., 1992; Marschner & Dell, 1994). As pequenas taxas de colonização refletiram na absorção de P, que não diferiu do tratamento controle.

Maior colonização geralmente é seguida pela estimulação do crescimento da planta, na maioria das vezes atribuída ao aumento da nutrição do P, em solo com baixa disponibilidade desse elemento (Smith & Read, 1997). Em solo desinfestado, a efetividade da associação com *G. albida* em aumentar o crescimento da mangabeira provavelmente ocorreu pela maior

**Tabela 2.** Efeito da desinfestação do solo, da associação com fungos micorrízicos arbusculares e dose de fósforo na biomassa seca da parte aérea de mudas de mangabeira, 150 dias após a inoculação, em casa de vegetação

Doses de P (mg dm <sup>-3</sup> )	Solo desinfestado (SD)			Solo não desinfestado (SND)		
	<i>Gigaspora albida</i>	<i>Glomus etunicatum</i>	Controle	<i>Gigaspora albida</i>	<i>Glomus etunicatum</i>	Controle
3*	1,65±0,52 aA	0,54±0,25 aB	0,22±0,02 aB	1,27±0,17 aA	1,42±0,15 abA	1,41±0,37 aA
3	2,57±0,75 aA	1,02±0,58 aB	0,15±0,02 aB	1,69±0,40 aA	1,84±0,14 aA	1,79±0,44 aA
48	0,23±0,02 bA	0,24±0,08 aA	0,21±0,04 aA	1,32±0,44 aA	0,50±0,02 bA	0,97±0,31 aA
93	0,27±0,06 bA	0,19±0,01 aA	0,38±0,10 aA	1,00±0,11 aA	1,16±0,11 abA	0,63±0,06 aA
138	0,37±0,10 bA	0,35±0,03 aA	0,28±0,05 aA	0,82±0,07 aA	1,05±0,50 abA	0,79±0,32 aA
183	0,26±0,04 bA	0,28±0,04 aA	0,27±0,05 aA	0,67±0,09 aA	1,01±0,17 abA	0,96±0,29 aA
Regressão	Hiperbólica	ns	ns	ns	Cúbica	ns
R <sup>2</sup>	0,99	ns	ns	ns	0,79	ns
Doses de P (mg dm <sup>-3</sup> )	<i>Gigaspora albida</i>		<i>Glomus etunicatum</i>		Controle	
	SND	SD	SND	SD	SND	SD
3*	1,27±0,17 aA	1,65±0,52 aA	1,42±0,15 abA	0,54±0,25 aB	1,41±0,37 aA	0,22±0,02 aB
3	1,69±0,40 aB	2,57±0,75 aA	1,84±0,14 aA	1,02±0,58 aB	1,79±0,44 aA	0,15±0,02 aB
48	1,32±0,44 aA	0,23±0,02 aB	0,50±0,02 bA	0,24±0,08 aA	0,97±0,31 aA	0,21±0,04 aA
93	1,00±0,11 aA	0,27±0,06 aA	1,16±0,11 abA	0,19±0,01 aB	0,63±0,06 aA	0,38±0,10 aA
138	0,82±0,07 aA	0,37±0,10 aA	1,05±0,50 abA	0,35±0,03 aA	0,79±0,32 aA	0,28±0,05 aA
183	0,67±0,09 aA	0,26±0,04 aA	1,01±0,17 abA	0,28±0,04 aA	0,96±0,29 aA	0,27±0,05 aA
CV (%)	64,45					

\* Isento de solução nutritiva. Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

concentração de fósforo na parte aérea. Resultados semelhantes foram obtidos com bananeiras (Declerck et al., 2002).

Nos tratamentos com a dose de fósforo mais baixa ( $3 \text{ mg dm}^{-3}$ ), a associação com *G. albida* proveu maior colonização por arbúsculos e colonização total. Comparando as doses de fósforo, a mesma tendência de comportamento foi observada, tanto na associação com *G. albida* como com *G. etunicatum*, sendo esses valores reduzidos com o aumento do fósforo, em relação à dose de fósforo mais baixa. (Tabela 5). Resultados semelhantes indicando redução da colonização micorrízica com o aumento do nível de fósforo também foram observados em plantas de cafeeiro (Saggin-Júnior et al., 1994), limoeiro mexicano (Flores Bello et al., 1992) e limoeiro-cravo (Melloni et al., 2000).

O aumento da dose de fósforo afetou a taxa de formação de arbúsculos e de colonização total por *G. albida*; no tratamento com *G. etunicatum* a percentagem de arbúsculos e de colonização total se manteve baixa (< 30%) mesmo nos tratamentos com reduzidas quantidades de P. Por outro lado, no solo sem inoculação a aplicação de fósforo não influenciou a colonização, que ocorreu em função dos FMA nativos nos tratamentos com solo natural (Tabela 5).

**Tabela 5.** Efeito da associação com FMA e da adubação com fósforo sobre a percentagem de arbúsculo e colonização total das raízes de mangabeira, em casa de vegetação, 150 dias após a inoculação, independentemente do tratamento de solo

Arbúsculo (%)						
FMA	Doses de fósforo					
	3*	3	48	93	138	183
Ga	42,62 aAB	45,96 aA	25,58 aBC	13,92 abC	18,66 aC	21,13 aC
Ge	16,37 bAB	30,33 bA	13,34 aAB	8,69 bB	18,65 aAB	13,71 aAB
C	22,76 bA	25,59 bA	16,52 aA	24,81 aA	10,66 aA	11,33 aA
CV (%)	33,02					
FMA	Colonização total (%)					
	3*	3	48	93	138	183
Ga	45,43 aAB	50,34 aA	29,09 aBC	15,27 abC	20,34 aC	23,30 aC
Ge	18,37 bAB	31,68 bA	15,13 aAB	9,38 bB	19,66 aAB	14,35 aAB
C	24,07 bA	26,00 bA	16,69 aA	25,17 aA	10,66 aA	11,33 aA
CV (%)	32,15					

\*Isento de solução nutritiva. Ga= *Gigaspora albida*, Ge= *Glomus etunicatum* e C= Controle. Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, entre tratamentos de adubação com P, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Em *Phleum pratense* L., a colonização total das raízes foi inibida pela fertilização, bem como a percentagem de hifas e arbúsculos formados (Clapperton & Reid, 1992); o



mesmo ocorreu em plantas de alho (*Allium porrum*) (Amijee et al., 1989). A formação de arbúsculos foi consistentemente menor nas raízes das plantas mantidas em solo fertilizado do que em solo não fertilizado, embora em alguns casos não tenha havido diferenças significativas. Esses resultados estão em concordância com os encontrados nesse estudo e reforçam a importância dos arbúsculos na troca de nutrientes entre o fungo e a planta. A presença dessas estruturas pode ser considerada fundamental para o funcionamento da simbiose micorrízica (Clapperton & Reid, 1992). Diferenças na colonização e no funcionamento de FMA indígenas foram investigadas em cevada e trigo crescendo em campo não fertilizado por 10 anos, mas que recentemente tinha sido fertilizado com três níveis de P. Os autores encontraram que tanto a percentagem de colonização total quanto a de arbúsculos foram reduzidas pelo acréscimo de P (Dekkers & van der Werff, 2001).

As maiores percentagens de arbúsculos foram encontradas nas raízes de mangabeiras associadas com *G. albida* (Tabela 5). Em plantas micropropagadas de morango (*Fragaria x ananassa* Duch cv. Elvira) inoculadas com nove espécies de FMA, *Gigaspora rosea* destacou-se por formar a mais alta percentagem por arbúsculos (Taylor & Harrier, 2001). Os representantes das famílias de FMA apresentam diferentes estratégias de colonização. Hart & Reader (2002) estudaram 21 isolados de Acaulosporaceae, Gigasporaceae e Glomaceae observado que isolados de Gigasporaceae apresentam menor taxa de colonização e maior extensão de micélio no solo do que nas raízes, enquanto os membros de Glomaceae produzem maior colonização e extensivo micélio na raiz comparado ao solo. Por outro lado, *G. albida* produziu maiores percentagens de colonização total, arbúsculos e hifas do que *G. etunicatum*, nos tratamentos com solo desinfestado, enquanto *G. albida* foi mais efetivo em produzir benefícios nutritivos ao hospedeiro, o que também se traduziu na maior formação de estruturas absorptivas.

Mudas associadas com *G. albida* tiveram maior percentual de hifas e de colonização total, nos dois tratamentos de solo que apresentaram os menores níveis de fósforo ( $\leq 48\text{mg dm}^{-3}$ ). Nas mudas com *G. etunicatum* também houve tendência para diminuição da colonização total com o aumento das doses de fósforo, porém isso só ocorreu no solo não desinfestado. Não houve diferença na produção de hifas nos dois solos. Comparando os tratamentos de inoculação, *G. albida* destacou-se por maior formação de hifas nos menores níveis de fósforo, mostrando-se mais competitivo que *G. etunicatum* em relação ao controle (Tabela 6). Para colonização total, em solo não desinfestado, não houve diferença significativa entre fungos nativos e introduzidos, exceto na dose de  $138\text{ mg dm}^{-3}$  de P nas mudas com *G. etunicatum*, em relação às associadas com *G. albida* (Tabela 6).

**Tabela 6.** Efeito dos níveis de fósforo e da desinfestação do solo em relação à associação com FMA sobre a percentagem de hifas e a colonização total das raízes de mangabeira, 150 dias após a inoculação, em casa de vegetação

P / FMA	Hifas (%)					
	SD			SND		
	Ga	Ge	C	Ga	Ge	C
3*	1,942 abA	0,222 aA	0,000 aA	3,687 abA	3,775 aA	0,265 aA
3	3,860 aA	0,642 aB	0,000 aB	4,897 abA	2,025 aB	0,820 aB
48	0,740 bA	1,140 aA	0,000 aA	6,295 aA	2,205 aB	0,305 aB
93	0,577 bA	0,437 aA	0,740 aA	2,130 bA	0,940 aA	0,007 aA
138	0,917 bA	0,712 aA	0,000 aA	3,200 bA	1,390 aAB	0,000 aB
183	0,006 bA	0,000 aA	0,000 aA	4,280 abA	1,275 aB	0,000 aB
CV (%)	31,38					
Regressão	Hiperbólica	ns	ns	Cúbica	ns	ns
R <sup>2</sup>	0,96	ns	ns	0,63	ns	ns
P / FMA	Colonização total (%)					
	Ga	Ge	C	Ga	Ge	C
	Ga	Ge	C	Ga	Ge	C
3*	48,685 aA	7,857 aB	0,000 aB	51,997 aA	55,515 aA	52,000 aA
3	47,415 aA	0,890 aB	0,000 aB	43,457 abA	35,852abcA	42,127 abA
48	14,855 bA	2,033 aA	0,000 aA	43,340 abA	24,967 bcA	29,222 abA
93	10,172 bA	1,237 aA	14,813 aA	20,382 bcA	17,537 cA	32,937 abA
138	22,055 bA	1,370 aB	0,000 aB	16,910 cB	44,050 abA	24,890bAB
183	9,270 bA	0,187 aA	0,000 aA	37,340 abcA	28,520 bcA	33,995 abA
CV (%)	32,15					
Regressão	Cúbica	ns	ns	Quadrática	Cúbica	Quadrática
R <sup>2</sup>	0,98	ns	ns	0,82	0,88	0,82

Ga= *Gigaspora albida*, Ge= *Glomus etunicatum* e C= Controle. SD= solo desinfestado e SND= solo não desinfestado. \* = Isento de solução nutritiva. ns = Regressão não significativa. Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, entre tratamentos com FMA e de solo, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05).

A aplicação de brometo de metila como tratamento para desinfestação do solo resultou na eliminação dos fungos micorrízicos nativos; no entanto, estruturas características de FMA foram observadas nos tratamentos sem inoculação, em solo desinfestado e com 93 mg de P dm<sup>-3</sup>, o que pode ter sido proveniente da contaminação em casa de vegetação. Hifas ativas também foram detectadas em experimento com citros, em solo autoclavado e sem adição de FMA (Melloni et al., 2000). A aparente eliminação de FMA em solo tratado com brometo de metila é processo conhecido (Bendavid-Val et al., 1997; Schreiner et al., 2001), mas a reinvasão de propágulos pode ocorrer entre dois e treze meses após a desinfestação do solo com fumigantes químicos, por meio de estruturas fúngicas que não foram eliminadas (Menge, 1982).

Houve interação entre a inoculação com *G. albida*, as doses de fósforo e os tratamentos de solo, com regressão hiperbólica ajustada para percentagem de hifa, indicando crescimento das mudas associadas com este fungo, em solo desinfestado e com 3 mg dm<sup>-3</sup> de P e regressão cúbica para tratamentos com solo não desinfestado e com 48 mg dm<sup>-3</sup> de P. Interações entre P x FMA e solo foram observadas na colonização total, com regressão cúbica nas mudas associadas com *G. albida* cultivadas em solo desinfestado com P mais baixo. Também houve interação entre P x *G. albida* e P x controle com regressão quadrática ajustada para colonização total, em solo não desinfestado, e regressão cúbica nas mudas associadas com *G. etunicatum* no mesmo tratamento de solo (Tabela 6).

Independentemente do FMA a mangabeira foi considerada excessivamente dependente da micorrização em solo desinfestado e com 3\* mg de P dm<sup>-3</sup>. A dependência variou de excessiva, nas mudas associadas a *G. albida* a altamente dependente, nas associadas com *G. etunicatum*, nas mesmas condições de solo (Tabela 7).

**Tabela 7.** Dependência micorrízica em mudas de mangabeira, 150 dias após inoculação com FMA.

Doses de P (mg dm <sup>-3</sup> de solo)	<i>Gigaspora albida</i>		<i>Glomus etunicatum</i>	
	Solo desinfestado	Solo não desinfestado	Solo desinfestado	Solo não desinfestado
3*	94,16 E	-5,92 I	85,29 E	3,24 Ma
3	86,66 E	-30,70 I	59,26 A	-16,90 I
48	4,34 Ma	27,06 Mo	8,33 Ma	-94,00 I
93	-40,74 I	37,00 Mo	-100,00 I	46,15 Mo
138	24,32 Mo	-92,68 I	20,00 Ma	24,76 Ma
183	-3,95 I	-41,18 I	3,57 Ma	4,95 Ma

Dependência micorrízica relativa: > 75% = excessiva (E); 50-75% = alta (A); 25-50% = moderada (Mo); < 25% = marginal (Ma); não responde a inoculação= independente (I).

Quando associada com *G. albida* ou *G. etunicatum*, tanto em solo desinfestado como não desinfestado, a mangabeira apresentou valores negativos de dependência micorrízica, que variaram conforme as doses de fósforo. Segundo sugerido por Melloni et al. (2000), em limoeiro-cravo este fato pode estar relacionado com os valores de micélio externo ativo e total, o que levaria a maior consumo de fotoassimilados, acarretando menor desenvolvimento vegetativo do hospedeiro. Menge et al. (1978) citaram alguns fatores que podem influenciar a absorção do fósforo e, conseqüentemente, a dependência micorrízica: pêlos radiculares, taxas de crescimento da planta, transporte e utilização do fosfato. Além disso, a eficiência da

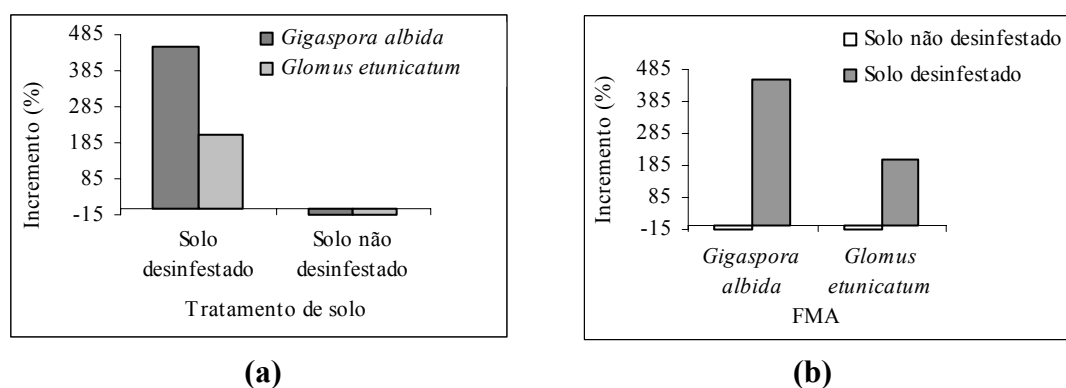
absorção de nutrientes pode ser afetada por parâmetros de troca, como a interface fungo-célula da raiz (arbusculos), a extensão, a viabilidade e a capacidade de transporte da hifa externa (Marschner & Dell, 1994).

O efeito benéfico da associação micorrízica no crescimento da planta tem sido atribuído, na maior parte das vezes, ao aumento da absorção e da concentração de nutrientes, especialmente o fósforo. A habilidade da planta para absorver fósforo do solo é considerada o principal fator que contribui para as diferenças observadas na dependência micorrízica relativa de uma espécie (Mosse et al., 1973). Os maiores valores de dependência micorrízica observados neste trabalho foram encontrados justamente nos tratamentos em solo com a dose mais baixa de fósforo. A dependência micorrízica da mangabeira variou com a espécie de FMA, a condição do solo (desinfestado ou não) e com as doses de fósforo. O mesmo foi observado para mudas de maracujazeiro-amarelo (Cavalcante et al., 2001b). Isso comprova o efeito negativo do aumento da disponibilidade do fósforo para a simbiose micorrízica (Cavalcante et al., 2001b; Siqueira & Saggin-Júnior, 2001; Melloni et al., 2000).

O menor crescimento das mudas de mangabeira em solo desinfestado e sem inoculação (Tabelas 1-3) demonstra a alta dependência micorrízica dessa espécie em condições de reduzidas quantidades de P no solo (Tabela 7). Resultados semelhantes foram observados em mudas de gravioleira; na desinfestação do solo, a maioria dos microrganismos é eliminada, inclusive os FMA nativos (Chu et al., 2001). O maracujazeiro-amarelo foi considerado extremamente dependente da associação micorrízica quando cultivado em solo desinfestado e com apenas  $4 \text{ mg dm}^{-3}$  P. Em solo com  $11 \text{ mg dm}^{-3}$  P, as mudas foram de marginalmente a moderadamente dependentes, de acordo com a espécie de FMA utilizada (Cavalcante et al., 2001b). Em mamoeiros, a maior eficiência micorrízica foi obtida nos tratamentos com dose mais baixa de P ( $20 \text{ mg dm}^{-3}$ ); em algumas variedades a micorrização reduziu em até sete vezes a necessidade de fósforo no solo para atingir máxima produção de matéria seca (Trindade et al., 2001).

Na dose de P a partir de  $48 \text{ mg dm}^{-3}$ , em solo desinfestado, a mangabeira mostrou-se marginalmente dependente ( $\text{DMR} < 25\%$ ) a independente (nenhuma resposta micorrízica) e em solo não desinfestado variou de moderadamente dependente ( $\text{DMR} 25\text{-}50\%$ ) a independente (Tabela 7). Os FMA nativos podem ter afetado a dependência simbiótica, competindo pelos nutrientes, especialmente o fósforo, diretamente com os fungos introduzidos (Hayman, 1982). Dados semelhantes foram relatados por Cavalcante et al. (2001b) em maracujazeiro-amarelo.

por cada FMA nas condições de tratamento do solo verifica-se que, os maiores incrementos ocorreram no solo desinfestado, independentemente do FMA associado (Figura 2a, b).



**Figura 2.** Incremento (%) na área foliar das mudas de mangabeira, 150 dias após a inoculação com FMA, em casa-de-vegetação: (a) efeito do tratamento de solo entre os FMA e (b) efeito do FMA entre os tratamentos de solo, independentemente das doses de fósforo.

A colonização do maracujazeiro-amarelo com os mesmos FMA utilizados neste trabalho resultaram em incrementos semelhantes na altura e biomassa seca da parte aérea (Cavalcante *et al.*, 2002b). Em dois genótipos de aceroleira, os incrementos proporcionados pela micorrização variaram de acordo com o FMA e o genótipo estudado (Costa *et al.*, 2001).

## Conclusões

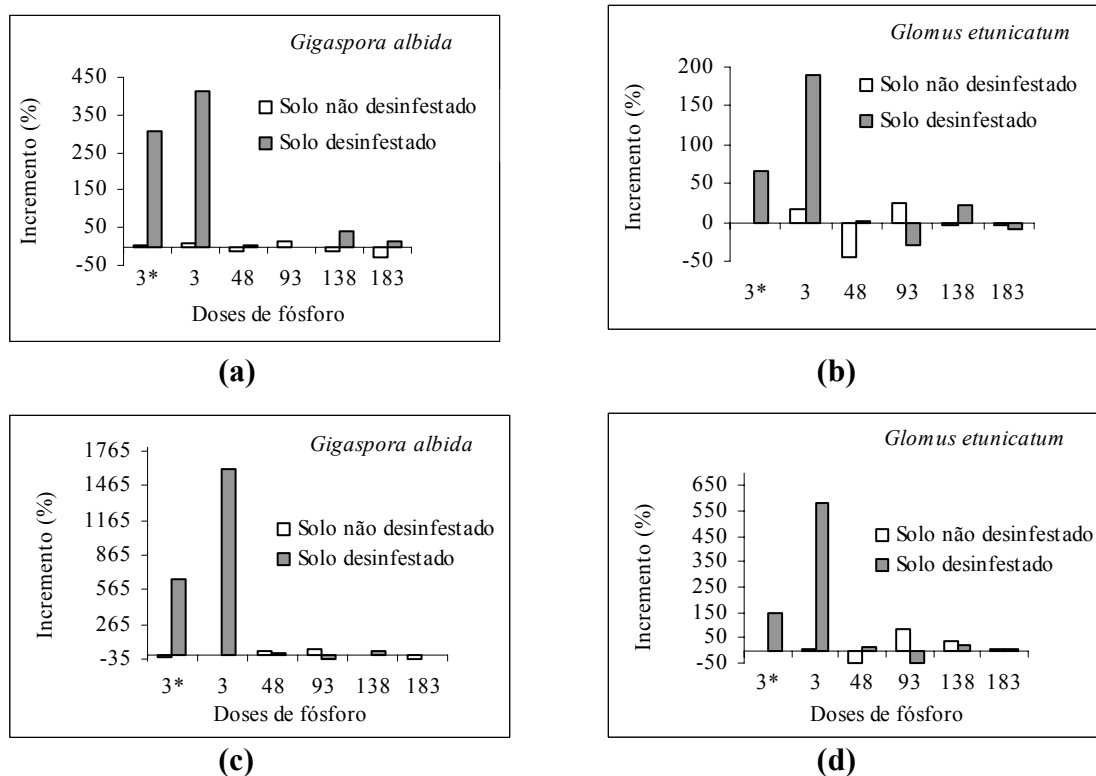
As mudas de mangabeira responderam bem aos FMA nativos que proporcionaram aumento na altura, biomassa seca da parte aérea, e maior absorção de P na parte aérea em relação aos tratamentos sem inoculação em solo desinfestado. A associação com *G. albida* foi eficiente em proporcionar maior crescimento das mudas em solo desinfestado. A mangabeira é de excessiva a altamente dependente da micorrização em solo desinfestado e com fósforo baixo ( $3\text{mg dm}^{-3}$ ) variando de acordo com o FMA associado. Nas condições de desenvolvimento deste trabalho, considerando-se as duas condições de solo, *G. albida* demonstrou maior efetividade e competitividade do que *G. etunicatum*, em contribuir para o desenvolvimento de mudas de mangabeira.

## Referências

- AMIJEE, F.; TINKER, P. B.; STRIBLEY, D. P. The development of endomycorrhizal roots systems. **New Phytologist**, Oxford, v. 111, p. 435-446, 1989.
- BENDAVID-VAL, R.; RABINOWITCH, H. D.; KATAN, J.; KAPULNIK, Y. Viability of VA-mycorrhizal fungi following soil solarization and fumigation. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 195, p. 185-193, 1997.
- BLEE, K.; ANDERSON, A. J. Regulation of arbuscule formation by carbon in the plant. **Plant Journal**, v.16, p.523-530, 1998.
- CAVALCANTE, U. M. T.; MAIA, L. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C. & SANTOS, V. F. Respostas fisiológicas em mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims. F. Flavicarpa Deg.) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 379-390, 2001a.
- CAVALCANTE, U. M. T.; MAIA, L.C.; COSTA, C. M. C.; SANTOS, V. F. Mycorrhizal dependency of passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Fruits**, Paris, v. 56, n. 5, p. 317-324, 2001b.
- CAVALCANTE, U. M. T.; MAIA, L. C.; COSTA, C. M. C.; CAVALCANTE, A. T.; SANTOS, V.F. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares, da adubação fosfatada e da esterilização do solo no crescimento de mudas de maracujazeiro amarelo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 26, n. 4, p. 1099-1106, out./dez. 2002a.
- CAVALCANTE, U. M. T.; MAIA, L. C.; MELO, A. M. M.; SANTOS, V. F. Influência da densidade de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 5, p. 634-649, mai. 2002b.
- CHARRON, G.; FURLAN, V.; BERNIER-CARDOU, M.; DOYON, G. Response of onion plants to arbuscular mycorrhizae 1. Effects of inoculation method and phosphorus fertilization on biomass and bulb firmness. **Mycorrhiza**, Berlin, v. 11, p. 187-197, jul. 2001.
- CHU, E. Y.; MÖLLER, M. R. F.; CARVALHO, J. G. Efeitos da inoculação micorrízica em mudas de graviroleira em solo fumigado e não fumigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 4, p. 671-680, abr. 2001.
- CLAPPERTON, M. J.; REID, D. M. A relationship between plant growth and increasing VA mycorrhizal inoculum density. **New Phytologist**, Cambridge, v. 120, p. 227-234, 1992.
- COSTA, C. M. C.; MAIA, L. C.; CAVALCANTE, U. M. T.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de dois genótipos de

- aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 6, p. 893-901, jun. 2001.
- COVEY, R. P.; KOCH, B. L.; LARSEN, H. J. Influence of vesicular arbuscular mycorrhizae on the growth of apple and corn in low-phosphorus soil. **Phytopathology**, St. Paul, v. 71, n. 7, p. 712-715, 1981.
- CUENCA, G.; HERRERA, R.; MENESES, E. Effects of VA mycorrhiza on the growth of cacao seedlings under nursery conditions in Venezuela. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 126, p. 71-78, 1990.
- DECLERCK, S.; PLENCHETTE, C.; STRULLU, D.G. Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 176, n. 1, p. 183-187, 1995.
- DECLERCK, S.; RISEDE, J.-M.; DELVAUX, B. Greenhouse response of micropropagated bananas inoculated with *in vitro* monoxenically produced arbuscular mycorrhizal fungi. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 93, p. 301-309, 2002.
- DEKKERS, T. B. M.; VAN DER WERFF, P. A. Mutualistic functioning of indigenous arbuscular mycorrhizae in spring barley and winter wheat after cessation of long-term phosphate fertilization. **Mycorrhiza**, Berlin, v.10, p.195-201. 2001.
- EDIGITON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, St. Paul, v. 61, n. 1, p. 42-44, 1971.
- FLORES BELLO, R.; AGUILAR, S.; VALDÉS, M. La micorrización y el crecimiento del limón mexicano en relación a la fertilización fosforada. **Revista Latino-Americana de Microbiología**, México, v. 34, p. 149-152, 1992.
- GEORGE, E. Nutrient uptake. In: KAPULNIK, Y.; DOUDS, JR. D. D. (Eds.). **Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function**. Kluwer Academic Publishers, London, 2000. p. 23-372.
- GEORGE, E.; HÄUSSLER, K.; KOTHARI, S. K.; LI, X.-L.; MARSCHNER, H. Contribution of mycorrhizal hyphae to nutrient and water uptake of plants. In: READ, D. J.; LEWIS, D. H.; FITTER, A. H.; ALEXANDER, I. J. (Eds.). **Mycorrhizas in Ecosystems**. CAB INTERNATIONAL, UK. 1992. p. 42-54.
- GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of The British Mycological Society**, Cambridge, Inglaterra, v. 46, p. 235-244, 1963.

A inoculação com FMA promoveu incrementos, em relação ao controle não inoculado, em solo desinfestado, para todos os parâmetros de crescimento das mudas. A altura e a biomassa seca da parte aérea foram influenciadas pelas doses de fósforo e tratamentos de solo, mas com relação à área foliar, ocorreram incrementos apenas em relação aos tratamentos de solo. As mudas apresentaram incrementos de 414,96% na altura e 1613,3% na biomassa seca da parte aérea, quando colonizadas com *G. albida* e de 188,65% e 580% com *G. etunicatum*, em solo desinfestado na dose mais baixa de P (3 mg dm<sup>-3</sup>) (Figura 1a, c e b, d, respectivamente). Deve ser mencionado que os dados de incremento no solo não desinfestado foi obtido em relação ao tratamento controle que continha FMA nativos. Esses resultados evidenciam que a utilização de mudas de mangabeira pré-inoculadas, em solo onde esta fruteira é naturalmente encontrada, pode ser dispensada.



**Figura 1.** Incrementos (%) na altura (a e b) e na biomassa seca da parte aérea (c e d) das mudas de mangabeira; efeito da desinfestação do solo e dose de fósforo, 150 dias após a inoculação com FMA, em casa-de-vegetação.

Com relação à área foliar no solo desinfestado houve maior incremento promovido por *G. albida* (452,24%) quando comparado a *G. etunicatum* (206,03%), enquanto no solo não desinfestado não houve incremento (Figura 2a). Quando se compara o incremento promovido



- GNEKOW, M. A.; MARSCHNER, H. Role of VA-mycorrhiza in growth and mineral nutrition of apple (*Malus pumila* var. *domestica*) rootstock cuttings. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 119, p. 285-293, 1989.
- HABTE, M.; MANJUNATH, A. Categories of vesicular-arbuscular mycorrhizal dependency of host species. **Mycorrhiza**, Berlim, v. 1, p. 3-12, 1991.
- HARLEY, J. L.; SMITH, S. E. Mycorrhizal symbioses London: Academic Press, 1983, 483p.
- HART, M. M.; READER, R. J. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, Cambridge, Inglaterra, v. 153, p. 335-344, 2002.
- HAYMAN, D. S. Influence of soils and fertility on activity and survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Phytopathology**, St. Paul, v. 72, n. 8, p. 1119-1125, 1982.
- JAIZME-VEJA, M. C.; AZCÓN, E. R. Responses of some tropical and subtropical cultures to endomycorrhizal fungi. **Mycorrhiza**, Berlim, v. 5, p. 213-217, 1995.
- JENKINS, W. R. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reportes**, St. Paul, v. 48, p. 692, 1964.
- KARAGIANNIDIS, N.; BLETOS, F.; STAVROPOULOS, N. Effect of *Verticillium* wilt (*Verticillium dahliae* Kleb.) and mycorrhiza (*Glomus moseae*) on root colonization, growth and nutrient uptake in tomato and eggplant seedlings. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 94, p. 145-156, 2002.
- LINS, C. E. L.; AGUIAR, R. L. F.; CAVALCANTE, U. M. T.; MAIA, L. C. Influência da adubação com esterco bovino e inoculação de fungos micorrízicos arbusculares no crescimento de mudas de *Carica papaya* L. (var. Formosa). **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 13, n. 3, p. 257-261, 1999.
- LINS, G. M. L.; TRINDADE, A. V.; ROCHA, H. S. Utilização de *Gigaspora margarita* em plantas micropropagadas de bananeira em diferentes estádios de enraizamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 143-147, abr. 2003.
- LOCATELLI, L. M.; VITOVSKI, C. A.; LOVATO, P. E. Sistema radicular de porta-enxertos micropropagados de macieiras colonizados com fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 9, p. 1239-1245, set. 2002.
- MALAVOLTA, E. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fósforo, Piracicaba, 1989. 201p.
- MARSCHNER, H.; DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 159, p. 89-102, 1994.

- McGONIGLE, T. P.; MILLER, M. H.; EVANS, D. G.; FAIRCHILD, G. L.; SWAN, J. A. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, Cambridge, v. 115, p. 495-501, 1990.
- MELLONI, R.; NOGUEIRA, M. A.; FREIRE, V. F.; CARDOSO, E. J. B. N. Fósforo adicionado e fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e nutrição mineral de limoeiro-cravo [*Citrus limonia* (L). Osbeck]. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 24, p. 767-775, 2000.
- MENGE, J. A. Effect of soil fumigant and fungicides on vesicular-arbuscular fungi. **Phytopathology**, St. Paul, v. 72, p. 1125-1182, 1982.
- MENGE, J. A.; JOHNSON, E. L. V.; PLATT, R. G. Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes. **New Phytologist**, Cambridge, v. 81, p. 553-559, 1978.
- MIRANDA, J. C. C.; MIRANDA, L. N. Micorriza arbuscular. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Eds). **Biologia dos solos dos Cerrados**: Planaltina: EMBRAPA-CPAC. 1997. p. 67-123
- MOSSE, B.; HAYMAN, D. S.; ARNOLD, D. J. Plant growth response to vesicular-arbuscular mycorrhiza. V. Phosphate uptake by three plant species from P-deficient soils labeled with <sup>32</sup>P. **New Phytologist**, Cambridge, Inglaterra, v. 72, p. 809-815, 1973.
- PFEFFER, P. E.; SHACHAR-HILL, Y. Plant/microbe symbioses. In: SHACHAR-HILL, Y.; PFEFFER, P.E. (Eds). **Nuclear Magnetic Resonance in Plant Biology**. ASPP Series. American Society of Plant Physiologists, Rockville. 1996. p. 77-107.
- PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infections. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 55, p. 158-161, 1970.
- PLENCHETTE, C.; FORTIN, J. A.; FURLAN, V. Growth responses of several plant appecies to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. I. Mycorrhizal dependence under field conditions. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 70, p. 199-209. 1983.
- REGVAR, M.; VOGEL, K.; IRGEL, N.; WRABER, T.; HILDEBRANDT, U.; WILDE, P.; BOTHE, H. Colonization of pennycresses (*Thlaspi* spp.) of the Brassicaceae by arbuscular mycorrhizal fungi. **Journal of Plant Physiology**, v. 160, p. 1-12, 2003.
- SAGGIN JÚNIOR, O. J.; LOVATO, P. E. Aplicação de micorrizas arbusculares na produção de mudas e plantas micropropagadas. In: SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A . E.; CARVALHO, J. G.

- (Eds), **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo/UFLA. 1999. p.725-774.
- SAGGIN JÚNIOR, O. J.; SIQUEIRA, J. O.; GUIMARÃES, P. T. G.; OLIVEIRA, E. Interação fungos micorrízicos *versus* superfosfato e seus efeitos no crescimento e teores de nutrientes do cafeeiro em solo não fumigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 18, p. 27-36, 1994.
- SAMARÃO, S. S.; MARTINS, M. A. Influência de fungos micorrízicos arbusculares, associadas à aplicação de rutina, no crescimento de mudas de goiabeira (*Psidium guajava* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 2, p. 196-199, agosto. 1999.
- SCHENCK, N. C.; PÉREZ, Y. Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. 3<sup>rd</sup> ed. Synergistic Publ., Gainesville, 1990.
- SCHIAVO, J. A.; MARTINS, M. A. Produção de mudas de goiabeira (*Psidium guajava* L.), inoculadas com o fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum*, em substrato agro-industrial. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 519-523, agosto. 2002.
- SCHREINER, R. P.; IVORS, K. L.; PINKERTON, J. N. Soil solarization reduces arbuscular mycorrhizal fungi as a consequence of weed suppression. **Mycorrhiza**, Berlim, v.11, p. 273-277, 2001.
- SIQUEIRA, J. O.; KLAUBERG FILHO, O. Micorrizas arbusculares: a pesquisa brasileira em perspectiva. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. (Eds). **Tópicos em Ciência do Solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa-MG. 2000. p. 235-259.
- SIQUEIRA, J. O.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. **Mycorrhiza**, Berlin, v. 11, p. 245-255, set, 2001.
- SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal Symbiosis**. Academic Press, London. 1997. p. 453-469.
- SILVEIRA, S. V.; DOUZA, P. V. D.; KOLLER, O. C. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos de abacateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 3, p. 303-309, mar. 2002.
- SOUZA, P.V.D. Interação entre micorrizas arbusculares e ácido giberélico no desenvolvimento vegetativo de plantas de Citrange Carrizo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 5, p. 783-787, 2000.
- SOUZA, P. V. D.; BERJON, M. A.; ORENGA, V. A.; FONFRIA, M. A. Desenvolvimento do Citrange ‘Troyer’ infectado com fungo micorrízico, em dois substratos de cultivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 10, p. 1039-1045, out. 1997.

- TAYLOR, J.; HARRIER, L. A. A comparison of development and mineral nutrition of micropropagated *Fragaria x ananassa* cv. Elvira (strawberry) when colonized by nine species of arbuscular mycorrhizal fungi. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.18, p. 205-215, 2001.
- TRINDADE, A. V.; SIQUEIRA, J. O.; ALMEIDA, F. P. Eficiência simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares em solo não fumigado, para mamoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 24, p. 505-513, 2000.
- WEBER, O. B.; AMORIM, S. M. C. Adubação fosfática e inoculação de fungos micorrízicos vesicular arbusculares em mamoeiro 'Solo'. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 18, p. 187-191, 1994.
- WILSON, J. M.; TOMMERUP, I. C. Interactions between fungal symbionts: VA mycorrhizae. In: ALLEN, M.F. (Ed). **Mycorrhizal functioning**. Chapman and Hall, London. 1992. p.199-248.
- YANO-MELO, A. M.; SAGGIN, O. J.; LIMA-FILHO, J. M.; MELO, N. F.; MAIA, L. C. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the acclimatization of micropropagated banana plantlets. **Mycorrhiza**, Berlim, v. 9, p.119-123, 1999.
- YAO, M. K.; TWEDDELL, R. J.; DÉSILETS, H. Effect of two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micropropagated potato plantlets and on the extent of disease caused by *Rhizoctonia solani*. **Mycorrhiza**, Berlim, v. 12, p. 235-242, 2002.

### CAPÍTULO 3

Inoculum density of arbuscular mycorrhizal fungi needed to promote growth of  
*Hancornia speciosa* Gomes seedlings

Trabalho publicado na Fruits, 58 (5): 247-254, 2003.

# Inoculum density of arbuscular mycorrhizal fungi needed to promote growth of *Hancornia speciosa* Gomes seedlings

Cynthia M.C. Costa<sup>a</sup>, Uided M.T. Cavalcante<sup>b</sup>, Misael R. de Lima Jr.<sup>b</sup>, Leonor C. Maia<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> UFPE, Depto. de Micologia,  
Av. Prof. Nelson Chaves s/n,  
50670-420 Recife, PE, Brazil  
cynthiamccosta@hotmail.com

<sup>b</sup> UFRPE, Depto. de Biologia,  
Rua Dom Manuel de Medeiros  
s/n, Dois Irmãos,  
51172-900 Recife, PE,  
Brazil  
leonorcmaia@hotmail.com

## Inoculum density of arbuscular mycorrhizal fungi needed to promote growth of *Hancornia speciosa* Gomes seedlings.

**Abstract — Introduction.** Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) can promote host growth and, among other benefits, alleviate the stress produced by transplanting seedlings from the nursery to the field. The objective of this work was to evaluate the effect of the amount of AMF inoculum on growth of *Hancornia speciosa* (Mangaba tree). **Materials and methods.** A greenhouse experiment was performed using a randomized experimental design in a factorial arrangement of  $3 \times 3$  corresponding to: two AMF (*Gigaspora albida* Schenck & Smith and *Glomus etunicatum* Becker & Gerdeman) treatments plus one control with plants without AMF  $\times$  three inoculum densities [(50, 100 and 300) spores per plant], with five replicates, in a methyl bromide sterilized soil. **Results.** After 120 d, seedlings associated with *G. albida* had greater height, shoot diameter and dry biomass of the aerial part and leaf area than those associated with *G. etunicatum*, independent of inoculum density. *G. etunicatum* did not influence growth of *H. speciosa*. Positive correlations occurred between plant growth parameters and root colonization promoted by *G. albida*. Regression analysis showed interaction between the inoculum density of *G. albida* and plant growth parameters. **Discussion and conclusion.** Increments in growth of *H. speciosa* can be obtained with inoculation of approximately 180 spores of *G. albida* per plant, which could reduce the necessary period of time for the transplanting of seedlings from the nursery to the field.

Brazil / *Hancornia speciosa* / fruit trees / arbuscular mycorrhizae / *Gigaspora albida* / *Glomus etunicatum* / growth

## Densité d'inoculum de champignons mycorrhiziens à arbuscules nécessaires pour favoriser la croissance de plantules de *Hancornia speciosa* Gomes.

**Résumé — Introduction.** Les champignons mycorrhiziens à arbuscules (CMA) peuvent favoriser la croissance de la plante hôte et, entre autres avantages, atténuer le stress consécutif à la transplantation de la plantule de la pépinière au champ. L'objectif de nos travaux a été d'évaluer l'effet de la quantité d'inoculum de CMA sur la croissance de *Hancornia speciosa* (caoutchouc de Pernambouc). **Matériel et méthodes.** Une expérimentation a été effectuée en serre sur des germinations de *H. speciosa* selon un dispositif factoriel en randomisation totale de  $3 \times 3$  facteurs: deux espèces de CMA (*Gigaspora albida* Schenck & Smith et *Glomus etunicatum* Becker & Gerdeman) et un traitement témoin sans CMA, et trois densités d'inoculum de [(50, 100 et 300) spores par plants], avec cinq répliques, sur un sol stérilisé au bromure de méthyle. **Résultats.** Après 120 jours, les plantules associées à *G. albida* ont eu une taille, un diamètre de tige, une biomasse sèche de la partie aérienne et une surface de feuille améliorés par rapport aux plants traités avec *G. etunicatum*. *G. etunicatum* n'a pas influencé la croissance de *H. speciosa*. Des corrélations positives ont été observées entre les paramètres de croissance des plantes et la colonisation des racines par *G. albida*. L'analyse de régression a révélé une interaction entre la densité d'inoculum de *G. albida* et les paramètres de croissance de plantes. **Discussion et conclusion.** La croissance de *H. speciosa* a pu être améliorée par une densité d'inoculum d'environ 180 spores de *G. albida* par plante, ce qui pourrait permettre de raccourcir la période de culture en pépinière.

Brésil / *Hancornia speciosa* / arbre fruitier / mycorhize à arbuscule / *Gigaspora albida* / *Glomus etunicatum* / croissance

\* Correspondence and reprints

Received 17 September 2002  
Accepted 18 March 2003

Fruits, 2003, vol. 58, p. 247–254  
© 2003 Cirad/EDP Sciences  
All rights reserved  
DOI: 10.1051/fruits:2003012  
RESUMEN ESPAÑOL, p. 254

## 1. Introduction

*Hancornia speciosa* Gomes, or Mangaba tree in English and Mangabeira in Brazilian, is one of the 29 species of Apocynaceae present in the Brazilian *cerrado*, and the only one producing edible, tasty and high proteic fruits. It is a native species from Brazil, growing spontaneously in the coastal areas with *restinga* vegetation, which are also called *tabuleiros* in the Northeast. The States of Sergipe and Minas Gerais are the most important producers in the Northeast and Southeast regions [1, 2].

The fruits are used in the ice cream and juice industry. However, harvesting mainly concerns native plants, while planting is mostly conducted in small-scale exploitations. Investments directed to native plants in Brazil would benefit the country, increasing the participation in the internal and external market. Production is still small due to poor knowledge related to growth, management and cultural practices, which makes the commercial production of *H. speciosa* restricted to small producers [3].

The use of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) may constitute an alternative for efficient production of seedlings, with great potential for success, considering that the AMF can decrease the need for fertilizers and anticipate the time for field transplantation, with the production of more vigorous seedlings which are also more capable of withstanding the stress caused by transplantation [4]. Environmental factors have a strong effect on the colonization dynamic [5]. Besides that, the plant and fungus genome, as well as the type and density of propagules can interfere with the level of colonization, which originates different responses regarding mycorrhization and plant growth [6, 7]. Considering that the AMF are not produced in artificial medium, they are usually multiplied in susceptible hosts and applied as spore suspension or soil inoculum containing spores and root fragments [8]. A good inoculum would be that efficient to promote growth even when applied in small amounts. An increase in shoot dry mass was observed in strawberry (*Fragaria* sp.), associated with only 20 spores of *Gigaspora margarita* Becker

& Hall per plant [9]. A similar response was observed in coffee (*Coffea arabica* L.), when 100 AMF spores were inoculated per plant [7]. In an experiment with passion fruit, three inoculum levels [(200, 300, and 400) spores per plant of *Gigaspora albida* Schenck & Smith, *G. margarita*, and *Glomus etunicatum* Becker & Gerdeman] were tested; the values of shoot dry mass and leaf area were reached in the treatments with 300 spores per plant [10].

Plant growth promotion induced by AMF has been evaluated for diverse fruit plants, such as citrus [11, 12], passion fruit [10], coffee [7], Barbados cherry (*Malpighia emarginata* D.C.) [13] and banana [14]. However, no information is available concerning the potential benefits of AMF for *H. speciosa*, even though improvement of seedling growth is an important aspect that should be considered to reduce the period in the nursery and to guarantee the establishment of plants in the field.

The objective of this research was to evaluate the effect of a minimal amount of AMF fungal propagules required to promote growth of *H. speciosa* seedlings.

## 2. Materials and methods

A greenhouse experiment was performed using a Red Yellow Podsoil [15], sterilized with Bromex (98% methyl bromide + 2% chloropicrin) 30 d before planting. The soil presented the following characteristics: 4,7 mg P·dm<sup>-3</sup> of soil; (0.3, 0.046, 10.4 and 0.016) mmol<sub>c</sub>·dm<sup>-3</sup> of soil, of Al, Na, (Ca + Mg) and K, respectively; pH 5.24; 20.4 g·dm<sup>-3</sup> of organic matter. Values of temperature and humidity were taken every day (TFA thermohydrometer, Germany) and varied from (23 to 32) °C and from (50 to 80)% during the experiment.

Spores of *Gigaspora albida* Schenck & Smith (UFPE 02) and *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann (UFPE 06), multiplied in Bahia grass (*Paspalum notatum* Flügge), were used after extraction from soil by wet sieving [16] and sucrose centrifugation [17].



**Table 1.**

Effect of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth parameters and respective increment of *Hancornia speciosa*, independent of inoculum density.

Arbuscular mycorrhizal fungi	Height (cm)		Increment (%)	Shoot diameter (mm)		Increment (%)	Shoot dry biomass (g)	Increment (%)	Leaf area (cm <sup>2</sup> )	Increment (%)
	90 d	120 d	120 d	90 d	120 d	120 d	120 d	120 d	120 d	120 d
<i>Gigaspora albida</i>	23.23 a	31.15 a	102.27	0.20 a	0.24 a	26.31	1.06 a	158.53	134.31 a	259.98
<i>Glomus etunicatum</i>	15.47 b	17.15 b	11.36	0.19 b	0.19 b	0.00	0.42 b	2.43	46.38 b	24.30
Control	14.20 b	15.40 b	–	0.19 b	0.19 b	–	0.41 b	–	37.31 c	–

Data followed by the same letter in a column do not differ by the Tukey test at 5% probability.

A greenhouse experiment was performed using a randomized experimental design in a factorial arrangement of 3 × 3 corresponding to: 3 AMF treatments (*Gigaspora albida* and *Glomus etunicatum* plus a control) × 3 inoculum densities (50, 100 and 300 spores) per plant], with 5 replicates.

The seeds of *H. speciosa* originated from a commercial plantation located in Sirinhaem, on the south coast of the State of Pernambuco, Northeast Brazil (8° 35' 30" S, 35° 07' 00" W). Seeds were taken from the fruits, separated from the pulp using dolomitic lime, and sown on cell platters with sterilized soil. Germination occurred 30 d after planting. Seedlings with two pairs of true leaves were transferred to plastic pots with 200 g of soil and inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. The seedlings were watered daily and after 15 d were transferred to containers with 3.5 kg of soil and watered every other day.

Measurements of plant height and shoot diameter (3 cm above ground level) were taken every 30 d. After 120 d, the shoot dry biomass, leaf area, root colonization and number of AMF spores in the rhizosphere were evaluated. Leaf area was evaluated using the SIARCS 3.0 program (EMBRAPA).

The increment in relation to the non-inoculated control was calculated using a modified model from Edginton *et al.* [18]:  $I (\%) = [(Tr - T) / T] \times 100$ , where  $I (\%)$  = increment of the variable;  $Tr$ , average value

of the treatment; and  $T$ , average value of the control.

Roots were clarified with 10% KOH, stained with Trypan blue [19], cut into 1-cm segments (100 segments per sample), and observed with a light microscope for evaluation of AMF colonization [20].

Data were submitted to analysis of variance using the SANEST program [21] and the averages were compared by the Tukey test at 5% significance. Single correlations were obtained in the NTIA program (EMBRAPA) according to the Karl Peterson Model [22].

### 3. Results and discussion

Seedlings associated with *G. albida* presented greater height, shoot diameter, shoot dry biomass and leaf area than those inoculated with *G. etunicatum*, which did not benefit plant growth (table 1). Ninety days after inoculation these seedlings were high enough for transplanting to the field, considering that, without inoculation, it usually takes 120 d for seedlings to reach the transplanting stage, i.e., 15–20 cm in height [3]. Thus, AMF inoculation reduced by 30 d the period of maintenance of the seedlings in the nursery. Costa *et al.* [13] observed that inoculation with *G. margarita* and *G. etunicatum* reduced by 30 d the



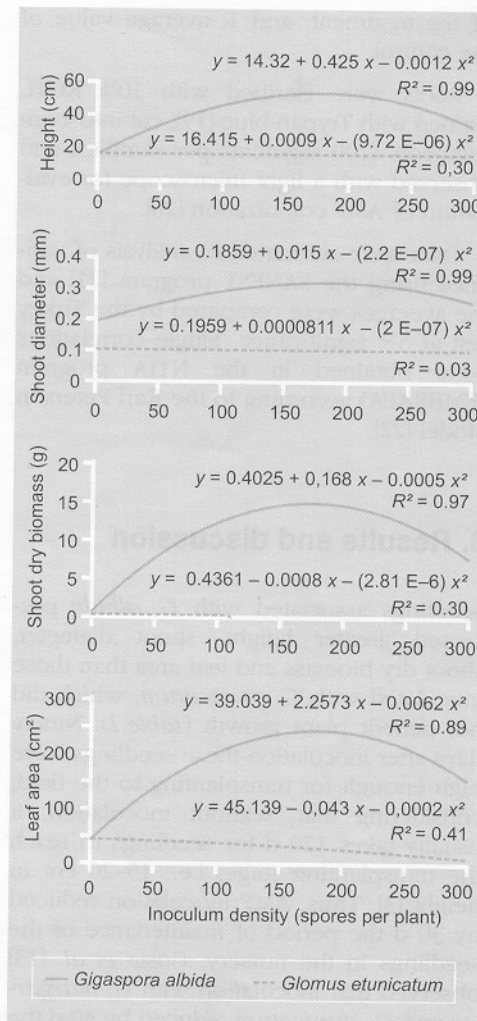
time needed for production of seedlings of Barbados cherry - Miró genotype, but only *G. margarita* was efficient for improving seedling development of the Barbados genotype. Similar results were obtained with yellow passion fruit seedlings [10] which presented higher growth than the control when inoculated with the same AMF used in our work. Seedlings of cherimoya fruit (*Annona muricata* L.) also benefited from inoculation with *G. margarita* [23]. In citrus rootstocks, *G. etunicatum* was more efficient than other AMF for promoting plant growth, independent of the type of inoculum and of the rootstocks [6]. Silva and Siqueira [24] did not obtain any effect of inoculation with *G. etunicatum* in

lemon Cravo, but Souza *et al.* [25] observed higher shoot diameter in citrus plants inoculated with *Glomus intraradices* Schenck & Smith. Similar results in improvement of biomass were observed in guava tree (*Psidium guajava* L.) inoculated with *Gigaspora margarita* and *Glomus clarum* [26] and in Barbados cherry - Barbados genotype [13].

The leaf area of seedlings inoculated with *G. albida* differed statistically from that associated with *G. etunicatum*, which did not differ from the control (table I). Seedlings of Barbados cherry - Miró genotype also benefited from inoculation with *G. margarita* [13]. In studies on *H. speciosa* inoculated with native AMF, the values of the leaf area, 12 months after planting, were 50% lower [27] than those obtained here after 120 d in seedlings associated with *G. albida*.

There was significant interaction, with square regression, between inoculation with *G. albida* and inoculum density for height, shoot diameter, shoot dry biomass and leaf area (figure 1), with approximately 180 spores of *G. albida* per plant being needed to promote growth of *H. speciosa*. The benefit of the association was not proportional to the increase in spore density, which was also observed in coffee seedlings [7] and indicated that, in our study conditions, addition of more than 180 spores per plant is not necessary for growth promotion. To improve the height of Barbados cherry (Barbados genotype), inoculation with 200 spores of *G. margarita* per plant is enough, while for the Miró genotype, using the same inoculum density, both *G. etunicatum* and *G. margarita*, are efficient at promoting plant growth [13]. In yellow passion fruit, growth was improved with inoculation of 300 spores of AMF per plant [10]. On the other hand, the inoculation of 500 spores of *G. etunicatum* was not enough to promote plant growth of citrus rootstocks [11].

Greater shoot diameter and production of shoot dry biomass were obtained with inoculation of approximately 175 spores per plant (figure 1). For yellow passion fruit, densities of (200 to 400) spores per plant did not improve shoot diameter, while, for *G. etunicatum*, *G. albida* and



**Figure 1.**  
Effect of inoculum density of *Gigaspora albida* and *Glomus etunicatum* on plant growth parameters of *Hancornia speciosa* seedlings, 120 d after inoculation.

**Table II.**

Increment (%) in shoot dry biomass, height, shoot diameter and leaf area, in relation to control, of *Hancornia speciosa* seedlings, 120 days after inoculation with different spore densities of *Gigaspora albida*.

Inoculum density (spore per plant)	Shoot dry biomass (g)	Height (cm)	Shoot diameter (mm)	Leaf area (cm <sup>2</sup> )
50	246.62	146.90	33.33	551.81
100	330.33	219.44	61.11	601.10
300	214.60	140.78	38.38	503.30

**Table III.**

Correlation coefficient ( $r^2$ ) between plant growth parameters of *Hancornia speciosa* and those related to arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), independent of the spore density, 120 d after inoculation of seedlings.

Plant growth parameter	<i>Gigaspora albida</i>	<i>Glomus etunicatum</i>
Shoot diameter × root colonization	0.79 **	0.55 *
Height × number of AMF spores	0.73 **	- 0.18 <sup>ns</sup>
Height × root colonization	0.86 **	0.63 **
Leaf area × number of AMF spores	0.66 **	- 0.14 <sup>ns</sup>
Leaf area × root colonization	0.82 **	0.75 **
Number of AMF spores × shoot dry biomass	0.73 **	- 0.32 <sup>ns</sup>
Root colonization × shoot dry biomass	0.86 **	0.55 *
Number of AMF spores × root colonization	0.69 **	- 0.11 <sup>ns</sup>

ns: not significant; \* significant at  $0.01 < p < 0.05$ ; \*\* significant at  $p < 0.01$ .

*G. margarita*, 300 spores per plant were indicated for improving dry biomass of the aerial part [10]. In soybean, positive growth responses were obtained only with inoculation of 1000 spores of *G. macrocarpus* per plant [28].

Maximum leaf growth was obtained with inoculation of 180 spores of *G. albida* per plant (figure 1). In Barbados cherry (Barbados genotype), 200 AMF spores per plant were needed to increase leaf growth [13]. The benefit of mycorrhizal association in the leaf area of citrus occurred only with inoculation of 500 spores per plant of *G. etunicatum* [11]; the same was observed in associations with *G. intraradices* [25, 29].

Higher increments, especially in shoot dry biomass and leaf area, were obtained when the seedlings were inoculated with

100 spores of *G. albida* per plant (table II). Similar results were reported for yellow passion fruit [10] and Barbados cherry [13] inoculated with *Gigaspora* spp. Some reports have shown that this growth increment varies according to plant and fungus genotypes [13, 30, 31].

The degree of correlation indicates when characteristics of the plant and fungus are dependent, those characteristics that are not correlated being completely independent [32]. Correlation between root colonization and AMF spore density are not dependent, although might be associated due to the symbionts or environmental conditions [33]. Positive correlation between plant and fungus growth parameters were observed mostly with *G. albida* and also with *G. etunicatum* (table III).

Strong significant correlation occurred ( $p < 0.01$ ) between plant growth parameters and root colonization by *G. albida*. Similar results were obtained in *Euterpe oleraceae* Mart. independently of the AMF associated [31], but the same correlation did not occur in the interaction between Barbados cherry - Barbados genotype and *G. etunicatum* [13], nor in grapes [34].

In all growth parameters studied, plants associated with *G. albida* presented higher development, which suggests that, even though the AMF are not host-specific, "host preferences" do exist, considering that the efficiency of the association is genetically controlled by both symbionts. Besides that, it seems that *G. albida* colonizes *H. speciosa* roots faster than *G. etunicatum*; this fungus probably needs a longer period of time, as observed on yellow passion fruit [10], or higher density of inoculum for establishing the symbiosis; root colonization of *H. speciosa* (3.49%) was observed only after inoculation with 300 spores (data not shown).

#### 4. Conclusion

The association of *Hancornia speciosa* with *Gigaspora albida* promoted greater plant development than that with *Glomus etunicatum*, which was not different from a non-inoculated control. This mycorrhizal association resulted in a reduction of 30 d [from (120 to 90) d] in the time for seedling development in the greenhouse. Optimum inoculation was estimated to be with 180 spores of *G. albida* per plant. Thus, association of *H. speciosa* with *G. albida* constitutes a viable alternative for production of seedlings in a shorter period of time.

#### Acknowledgements

This work is a part of Ph.D. thesis of the first author. Thanks are due to the *Coordenação de Desenvolvimento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES) for a scholarship provided to C.M.C. Costa, and to the

*Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq) for financial support and scholarships to L.C. Maia (research) and M.R. Lima Jr. (PIBIC-UFRPE). Thanks are also due to Manoel Bandeira de Albuquerque (UFRPE) for providing seeds and field support, to Venézio Santos (IPA) for helping with the statistical analysis and to Dr. Everardo Sampaio (DEN/UFPE), for reviewing of the text and valuable suggestions.

#### References

- [1] Aguiar Filho S.P., Bosco J., Araújo I.A., A mangabeira (*Hancornia speciosa*); domesticação e técnica de cultivo, EMEPA/ EMBRAPA, João Pessoa, Paraíba, Brazil, 1998.
- [2] Vieira Neto R.D., Recomendações técnicas para o cultivo da mangabeira, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Circ. Téc. 20, Aracaju, Brazil, 1994.
- [3] Lederman I.E., Silva Junior J.F., Barezza S.E.F., Espíndola A.C.H., Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes), Sér. Frutas Nativas, FUNEP, Jaboticabal, São Paulo, Brazil, 2000.
- [4] Miranda J.C.C., Miranda L.N., Micorriza arbuscular, in: Vargas M.A.T., Hungria M. (Eds.), *Biologia dos Solos dos Cerrados*, EMBRAPA-CPAC, Planaltina, Distrito Federal, Brazil, 1997.
- [5] Sieverding E., Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems, Dtsch. Ges. Tech. Zsarb., Eschborn, Germany, 1991.
- [6] Oliveira A.A.R., Weber O.B., Silva A.C.G.M., Micorrização e crescimento de porta enxertos de citros em função de inóculos micorrízicos-arbusculares, *Pesqui. Agropecu. Bras.* 27 (1992) 1049–1056.
- [7] Siqueira J.O., Colozzi-Filho A., Saggin Júnior O.J., Efeito da infecção de plântulas de cafeeiro com quantidade crescente de esporos do fungo endomicorrízico *Gigaspora margarita*, *Pesqui. Agropecu. Bras.* 29 (1994) 875–883.
- [8] Manjunath A., Bagyaraj D.J., Components of VA mycorrhizal inoculum and their effects on growth of onion, *New Phytol.* 87 (1981) 355–363.



- [9] Hrselová H., Vejsadová H., Prikryl Z., Váchová J., Vancura V., Vit A., Effect of inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on growth of strawberries, in: Vancura V., Kunck C.F. (Eds.), Interrelationships between microorganisms and plants in soil, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 1989, pp. 109–114.
- [10] Cavalcante U.M.T.C., Maia L.C., Melo A.M.M., Santos V.F., Influência da densidade de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo, Pesqui. Agropecu. Bras. 37 (2002) 643–649.
- [11] Antunes V., Cardoso E.J.B.N., O fósforo e a micorriza vesículo arbuscular no crescimento de porta-enxertos de citros cultivados em solo natural, Rev. Bras. Ci. Solo 14 (1990) 277–282.
- [12] Fonseca E.B.A., Oliveira E., Souza M., Carvalho J.G., Efeitos de fósforo e fungo MVA na nutrição de dois porta-enxertos de citros, Pesqui. Agropecu. Bras. 29 (1994) 1889–1896.
- [13] Costa C.M.C., Maia L.C., Cavalcante U.M.T., Nogueira R.J.M.C., Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de dois genótipos de aceroleira, Pesqui. Agropecu. Bras. 36 (2001) 893–901.
- [14] Yano-Melo A.M., Saggin O. Jr., Maia L.C., Tolerance of mycorrhizal banana (*Musa* sp. cv. Pacovan) plantlets to saline stress, Agric. Ecosyst. Environ. 95 (2003) 343–348.
- [15] Anonymous, Sistema Brasileiro de Classificação de Solos, Embrapa-Solos, Sér. Doc. 15, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Rio de Janeiro, Brazil, 1999, 412 p.
- [16] Gerdemann J.W., Nicolson T.H., Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting, Trans. Br. Mycol. Soc. 46 (1963) 235–234.
- [17] Jenkins W.R., A rapid centrifugal-floatation technique for separating nematodes from soil, Plant Dis. Rep. 48 (1964) 692.
- [18] Edginton L.V., Khew K.L., Barron G.L., Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds, Phytopathology 61 (1971) 42–44.
- [19] Phillips J.M., Hayman D.S., Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection, Trans. Br. Mycol. Soc. 55 (1970) 159–161.
- [20] Giovannetti M., Mosse B., An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots, New Phytol. 84 (1980) 489–500.
- [21] Zonta E.P., Machado A.A., Silveira Junior P., Sistema de análise estatística para microcomputadores (SANEST), Dep. Mat. Estat., Pelotas, Brasil, 1984.
- [22] Ribeiro M.E., Estatística descritiva, Comissão Estadual de Planejamento Agrícola, João Pessoa, Brasil, 1970.
- [23] Chu E.Y., Möller M.R.F., Carvalho J.G., Efeito da inoculação micorrízica em mudas de gravioleira em solo fumigado e não fumigado, Pesqui. Agropecu. Bras. 36 (2001) 671–680.
- [24] 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 arbusculares, Rev. Bras. Ci. Solo 115 (1991) 283–288.
- [25] Souza P.V.D., Bejon M.A., Orença V.A., Fonfria M.A., Desenvolvimento do citrange Troyer infectado com fungo micorrízico, em dois substratos de cultivo, Pesqui. Agropecu. Bras. 32 (1997) 1039–1045.
- [26] Samarão S.S., Martins M.A., Influência de fungos micorrízicos arbusculares, associada à aplicação de rutina, no crescimento de mudas de goiabeira (*Psidium guajava* L.), Rev. Bras. Frutic. 21 (1999) 196–199.
- [27] Andrade L.R.M., Junqueira N.T.V., Silva J.A., Barbosa D., Leão A.P., Barros L.H., Fertilização do substrato e inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em mudas de mangaba (*Hancornia speciosa*), in: Proc., 27º Congr. Bras. Ciênc. Solo, Brasília, Brasil, 1999.
- [28] Antunes V., Lambais M.R., Oliveira M.H.A., Parada A., Cardoso E.J.B.N., Influência da concentração do inoculo do fungo micorrízico *Glomus macrocarpus* em soja (*Glycine max* L.), O Solo 75 (1983) 17–21.
- [29] Souza P.V.D., Interação entre micorrizas arbusculares e ácido giberélico no desenvolvimento vegetativo de plantas de citrange Carrizo, Ci. Rural 30 (2000) 783–787.
- [30] Cardoso E.J.B.N., Lambais M.R., Efeito de aldicarb e fosetil-al no desenvolvimento e na colonização micorrízica de tangerina Cleópatra, Rev. Bras. Ci. Solo 17 (1993) 179–184.

- [31] Chu E.Y., The effects of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) seedlings, Pesqui. Agropecu. Bras. 34 (1999) 1019–1024.
- [32] Bentivenga S.P., Bever J.D., Morton J.B., Genetic variation of morphological characters within a single isolate of the endomycorrhizal fungus *Glomus clarum* (Glomaceae), Am. J. Bot. 84 (1997) 1211–1216.
- [33] Douds Júnior D., Schenck N.C., Relationship of colonization and sporulation by VA mycorrhizal fungi to plant nutrient and carbohydrate contents, New Phytol. 116 (1990) 621–627.
- [34] Schubert A., Cammarata S., Eynard I., Growth and root colonization of grapevines inoculated with different mycorrhizal endophytes, Hortic. Sci. 23 (1988) 302–303.

## Densidad de inóculo de hongos micorrícicos arbusculares necesaria para favorecer el crecimiento de plántulas de *Hancornia speciosa* Gomes.

**Resumen — Introducción.** Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) pueden favorecer el crecimiento de la planta hospedadora y, entre otras ventajas, disminuir el estrés derivado del trasplante de la plántula del vivero al campo. El objetivo de nuestro trabajo consistió en evaluar el efecto de la cantidad de inóculo de HMA en el crecimiento de *Hancornia speciosa* (mangaba). **Material y métodos.** Se efectuó un experimento en invernadero sobre germinaciones de *H. speciosa* con un diseño factorial al azar de  $3 \times 3$  factores: dos especies de HMA (*Gigaspora albida* Schenck y Smith y *Glomus etunicatum* Becker y Gerdeman) y un tratamiento testigo sin HMA y tres densidades de inóculo de [(50, 100 y 300) esporas por plantal] con cinco repeticiones en un suelo esterilizado con bromuro de metilo. **Resultados.** Tras 120 días, las plántulas asociadas a *G. albida* presentaban un tamaño, un diámetro de tallo, una biomasa seca de la parte aérea y una superficie foliar mejores que las plantas tratadas con *G. etunicatum*. *G. etunicatum* no influyó en el crecimiento de *H. speciosa*. Se observaron correlaciones positivas entre los parámetros de crecimiento de las plantas y la colonización de las raíces por *G. albida*. El análisis de regresión reveló una interacción entre la densidad de inóculo de *G. albida* y los parámetros de crecimiento de las plantas. **Discusión y conclusión.** Se pudo mejorar el crecimiento de *H. speciosa* con una densidad de aproximadamente 180 esporas de *G. albida* por planta, esto podría permitir la reducción del período de cultivo en vivero.

**Brasil / *Hancornia speciosa* / árboles frutales / micorrizas arbusculares / *Gigaspora albida* / *Glomus etunicatum* / crecimiento**

To access this journal online:  
[www.edpsciences.org](http://www.edpsciences.org)

## CAPÍTULO 4

Influência do estresse hídrico nas trocas gasosas de mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), associadas com fungos micorrízicos arbusculares

Trabalho a ser enviado ao periódico: Acta Botanica Brasilica

Influência do estresse hídrico nas trocas gasosas de mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), associadas com fungos micorrízicos arbusculares<sup>1</sup>

Cynthia Maria Carneiro Costa<sup>2</sup>  
Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira<sup>3</sup>  
Uided Maaze Tiburcio Cavalcante<sup>2</sup>  
Venézio Felipe dos Santos<sup>4</sup>  
Leonor Costa Maia<sup>2\*</sup>

**Resumo**—(Influência do estresse hídrico nas trocas gasosas de mudas de mangabeira, *Hancornia speciosa* Gomes, associadas com fungos micorrízicos arbusculares). A mangabeira é uma frutadeira nativa do Brasil, com importante potencial econômico para a região Nordeste. Pouco se conhece sobre sua associação com fungos micorrízicos arbusculares, os quais podem trazer benefícios relativos à eficiência fotossintética e ao uso da água, promovendo melhor desenvolvimento das plantas em condições de estresse hídrico. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do estresse hídrico sobre as trocas gasosas de mangabeiras associadas com fungos micorrízicos arbusculares. Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado em arranjo fatorial, correspondendo a três tratamentos de inoculação (*Gigaspora albida* Schenck & Smith, *Glomus etunicatum* Becker & Gerd. e não inoculado), três tratamentos hídricos [100 %, 50 % e 40 % da capacidade de pote (CP)] com três repetições. As mudas inoculadas com FMA mostraram-se tolerantes à deficiência hídrica, quando supridas com 50% da capacidade máxima de água, por apresentarem redução nas taxas de transpiração e elevação da resistência estomática. Portanto, as plantas associadas com *G. albida* mostraram como estratégias de adaptação restrição das trocas gasosas na hora de maior demanda evaporativa, ajustamento osmótico, e conseqüentemente, a manutenção da turgescência foliar. Entretanto, suprimentos de água inferior a 50%, induziram a perda da turgescência, causando estresse severo para as plantas, independente da inoculação.

**Palavras-chaves:** transpiração, frutadeira, associação micorrízica arbuscular, *Gigaspora albida*.

<sup>1</sup>Parte da Tese de Doutorado da primeira autora; auxílio Capes

<sup>2</sup>Depto. de Micologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, CEP: 50670-420, Recife-PE, Brasil.

<sup>3</sup>Depto. de Biologia, Laboratório de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP: 52171-900, Recife-PE, Brasil.

\*leonormaia@hotmail.com

<sup>4</sup>IPA- Instituto de Pesquisa Agropecuária de Pernambuco. Av. Gal. San Martin 1371, CEP 50761, Recife, PE.

Effect of water stress on gas exchange of seedlings of *Harcornia speciosa* Gomes, associated with arbuscular mycorrhizal fungi

**Abstract-** (Effect of water stress on gas exchange of seedlings of *Harcornia speciosa* Gomes associated with arbuscular mycorrhizal fungi). *Harcornia speciosa* is a Brazilian native fruit tree, with important potential for the Northeast region. However few information is available regarding the association of this plant with AMF, which may benefit the photosynthetic efficiency and use of water, promoting better development of plants under stress conditions. The objective of this work was to evaluate the effect of water stress on gas exchange of *H. speciosa* associated with AMF. An experiment with a factorial design corresponding to three treatments of inoculation (*Gigaspora albida* Schenck & Smith, *Glomus etunicatum* Becker & Gerd. and non inoculated) × three hydric treatments (100%, 50% and 40% of pot capacity) with three replicates. The seedlings inoculated with AMF were tolerant to up to 50% of hydric deficiency, presenting reduction of transpiration and increase of stomatic resistance. Thus, plants associated with *G. albida* showed strategies of adaptation with: restriction to gas exchange during the hours of higher evaporative demand, osmotic adjustment and, consequently, maintenance of leaf turgor. However, water supply less than 50%, induced loss of turgor, causing severe plant stress, independently of inoculation.

**Key words:** transpiration, fruit tree, mycorrhizal association, *Gigaspora albida*



## Introdução

Atualmente existe grande demanda do mercado interno e de exportação pelas frutas tropicais e o Nordeste, particularmente o estado de Pernambuco, possui características edafo-climáticas que favorecem de forma inigualável o cultivo dessas fruteiras. Apesar de ter participação de 46% do total exportado de frutas frescas, o Nordeste ainda tem capacidade para ampliar esse percentual no mercado internacional, o qual tem demanda anual de US\$ 17 bilhões em frutas frescas, sendo 10% desse volume representado por frutas tropicais (Banco do Nordeste 2001).

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes – Apocynaceae) é uma fruteira nativa que tem despertado a atenção de produtores e pesquisadores nos últimos anos. Apesar disto, a sua exploração tem sido feita quase na totalidade de forma extrativista, colhendo-se frutos de pomares de ocorrência natural nas áreas de cerrado e nos tabuleiros costeiros do Nordeste (Albuquerque *et al.* 2002; Vieira Neto 1998). Por outro lado, pouco se conhece sobre as respostas fisiológicas desta espécie quando micorrizada com fungos micorrízicos arbusculares e cultivada sob condições de estresse hídrico.

Os FMA têm importância ecológica devido aos efeitos produzidos sobre os processos bioquímicos e fisiológicos do hospedeiro, trazendo benefícios quanto à utilização da água e podendo assim, melhorar o desenvolvimento das plantas cultivadas, que suportam melhor o estresse (Smith & Read 1997; Schachtman *et al.* 1998). Entretanto, alguns autores alertam que a micorrização nem sempre acarreta respostas significativas frente ao estresse hídrico (Simpson & Daft 1990; Graham *et al.* 1987).

Nogueira *et al.* (2003) avaliaram características fisiológicas de mangabeiras cultivadas em três tipos de substrato em casa de vegetação, observando diferenças significativas entre os tratamentos para transpiração e resistência difusiva. O déficit hídrico é um dos importantes fatores limitantes da produção agrícola devido à redução no crescimento das plantas (Gutiérrez-Boem & Thomas 1999; Chartzoulakis *et al.* 2002); entretanto, o efeito da deficiência de água na produção depende da época de ocorrência e de sua severidade (Casagrande *et al.* 2001). A falta de água também pode afetar a eficiência do processo fotossintético, tanto de forma direta, causando desidratação do citoplasma, como indireta, provocando alterações estomáticas (Miyasaka & Medina 1981).

A simbiose arbuscular influencia a transpiração, o ajustamento osmótico, a condutância estomática e o potencial hídrico das folhas (Bass *et al.* 1989; Augé 1989; Davies

*et al.* 1993), proporcionando maior eficiência no uso da água e maior absorção de macro e micronutrientes pelas plantas (Cui & Nobel 1992; Al-Karaki & Clark 1998).

Pesquisas que visem avaliar as respostas das espécies de interesse econômico a condições adversas são fundamentais, tanto do ponto de vista ecológico como agrônomo, pois informações dessa natureza podem ser úteis para traçar o perfil dessas espécies quanto à adaptação em condição de cultivo em áreas não tradicionais.

Os objetivos desse trabalho foram os de avaliar o efeito da associação com FMA sobre a transpiração, a resistência difusiva e a temperatura foliar em mudas de mangabeira cultivadas sob estresse hídrico.

## Material e métodos

Sementes de mangaba provenientes de um pomar natural, localizado no município de Sirinhaém, na região litorânea do Estado de Pernambuco ( $8^{\circ} 35' 30''$  S,  $35^{\circ} 07' 00''$  W, com altitude de 49 m) foram semeadas em bandejas contendo solo do tipo Latossolo Amarelo Distrófico argissólico, com as seguintes características: pH= 5,2; P= 4,7 mg dm<sup>-3</sup>; Al= 0,3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Ca+Mg= 10,4 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Ca= 8,3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Na= 0,046 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; K= 0,016 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>. O solo foi esterilizado com Bromex (98% de brometo de metila e 2% de cloropicrina) e utilizado 20 dias após a esterilização.

Isolados de *Gigaspora albida* Schenck & Smith (UFPE 01) e de *Glomus etunicatum* Becker & Gerd. (UFPE 08) foram multiplicados em *Panicum milliaticum* L. Quando as mudas apresentaram dois pares de folhas verdadeiros (cerca de 30 dias) foram transplantadas para copos plásticos de 200 mL com solo esterilizado, sendo na ocasião inoculados 200 esporos de FMA por pote. Os tratamentos não inoculados receberam 2 mL da solução do filtrado (1:10 solo: água, v/v) do solo utilizado na extração dos esporos para restabelecer a microbiota original, com exceção dos esporos de FMA (Araújo *et al.* 1994). Após 10 dias as plantas foram transferidas, com o torrão, para sacos pretos de polietileno contendo 4,5 Kg do mesmo solo utilizado na germinação.

As plantas foram mantidas com regas diárias até o período que antecedeu a diferenciação dos tratamentos hídricos, três meses após a inoculação com os FMA. Um grupo de plantas permaneceu com suprimento de água (100 % - controle), enquanto os demais, foram supridos com apenas 50 % e 40 % da capacidade de pote (CP), respectivamente. A

reposição da água foi realizada em função da água perdida por evapotranspiração de um dia para o outro, verificada pela diferença no peso dos vasos (Balança Filizola / 10Kg). Durante o experimento, a radiação fotossinteticamente ativa (RFA), a temperatura e a umidade do ar variaram de 340 a 630  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , de 26 a 32° C e de 57 a 89 %, respectivamente.

Após 3 ½ meses de inoculação com FMA e com 15 dias de diferenciação dos tratamentos hídricos foram tomadas as medidas da resistência difusiva ( $R_s$ ) e a transpiração (E) em três horários: 8, 12 e 15 horas, para avaliação da resposta estomática nas folhas maduras e completamente expandidas, utilizando um porômetro de equilíbrio dinâmico (LICOR, inc. modelo Li-1600, Nebraska-USA). Paralelamente, foram mensuradas a Radiação Fotossinteticamente Ativa (PAR), a temperatura da folha e a do ar, obtidas com auxílio de um sensor quântico acoplado ao porômetro.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial de  $3 \times 3 \times 3$ , correspondendo a três tratamentos de inoculação (*Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e não inoculado)  $\times$  três tratamentos hídricos (100 %, 50 % e 40 % da capacidade de pote - CP) e três horários de avaliação porométrica (8, 12 e 15 horas), com três repetições.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) utilizando-se o programa SANEST e para o estudo de correlações, o programa NTIA, da EMBRAPA.

## Resultados e discussão

Comparando os tratamentos hídricos entre si, dentro de cada horário, as maiores taxas de transpiração foram observadas nas mudas que não sofreram estresse (controle), independentemente do tratamento de inoculação, às 8 e 12 horas (Fig. 1a, b, c). As mudas associadas com *G. albida* e com 40% da CP reduziram a transpiração na hora de maior demanda evaporativa (12 horas) e nas associadas com *G. etunicatum* e nas não inoculadas este comportamento foi observado no estresse de 50% (Fig. 1a, b, c). Essa redução foi de 72% com *G. albida*, 43% nas inoculadas com *G. etunicatum* e de 52% nas mudas não inoculadas, em relação ao tratamento controle. No último horário de avaliação, às 15 horas, não houve diferença significativa entre os tratamentos de rega, nas mudas com e sem FMA.

Para cada condição de rega em relação aos horários de avaliação, as mudas do tratamento controle apresentaram maior transpiração no horário mais quente do dia e menor,

às 15 horas (Fig. 1 a, b, c). As mangabeiras associadas com *G. albida* a 50% da CP transpiraram mais ao meio dia do que no resto do período, sendo que a 40% da CP não se observou diferença na taxa de transpiração (Fig. 1a). No tratamento com *G. etunicatum* as mudas com 40% e 50% da CP mostraram diferença na transpiração apenas às 12 horas (Fig. 1b). Nas mangabeiras não inoculadas, mudas do tratamento controle e com 40% da CP apresentaram maior transpiração às 12 horas; por outro lado, com 50%, não houve variação entre os horários de avaliação (Fig. 1c).

Entre os tratamentos de inoculação, não foram observadas diferenças significativas nos valores de transpiração em todos os níveis de irrigação, às 8 e 15 horas, com exceção do tratamento com 50% de estresse, onde as mudas com *G. albida* transpiraram menos do que as não inoculadas às 15 horas (Fig. 1d, e, f). No horário mais quente do dia (12 horas), as mudas dos tratamentos controle e a 40% da CP tiveram maior transpiração quando não inoculadas e quando associadas com *G. etunicatum* em relação às mudas com *G. albida* (Fig. 1d, f). No entanto, com 50% de estresse, mudas em simbiose com *G. albida* apresentaram maior transpiração do que as com *G. etunicatum* e as não inoculadas. Entretanto, no último horário de avaliação, as mudas não inoculadas tinham maior taxa de transpiração do que aquelas com *G. albida* (Fig. 1e).

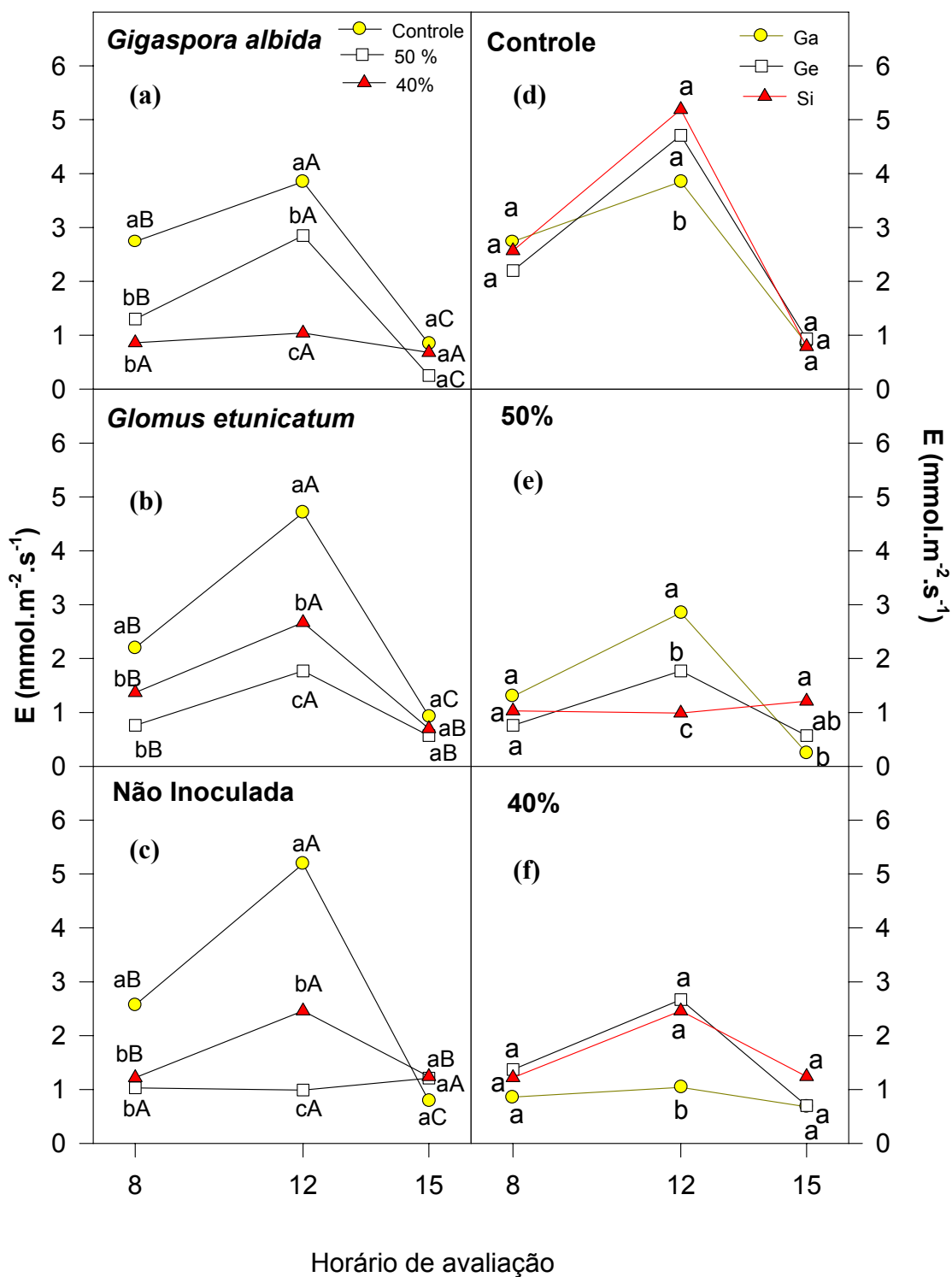
Em maracujazeiro-amarelo nenhuma diferença significativa foi observada na transpiração entre os tratamentos de inoculação. Quando as mudas foram submetidas a estresse, a associação com *G. etunicatum* promoveu maior transpiração que, no entanto, foi reduzida nas mudas com *G. albida* (Cavalcante *et al.* 2001). Esses resultados foram semelhantes aos observados nas mangabeiras com 40% da CP no horário mais quente do dia (Fig. 1f) e quando associadas com os mesmos isolados utilizados no trabalho acima citado, com maracujá-amarelo. Nogueira *et al.* (2001b) também relataram que a situação de estresse hídrico reduziu a transpiração em plantas de acerola. A diminuição da transpiração na hora de maior demanda evaporativa pelas plantas submetidas à deficiência hídrica é uma estratégia para minimizar a perda de água (Nogueira *et al.* 1998a).

Dados semelhantes aos obtidos nesse trabalho nos tratamentos com 40% da CP foram relatados em plantas micorrizadas de *Ziziphus mauritiana* (Lam.) que apresentaram baixas taxas de transpiração e elevada resistência difusiva em relação às não inoculadas. A redução da transpiração dessas plantas está relacionada com o aumento da resistência estomática promovida pela colonização com FMA (Mathur & Vyas 1995). Em contrapartida, aumento da transpiração foi relatado para plantas de linho inoculadas com espécies de *Glomus* em situação de estresse, indicando aumento da abertura estomática, fato que não foi relacionado

com o maior suprimento de água, pois as plantas micorrizadas não revelaram mudança no potencial hídrico das folhas em relação às não inoculadas (Drüge & Schönbeck 1992). Por outro lado, relatos de alguns autores demonstram que a condição micorrízica não altera a transpiração da planta hospedeira, como observado em citros (Levy & Krikun 1980), *Trifolium repens* L. (Wright *et al.* 1998) e feijão caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] (Diallo *et al.* 2001).

A taxa transpiratória de folhas de mangabeiras, na hora mais quente do dia, foi relativamente alta, podendo dessa forma facilitar a entrada de CO<sub>2</sub> para realização da fotossíntese (Nogueira *et al.* 2003). O mesmo foi observado por Silva *et al.* (2003) em três espécies lenhosas; mesmo no horário de maior demanda evaporativa o nível de estresse atribuído às plantas não impediu a transpiração, permitindo com isso a absorção de CO<sub>2</sub> para a fotossíntese.

Nas três condições de inoculação as mudas no tratamento controle transpiraram mais do que as que sofreram estresse, às 8 e 12 horas, enquanto às 15 horas não se observou diferenças, com a transpiração caindo para os níveis mais baixos (Fig. 1a, b, c).

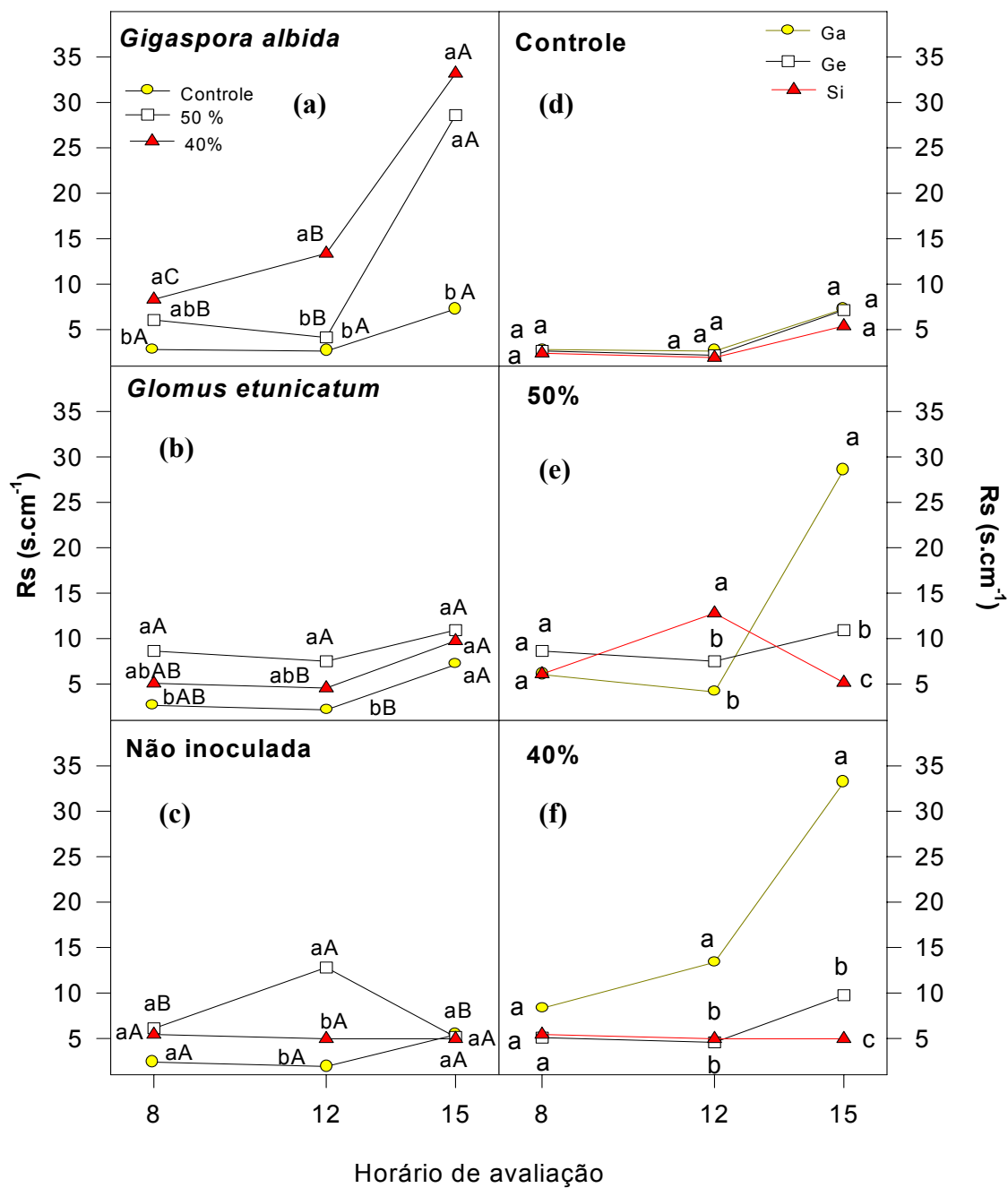


**Figura 1.** Curso diário da transpiração (E) em mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) associadas com *G. albida* e *G. etunicatum* e submetidas a estresse hídrico (controle, 50% e 40% da capacidade de água) em casa de vegetação. Médias seguidas da mesma letra, minúscula (vertical) e maiúscula (horizontal), não diferem pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Com relação à resistência dos estômatos à difusão de vapor de água ( $R_s$ ), diferenças significativas foram observadas entre os tratamentos de rega, dentro de cada horário. Aumentos de 297%, 457% e 506% no valor da  $R_s$  foram registrados nas mudas com *G. albida* submetidas a 40% da CP, às 8, 12 e 15 horas, respectivamente, em relação às mudas que não sofreram estresse; o tratamento com 50% da CP só diferiu daquele com 40% às 12 horas e do controle às 15 horas (Fig. 2a). Na associação com *G. etunicatum* as mudas no tratamento com 50% de estresse apresentaram maior  $R_s$  em relação ao controle, no início da manhã e na hora mais quente do dia, por outro lado, nenhuma diferença entre os tratamentos de rega foi observada às 15 horas (Fig. 2b). Nas mudas não inoculadas, apenas o tratamento com 50% da CP mostrou maior  $R_s$  em relação às demais condições de rega na hora de maior demanda evaporativa, não diferindo significativamente nos outros horários de avaliação (Fig. 2c).

Maior valor de resistência estomática também foi registrada em mudas de maracujazeiro-amarelo associadas com *G. albida* e submetidas a estresse hídrico, comparado aos demais tratamentos de inoculação (Cavalcante *et al.* 2001). Subramanian *et al.* (1995) relataram o aumento da  $R_s$  em plantas de milho com e sem micorrização submetidas a estresse hídrico, constatando que a elevação da  $R_s$  esteve associada à queda do potencial hídrico. Esses resultados evidenciam o gradual fechamento estomático e está de acordo com a teoria de que as raízes das plantas cultivadas em pote percebem a falta de água e começam a fechar os estômatos antes que o potencial hídrico caia a um nível crítico (Passioura & Stirzaker 1993).

Comparando cada tratamento hídrico entre os horários de avaliação, observa-se que os maiores valores de  $R_s$  foram registrados às 15 horas, nas mudas sob estresse associadas com *G. albida*. Nas mudas não submetidas a estresse a  $R_s$  não diferiu entre os horários avaliados (Fig. 2a). Na associação com *G. etunicatum* só houve diferença significativa nos tratamentos controle e com 40% da CP entre o meio dia e às 15 horas (Fig. 2b). Por outro lado, a  $R_s$  das mangabeiras não inoculadas foi maior apenas nos tratamentos com 50% da CP às 12 horas comparado com os demais horários (Fig. 2c).



**Figura 2.** Curso diário da resistência difusiva ( $R_s$ ) em mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) associadas com *G. albida* e *G. etunicatum* e submetidas a estresse hídrico (controle, 50% e 40% da capacidade de pote) em casa de vegetação. Médias seguidas da mesma letra, minúscula (vertical) e maiúscula (horizontal), não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).



Comparando os tratamentos de inoculação entre si dentro de cada horário de avaliação, as mudas que não foram submetidas ao estresse mantiveram o mesmo nível de Rs nas três condições de inoculação (Fig. 2d). Diferenças significativas na Rs foram observadas nos tratamentos sob estresse apenas às 12 e às 15 horas, quando de modo geral as mudas associadas com *G. albida* apresentaram maior Rs que as demais (Fig. 2e, d). Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Cavalcante *et al.* (2001) em maracujazeiros-amarelo, onde não se observou variação na Rs em relação aos FMA inoculados e em dois cultivares de trigo, cuja Rs não foi alterada pela micorrização (Subramanian *et al.* 1995). Por outro lado, Allen & Boosalis (1983) registraram que a micorrização causou redução significativa na Rs em relação às plantas não inoculadas, sob condições bem irrigadas. No entanto, baixos valores de resistência foram mostrados em plantas de feijão caupi inoculadas ou não com FMA (Diallo *et al.* 2001).

Sob estresse, a associação de maracujazeiros com *G. albida* também acarretou maior valor de Rs em relação aos demais tratamentos com e sem FMA (Cavalcante *et al.* 2001). Em porta-enxerto de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) sob estresse hídrico, elevados picos de Rs foram registrados ao meio dia (Matos *et al.* 2003), embora a condição micorrízica destas plantas não tenha sido destacada. Provavelmente a redução da abertura estomática no horário de maior demanda evaporativa tenha ocorrido pelo aumento de CO<sub>2</sub> interno, decorrente da maior atividade respiratória em relação à fotossintética, com o conseqüente aumento da temperatura foliar. Plantas sob déficit hídrico podem utilizar várias estratégias em resposta ao estresse e a redução do poro estomático na hora de maior demanda evaporativa é sinal comumente usado para evitar danos aos sistemas metabólicos, ajustando as plantas à baixa disponibilidade de água (Larcher 1987).

Nesse trabalho, as mudas de mangabeira apresentaram maiores valores de Rs e menores taxas de transpiração quando submetidas a estresse. O mesmo ocorreu em plantas de trevo (*Trifolium pratense* L. cv. Redhead) micorrizadas com *G. mosseae*, as quais apresentaram as mesmas respostas sob um potencial de água do solo menor do que os tolerados pelas plantas sem FMA. Os dados concordam com outros citados na literatura, onde se menciona que plantas micorrizadas possuem mais habilidade de captar água em solo seco do que as não associadas a fungos micorrízicos (Hardie & Leyton 1981). Maiores valores de resistência estomática também foram registrados em plantas de milho colonizadas com FMA (Schellenbaum *et al.* 1998), sendo o aumento relacionado com a redução na fotossíntese em plantas sob estresse (Kaiser 1987).

Em geral, a associação com *G. albida* proporcionou melhores respostas estomáticas à mangabeira sob 50 % de estresse, traduzidas por menores perdas de água pela transpiração e maiores valores de resistência estomática, no horário de maior demanda evaporativa (Fig. 1a, e; 2a, e), respectivamente. Esses resultados evidenciam estratégias dessas plantas para economizar água disponível no solo quando em situação adversa. Menor valor de transpiração também foi observado em laranjeiras ‘Valência’ [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] sob deficiência hídrica, demonstrando a resposta dessa planta ao estresse, no sentido de minimizar a perda de água através do aumento da resistência difusiva (Medina *et al.* 1999). Dados semelhantes foram relatados para roseiras (*Rosa multiflora*) colonizadas por *Glomus fasciculatum* e *G. mosseae* (Davies *et al.* 1987).

Em relação à temperatura foliar (Tf) nenhuma diferença foi observada entre os tratamentos de rega às 8 horas, nas mudas associadas com *G. albida* e nas não inoculadas (Fig. 3a, c); entretanto, nas mudas com *G. etunicatum* a Tf foi maior nos tratamentos com 40% da CP em relação ao controle (Fig. 3b). Ao meio dia, observou-se aumento da Tf nos tratamentos inoculados e sob estresse em relação ao controle (Fig. 3a, b). Nas mudas não inoculadas a Tf mais elevada foi registrada com 50% de estresse em relação aos tratamentos com 40% da CP, que também foi maior que o controle (Fig. 3c). Às 15 horas, a Tf nas mudas com *G. albida* não diferiu entre os tratamentos controle e com 50% de estresse (Fig. 3a). No entanto, a simbiose com *G. etunicatum* resultou em maior Tf nas mudas controle do que nos demais tratamentos hídricos (Fig. 3b), mas nenhuma diferença significativa foi observada nas mudas não inoculadas (Fig. 3c).

Quando se compara cada tratamento de rega entre os horários de avaliação, observa-se que a temperatura foliar das mangabeiras foi mais elevada na hora de maior demanda evaporativa em relação às demais medidas porométricas, independentemente do tratamento de inoculação (Fig. 3a, b e c).

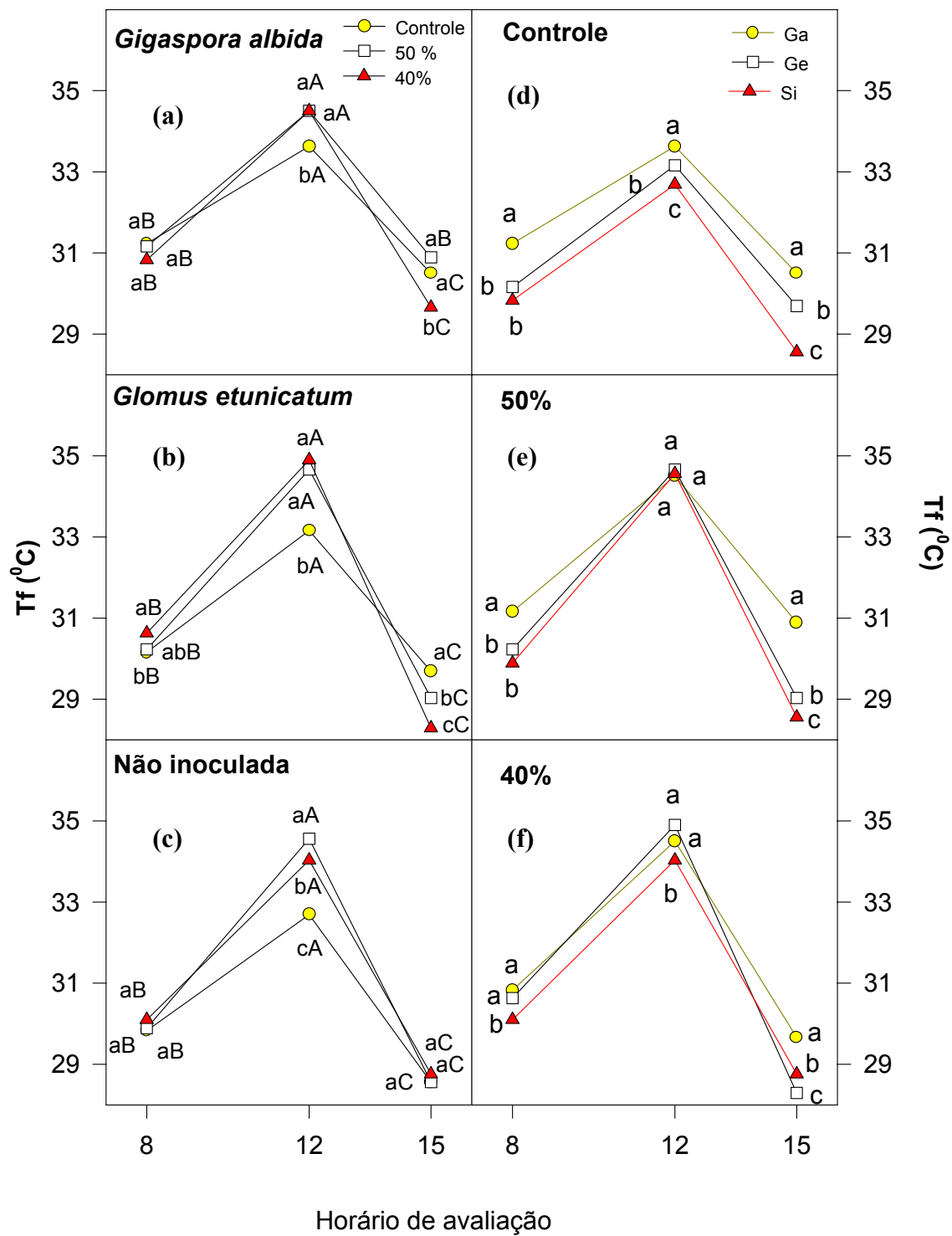
Diferenças significativas ocorreram entre os tratamentos de inoculação nos horários de avaliação porométrica (Fig. 3d, e, f). No controle, as mudas associadas com *G. albida* apresentaram maior Tf do que os demais tratamentos de FMA, em todos os horários e as plantas não inoculadas tiveram a menor Tf às 8 e às 15 horas (Fig. 3d). No entanto, com 50% de estresse, a Tf das mangabeiras em simbiose com *G. albida* foi mais elevada no início da manhã e às 15 horas, não havendo diferença significativa entre os tratamentos de inoculação na hora mais quente do dia (Fig. 3e). Por outro lado, nos tratamentos com 40% da CP, as mudas inoculadas apresentaram maior Tf do que as não inoculadas às 8 e às 12 horas, e às 15

horas a Tf das mangabeiras não inoculadas ou associadas com *G. etunicatum* foi menor do que a registrada nas mudas inoculadas com *G. albida* (Fig. 3f).

Em maracujazeiro-amarelo, menores valores de Tf foram registrados em mudas com *G. albida* em comparação com a Tf de mudas em associação com *G. etunicatum* ou não inoculadas (Cavalcante *et al.* 2001). Embora os valores de Tf em mangabeiras tenham diferido entre os tratamentos de inoculação nas mudas sob estresse (Fig. 3e, f), no maracujazeiro-amarelo isto não foi observado (Cavalcante *et al.* 2001); o mesmo aconteceu com plantas de amendoim submetidas ou não a estresse hídrico (Nogueira *et al.* 1998b). Plantas associadas com *G. albida* nos tratamentos com 40% da CP evidenciaram maiores valores de Tf e Rs que coincidiram com os menores valores de E. Resultados semelhantes foram observados em espécies de plantas da caatinga não inoculadas e submetidas a estresse hídrico (Nogueira *et al.* 1998a).

A temperatura foliar das mangabeiras esteve acima da temperatura do ar no horário das 8 e 12 horas para todos os tratamentos de rega e de associação com FMA, exceto na última medida, às 15 horas, nos tratamentos sem estresse, não inoculados, e com 50% da CP não inoculado com fungo, além das plantas com 40% da CP, quando inoculadas com *G. etunicatum* e não inoculadas. Resultados contrários foram relatados em maracujazeiro-amarelo, quando a Tf foi inferior à temperatura do ar, exceto quando as plantas estavam associadas com *G. albida* (Cavalcante *et al.*, 2001). No entanto, Tf superior à do ar tem sido reportada por vários autores, em aceroleiras (Nogueira *et al.* 2000a), gravioleiras sob estresse hídrico (Nogueira & Silva Jr. 2001) e mangabeiras em condições normais de rega (Nogueira *et al.* 2003).

Variações na temperatura foliar de plantas controle e sob estresse também foram relatadas em três espécies da caatinga (*Senna martiana* (Benth) Irwin & Barneby, *Parkinsonia aculeata* L., *Senna occidentalis* (L.) Link) onde a Tf foi mais elevada à medida que os valores de transpiração diminuíram e a Rs aumentou, possivelmente pela dissipação do calor (Nogueira *et al.* 1998a); esse processo fundamenta-se no estado hídrico das plantas e no comportamento dos estômatos em perda de calor por meio da transpiração (Nogueira *et al.* 2001b). Neste trabalho, apenas as plantas submetidas a estresse apresentaram menores valores de transpiração, associados com maior temperatura das folhas.



**Figura 3.** Curso diário da temperatura foliar (Tf) em mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) associadas com *G. albida* e *G. etunicatum* e submetidas a estresse hídrico (controle, 50% e 40% da capacidade de pote) em casa de vegetação. Médias seguidas da mesma letra, minúscula (vertical) e maiúscula (horizontal), não diferem pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,01$ ).

Em todos os tratamentos de inoculação houve correlação significativa entre a temperatura foliar e a temperatura do ar, e correlação negativa significativa entre a temperatura foliar e a umidade relativa do ar. Nas associações com *G. albida* e *G. etunicatum* se registrou correlação negativa entre a resistência difusiva e a transpiração, e entre este último e a umidade relativa do ar apenas no tratamento com *G. etunicatum* (Tab. 1).

**Tabela 1.** Matriz de correlação simples entre temperatura foliar (Tf), transpiração (E), resistência difusiva (Rs), temperatura do ar (Tar), umidade relativa do ar (UR), radiação fotossinteticamente ativa (PAR) e déficit de pressão de vapor (DPV) em mudas de mangabeira associadas com FMA, independentemente do estresse hídrico

Variáveis	<i>Gigaspora albida</i>	<i>Glomus etunicatum</i>	Não inoculado
Tf × DPV	0,99 **	0,97 **	0,97 **
Tf × Par	0,62 ns	0,01 ns	0,25 ns
Tf × UR	-0,98 **	-0,93 **	-0,93 **
Tf × Tar	0,99 **	0,99 **	1,00 **
E × DPV	0,60 ns	0,67 *	0,45 ns
E × Par	0,20 ns	0,14 ns	0,43 ns
E × UR	-0,64 ns	-0,69 *	-0,52 ns
E × Tar	0,57 ns	0,65 ns	0,39 ns
E × Tf	0,57 ns	0,65 ns	0,39 ns
Rs × DPV	-0,42 ns	-0,40 ns	0,36 ns
Rs × Par	0,16 ns	0,17 ns	-0,04 ns
Rs × UR	0,45 ns	0,37 ns	-0,28 ns
Rs × Tar	-0,43 ns	-0,49 ns	0,40 ns
Rs x Tf	-0,45 ns	-0,49 ns	0,40 ns
Rs × E	-0,67 *	-0,82 **	-0,59 ns

Não significativo <sup>ns</sup> ( $P \geq 0,05$ ); significativo \* ( $P \leq 0,05$ ) e altamente significativo \*\* ( $P \leq 0,01$ ) pelo Teste t.

Em estudos com espécies da caatinga submetidas a estresse hídrico (*Mimosa caesalpinifolia* Benth. e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong) a transpiração também não apresentou correlação com a temperatura do ar e a foliar, exceto para *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook., que apresentou correlação dessas variáveis. Os autores sugerem que nas espécies onde não ocorreram tais correlações, demonstra que a disponibilidade de água no solo foi fator que realmente influenciou a redução da transpiração (Silva *et al.* 2003). Os autores também não observaram correlação entre resistência difusiva e a temperatura do ar, tal como ocorreu nas mudas de mangaba, independentemente de estarem ou não associadas com FMA.

Correlações inversas e significativas entre transpiração e resistência difusiva foram igualmente registradas em três espécies da caatinga (Nogueira *et al.* 1998a), em pitangueiras (Nogueira *et al.* 2000b) e em gravioleiras (Nogueira & Silva Jr. 2001a).

Foi observado que a associação com *Gigaspora albida* influenciou significativamente as respostas fisiológicas das mudas submetidas a estresse hídrico, promovendo maior controle estomático, o que foi evidenciado por menores taxas de transpiração e maior resistência difusiva no horário mais quente do dia. Esses resultados demonstram a eficiência desse isolado de FMA em promover melhor utilização da água, com a conseqüente redução nos danos causados pelo estresse hídrico à mangabeira, além de possibilitar melhor desenvolvimento das mudas em condições diferentes do seu hábitat natural.

### **Referências bibliográficas**

- Albuquerque, M.B.; Nogueira R.J.M.C. & Correia G.G. 2002. Caracterização ecofisiológica de plantas jovens de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) submetidas a estresse hídrico pp. 453-454. In **Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFRPE**, Recife 2002. UFRPE Ed., Recife.
- Al-Karaki, G.N. & Clark, R.B. 1998. Growth, mineral acquisition, and water use by micorrhizal wheat grown under water stress. **Journal of Plant Nutrition** 21: 263-276.
- Allen, M.F. & Boosalis, M.G. 1983. Effects of two species of vesicular mycorrhizal fungi on drought tolerance of winter wheat. **New Phytologist** 93: 67-76.
- Araújo, A.P.; Silva, E.M.R. & Almeida, D.L. 1994. Efetividade de fungos endomicorrízicos em tomateiros em diferentes níveis de fósforo no solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 18: 193-199.
- Augé, R.M. 1989. Do mycorrhizae enhance transpiration by affecting host phosphorus content? **Journal of Plant Nutrition** 12: 743-753.
- Banco do Nordeste. 2001. **Importância do agronegócio da irrigação para o desenvolvimento do Nordeste**. v. 1, 114 p. Banco do Nordeste. Fortaleza.
- Bass, R.; Werf, A.V.D. & Lambers, H. 1989. Root respiration and growth in *Plantago major* as affected by vesicular- arbuscular mycorrhizal infection. **Plant Physiology** 91: 227-232.
- Casagrande, E.C.; Farias, J.R.B.; Neumaier, N.; Oya, T.; Pedroso, J.; Martins, P.K.; Breton, M.C. & Nepomuceno, A. L. 2001. Expressão gênica diferencial durante déficit hídrico em soja. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** 13 (2): 168-184.

- Cavalcante, U.M.T.; Maia, L.C.; Nogueira, R.J.M.C. & Santos, V.F. 2001. Respostas fisiológicas em mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico. **Acta Botanica Brasilica** 15: 379-390.
- Chartzoulakis, K.; Patakas, A.; Kofidis, G.; Bosabalidis, A. & Nastou, A. 2002. Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. **Scientia Horticulturae** 95: 39-50.
- Cui, M. & Nobel, P.S. 1992. Nutrient status, water uptake and gas exchange for three desert succulents infected with mycorrhizal fungi. **New Phytologist** 122: 643-649.
- Davies Jr., F.T.; Castro-Jimenez, Y. & Duray, S.A. 1987. Mycorrhizae, soil amendments, water relations and growth of *Rosa multiflora* under reduced irrigation regimes. **Scientia Horticulturae** 33: 261-267.
- Davies Jr., F.T.; Potter, J.R. & Linderman, R.G. 1993. Drought resistance of mycorrhizal pepper plants independent of leaf P concentration-response in gas exchange and water relations. **Physiologia Plantarum** 87: 45-53.
- Diallo, A.T.; Samb, P.I. & Macauley, H.R. 2001. Water status and stomatal behaviour of cowpea, *Vigna unguiculata* (L) Walp, plants inoculated with two *Glomus* species at low soil moisture levels. **European Journal of Soil Biology** 37: 187-196.
- Drüge, U. & Schönbeck, F. 1992. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection on transpiration, photosynthesis and growth of flax (*Linum usitatissimum* L.) in relation to cytokinin levels. **Journal Plant of Physiology** 141: 40-48.
- Graham, J.H.; Syvertsen, J.P. & Smith Jr., M.L. 1987. Water relations of mycorrhizal and phosphorus-fertilized non-mycorrhizal *Citrus* under drought stress. **New Phytologist** 105: 411-419.
- Gutiérrez-Boem, F.; Thomas, G.W. 1999. Phosphorus nutrition and water deficits in field-grown soybeans. **Plant and Soil** 207: 87-96.
- Hardie, K. & Leyton, L. 1981. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on growth and water relations of red clover. **New Phytologist** 89: 599-608.
- Kaiser, M.W. 1987. Effects of water deficits on photosynthetic capacity. **Physiologia Plantarum** 71: 142-149.
- Larcher, W. 1987. Ecofisiologia vegetal. 2. ed. Editora Pedagógica e Universitária Ltda. São Paulo.
- Levy, J. & Krikun, J. 1980. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza on *Citrus jambhiri* water relations. **New Phytologist** 85: 25-31.

- Mathur, N. & Vyas, A. 1995. Influence of VA mycorrhizae on net photosynthesis and transpiration of *Ziziphus mauritiana*. **Journal of Plant Physiology** 147: 328-330.
- Matos, N.N.; Texeira Jr., A.C. & Silveira, J.A.G. 2003. Influência do porta-enxerto no comportamento fisiológico de mudas de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) submetidas a estresses. **Revista Brasileira de Fruticultura** 25 (1): 27-31.
- Medina, C.L.; Machado, E.C. & Gomes, M.M.A. 1999. Condutância estomática, transpiração e fotossíntese em laranjeira 'Valência' sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** 11 (1): 29-34.
- Miyasaka, S. & Medina, J.C. 1981. **A soja no Brasil**. Pp. 1-174. ITAL, São Paulo.
- Nogueira, R.J.M.C.; Barbosa, D.C.A. & Moraes, J.A.P.V. 1998a. Trocas gasosas e relações hídricas em plantas jovens envasadas de três espécies da caatinga, submetidas à deficiência de água. **Phyton** 62: 37-46.
- Nogueira, R.J.M.C.; Santos, R.C.; Bezerra Neto, E. & Santos, V.F. 1998b. Comportamento fisiológico de duas cultivares de amendoim submetidas a diferentes regimes hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 33 (19): 1963-1969.
- Nogueira, R.J.M.C.; Moraes, J.A.P.V. & Burity, H.A. 2000a. Curso diário e sazonal das trocas gasosas e do potencial hídrico foliar em aceroleiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 35 (7): 1331-1342.
- Nogueira, R.J.M.C.; Silva Jr., J.F.; Bezerra, J.E.F.; Lederman, I.E.; Burity, H.A. & Santos, V.F. 2000b. Comportamiento estomático y tensión de agua en el xilema de dos genotipos de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) cultivados bajo estrés hídrico. **Investigación Agraria** 15 (3): 213-225.
- Nogueira, R.J.M.C. & Silva Jr., J.F. 2001. Resistência estomática, tensão de água no xilema e teor de clorofila em genótipos de gravioleira. **Scientia Agrícola** 58 (3): 491-495.
- Nogueira, R.J.M.C.; Moraes, J.A.P.V.; Burity, H.A. & Bezerra Neto, E. 2001. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** 13 (1): 75-87.
- Nogueira, R.J.M.C.; Albuquerque, M.B. & Silva Jr., J.F. 2003. Efeito do substrato na emergência, crescimento e comportamento estomático em plântulas de mangabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura** 25 (1): 15-18.
- Passioura J.B. & Stirzaker R.J. 1993. Feedforward responses of plants to physically inhospitable soil. International Crop Science I. **Crop Science** Society of American. Madison, Wisconsin, p. 715-719.



- Schachtman, D. P.; Reid, R. J. & Ayling, S. M. 1998. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. **Plant Physiology** 116: 447-453.
- Schellenbaum, L.; Müller, J.; Boller, T.; Wiemken, A. & Schüepp, H. 1998. Effects of drought on non-mycorrhizal and mycorrhizal maize: changes in the pools of non-structural carbohydrates, in the activities of invertase and trehalase, and in pools of amino acids and imino acids. **New Phytologist** 138: 59-66.
- Silva, E.C.; Nogueira, R.J.M.C.; Azevedo Neto, A.D. & Santos, V.F. 2003. Comportamento estomático e potencial da água da folha em três espécies lenhosas cultivadas sob estresse hídrico. **Acta Botanica Brasilica** 17 (2): 231-246.
- Simpson, D. & Daft, M.J. 1990. Interactions between water stress and different mycorrhizal inoculum on plant growth and mycorrhizal development in maize and sorghum. **Plant and Soil** 121: 179-186.
- Smith, S. E. & Read, D. J. 1997. **Mycorrhizal Symbiosis**. Academic Press, San Diego.
- Subramanian, K.S.; Charest, C.; Dwyer, L.M. & Hamilton, R.I. 1995. Arbuscular mycorrhizas and water relations in maize under drought stress at tasselling. **New Phytologist** 129: 643-650.
- Vieira Neto, R. D. 1998. Efeito de diferentes substratos na formação de mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Revista Brasileira de Fruticultura** 20 (3): 265-271.
- Wright, D.P.; Scholes, J.D. & Read, D.J. 1998. Effects of VA mycorrhizal colonization on photosynthesis and biomass production of *Trifolium repens* L. **Plant, Cell and Environment** 21: 209-216.

## CAPÍTULO 5

Crescimento e concentração de solutos orgânicos em mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) micorrizadas, submetidas a estresse hídrico

Trabalho a ser enviado ao periódico: Journal of Experimental Botany

Crescimento e concentração de solutos orgânicos em mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) micorrizadas, submetidas a estresse hídrico

Cynthia M. C. Costa<sup>1</sup>; André D. de Azevedo Neto<sup>2</sup>; Rejane J. M. C. Nogueira<sup>2</sup>; Uided M. T. Cavalcante<sup>1</sup>; Venézio Felipe dos Santos<sup>4</sup>; Leonor C. Maia<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Depto. de Micologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, CEP: 50670-420, Recife, PE, Brasil.

<sup>2</sup>Depto. de Biologia, Laboratório de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP: 52171-900, Recife, PE, Brasil.

<sup>4</sup>IPA- Instituto de Pesquisa Agropecuária de Pernambuco. Av. Gal. San Martin 1371, CEP 50761, Recife, PE.

**Resumo-**Foi avaliada a influência da associação com os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) *Gigaspora albida* Schenck & Smith, *Glomus etunicatum* Becker & Gerd. sobre o crescimento, o potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ) e o acúmulo de solutos em mudas de mangabeira sob estresse hídrico (100 %, 50 % e 40 % da capacidade de pote-CP). Após 52 dias de estresse foram realizadas medidas de crescimento da planta e do FMA, além do  $\Psi_f$  e a concentração de carboidratos e prolina. Mudas associadas com *G. albida* sob estresse de 50% apresentaram maior biomassa do que as não inoculadas e  $\Psi_f$  mais negativo. A concentração de carboidratos não diferiu entre os tratamentos de inoculação com 50% de estresse, porém com 40% da CP, a concentração de carboidratos aumentou nas mudas micorrizadas com *G. albida*. Por outro lado, maior acúmulo de prolina foi observado nas mangabeiras em simbiose com *G. albida* e nas sem inoculação, nos tratamentos com 50% de estresse. Sob condições de déficit hídrico a micorrização possibilitou níveis diversos na concentração de solutos, sugerindo que os fungos foram aptos a induzir diferentes graus de ajustamento osmótico às mudas de mangabeiras, permitindo com isso, maior tolerância ao estresse moderado.

**Palavras chave:** Micorriza arbuscular, crescimento, potencial hídrico, regulação osmótica, solutos, estresse hídrico.

<sup>3</sup> Corresponding author. Tel.: +55-81-3271-8865; fax: +55-81-3271-8482. *E-mail address:* leonorcmaia@hotmail.com

Growth and concentration of organic solutes in mycorrhized seedlings of *Hancornia speciosa*  
(Gomes) submitted to water stress

**Abstract-** The effect of the association with the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) *Gigaspora albida* Schenck & Smith and *Glomus etunicatum* Becker & Gerd. on growth and potential hydric of leaves ( $\Psi_f$ ) and accumulation of solutes in seedlings of *Hancornia speciosa* under water stress (100%, 50% and 40% of pot capacity-PC) was evaluated. After 52 days of stress measurements of plant growth, AMF development,  $\Psi_f$  and concentration of carbohydrate and proline were taken. Seedlings associated with *G. albida* under 50% stress presented higher biomass and more negative  $\Psi_f$  than those non inoculated. The concentration of carbohydrates did not differ among the treatments of inoculation with 50% of stress; however, with 40% of PC, the concentration increased in seedlings associated with *G. albida*. Higher accumulation of proline was also observed in seedlings mycorrhized with *G. albida* or with those non inoculated, in stress of 50%. Under conditions of hydric deficit, mycorrhized plants presented different levels of solute concentration, suggesting that the fungi were capable of inducing osmotic adjustment which allowed higher tolerance of the plants to moderate stress.

**Key words:** arbuscular mycorrhizal, growth, potential hydric, osmotic adjustment, solutes, water stress

## Introdução

O déficit hídrico provoca alterações na produção agrícola devido à redução no crescimento das plantas (Gutiérrez-Boem & Thomas, 1999; Chartzoulakis *et al.*, 2002) entretanto, o efeito da deficiência de água depende da época de ocorrência e de sua severidade (Casagrande *et al.*, 2001).

Várias alterações no metabolismo dos tecidos vegetais também podem ser observadas e algumas têm significância adaptativa (Marur *et al.*, 1994). Muitas espécies de plantas quando submetidas a estresses abióticos sofrem distúrbios que provocam perda ou acúmulo de metabólitos. Algumas respondem rapidamente, aumentando a concentração de solutos compatíveis como ácidos orgânicos, açúcares e aminoácidos, todos envolvidos na osmoregulação e na defesa de proteínas e integridade da membrana celular em condições de baixo potencial de água (Gzik, 1996; Ruiz-Lozano *et al.*, 1996; Nogueira *et al.*, 2001), como também em condições de alta salinidade no solo e baixas temperaturas (Hare *et al.*, 1999).

A prolina talvez seja o aminoácido mais amplamente distribuído, presente em níveis celulares elevados, principalmente em plantas sob condições de déficit hídrico e elevada salinidade podendo servir como reserva orgânica de nitrogênio e carbono durante a recuperação das plantas após períodos de estresse (Taylor, 1996; Ruiz-Lozano *et al.*, 1996).

Alguns autores citam que a elevação nos níveis de aminoácidos e carboidratos pode contribuir para maior tolerância da planta ao déficit hídrico pelo maior ajustamento osmótico (Navari-Izzo *et al.*, 1990; Girousse *et al.*, 1996; Gzik, 1996; Subramanian *et al.*, 1997; Chinnasamy & Bal, 2003).

A colonização do hospedeiro por fungos micorrízicos arbusculares (FMA) representa condição especial na relação água-planta em condições de déficit hídrico (Paula & Siqueira, 1987), pois as hifas do fungo aumentam a área de absorção da planta captando, conseqüentemente, maior quantidade de água e nutrientes (Ruiz-Lozano & Azcón, 1995), fato que na maioria das vezes contribui para aliviar os efeitos deletérios causados pelo estresse hídrico (Subramanian & Cherest, 1998; Al-Karaki *et al.*, 1998; Diallo *et al.*, 2001). No entanto, os isolados de FMA apresentam respostas diferentes frente a situações de estresse (Simpson & Daft, 1990). Andrade *et al.* (1999) avaliaram a resposta de crescimento de mudas de mangabeira frente à fertilização e à inoculação com fungos micorrízicos nativos de cerrado, verificando melhor desenvolvimento e sobrevivência das plantas inoculadas, em solos com baixa fertilidade.

Alguns trabalhos relatam a influência dos FMA na concentração de prolina e carboidratos na planta, parâmetros usados como indicadores da recuperação de plantas submetidas a condições de estresse. Segundo Feng *et al.* (2002), o fato está relacionado à maior capacidade de osmorregulação por parte das plantas micorrizadas. Diferentes isolados de *Glomus* foram avaliados quanto à habilidade de manter o ajustamento osmótico em plantas de alface (*Lactuca sativa* L. cv. Romana) sob estresse hídrico (Ruiz-Lozano *et al.*, 1995). Como indicação de alívio ao estresse, a associação com *G. deserticola* e *G. etunicatum* elevou o conteúdo de prolina no hospedeiro em apenas 50% como consequência do estresse, enquanto *Glomus occultum*, *G. fasciculatum* e *G. mosseae* aumentaram a produção de prolina em 73, 89 e 107%, respectivamente, para produzir o mesmo efeito. Os autores sugeriram que menor acúmulo desse aminoácido era indicação de melhor tolerância ao estresse. Respostas semelhantes foram encontradas em soja [*Glycine max* (L.) Merr.], onde plantas associadas com *G. mosseae* apresentaram menor quantidade de prolina do que as não inoculadas, indicando que as plantas micorrizadas sofreram menos com o estresse (Bethlenfalvay *et al.*, 1988).

Plantas de milho micorrizadas mantiveram maior (menos negativo) potencial hídrico foliar e apresentaram menor redução da concentração de açúcar em relação às plantas não inoculadas, sugerindo que a colonização ajudou a planta hospedeira a se manter em estresse moderado e a se recuperar rapidamente após reirrigação (Subramanian *et al.*, 1997). Este resultado pode estar diretamente relacionado com o dreno de carbono produzido pelo FMA, acarretando maior acúmulo de açúcares nos tecidos das plantas, tornando-as mais tolerantes ao estresse (Feng *et al.*, 2002). Também em milho, Subramanian & Charest (1995) relataram menor concentração de aminoácidos e maior quantidade de açúcares em plantas sob estresse hídrico associadas com FMA, fato diretamente relacionado com o menor potencial hídrico foliar, o que sugere o papel adaptativo da micorriza em aliviar a degradação de proteínas causada pelo déficit hídrico. O aumento de açúcares e compostos nitrogenados contribuem para o ajustamento osmótico, resultando em maior tolerância das plantas ao estresse.

Por outro lado, há relatos demonstrando que algumas vezes a micorrização não afeta a concentração de prolina (Goicoechea *et al.*, 1998) e de carboidratos em plantas submetidas a estresse, não contribuindo, portanto, no potencial osmótico das plantas (Davies *et al.*, 1993). Assim, a habilidade da micorrização em aliviar o efeito do estresse na planta ainda não está devidamente explicada, pois envolve um complexo de interações fisiológicas e nutricionais.

Os objetivos deste trabalho foram os de avaliar os efeitos da micorrização sobre parâmetros de crescimento e o potencial hídrico foliar de mudas de mangabeira submetidas a estresse hídrico, utilizando medidas de concentração de prolina e de carboidratos.

## Material e métodos

Sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) provenientes de um pomar natural, localizado no município de Sirinhaém na região litorânea do Estado de Pernambuco (8° 35'30'' S, 35° 07' 00'' W; altitude 49 m) foram semeadas em bandejas contendo solo do tipo Latossolo Amarelo Distrófico argissólico e esterilizado com Bromex (98 % de brometo de metila e 2 % de cloropicrina) e utilizado 20 dias após a esterilização. O solo apresentava as seguintes características: pH= 5,2; P= 4,7 mg dm<sup>-3</sup>; Al= 0,3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Ca+Mg= 10,4 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Ca= 8,3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Na= 0,046 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; K= 0,016 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>.

Quando as plantas apresentaram dois pares de folhas verdadeiros (cerca de 30 dias) foram transplantadas para copos plásticos de 200 mL com solo esterilizado. Na mesma ocasião foram inoculados, em cada pote, 200 esporos de *Gigaspora albida* Schenck & Smith (UFPE 01) ou de *Glomus etunicatum* Becker & Gerd. (UFPE 08), multiplicados em painço (*Panicum milliactum* L.), sobre as raízes das plantas. Os tratamentos não inoculados receberam 2 mL da solução do filtrado (1:10 solo: água, v/v) dos solos utilizados na extração dos esporos para restabelecer a microbiota original, com exceção dos esporos de FMA (Araújo *et al.*, 1994). Após 10 dias as plantas foram transferidas, junto com o torrão, para sacos pretos de polietileno contendo 4,5 Kg do mesmo solo utilizado na germinação.

As plantas foram mantidas em casa de vegetação com regas diárias até o período que antecedeu a diferenciação dos tratamentos hídricos, três meses após a inoculação com os FMA. Um grupo de plantas permaneceu com suprimento de água (100 % - controle), enquanto os demais foram supridos com apenas 50 % e 40 % da capacidade de pote (CP), respectivamente. A reposição da água foi realizada em função da água perdida por evapotranspiração de um dia para o outro, verificada pela diferença no peso dos vasos, utilizando-se uma balança (Filizola/10Kg). Durante o experimento, a radiação fotossinteticamente ativa (RFA), a temperatura e a umidade do ar variaram de 340 a 630  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , 26 a 32° C e de 57 a 89 %, respectivamente.

Para as medidas do potencial de água da folha ( $\psi_f$ ), realizadas ao final do experimento, ou seja, 50 dias após a diferenciação dos tratamentos hídricos, utilizou-se

câmara de pressão de Scholander (Scholander *et al.*, 1965) modelo 3035 da “Soil Moisture Equipment Corp”, Santa Bárbara, Califórnia (EUA). Estas medidas foram realizadas em ramos com três pares de folhas. Para minimizar os possíveis erros em virtude da presença do látex da folha de mangabeira, foi estabelecido o seguinte procedimento: após o corte, os ramos foram envolvidos em filme plástico na região do corte, colocados em isopor com gelo e levados diretamente ao laboratório para as medições. Utilizando-se a mesma velocidade de saída do gás do botijão para o cilindro, injetou-se, inicialmente, uma quantidade equivalente a 1 bar com o objetivo de expulsar o látex que foi absorvido com algodão. O valor do  $\psi_f$  foi considerado no momento de mudança na coloração do látex, provocada pela mistura com a seiva do xilema.

Ao final do experimento, 52 dias após o estresse hídrico, foram determinados: altura, biomassa seca da parte aérea, área foliar, percentagem de colonização radicular e densidade de esporos no solo.

Para determinar a percentagem de colonização, as raízes foram clarificadas inicialmente com KOH 10% (12 horas em temperatura ambiente) e depois com solução de água oxigenada ( $H_2O_2$  10% - 20 minutos), novamente lavadas e tratadas com HCl 1% (2 - 3 minutos). Após a retirada do ácido, as raízes permaneceram em Azul de Trypan 0,05% em lactoglicerol (Phillips & Hayman, 1970) por 12 horas. A colonização foi avaliada em fragmentos de 1 cm de raiz (100/amostra) e observados ao microscópio óptico (Giovannetti & Mosse, 1980) pela técnica de intersecção dos quadrantes.

Para determinação dos teores de prolina foi utilizada metodologia de Bates *et al.* (1973) modificada: 0,1 g da matéria seca foi colocada em 10 mL de solução de ácido sulfosalicílico (3%), agitado, e após 30 minutos, filtrado em papel de filtro. Desse extrato foi retirada uma alíquota de 2 mL e a ele adicionado mais 2 mL de Ninhidrina e 2 mL de ácido acético. A mistura foi agitada e colocada em banho-maria a 100° C por 1 hora e, em seguida, resfriada em banho de gelo. Após esse processo, foram adicionados mais 2 mL de tolueno, com posterior agitação para a separação das fases; uma alíquota da fração corada (cor rosa) foi utilizada para leitura em espectrofotômetro (JENWAY 6 300) a 520 nm, sendo utilizado como padrão (branco) o tolueno. A concentração de prolina foi determinada a partir da elaboração de uma curva padrão ( $y = 0,135441x + 0,00343$ ;  $r = 0,99$ ) e expressa em  $\mu g\ g^{-1}$  de matéria seca.

A concentração de carboidratos, na parte aérea de mangabeiras, foi obtida segundo Yemm & Willis (1954) com modificações: 0,1 g de folhas secas e moídas + 20 mL de álcool etílico 70 %, homogeneizados; após 30 minutos, o material foi filtrado em papel de filtro e



adicionado clorofórmio (0,5 mL do filtrado + 5 mL de clorofórmio + 5 mL de álcool etílico 70 %), a mistura foi agitada e decantada; a 0,2 mL da fração menos densa foram acrescentados 2 mL da solução de antrona; o material foi agitado e mantido em banho de gelo por 5 minutos e depois levado a banho-maria a 100 °C por 10 minutos; após o esfriamento fez-se a leitura em espectrofotômetro a 620 nm. A concentração de açúcares solúveis foi determinada a partir da curva padrão ( $y = 0,018385x - 0,011814$ ;  $r^2 = 0,99$ ) e o resultado expresso em µg mL.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ), utilizando-se o programa SANEST; para o estudo de correlações foi empregado o programa NTIA da EMBRAPA.

## Resultados e discussão

Nos tratamentos sem estresse hídrico (controle) as mudas de mangabeira associadas com *G. etunicatum* apresentaram maior biomassa seca da parte aérea e da raiz do que as associadas com *G. albida* e as não inoculadas. Quando as mudas foram submetidas ao estresse de 50%, a atuação de *G. etunicatum* foi prejudicada, enquanto a de *G. albida* se manteve constante. Nas mudas sob 40% da CP não houve diferença entre os tratamentos de inoculação (Tab. 1). Comparando-se os tratamentos de rega entre si, observa-se que os maiores valores de biomassa seca da parte aérea e da raiz ocorreram apenas nas mudas em simbiose com *G. etunicatum*, sob condições normais de rega; os demais tratamentos não apresentaram diferenças significativas (Tab. 1).

**Tab. 1.** Efeito da associação com fungos micorrízicos arbusculares e do estresse hídrico na biomassa seca da parte aérea e da raiz de mudas de mangabeira cultivadas em casa de vegetação

FMA	Estresse Hídrico					
	Controle	50 %	40 %	Controle	50 %	40 %
	Biomassa seca da parte aérea (g)			Biomassa seca da raiz (g)		
Ga	7,02bA	6,40aA	4,01aA	2,29bA	2,41aA	1,03aA
Ge	19,59aA	5,17abB	1,95aB	5,20aA	1,56aB	1,50aB
Ni	0,39cA	0,68bA	2,05aA	1,90bA	0,94aA	0,78aA
CV (%)	45,79			49,99		

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ); Ga = *Gigaspora albida*; Ge = *Glomus etunicatum*; Ni = Não inoculado.

Em plantas de milho (*Triticum durum* Desf.), a micorrização aumentou a biomassa em relação aos tratamentos não inoculados, independentemente do tratamento de irrigação. No entanto, sob estresse as plantas micorrizadas apresentaram menor biomassa seca do que as que cresceram sem estresse hídrico (Al-Karaki *et al.*, 1998). O mesmo comportamento foi relatado por outros pesquisadores (Hetrick *et al.*, 1987; Subramanian & Charest, 1997), os quais observaram que durante o estresse a redução na biomassa foi menor em plantas micorrizadas. Em milho, a associação com *G. mosseae* proporcionou maior biomassa seca da parte aérea do que com *Glomus monosporum* Gerd. & Trappe nas plantas sem estresse; quando submetidas ao déficit hídrico às respostas foram similares (Al-Karaki & Clark, 1998; Al-Karaki *et al.*, 1998). A mesma tendência de comportamento foi observada nas mangabeiras em simbiose com *G. etunicatum* e *G. albida* (Tab. 1).

A colonização de *Bromus inermis* (Leyss.) com *Glomus fasciculatum* (Thater) Gerd. & Trappe emend. Walk. and Sand. reduziu em 15% o peso da matéria seca da parte aérea; quando as plantas foram submetidas a estresse essa redução aumentou para 23% (Bildusas *et al.*, 1986). A biomassa seca da parte aérea e da raiz das mangabeiras diminuíram significativamente com o estresse apenas nas mudas associadas com *G. etunicatum*. A redução na biomassa também pode ser resultado do dreno de carbono promovido pelo FMA, uma vez que parte dos fotossintatos produzidos pelas plantas micorrizadas são transferidos e incorporados pelo fungo simbionte (Douds *et al.*, 2000).

Entre os tratamentos de rega, a redução da biomassa das mangabeiras, durante o estresse, foi acompanhada pelo aumento da resistência estomática (Fig. 2), fato que pode estar relacionado à diminuição da entrada de CO<sub>2</sub>, pois o fechamento estomático interfere na assimilação do mesmo. O controle dos estômatos e o ajustamento da transpiração permitem a manutenção do status de água na planta e da atividade fisiológica como persistência ao déficit hídrico (Diallo *et al.*, 2001).

De forma geral, apesar do estresse hídrico ter afetado negativamente o crescimento (biomassa seca da parte aérea e da raiz) das mangabeiras, o estabelecimento da simbiose micorrízica permitiu que as mudas respondessem melhor à falta de água quando comparadas às não inoculadas. Esses resultados concordam com os observados em gerânio (Sweatt & Davies Jr. 1984) e milho (Subramanian & Charest 1997). Al-Karaki *et al.* (1998) sugeriram que menor biomassa devido ao estresse hídrico era consequência da redução na colonização radicular e baixa aquisição de P pelas plantas.

A efetividade da simbiose micorrízica depende de vários fatores, tais como planta hospedeira, isolados de FMA e condições ambientais, que devem ser adequados na tentativa

de otimizar respostas de crescimento da planta. Isso pode ser necessário na seleção de isolados de FMA que melhor se adaptem ao ambiente no qual o hospedeiro está crescendo (Al-Karaki *et al.*, 1998).

**Tab. 2.** Efeito da inoculação com FMA na área foliar e na altura de mudas de mangabeira, independentemente do estresse hídrico

FMA	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Altura (cm)
<i>Gigaspora albida</i>	758,30 a	49,77 a
<i>Glomus etunicatum</i>	1.079,33 a	52,77 a
Não inoculado	492,91 b	31,63 a
CV (%)	13,84	40,78

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

O tratamento com estresse hídrico não afetou a área foliar e a altura das mudas, que foram beneficiadas pela colonização, diferindo estatisticamente na área foliar das mudas não inoculadas (Tab. 2). Do mesmo modo, nem a colonização radicular nem a esporulação dos FMA foram afetadas pelo estresse hídrico aplicado (Tab. 3).

Cavalcante *et al.* (2001) relataram que o estresse hídrico não interferiu na altura e na área foliar de mudas de maracujazeiro-amarelo associadas com os mesmos isolados de FMA utilizados nesse trabalho, com diferenças apenas em relação aos tratamentos não inoculados. O contrário foi descrito para plantas de *Bromus inermis*, que apresentaram redução na área foliar por causa do estresse hídrico, e não sofreram influência significativa da colonização micorrízica (Bildusas *et al.*, 1986).

**Tab. 3.** Densidade de esporos e percentagem colonização micorrízica em mudas de mangabeiras, em solo desinfestado, independentemente dos tratamentos de estresse hídrico

FMA	Densidade de esporos (50g)	Colonização radicular (%)
<i>Gigaspora albida</i>	24,64 a	72,55 a
<i>Glomus etunicatum</i>	33,78 a	64,11 a
Não inoculado	4,60 b	8,75 b
CV (%)	29,64	29,94

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

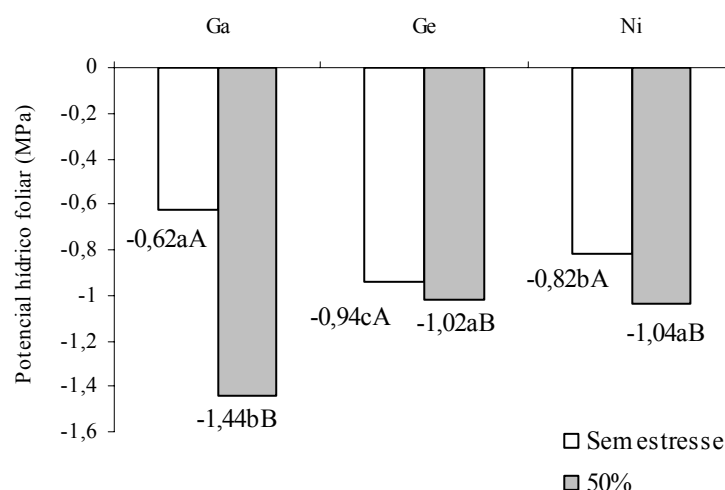
Resultados semelhantes foram encontrados por Nelsen & Safir (1982), em plantas de cebola (*Allium cepa* L. cv. Downing Yellow Globe), onde o estresse hídrico não induziu diferença significativa na colonização por *G. etunicatum*. No entanto, a produção de esporos desse fungo foi consideravelmente reduzida com a aplicação do estresse. Em experimento

com açafrão (*Carthamus tinctorius* L. cv. S555) e trigo (*Triticum aestivum* L. cv. Anza) (Bryla & Duniway, 1997a e b) e em alface (*Lactuca sativa* L.) a condição de estresse não afetou o grau de colonização micorrízica (Ruiz-Lozano & Azcón, 1995). Em *Lythrum salicaria* L. os níveis de colonização por arbúsculos e hifas foram significativamente maiores nos tratamentos com rega normal, em comparação com os sob estresse, com a presença dessas estruturas variando de acordo com o FMA inoculado (Stevens & Peterson, 1996). Redução no grau de colonização devido ao estresse hídrico foi similarmente descrito em plantas de milho (Al-Karaki, 1998; Al-Karaki *et al.*, 1998).

Em geral, as mudas de mangabeiras não micorrizadas apresentaram menores valores em todos os parâmetros de crescimento avaliados, embora os tratamentos controle tenham apresentado colonização radicular e esporos na rizosfera (Tab. 3); a presença de fungos micorrízicos, no entanto foi insuficiente para alterar os resultados. Isso foi comprovado pela interação entre biomassa seca da parte aérea e da raiz e os tratamentos hídricos; em baixo suplemento hídrico, as mudas micorrizadas foram capazes de utilizar mais a água, comparando com as mudas não inoculadas (Tab. 1). O mesmo ocorreu com a área foliar onde não houve influência do estresse e os valores foram maiores nas mangabeiras em simbiose com FMA (Tab. 2). A presença de fungos mesmo no solo que foi esterilizado (Tab. 3) pode ser explicada porque a desinfestação do solo muitas vezes não elimina totalmente os propágulos de FMA (Menge, 1982).

O potencial hídrico foliar ( $\psi_f$ ) das mudas submetidas a 40% da CP não foi mensurado, pois o valor foi muito negativo, ultrapassando a capacidade de medida do equipamento (-4,0 Mpa), sendo avaliado apenas nos níveis 100 % e 50 % da CP (Fig. 1). Nos tratamentos sem estresse hídrico os maiores valores (menos negativos) de  $\psi_f$  foram observados nas mudas associadas com *G. albida*. Em todos os tratamentos de inoculação, o  $\psi_f$  foi reduzido com o estresse hídrico de 50% (Fig. 1), sendo os menores valores observados na inoculação com *G. albida* (-1,44 Mpa), não apresentando diferença significativa entre a associação com *G. etunicatum* e as mudas não inoculadas (Fig. 1).

Redução no  $\psi_f$  durante o déficit hídrico também foi observada em plantas de milho associadas ou não com FMA. No entanto, após três semanas de estresse, a associação com *G. intraradices* possibilitou às plantas micorrizadas a manutenção do  $\psi_f$  em relação às não inoculadas (Subramanian *et al.*, 1997). As mudas de mangabeira associadas a *G. etunicatum* e as não inoculadas mantiveram os valores do potencial hídrico foliar em relação às mudas com *G. albida* (Fig. 1.).



**Fig. 1.** Potencial da água na folha ( $\psi_f$ ) em mudas de mangabeira associadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico. Ga = *Gigaspora albida*; Ge = *Glomus etunicatum*; Ni = Não inoculado. Letra minúscula compara os FMA dentro de cada tratamento de estresse e maiúscula compara os tratamentos hídricos entre si para cada FMA, Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Os valores mais negativos de  $\psi_f$  observados na associação com *G. albida* sob estresse, possivelmente decorreram das maiores taxas transpiratórias apresentadas pelas mudas (dados não mostrados), indicando que o solo ainda apresentava boa disponibilidade de água para as raízes. É possível que a simbiose com este FMA tenha resultado em maior exploração do volume de solo por parte do micélio extraradicular, permitindo às raízes micorrizadas maior disponibilidade de água, mesmo em condições de baixo potencial no solo (Hardie, 1985; Duan *et al.* 1996; Augé *et al.*, 2001). O contrário foi descrito para plantas de mamão (*Carica papaya* var. Solo), onde a diminuição do potencial hídrico foliar foi maior nos tratamentos não inoculados do que nas plantas colonizadas com *Gigaspora margarita* Becker & Hall (Cruz *et al.*, 2000).

Redução no potencial hídrico foliar tem sido verificado em várias plantas submetidas a estresse hídrico, como em algumas espécies do cerrado (Perez & Moraes, 1991), da caatinga (Nogueira *et al.*, 1998; Silva *et al.*, 2003) e em aceroleiras (Nogueira *et al.*, 2000). A queda desses valores pode caracterizar um ajuste osmótico (Hinckley *et al.*, 1980) na tolerância à seca, garantindo a manutenção da turgescência em ampla faixa de potencial hídrico (Hsiao, 1973).

Sob estresse hídrico, plantas de açafrão inoculadas com *G. etunicatum* apresentaram maior  $\psi_f$  e menor acúmulo de solutos do que plantas sem FMA. Em trigo, entretanto, nenhum

efeito da micorrização foi observado no  $\psi_f$  em plantas bem irrigadas ou sob estresse, as quais mantiveram o turgor das folhas quando expostas ao estresse, provavelmente devido ao aumento na concentração de solutos (Bryla & Duniway, 1997a).

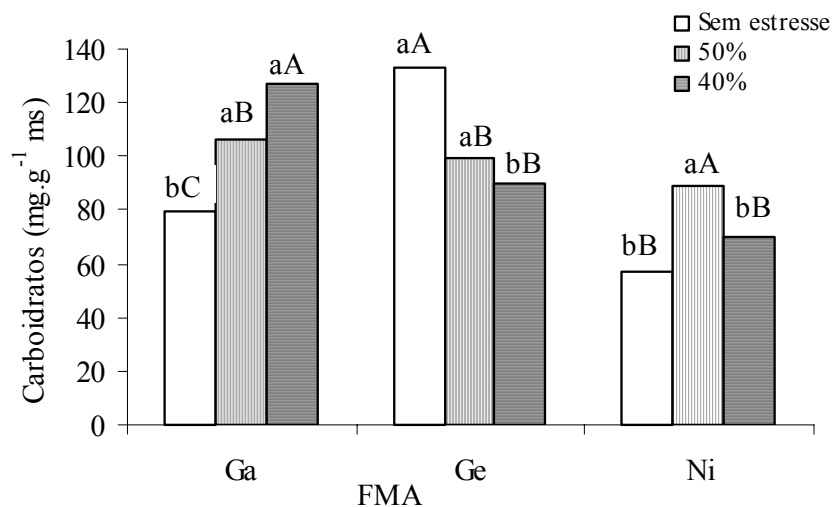
Um dos primeiros efeitos deletérios do déficit hídrico é a redução da turgescência (Kramer, 1980). A habilidade das plantas em manter a turgescência foliar é importante na adaptação à deficiência hídrica quando o potencial de água é reduzido (Jones & Turner, 1980). Em níveis moderados de estresse, poucos danos foram causados às folhas de trigo micorrizadas em relação às não inoculadas. Maior absorção de nutrientes, especialmente fósforo, pelas plantas com FMA, pode ter propiciado melhor tolerância ao déficit hídrico, reduzindo as perdas causadas pela falta de água (Bryla & Duniway, 1997b).

### **Carboidratos**

A concentração de carboidratos totais diferiu entre os tratamentos de inoculação e de estresse hídrico (Fig. 2).

Entre os tratamentos de rega, as mudas associadas com *G. albida* submetidas a 40% da CP apresentaram maiores concentrações de carboidratos, e com estresse de 50% essas taxas foram intermediárias em relação às mudas com rega normal, que evidenciaram menores valores. Nos tratamentos sem estresse as mudas associadas com *G. etunicatum* apresentaram elevadas concentrações de carboidratos, enquanto sob estresse hídrico houve redução nesses valores, que não apresentaram alteração significativa entre os níveis de 50 e 40% da CP. Nas mudas não inoculadas as maiores concentrações de carboidratos foram observadas nos tratamentos com 50% da CP (Fig. 2).

Em plantas de *Ziziphus mauritiana* (Lam.) sob condições normais de rega, Mathur & Vyas (1995) observaram que a inoculação com *G. fasciculatum* resultou em duas vezes mais a concentração de carboidratos totais do que nas não inoculadas. Esse aumento foi relacionado com as maiores taxas de fotossíntese apresentadas pelas plantas, resultando assim no maior acúmulo de carboidratos. Achados semelhantes foram obtidos em citros inoculados com *G. macrocarpum* (Nemec & Guy, 1982) e com *G. intraradices* (Graham *et al.*, 1997). Do mesmo modo, plantas de milho micorrizadas e submetidas a estresse hídrico também apresentaram maiores conteúdos de açúcares solúveis em relação às não inoculadas (Subramanian *et al.*, 1997). Como observado no presente estudo, o conteúdo de carboidratos apresentou variação de acordo com o tratamento de inoculação com FMA, o que também foi observado em plantas de pimenta (*Piper nigrum* L.) (Davies *et al.*, 1993).



**Fig. 2-** Concentração de carboidratos em folhas de mangabeira associadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico por 52 dias, em casa de vegetação. Ga=*Gigaspora albida*; Ge=*Glomus etunicatum* e Ni=Não inoculado. Letra minúscula compara cada tratamento hídrico entre os FMA e maiúscula os tratamentos hídricos entre si, considerando cada fungo, Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Comparando cada tratamento hídrico entre os FMA, a concentração de carboidratos foi maior nas plantas sem estresse associadas a *G. etunicatum* em relação aos demais tratamentos de inoculação. Com estresse hídrico de 50% não houve diferença significativa entre os tratamentos. Entretanto, no nível mais elevado de estresse, a maior concentração de carboidratos foi obtida nas mudas associadas com *G. albida*, que se destacaram em relação às mudas com *G. etunicatum* e as não inoculadas (Fig. 2).

As alterações metabólicas causadas nos tecidos das plantas devido ao estresse hídrico podem ter significância adaptativa. O ajustamento osmótico em plantas submetidas a estresse pode ser obtido pela acumulação de solutos orgânicos como carboidratos e aminoácidos (Marur *et al.*, 1994). Nas mangabeiras associadas com *G. albida* este fato ocorreu devido à maior concentração de carboidratos verificada nas mudas sob déficit de 50% e 40% da CP. Tal ajustamento ocorre em baixas taxas de desenvolvimento de estresse hídrico da folha, apresentando também curta duração (Turner, 1981). Este processo foi verificado em mudas de buriti (*Mauritia flexuosa* L.), submetidas à deficiência hídrica (Calbo & Moraes, 1997).

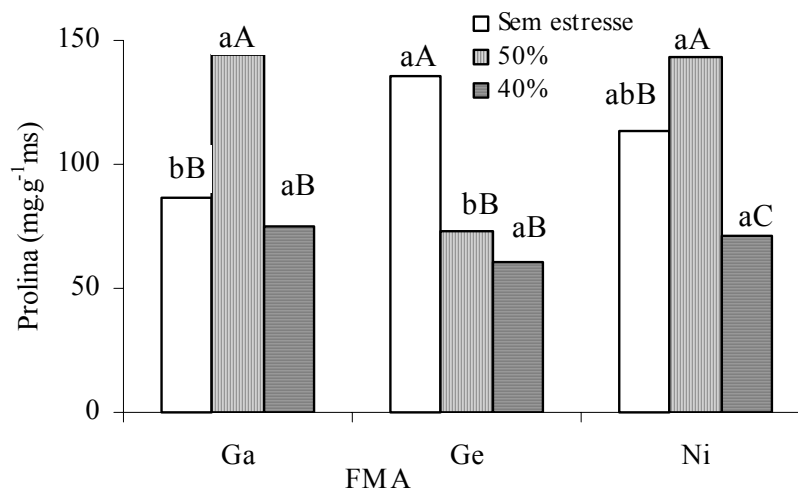
## Prolina

A concentração de prolina diferiu significativamente de acordo com os tratamentos de rega e de inoculação com FMA (Fig. 3).

Entre os tratamentos de inoculação, as mudas sem estresse hídrico associadas a *G. etunicatum* apresentaram maiores valores de prolina em relação às mudas com *G. albida*. Com estresse de 50%, as maiores concentrações foram observadas nas mudas inoculadas com *G. albida* e nas não inoculadas (Fig. 3). Entretanto, no nível mais elevado de estresse, a concentração de prolina não variou significativamente entre os tratamentos inoculados (Fig. 3). Em plantas de alface (*Lactuca sativa* L. cv. Romana), a micorrização com *G. etunicatum* aumentou o conteúdo de prolina em apenas 50%, enquanto os demais tratamentos de inoculação induziram maior acúmulo desse aminoácido (Ruiz-Lozano *et al.*, 1995).

Comparando os tratamentos de rega para cada FMA, verifica-se que nas mudas em simbiose com *G. albida* e naquelas não inoculadas, a concentração de prolina foi mais elevada nos tratamentos com 50% de estresse. Resultados semelhantes foram obtidos em plantas de soja (Bethlenfalvay *et al.*, 1988), alface (Ruiz-Lozano *et al.*, 1995) e alfafa (Goicoechea *et al.*, 1998). Por outro lado, no tratamento com *G. etunicatum* a concentração de prolina durante o estresse hídrico foi menor do que no tratamento sem estresse (Fig. 3). A micorrização não afetou significativamente o conteúdo de prolina nas folhas de mangabeira com 40% da CP, porém na associação com *G. albida* houve tendência de maior acúmulo desse aminoácido (Fig. 3). O aumento de prolina em plantas sob estresse pode estar relacionado à integridade das membranas (Van Rensburg *et al.*, 1993), estabilidade de enzimas e proteínas (Lahrer *et al.*, 1993), além de funcionar como reserva orgânica de nitrogênio (Taylor, 1996).





**Fig. 3.** Concentração de prolina em folhas de mangabeira associadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico por 52 dias, em casa de vegetação. Ga=*Gigaspora albida*; Ge=*Glomus etunicatum* e Ni=Não inoculado. Letra minúscula compara cada tratamento hídrico entre os FMA e maiúscula os tratamentos hídricos entre si, considerando cada fungo, Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Em plantas de milho, aumento na concentração de imino ácidos (prolina e hidroxiprolina) foi observado na micorrização com *G. mosseae* (Schellenbaum *et al.*, 1998). Quando as mudas de mangabeira foram submetidas a estresse de 50%, o aumento de prolina coincidiu com a queda do potencial hídrico foliar (Fig. 1), o que está em concordância com os dados de Nogueira *et al.* (2001b). Avaliando aceroleiras sob estresse hídrico os autores observaram maior concentração desse aminoácido do que em plantas sem estresse, onde o  $\psi_f$  atingiu valores de  $-4,3$  Mpa. Por outro lado, as mangabeiras associadas com *G. etunicatum* apresentaram maior concentração de prolina no tratamento sem estresse e menor nas mudas com déficit hídrico, o que foi relacionado com os maiores valores de potencial (menos negativo).

Neste estudo com mudas de mangabeira ficou evidenciado o comportamento diferenciado entre os FMA quanto à influência na concentração de prolina no hospedeiro. Resultados semelhantes foram observados em estudos com espécies de *Glomus* associados à alface (*Lactuca sativa* L. cv. Romana), onde alguns simbiossiontes proporcionam ao hospedeiro melhor tolerância ao estresse hídrico (Ruiz-Lozano *et al.*, 1995; Bethlenfalvay *et al.*, 1988).

Em geral, as mudas de mangabeira associadas com FMA apresentaram maiores concentrações de carboidratos do que as não inoculadas, independentemente da condição

hídrica. Provavelmente este aumento resulta da forte ligação que há nas raízes micorrizadas, absorvendo elevadas quantidades de carbono para manter a simbiose (Trimple & Knowles, 1994). A habilidade das mangabeiras associadas a *G. albida* para manter o nível de carboidratos durante o estresse hídrico indica comportamento fisiologicamente importante para recuperação dessas mudas frente ao déficit de água. Subramanian & Charest (1995) descreveram resultados semelhantes em plantas de milho inoculadas com *G. intraradices*; no entanto, essas plantas apresentavam alto potencial hídrico foliar (menos negativo), enquanto nas de mangabeira, isso foi relacionado com baixo  $\psi_f$  (mais negativo).

A colonização das mudas de mangabeira com FMA acarretou mudanças no potencial hídrico foliar e na concentração de solutos. Sob 50% de estresse, foi observado aumento na concentração de prolina e carboidratos nas mudas associadas com *G. albida*, comportamento que favoreceu a redução do potencial hídrico foliar necessário para manutenção da turgescência e ajustamento osmótico das mudas sob déficit hídrico.

A associação das mudas com *G. albida* proporcionou menor redução na biomassa seca da parte aérea e raiz quando submetidas a déficit hídrico em relação às inoculadas com *G. etunicatum* e as não inoculadas. Por outro lado, a área foliar, a densidade de esporos de FMA na rizosfera e a colonização radicular não foram alteradas pela redução da disponibilidade de água.

## **Conclusões**

Os resultados comprovam que a simbiose com *G. albida* confere à planta hospedeira estratégias de sobrevivência quando submetidas a condições adversas de cultivo como estresse hídrico. A seleção de isolados efetivos e adaptados às condições de seca é de significativa importância agrônômica e mostra a necessidade de estudos mais aprofundados para melhor conhecimento da influência dos FMA nos processos de adaptação do hospedeiro a condições de escassez de água.

## Referências

- Al-Karaki GN.** 1998. Benefit, cost and water-use efficiency of arbuscular mycorrhizal durum wheat grown under drought stress. *Mycorrhiza* 8, 41-45.
- Al-Karaki GN, Clark RB.** 1998. Growth, mineral acquisition, and water use by micorrhizal wheat grown under water stress. *Journal of Plant Nutrition* 21, 263-276.
- Al-Karaki GN, Al- Raddad A, Clark RB.** 1998. Water stress and mycorrhizal isolates effects on growth and nutrient acquisition of wheat. *Journal of Plant Nutrition* 21, 891-902.
- Andrade LRM, Junqueira NTV, Silva JÁ, Barbosa D, Leão AP, Barros LH.** 1999. Fertilização do substrato e inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em mudas de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, Brasília, 1999. Brasília: Embrapa Cerrados/SBCS, (Disponível em CD-ROM).
- Araújo AP, Silva EMR, Almeida DL.** 1994. Efetividade de fungos endomicorrízicos em tomateiros em diferentes níveis de fósforo no solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 18, 193-199.
- Augé RM, Stodola AJW, Tims JE, Saxton AM.** 2001. Moisture retention properties of a mycorrhiza soil. *Plant and Soil* 230, 87-97.
- Bates LS, Waldren RP, Teare ID.** 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39, 205-207.
- Bethlenfalvay GJ, Brown MS, Ames RN, Thomas RS.** 1988. Effects of drought on host and endophyte development in mycorrhizal soybeans in relation to water use and phosphate uptake. *Physiologia Plantarum* 72, 565-571.
- Bildusas IJ, Dixon RK, Pflieger FL, Stewart EL.** 1986. Growth, nutrition and gas exchange of *Bromus inermis* inoculated with *Glomus fasciculatum*. *New Phytologist* 102, 303-311.
- Bryla DR, Duniway, JM.** 1997a. Water uptake by safflower and wheat roots infected with arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 136, 591-601.
- Bryla DR, Duniway, JM.** 1997b. Effects of mycorrhizal infection on drought tolerance and recovery in safflower and wheat. *Plant and Soil* 197, 95-103.
- Calbo MER, Moraes JAPV.** 1997. Fotossíntese, condutância estomática, transpiração e ajustamento osmótico de plantas de buriti submetidas a estresse hídrico. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 9, 117-123.

- Casagrande EC, Farias JRB, Neumaier N, Oya T, Pedroso J, Martins PK, Breton MC, Nepomuceno AL.** 2001. Expressão gênica diferencial durante déficit hídrico em soja. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 13, 168-184.
- Cavalcante UMT, Maia LC, Nogueira RJMC, Santos VF.** 2001. Respostas fisiológicas em mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* DEG.) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico. *Acta Botanica Brasilica* 15, 379-390.
- Chartzoulakis K, Patakas A, Kofidis G, Bosabalidis A, Nastou A.** 2002. Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. *Scientia Horticulturae* 95, 39-50.
- Chinnasamy G, Bal AK.** 2003. Seasonal changes in carbohydrates of perennial root nodules of beach pea. *Journal of Plant Physiology* 160, 1-8.
- Cruz AF, Ishii T, Kadoya K.** 2000. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on tree growth, leaf water potencial, and leaves of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid and ethylene in the roots of papaya under water-stress conditions. *Mycorrhiza* 10: 121-123.
- Davies Jr., FT, Potter JR, Linderman RG.** 1993. Drought resistance of mycorrhizal pepper plants independent of leaf P concentration-response in gas exchange and water relations. *Physiologia Plantarum* 87, 45-53.
- Diallo AT, Samb PI, Macauley HR.** 2001. Water status and stomatal behaviour of cowpea, *Vigna unguiculata* (L) Walp, plants inoculated with two *Glomus* species at low soil moisture levels. *European Journal Soil Biology* 37, 187-196.
- Douds Jr. DD, Pfeffer PE, Shachar-Hill Y.** 2000. Carbon partitioning, cost, and metabolism of arbuscular mycorrhizas. In: Kapulnik Y, Douds Jr., DD eds. *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*, Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 107-129.
- Duan X, Neuman DS, Reiber JM, Green CD, Saxton AM, Augé RM.** 1996. Mycorrhizal influence on hydraulic and hormonal factors implicated in the control of stomatal conductance during drought. *Journal of Experimental Botany* 47, 1541-1550.
- Feng G, Zhang FS, Li XL, Tian CY, Tang C, Rengel Z.** 2002. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhizal is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza* 12, 185-190.
- Giovannetti M, Mosse B.** 1980. An evaluation of techniques for mensuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84, 489-500.

- Girousse C, Bournoville R, Bonnemain JL.** 1996. Water deficit-induced change in concentrations in proline and some other amino acids in the phloem sap of alfalfa. *Plant Physiology* 111, 109-113.
- Goicoechea N, Szalai G, Antolín MC, Sánchez-Díaz M, Paldi E.** 1998. Influence of arbuscular mycorrhizae and *Rhizobium* on free polyamines and proline levels in water-stressed alfalfa. *Journal of Plant Physiology* 153, 706-711.
- Graham JH, Duncan LW, Eissenstat DM.** 1997. Carbohydrate allocation patterns in citrus genotypes as affected by phosphorus nutrition, mycorrhizal colonization and mycorrhizal dependency. *New Phytologist* 135, 335-343.
- Gutiérrez-Boem F, Thomas GW.** 1999. Phosphorus nutrition and water deficits in field-grown soybeans. *Plant and Soil* 207, 87-96.
- Gzik A.** 1996. Accumulation of proline and pattern of  $\alpha$ -amino acids in sugar beet plants in response to osmotic, water and salt stress. *Environmental and Experimental Botany* 36, 29-38.
- Hare PD, Cress WA, Staden JVan.** 1999. Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. *Journal of Experimental Botany* 50, 413-434.
- Hardie K.** 1985. The effect of removal of extraradical hyphae on water uptake by vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *New Phytologist* 101, 677-684.
- Hetrick BAD, Kitt DG, Wilson GT.** 1987. Effects of drought stress on growth response in corn, sudan grass, and Big bluestem to *Glomus etunicatum*. *New Phytologist* 105, 403-410.
- Hsiao TC.** 1973. Plant response to water stress. *Annual Review of Plant Physiology* 24, 519-570.
- Lahrer F, Leport L, Petrivalsky M, Chappart M.** 1993. Effectors for the osmoinduced proline response in higher plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 31, 911-922.
- Marur CJ, Sodek KL, Magalhães AC.** 1994. Free amino acids in leaves of cotton plants under water deficit. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 6, 103-108.
- Mathur N, Vyas A.** 1995. Influence of VA mycorrhizae on net photosynthesis and transpiration of *Ziziphus mauritiana*. *Journal Plant Physiology* 147, 328-330.
- Menge JA.** 1982. Effect of soil fumigant and fungicides on vesicular-arbuscular fungi. *Phytopathology* 72, 1125-1182.
- Navari-Izzo F, Quartacci MF, Izzo R.** 1990. Water-stress induced changes in protein and free amino acids in field-grown maize and sunflower. *Plant Physiology and Biochemistry* 28, 531-537.

- Nelsen CE, Safir GR.** 1982. Increased drought tolerance of mycorrhizal onion plants caused by improved phosphorus nutrition. *Planta* 154, 407-413.
- Nemec S, Guy G.** 1982. Carbohydrate status of mycorrhizal and nonmycorrhizal citrus rootstocks. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 107, 177-180.
- Nogueira RJMC, Barbosa DCA, Moraes JAPV.** 1998. Trocas gasosas e relações hídricas em plantas jovens envasadas de três espécies da caatinga, submetidas à deficiência de água. *Phyton* 62, 37-46.
- Nogueira RJMC, Moraes JAPV, Burity HA.** 2000. Curso diário e sazonal das trocas gasosas e do potencial hídrico foliar em aceroleiras. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35, 1331-1342.
- Nogueira RJMC, Moraes JAPV, Burity HÁ, Bezerra Neto E.** 2001. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 13, 75-87.
- Paula MA, Siqueira JO.** 1987. Efeitos da umidade do solo sobre a simbiose endomicorrízica em soja: II. Crescimento, nutrição e relação água-planta. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 11, 289-293.
- Perez SCJGA, Moraes JAPV.** 1991. Determinações de potencial hídrico, condutância estomática e potencial osmótico em espécies dos estratos arbóreo, arbustivo e herbáceo de um cerrado. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 3, 27-37.
- Phillips JM, Hayman DS.** 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infections. *Transactions of the British Mycological Society* 55, 158-161.
- Ruiz-Lozano JM, Azcón R.** 1995. Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal plants as affected by the fungal species and water status. *Physiologia Plantarum* 95, 472-478.
- Ruiz-Lozano JM, Azcón R, Gómez M.** 1995. Effects of arbuscular-mycorrhizal *Glomus* species on drought tolerance: physiological and nutritional plant response. *Applied and Environmental Microbiology* 61, 456-460.
- Ruiz-Lozano JM, Azcón R, Gómez M.** 1996. Alleviation of salt stress by arbuscular-mycorrhizal *Glomus* species in *Lactuca sativa* plants. *Physiologia Plantarum* 98, 767-772.
- Schellenbaum L, Müller J, Boller T, Wiemken A, Schüepp H.** 1998. Effects of drought on non-mycorrhizal and mycorrhizal maize: changes in the pools of non-structural carbohydrates, in the activities of invertase and trehalase, and in pools of amino acids and imino acids. *New Phytologist* 138, 59-66.

- Scholander PF, Hammel HT, Hemingsen EA, Bradstreet ED.** 1965. Hydrostatic pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants. *National Academy of Sciences of the United States of America Proceedings* 51, 119-125.
- Simpson D, Daft MJ.** 1990. Interactions between water-stress and different mycorrhizal inoculum on plant growth and mycorrhizal development in maize and sorghum. *Plant and Soil* 121, 179-186.
- Silva EC, Nogueira RJMC, Azevedo Neto AD, Santo VF.** 2003. Comportamento estomático e potencial da água da folha em três espécies lenhosas cultivadas sob estresse hídrico. *Acta Botanica Brailica* 17, 231-246.
- Stevens KJ, Peterson RL.** 1996. The effect of a water gradient on the vesicular-arbuscular mycorrhizal status of *Lythrum salicaria* L. (purple loosestrife). *Mycorrhiza* 6, 99-104.
- Subramanian KS, Charest C.** 1995. Influence of arbuscular mycorrhizae on the metabolism of maize under drought stress. *Mycorrhiza* 5, 273-278.
- Subramanian KS, Charest C.** 1997. Nutritional, growth, and reproductive response of maize (*Zea mays* L.) to arbuscular mycorrhizal inoculation during stress at tasselling. *Mycorrhiza* 7, 25-32.
- Subramanian KS, Charest C.** 1998. Arbuscular mycorrhizae and nitrogen assimilation in maize after drought and recovery. *Physiologia Plantarum* 102, 285-296.
- Subramanian KS, Charest C, Dwyer LM, Hamilton RI.** 1997. Effects of arbuscular mycorrhizae on leaf water potencial, sugar content, and P content during drought and recovery of maize. *Canadian Journal of Botany* 75, 1582-1591.
- Sweatt MR, Davies Jr. FT.** 1984. Mycorrhiza, water relations, growth, and nutrient uptake of *Geranium* grown under moderately high phosphorus regimes. *Journal of the American Society of Horticulturae Science* 109, 210-213.
- Taylor CB.** 1996. Proline and water deficit: ups, downs, ins, and outs. *Plant Cell* 8, 1221-1224.
- Trimble MR, Knowles NR.** 1994. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus on growth, carbohydrate partitioning and mineral nutrition of greenhouse cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants during establishment. *Canadian Journal of Plant Science*, 74, 239-249.
- Turner NC.** 1981. Techniques and experimental approaches for the measurement of plants water status. *Plant Soil* 58, 339-366.

**Van Rensburg L, Krüger GHL, Krüger H.** 1993. Proline accumulation as drought-tolerance selection criterion: its relationship to membrane integrity and chloroplast ultrastructure in *Nicotiana tabacum* L. *Journal of Plant Physiology* 141, 188-194.

**Yemm EW, Willis AJ.** 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *The Biochemical Journal* 57, 508-514.



## CAPÍTULO 6

Atividade microbiana em solo cultivado com mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), associadas com fungos micorrízicos arbusculares

Trabalho a ser enviado ao periódico: Biology and Fertility of Soil

Atividade microbiana em solo cultivado com mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), associadas com fungos micorrízicos arbusculares

Cynthia Costa · Sônia Pereira · Ana Luiza Silva · Uided Cavalcante · Venézio dos Santos · Leonor Maia

**Resumo-** A influência da micorrização arbuscular e da adubação fosfatada foi estudada sobre a atividade da fosfatase ácida e a emissão de CO<sub>2</sub> em solos cultivados com mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), em casa de vegetação. O trabalho foi desenvolvido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial de 2 × 3 × 2, sendo 2 tratamentos de solo desinfestado (D) e não desinfestado (ND), 3 tratamentos de inoculação com FMA (200 esporos/pote) de *Gigaspora albida* Schenck & Smith, *Glomus etunicatum* Becker & Gerd. e controle) e 2 níveis de P (3 e 93 mg dm<sup>-3</sup> de solo), com quatro repetições. Após 150 dias, maior atividade da fosfatase ácida ocorreu no solo das mudas associadas com *Gigaspora albida* Schenck & Smith em relação ao controle, e a quantidade de CO<sub>2</sub> liberado não variou entre os tratamentos de inoculação. Entretanto, os valores apresentados pelos solos com FMA foram superiores aos observados nos sem inoculação. Em solo com baixo P (3 mg P dm<sup>-3</sup>), tratamentos inoculados com *G. etunicatum* apresentaram maior quantidade de C-CO<sub>2</sub> em relação aquele suplementado com 93 mg P dm<sup>-3</sup>. A interação dos solos com os FMA mostrou maior atividade da fosfatase no SD inoculado com *G. albida* em relação a *G. etunicatum*, enquanto no solo não desinfestado, maiores valores foram detectados nas mudas inoculadas com ambos os FMA. Maior atividade da fosfatase ácida foi evidenciada com solo desinfestado e com 93 mg P dm<sup>-3</sup> o contrário ocorreu no tratamento com solo ND onde maior atividade foi observada no menor nível de P. A presença de FMA associados à mangabeira propiciou aumento na produção da fosfatase ácida no solo, com maior atividade em solo ND provavelmente devido à presença da microbiota nativa. Confirma-se a possibilidade de uso da atividade da fosfatase ácida como indicadora de alterações nas propriedades microbianas do solo.

**Palavras-chave** Fosfatase ácida · Associação micorrízica · Enzima no solo · Fruteira · Fósforo · Emissão de CO<sub>2</sub>

Cynthia Costa · Uided Cavalcante · Leonor Maia- Departamento de Micologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Nelson Chaves, s/n, Cid. Universitária, CEP 50670-420 Recife, PE, Brasil

Ana Luiza Silva- AEB- FABEJA- Sítio Inhumas 140, Km 0,5, Belo Jardim-PE, Brasil  
Mestre em Biologia de Fungos

Sônia Pereira- Departamento de Química e Biotecnologia, Instituto de Tecnologia de Pernambuco, Av. Prof. Luiz Freire, 700, Cid. Universitária, CEP 50740-540 Recife, PE, Brasil

Venézio dos Santos- IPA- Instituto de Pesquisa Agropecuária de Pernambuco. Av. Gal. San Martin 1371, CEP 50761, Recife, PE.

Tel.: +55-81-3271-8865; fax: +55-81-3271-8482 leonorcmaia@hotmail.com

Microbial activity in soil cultivated with seedlings of *Hancornia speciosa* Gomes associated with arbuscular mycorrhizal fungi

**Abstract** - The effect of arbuscular association and phosphorus fertilization on the activity of acid phosphatase and emission of CO<sub>2</sub> in soil cultivated with seedlings of *Hancornia speciosa* was investigated in a greenhouse. The experiment was carried out in a completely randomized factorial design (2 × 3 × 2) corresponding to two soil treatments (fumigated-F and non-fumigated-NF), three AMF treatments (200 spores/plant of *Gigaspora albida* Schenck & Smith, *Glomus etunicatum* Becker & Gerd. and an uninoculated control), two P treatments (3 and 93 mg dm<sup>-3</sup> of P) and four replicates. After 150 days, higher activity of acid phosphatase occurred in soil with plants associated with *G. albida* in relation to the control treatment and the amount of CO<sub>2</sub> liberated did not vary among the treatments of inoculation. However, the values presented by soil with AMF were higher than those of uninoculated treatments. In soil with low P (3 mg P dm<sup>-3</sup>), treatment inoculated with *G. etunicatum* presented higher amount of C-CO<sub>2</sub> in relation to that supplied with 93 mg P dm<sup>-3</sup>. The interaction of soils with the AMF showed higher activity of the phosphatase in fumigated soil inoculated with *G. albida* in relation to *G. etunicatum*, while in nonfumigated soil, higher values of phosphatase were found in plants inoculated with both AMF comparing with the control. Higher activity of acid phosphatase was shown in fumigated soil, presenting 93 mg P dm<sup>-3</sup>; the opposite occurred in the treatment with NF soil, where higher activity occurred in soil with the lower level of P. The presence of AMF associated to the plants induced increase on production of acid phosphatase, with higher activity in NF soil probably due to the presence of the native microbiota. It was confirmed the possibility of use of the acid phosphatase activity as indicative of changes on microbial soil properties.

**Key words:** Acid phosphatase · Mycorrhizal association · Soil enzyme · Fruit three · Phosphorus · CO<sub>2</sub> emission

## **Introdução**

Embora indispensável ao crescimento das plantas, a maior parte do fósforo presente no solo está na forma orgânica, não disponível (Schachtman et al. 1998). Os microrganismos do solo, por mineralização, transformam frações orgânicas em inorgânicas que podem assim ser absorvidas pelas raízes das plantas. A morfologia e a geometria das raízes (Lynch 1995) são importantes para maximizar a absorção desse elemento, daí porque os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) têm relevante papel na absorção, explorando maior volume de solo pelo raio de ação do seu micélio (Smith & Read 1997).

As hifas do FMA absorvem o fósforo da solução do solo por processo ativo, transformando em grânulos de polifosfato, que são transportados até os arbúsculos, onde são hidrolisados pelas fosfatases, liberando fósforo inorgânico, que é transportado passivamente para o hospedeiro e translocado via xilema às folhas onde, possivelmente, atua de modo regulatório sobre a simbiose (Moreira & Siqueira 2002).

Kim et al. (1998) consideram que muitas das enzimas do solo refletem a atividade de microrganismos presentes neste ambiente. As fosfatases (E.C. 1.1.3.2. ortofosfórico monoéster fosfohidrolase) compreendem um grupo de enzimas que catalisam a hidrólise de ésteres e anidridos do ácido fosfórico e são classificadas em ácidas, neutras e alcalinas, sendo a ácida detectada em células de animais, vegetais e microbianas, e as alcalinas encontradas apenas em células de animais e microrganismos (Burns 1978). A atividade dessas enzimas tem sido estudada como indicadora de degradação de solos (Wick et al. 1998), bem como para estabelecer índices de qualidade do solo, sendo correlacionada com as propriedades biológicas e bioquímicas dos mesmos (Trasar-Cepeda et al. 2000; Alef & Nannipieri 1995).

As fosfatases transformam o fósforo da forma não disponível para forma de íons de fosfato que podem ser absorvidos pelos microrganismos e plantas (Eivazi & Tabatabai 1977). O fósforo é transportado pela hifa do FMA como íons de polifosfato e nesse transporte atuam fosfatases alcalinas, enzimas específicas dos FMA (Gianinazzi-Pearson & Gianinazzi 1978), que de alguma forma estão envolvidas no processo de aquisição do P em plantas micorrizadas (Gianinazzi et al. 1992). Na associação micorrízica, essas enzimas atuam por um mecanismo de auto-regulação, sendo inibidas com o aumento da concentração de P (Silveira 1992). Esse comportamento foi observado em plantas de soja, onde a atividade de fosfatase alcalina na biomassa fúngica das raízes foi reduzida após aplicação do fosfato (Guillemin et al. 1995).

A utilização de parâmetros bioquímicos e biológicos utilizados isoladamente como índice de crescimento e atividade microbiana do solo não refletem os processos edáficos de forma aceitável, devido à complexa dinâmica do crescimento e atividade microbiana no solo. No entanto, medidas de parâmetros como respiração do solo, biomassa microbiana total e especialmente a atividade enzimática funcionam como índice biológico e indicador sensível da qualidade do solo (Filip 2002) e das variações induzidas por fatores ambientais (Skujins 1978). A atividade enzimática é importante na catálise de inúmeras reações necessárias ao ciclo de vida dos microrganismos e na degradação da matéria orgânica do solo (Frankenberger & Dick 1983). Porém, fatores naturais e antropogênicos podem afetar as enzimas do solo, influenciando a produção, atividade, comportamento catalítico e a persistência das mesmas neste ambiente (Gianfreda & Bollag 1996).

Ao contrário da fosfatase alcalina, que tem sido identificada como ativa em FMA, a atividade da fosfatase ácida ainda não tem seu papel fisiológico bem definido (Duff et al. 1994; Marschner & Dell 1994). Estudos com *Scutellospora calospora* Nicol. & Gerd. e *Glomus intraradices* Schenck & Smith em associação com *Plantago lanceolata* L. evidenciaram que a estimativa da atividade da fosfatase ácida do micélio extraradical dos FMA pode contribuir significativamente para indicar a atividade de fosfatases totais (van Aarle et al. 2002).

Pesquisas desenvolvidas sobre atividade enzimática e FMA enfocam principalmente a presença da fosfatase alcalina em micélio externo e raízes de plantas micorrizadas. Por outro lado, pouco se conhece sobre a contribuição dos FMA no aumento da atividade da fosfatase ácida e como indicadora da atividade microbiana em solo, onde os estudos são praticamente inexistentes.

Neste trabalho foi avaliada a influência da micorrização, da desinfestação e do fósforo no solo na atividade da fosfatase ácida e na emissão de CO<sub>2</sub> em solo cultivado com mudas de mangabeira, em casa de vegetação.

## **Material e métodos**

O trabalho foi desenvolvido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial de  $2 \times 3 \times 2$ , sendo 2 tratamentos de solo (desinfestado e não desinfestado com brometo de metila), 3 tratamentos de inoculação com FMA (200 esporos de

*Gigaspora albida* Schenck & Smith, *Glomus etunicatum* Becker & Gerd. e controle sem inoculação) e 2 níveis de P (3 e 93 mg dm<sup>-3</sup> de solo) correspondendo, respectivamente, ao P do solo e à fertilização fosfatada em dose alta, com quatro repetições. O fósforo foi adicionado ao solo na forma de fosfato monobásico de potássio em solução. O solo utilizado apresentou as seguintes características: textura arenosa (areia 16%, silte 3% e argila 4%), pH (5,4), fósforo (3 mg dm<sup>-3</sup>), alumínio, cálcio, magnésio e potássio (0,50; 0,60; 0,70 e 0,03 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>), respectivamente.

Para inoculação dos FMA foi utilizada suspensão contendo aproximadamente 200 esporos g<sup>-1</sup> solo, 30 dias após a germinação das mudas. Após 150 dias do início do experimento, amostras de solo foram retiradas para estudos de atividade da fosfatase ácida e emissão de CO<sub>2</sub>.

A atividade da fosfatase ácida foi realizada segundo Eivazi & Tabatabai (1977). Em 2,0 g de solo, foram adicionados 8 mL de solução tampão MUB (pH 6,5) e 2 mL de solução de *p*-nitrofenil fosfato (0,025 M); os tubos foram agitados em vortex e incubados a 37 °C por 1 hora. A seguir foram adicionados 2 mL de CaCl<sub>2</sub> (0,5 M) e 8 mL de NaOH (0,5 N), sendo os tubos novamente agitados. A mistura foi filtrada (papel de filtro Whatman n° 1) e a atividade de fosfatase ácida detectada em espectrofotômetro a 400nm. Nos tratamentos controle, a solução de *p*-nitrofenil fosfato (0,025 M) foi colocada após a adição do CaCl<sub>2</sub> e NaOH. A curva padrão foi determinada a partir de uma solução estoque de *p*-nitrofenol (1000 mg dm<sup>-3</sup>) seguindo o mesmo procedimento adotado para as amostras e os resultados expressos em µg *p*-nitrofenol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> de solo seco.

A respirometria foi avaliada segundo metodologia de Grisi (1977). Recipientes de plástico com 100 g de solo com umidade ajustada para 50%, foram colocados em frascos de vidro contendo uma lâmina de água destilada (10 mL) e um recipiente com 10 mL de KOH (0,5 N), hermeticamente fechados. Após incubação por 15 dias (25 – 28 °C), o CO<sub>2</sub> absorvido pela solução alcalina foi determinado por titulação com HCl (0,1 N), utilizando-se solução de fenolftaleína (1%) e metilorange (0,1%) como indicadores. Os valores de CO<sub>2</sub> acumulado foram expressos em µg C - CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> solo seco.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo programa SANEST e as médias comparadas pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

## Resultados e discussão

Maior atividade da fosfatase ácida foi registrada no solo com as mudas associadas a *G. albida* em relação ao solo com as mudas controle. Embora não tenha havido diferença significativa o solo com mudas associadas a *G. etunicatum* apresentou maiores valores de atividade enzimática que o controle (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos em solo da rizosfera de tomateiros (*Lycopersicon esculentum* Mill.) em associação com *G. etunicatum* e bactéria solubilizadora de fosfato; neste caso, a atividade da fosfatase ácida foi significativamente maior no solo com mudas inoculadas separadamente e/ou em conjunto, em relação ao solo com plantas controle (Kim et al. 1998). No entanto, van-Aarle et al. (2002) não observaram diferenças na atividade da fosfatase ácida em solo cultivado com plantas de *Plantago lanceolata* L. micorrizadas ou não; os autores concluíram que as fosfatases produzidas por FMA não são ativamente liberadas no solo.

**Tabela 1** Atividade da fosfatase ácida e emissão de CO<sub>2</sub> em solo cultivado com mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), associada a *Gigaspora albida* e *Glomus etunicatum*, em casa de vegetação, independentemente dos tratamentos do solo, referentes ao fósforo e desinfestação

Tratamento de Inoculação	Fosfatase ácida ( $\mu\text{g mL h}^{-1}$ )	$\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1}$ de solo seco
<i>G. albida</i>	22,62a	10,79a
<i>G. etunicatum</i>	21,42ab	15,46a
Não inoculado	20,65b	9,73a
CV (%)	5,69	48,06

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Avaliando o efeito da colonização com *Glomus fasciculatum* (Thaxter sensu Gerdemann) Gerdemann & Trappe na atividade da fosfatase ácida em raízes de amendoim (*Arachis hypogaeae* L. cv. DH 3-30.), Krishna et al. (1983) observaram que não houve diferença significativa entre os tratamentos de inoculação em relação à atividade dessa enzima. O mesmo foi observado em plantas de cebola (*Allium cepa* L.), comparando raízes com e sem colonização por FMA (Gianinazzi-Pearson & Gianinazzi 1978).

A maior transferência de fósforo dos FMA para a planta hospedeira ocorre principalmente nas células das raízes que contêm arbúsculos (Sieverding 1991). Correlação entre a percentagem de colonização micorrízica e a atividade da fosfatase alcalina foi

observada em plantas de amendoim, sugerindo que o aumento dessa enzima é causado pela colonização radicular (Krishna et al. 1983). Em mangabeiras, tanto a percentagem de colonização por arbúsculos, como a concentração de P na parte aérea das mudas foram significativamente maiores nas mudas colonizadas por *G. albida* (dados não mostrados), o que concorda com o registro de maior atividade da fosfatase ácida no solo com as mudas associadas a este fungo (Tabela 1). Os resultados indicam que a micorrização com *G. albida* pode ter contribuído para aumentar a atividade da fosfatase ácida nas raízes e, conseqüentemente, alterado a atividade desta enzima no solo. De acordo com Allen et al. (1981), a presença de FMA pode influenciar a atividade da fosfatase na rizosfera de plantas; entretanto, o mecanismo relacionado com este processo metabólico ainda não está totalmente esclarecido.

A quantidade de C-CO<sub>2</sub> liberado não diferiu significativamente entre os tratamentos de inoculação; entretanto, os solos com mudas associadas a FMA apresentaram tendência de maiores valores (Tabela 1). Esse resultado parece indicar que a biomassa microbiana presente no solo com FMA evidencia maior atividade metabólica do que nos solos sem FMA. A emissão de CO<sub>2</sub>, associada a outros parâmetros, pode fornecer informações relevantes sobre o comportamento dos microrganismos do solo diante de variações ambientais adversas (Jenkinson & Ladd 1991; Santruckova & Straskraba 1991). Garcia et al. (1994) observaram correlação positiva entre a emissão de CO<sub>2</sub> e a atividade enzimática em solos sujeitos a severos processos de desertificação.

A evolução de CO<sub>2</sub> no solo cultivado com mudas associadas a *G. etunicatum* e adubado com 3 mg P dm<sup>-3</sup> foi superior ao dos solos nos demais tratamentos de inoculação. Por outro lado, nenhuma diferença significativa foi observada entre os tratamentos com plantas micorrizadas cultivadas em solo contendo 93 mg P dm<sup>-3</sup> de P (Tabela 2). O aumento do nível de fósforo provocou redução na quantidade de C-CO<sub>2</sub> apenas no solo com mudas associadas a *G. etunicatum*, não alterando os valores da atividade respiratória nos demais tratamentos de inoculação (Tabela 2).



**Tabela 2** Influência da adubação fosfatada e da associação com *Gigaspora albida* e *Glomus etunicatum*, na emissão de CO<sub>2</sub>, independentemente da desinfestação do solo, quando cultivado com mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), em casa de vegetação

Tratamento de Inoculação	$\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1}$ de solo seco	
	$\text{mg P dm}^{-3}$	
	3	93
<i>G. albida</i>	9,33bA	12,26aA
<i>G. etunicatum</i>	18,93aA	12,00aB
Não inoculado	7,46bA	12,00aA
CV (%)	48,06	

Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Em solo desinfestado houve maior atividade da fosfatase ácida no solo com mudas associadas a *G. albida* do que no tratamento com *G. etunicatum* (Tabela 3). Os dois tratamentos de inoculação não diferiram do controle. A maior atividade da enzima no tratamento com *G. albida* isso sugere que a atuação do fungo pode contribuir para aumentar a atividade de fosfatase. Resultados similares foram observados na rizosfera de tomateiros associados com *Glomus etunicatum* (Kim et al. 1998).

**Tabela 3** Efeito da desinfestação do solo e da associação com *Gigaspora albida* e *Glomus etunicatum*, independentemente do P, na atividade da fosfatase ácida em solo cultivado com mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), em casa de vegetação

Tratamento de inoculação	Solo Desinfestado	Solo Não Desinfestado
	Atividade da fosfatase ácida ( $\mu\text{g mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )	
<i>G. albida</i>	22,53aA	22,70aA
<i>G. etunicatum</i>	20,23bB	22,60aA
Não inoculado	20,81abA	20,49bA
CV (%)	5,69	

Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

No solo natural (não desinfestado), maior atividade da fosfatase ácida foi detectada nos tratamentos inoculados com FMA. Nos tratamentos com mudas associadas a *G. albida* ou não micorrizadas a atividade da fosfatase foi a mesma nos dois solos (desinfestado e natural); no tratamento com *G. etunicatum*, no entanto, a atividade da enzima foi maior no solo natural do que no desinfestado (Tabela 3). Neste caso, a presença de outros microrganismos do solo e

células de plantas pode ter contribuído para aumentar a atividade da fosfatase ácida, tal como sugerido por Alef et al. (1995).

A detecção de atividade da fosfatase ácida nas raízes das plantas pode contribuir para aumentar a atividade enzimática na rizosfera. Neal et al. (1973) descreveram que a atividade de fosfatase no solo foi alterada pelo crescimento de certas gramíneas; comportamento semelhante foi observado na rizosfera de plantas jovens de cevada, em relação à rizosfera de plantas mais maduras (Hojberg et al. 1996).

Nos tratamentos com solo desinfestado maior atividade da fosfatase ácida ocorreu no que apresentava maior dose de P (93 mg dm<sup>-3</sup>). Em solo não desinfestado, o contrário foi observado, com maior atividade da enzima no solo com a dose de P mais baixa (3 mg dm<sup>-3</sup>). Entre os tratamentos de solo, menor atividade enzimática foi observada em solo desinfestado e com baixo P (Tabela 4).

**Tabela 4** Efeito da desinfestação do solo e da adubação fosfatada, independentemente da associação com *Gigaspora albida* e *Glomus etunicatum*, na atividade da fosfatase ácida em solo cultivado com mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), em casa de vegetação

Doses de P (mg dm <sup>-3</sup> )	Solo Desinfestado	Solo Não Desinfestado
	Atividade da fosfatase ácida (µg /mL /h)	
3	20,51bB	22,67aA
93	21,88aA	21,19bA
CV (%)	5,69	

Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05)

Gianinazzi-Pearson & Gianinazzi (1976) avaliaram o efeito da micorrização com *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe da adubação fosfatada sobre a produção de fosfatases em raízes de *Allium cepa* L. A colonização das raízes não alterou a atividade da fosfatase ácida, independentemente da adição mineral de fósforo, porém a fosfatase alcalina foi reduzida no tratamento com adição de fósforo. A influência da fertilização com fosfato na atividade fisiológica da colonização micorrízica arbuscular em plantas de soja [*Glycine Max* (L.) Merr., cv. Mapple Arrow] e abacaxi [*Ananas comosus* (L.) Merr., Queen Tahiti variedade], utilizando a atividade de fosfatase alcalina como marcador da eficiência da simbiose foi estudada por Guillemín et al. (1995). A percentagem total de colonização não foi relacionada com o crescimento da planta, mas a atividade da fosfatase alcalina confirmou essa

relação. Por outro lado, nenhuma mudança significativa foi encontrada entre os tratamentos com fósforo e os tipos de solo.

Pesquisas sobre a influência dos FMA na atividade da fosfatase ácida na rizosfera de plantas têm apresentado respostas variadas, devido às diferentes combinações hospedeiro-endófito (Azcon et al. 1982; Rao & Tarafdar 1993). A atividade da fosfatase ácida na rizosfera de plantas de pimenta não foi alterada pela presença de hifas de *Glomus invermanium* Hall, porém a quantidade de enzima exsudada pela raiz micorrizada foi reduzida (Joner & Jakobsen 1995).

## **Conclusões**

Os resultados indicam que a simbiose micorrízica com *Gigaspora albida* pode contribuir para aumento da atividade da fosfatase ácida no solo na ausência de outros microrganismos do solo. Confirma-se a possibilidade de uso da atividade da fosfatase ácida como indicadora de alterações nas propriedades microbianas do solo. A desinfestação do solo bem como a fertilização fosfatada influenciam a atividade microbiana em solo cultivado com mudas de mangabeira.

## **Referências**

- van Aarle IM, Olsson PA, Söderström B (2002) Arbuscular mycorrhizal fungi respond to the substrate pH of their extraradical mycelium by altered growth and root colonization. *New Phytol* 155: 173-182.
- Alef K, Nannipieri P (1995) In: Alef, K, Nannipieri P (eds) *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic Press, London. 576p.
- Alef K, Nannipieri P, Trazar-Cepeda C (1995) In: Alef, K.; Nannipieri, P (eds) *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, London. pp. 335-344.
- Allen MF, Sexton JC, Moore TS Jr, Christesen M (1981) Influence of phosphate source on vesicular-arbuscular mycorrhizae of *Bouteloua gracilis*. *New Phytol* 87: 687-694
- Azcon R, Borie F, Barea JM (1982) Exocellular phosphatase activity of lavender and wheat roots as affected by phytate and mycorrhizal inoculation. In: Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V, Trouvelot A (eds) *Les Mycorhizes: Biologie et Utilisation*. INRA, Dijon, pp. 83-85.
- Burns RG (1978) *Soil enzymes*. Academic Press, New York, 379p

- Duff SMG, Sarath G, Plaxton WC (1994) The role of acid phosphatases in plant phosphorus metabolism. *Physiol Plant* 90: 791-800
- Eivazi F, Tabatabai MA (1977) Phosphatases in soils. *Soil Biol Biochem* 9:167-172
- Filip Z. (2002) International approach to assessing soil quality by ecologically related biological parameters. *Agric Ecosyst Environ* 188: 169-174
- Frankenberger Jr, W T, Dick WA (1983) Relations between enzymes activities and microbial growth and activity indices in soil. *Soil Sci Soc Am J* 47: 945-951
- Garcia C, Hernandez T, Costa F (1994) Microbial activity of soil under Mediterranean environmental conditions. *Soil Biol Biochem* 26: 1185-1191
- Gianfreda L, Bollag JM (1996) Influence of natural and anthropogenic factors on enzyme in soil In: Stotzki G, Bollag JM (eds) *Soil Biochemistry*. Marcel Decker, New York, pp. 123-193
- Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V, Tisserant B, Lemoine MC (1992) Protein activities as potencial markers of functional endomycorrhizas in plant. In: Read DJ, Lewis DH, Fitter AH, Alexander IJ (eds) *Mycorrhizas in Ecosystems*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 333-339
- Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S (1976) Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Physiol Veg* 14: 833-841
- Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S (1978) Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza. II. Soluble alkaline phosphates specific to mycorrhizal infection in onion roots. *Physiol Plant Pathol* 12: 45-53
- Grisi BM (1977) Temperature increase and its effects on microbial biomass and activity of tropical and temperate soils. *Rev Microbiol* 28: 5-19
- Guillemin JP, Orozco MO, Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S (1995) Influence of phosphate fertilization on fungal alkaline phosphatase and succinate dehydrogenase activities in arbuscular mycorrhiza of soybean and pineapple. *Agric Ecosyst Environ* 53: 63-69
- Hojberg O, Binnerup SJ, Sorensen J (1996) Potencial rates of ammonium oxidation, nitrite oxidation, nitrate reduction and denitrification in the young barley rhizosphere. *Soil Biol Biochem* 28: 47-54
- Jenkinson DS, Ladd JM (1991) Microbial biomass in soil: movement and turnover. In: Paul EA, Ladd JM (eds) *Soil Biochemistry*. Marcel Dekker, New York, pp. 415-471
- Joner EJ, Jakobsen I (1995) Growth and extracellular phosphatase activity of arbuscular mycorrhizal hyphae as influenced by soil organic matter. *Soil Biol Biochem* 27: 1153-1159

- Kim KY, Jordan D, McDonald GA (1998) Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. *Biol Fertil Soils* 26: 79-87
- Krishna KR, Bagyaraj DJ, Papavinasasundaram KG (1983) Acid and alkaline phosphatase activities in mycorrhizal and uninfected roots of *Arachis hypogae* L. *Ann Bot* 51: 551-553
- Lynch, J (1995) Root architecture and plant productivity. *Plant Physiol* 109: 7-13
- Marschner H, Dell B (1994) Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil* 159: 89-102
- Moreira FMS, Siqueira JO (2002) Micorrizas. In: Moreira FMS, Siqueira JO. (eds). *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, pp. 473-622.
- Neal JL, Larson RI, Atkinson TG (1973) Changes in rhizosphere populations of physiological groups of bacteria related to substitution of specific pairs of chromosomes in spring wheat. *Plant Soil* 39: 209-212
- Rao AV, Tarafdar JC (1993) Role of VAM fungi in nutrient uptake and growth of clusterbean in an arid soil. *Arid Soil Res Rehabil* 7: 275-280
- Santruckova H, Straskraba M (1991) On the relationship between specific respiration activity and microbial biomass in soils. *Soil Biol Biochem* 23: 525-532
- Silveira APD (1992) Micorrizas. In: Cardoso EJBN, Tsai SM, Neves MCP (eds) *Microbiologia do Solo*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, pp. 257-282
- Schachtman DP, Robert JR, Ayling SM (1998) Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiol* 116: 447-453
- Sieverding E (1991) Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Eschborn: Detsche Gesllschft Für technische. Zuscimmenarbeit, 365p.
- Skujins J (1978) History of abiotic soil enzyme research. In: Burns RG (ed) *Soil Enzymes*. Academic Press, New York.
- Smith SE, Read DJ (1997) *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, San Diego, 605p.
- Trasar-Cepeda C, Leirós MC, Seoane S, Gil-Stores F (2000) Limitations of soil enzymes as indicators of soil pollution. *Soil Biol Biochem* 32: 1867-1875
- Wick B, Kähne RF, Vlek, LC (1998) Soil microbiological parameters as indicators of soil quality under improved fallow management system in south-western Nigeria. *Plant Soil* 202: 97-107

## CAPÍTULO 7

Estabelecimento em campo de mudas micorrizadas de mangabeira  
(*Hancornia speciosa* Gomes)

Estabelecimento em campo de mudas micorrizadas de mangabeira  
(*Hancornia speciosa* Gomes)

**Resumo** - Com o objetivo de avaliar a sobrevivência e o desenvolvimento de mudas de mangabeira associadas com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em condições de campo, foi instalado um experimento na Estação Experimental de Itapirema (Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, Goiana-Pernambuco). O solo apresentou textura do tipo Areia Franca, com 3 mg de P dm<sup>-3</sup> de solo. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com três tratamentos (inoculação com *Gigaspora albida* Schenck & Smith, *Glomus etunicatum* Becker & Gerd. e controle sem inoculação) e 4 repetições. O espaçamento entre plantas foi 2,5m × 2,5m (área da planta = 6,25m<sup>2</sup>). Cada parcela medindo 10m × 10m foi constituída por 16 plantas, sendo 4 plantas úteis, ocupando área total de 1536m<sup>2</sup>. Amostras do solo foram coletadas, antes do transplântio, para quantificação dos esporos, determinação da infectividade e identificação das espécies de FMA nativas. O número de esporos, nas áreas das parcelas, variou de 62 a 153 esporos/50g de solo e a infectividade de 6,73 a 7,25%. Foram identificadas 16 espécies de FMA pertencentes aos gêneros *Acaulospora* (4), *Archaeospora* (1), *Gigaspora* (1), *Glomus* (5) e *Scutellospora* (5). São apresentados resultados da primeira avaliação aos 90 dias: a taxa de sobrevivência nas mudas associadas com *G. albida* e nas mudas não inoculadas foi de 100%, enquanto no tratamento com *G. etunicatum* 81% das mudas sobreviveram. Não houve diferença significativa entre os tratamentos de inoculação para altura, diâmetro do caule e número de ramos, com tendência de maior crescimento na associação com *G. albida*.

## Introdução

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é nativa do Brasil, que produz frutos comestíveis, agradáveis e com alto teor protéico, os quais apresentam grande aceitabilidade no mercado. A planta é encontrada em várias regiões do País, desde os Cerrados da região Centro-Oeste, até as regiões Norte e Sudeste, sendo mais abundante nas áreas de tabuleiros e baixadas litorâneas da região Nordeste (Vieira Neto, 1994), onde os Estados da Bahia e Sergipe se destacam como maiores produtores (IBGE, 1999).

O estabelecimento da mangabeira após transplântio ao campo é um dos sérios problemas enfrentados por esta cultura (Leitão-Filho & Martins, 1981). Por outro lado, o emprego de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) no sistema de formação e manutenção de mudas tem demonstrado grande potencial como alternativa para o desenvolvimento de cultivo racional e eficiente de mudas de diversas fruteiras (Jaizme-Vega & Azcón, 1995). A inoculação com FMA, além de minimizar o uso de fertilizantes pode favorecer o crescimento de plantas mais vigorosas, com maior poder de pegamento e com maiores possibilidades de resistir a condições adversas do ambiente.

Os FMA se destacam por estarem associados a diversas culturas tropicais de interesse econômico, como também pelos benefícios promovidos à planta hospedeira. A condição de simbionte obrigatória limita a produção desses fungos em larga escala, devido às grandes quantidades de inóculo necessárias para cultivo em campo. No entanto, a prática de pré-inoculação para plantas que passam pela fase de viveiros, constitui alternativa bastante promissora e tem sido realizada com sucesso. Entretanto, é necessário o conhecimento prévio da melhor combinação hospedeiro-FMA para garantir resultados promissores, pois fungos introduzidos geralmente são efetivos em promover crescimento da planta em condições controladas, mas podem apresentar comportamento diferenciado em ambiente de campo. No entanto, existem outros fatores, como a baixa efetividade do isolado de FMA em absorver P, destruição das hifas por animais e a habilidade das hifas em transferir metabólitos entre as plantas, além da disponibilidade de água do solo (Fitter, 1985).

A pré-inoculação na fase de mudas garantiu a precocidade na formação de cafeeiros (Siqueira et al., 1993), cebolas (Charron et al., 2001); aceroleiras (Costa et al., 2001), maracujazeiros-amarelo (Cavalcante et al., 2002) e, recentemente, para mudas de mangabeira, onde foi conseguida redução de 30 dias de permanência dessas plantas em viveiro (Costa et al., 2003).



Trabalhos desenvolvidos em campo com plantas associadas a FMA são reduzidos, provavelmente devido ao tempo e custos requeridos, havendo pouco entendimento da complexa interação entre os simbiossiontes nessas condições. Alguns trabalhos têm demonstrado os efeitos benéficos da micorrização em condições de campo, como foi visto em macieiras (Plenchette et al., 1981), milho (Sylvia et al., 1993) e linho (Tringstrup et al., 1998). Em cafeeiro, a pré-colonização proporcionou aumento da produtividade média nos três primeiros anos de experimento em campo, com sete sacas/ha/ ano, representando estimativa de lucro da ordem de US\$ 400,00/hectare (Siqueira et al., 1993).

A inexistência de trabalhos relacionados ao comportamento de mangabeiras associadas a FMA em condições de campo mostra a necessidade de mais estudos, a longo prazo, para verificar os possíveis benefícios produzidos por esses fungos no desenvolvimento das plantas e produção de frutos nestas condições de cultivo.

## **Material e métodos**

O experimento está sendo conduzido na Estação Experimental de Itapirema da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, localizada no município de Goiana-PE. A área do experimento de campo, que anteriormente era de mata e foi desbastada para plantio com urucum (*Bixa orellana* L.), estava sem cultivo há cerca de quatro anos.

O experimento foi instalado com delineamento em blocos ao acaso, com três tratamentos de inoculação (*Gigaspora albida* Schenck & Simth, *Glomus etunicatum* Becker & Gerd. e controle sem inoculação), com 4 repetições. O espaçamento entre plantas foi 2,5m × 2,5m = 6,25m<sup>2</sup> (área da planta). Cada parcela 10m × 10m = 100m<sup>2</sup> foi constituída por 16 plantas, sendo 4 plantas úteis, com área experimental total de 1536m<sup>2</sup>.

Antes do transplante das mudas para o campo, amostras de solo foram coletadas nas covas de plantio para caracterização físico-química, contagem direta dos esporos, identificação das espécies e avaliação do potencial de infectividade dos FMA nativos.

O solo apresentou as seguintes características: 3 mg de P dm<sup>-3</sup> de solo; pH em água 6,20; 0,09 (K), 0,00 (Al), 1,55 (Ca) e 0,60 (Mg) cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; 64% (areia grossa), 24% (areia fina) 2% (silte) e 10% (argila), com classe textural Areia Franca.

Para a contagem direta e identificação das espécies de FMA, 50 g de solo foram processadas pelas técnicas de peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963) e

centrifugações em água e sacarose (Jenkins, 1964). Os esporos extraídos do solo foram contados em placa canaletada, montados em lâminas com PVLG (álcool-polivinílico em lactoglicerol) e com reagente de Melzer + PVLG (1:1) e as espécies identificadas utilizando o manual de Schenck & Pérez (1990) e o site do INVAM ([www.invan.wvu.edu](http://www.invan.wvu.edu)).

A infectividade dos esporos nativos de FMA foi avaliada em casa de vegetação utilizando milho (*Zea mays* L.) como planta hospedeira, cultivada no solo diluído (proporção de 1:10), correspondendo a 30 mL do solo nativo: 270 mL de solo desinfestado com brometo de metila, com quatro repetições, perfazendo o total de 48 unidades. Após 45 dias, foi feita a avaliação, com base na colonização (INVAM, 2001) em 0,5 g de raízes diafanizadas (KOH 10%), coradas com azul de Trypan em lactoglicerol a 0,05% (Phillips & Hayman, 1970); a percentagem de raiz colonizada avaliada em 100 fragmentos pelo método de intersecção dos quadrantes (Giovannetti & Mosse, 1980).

Os resultados do potencial de infectividade foram enquadrados nas categorias de colonização radicular sugeridas por Kormanik & McGraw (1982): classe 1 = 0 - 5%; classe 2 = 6 - 25%; classe 3 = 26 - 50%; classe 4 = 51 - 75%; classe 5 = 76 - 100%.

O experimento está em andamento e permanecerá no campo com avaliações semestrais constando de: taxa de sobrevivência, altura, diâmetro do caule e número de ramos das plantas e posteriormente produção. A primeira avaliação foi realizada 90 dias após a transferência para o campo e os dados submetidos à análise de variância utilizando o programa SANEST, com as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05\%$ ). Os dados da infectividade dos esporos de FMA nativos foram avaliados da mesma forma.

## **Resultados**

A contagem direta dos esporos de FMA obtidos do solo do campo, antes do transplântio, indicou que a densidade populacional de FMA nativos variou de 62 a 153 esporos em 50g de solo (Tabela 1). A população inicial dos esporos de FMA será utilizada para comparações posteriores, nas avaliações que serão realizadas a cada semestre.

**Tabela 1.** Número de esporos de FMA nativos antes do transplântio das mudas de mangabeira para o campo da Estação Experimental de Itapirema-IPA, Goiana-PE (julho, 2003)

Tratamentos de inoculação	Blocos			
	I	II	III	IV
	Número de esporos 50 g solo <sup>-1</sup> *			
<i>Gigaspora albida</i>	110,75±36,60	70,50±16,32	153,50±34,48	62,00±11,73
<i>Glomus etunicatum</i>	123,25±33,92	104,75±25,36	69,25± 5,39	89,00±19,78
Não inoculado	86,00± 7,82	68,25±11,52	126,50±11,67	90,25± 9,24

\*Média e erro padrão da média.

A área escolhida para o cultivo da mangabeira era considerada de cultura abandonada, pois há quatro anos foi cultivada com urucum; antes do preparo do terreno para a instalação do experimento, o local estava coberto por vegetação herbácea de espécies invasoras. Provavelmente a densidade de esporos de FMA foi elevada devido ao histórico de cultivo anteriormente apresentado por essa área.

Embora a densidade de esporos tenha sido alta, o potencial médio de infectividade dos FMA nativos mostrou-se baixo (6,97%) e não diferiu entre as parcelas amostradas. Utilizando as categorias sugeridas por Kormanik & McGraw (1982), os valores obtidos neste trabalho correspondem à classe 2, que apresenta colonização de 6 – 25%

Na área experimental foram identificadas 16 espécies de FMA (Tabela 3). Todas as espécies registradas nessa primeira amostragem foram obtidas diretamente do campo, sem a utilização de cultura armadilha o que pode ter impossibilitado a identificação de espécies que se encontravam na forma de hifas, ou em raízes colonizadas (Souza et al., 2003).

As espécies encontradas no solo de Itapirema encontram-se distribuídas em cinco gêneros (*Acaulospora*, *Archaeospora*, *Gigaspora*, *Glomus* e *Scutellospora*), tendo os dois últimos apresentados os maiores números de espécies (Tabela 2). A ecologia e a distribuição das espécies de FMA estão relacionadas a diversos fatores bióticos e abióticos, como alterações no pH e no nível de fósforo do solo. Como observado neste trabalho, as espécies de *Acaulospora* e *Glomus* ocorreram em solo ligeiramente ácido (pH = 6,2) e baixo teor de fósforo (3 mg de P dm<sup>-3</sup> de solo), o que corrobora com os dados obtidos por outros pesquisadores (Souza et al. 2003; Trufem, 1995; Gomes & Trufem, 1998), os quais registraram a presença desses gêneros em solos com pH ≤ 6,2. Siqueira (1994) menciona que espécies de *Gigaspora* e *Scutellospora* também são comuns em solos ácidos (Tabela 2).

O município de Goiana apresenta cobertura vegetal de Zona da Mata, segundo classificação de Andrade-Lima (1960). Algumas espécies de FMA comumente encontradas

nessa área, como *Acaulospora scrobiculata*, *A. rehmsii*, *Archaeospora leptoticha*, *Gigaspora albida* e *Glomus etunicatum* também foram citadas na região do perímetro irrigado no vale do submédio São Francisco, em Pernambuco (Yano-Melo, 2002) e em área de caatinga na Bahia (Silva et al., 2001; Souza et al., 2003), enquanto *A. foveata* e *A. scrobiculata* foram registradas no município de Goiana -PE (Maia & Trufem, 1990). Pelo menos seis dessas espécies de FMA foram encontrados também em solo com cultivo de manganbeiras (Capítulo 2). Coincidentemente, *Gigaspora albida* e *Glomus etunicatum*, utilizados neste trabalho, foram também encontrados entre os FMA nativos da área onde foi montado o experimento de campo. Como foram isoladas de ambientes diferentes podem apresentar comportamento diferenciado em relação ao hospedeiro.

**Tabela 2.** Espécies de FMA nativos encontrados na Estação Experimental de Itapirema-IPA, Goiana-PE, antes do transplântio das mudas de mangabeira micorrizadas ao campo (julho, 2003)

Fungos Micorrízicos Arbusculares
<i>Acaulospora foveata</i> Trappe & Janos
<i>Acaulospora mellea</i> Spain & Schenck
<i>Acaulospora rehmsii</i> Sieverding & Toro
<i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe
<i>Archaeospora leptoticha</i> (Spain, Sieverding & Schenck) Morton & Redecker
<i>Gigaspora albida</i> Schenck & Smith
<i>Glomus clarum</i> Nicolson & Schenck
<i>Glomus etunicatum</i> Becker & Gerdemann
<i>Glomus glomerulatum</i> Sieverding
<i>Glomus</i> sp. (1)
<i>Glomus</i> sp. (2)
<i>Scutellospora coralloides</i> (Trappe, Gerdemann & Ho) Walker & Sanders
<i>Scutellospora</i> aff. <i>dipurpuracens</i> Morton & Koske
<i>Scutellospora</i> sp. (1)
<i>Scutellospora</i> sp. (2)
<i>Scutellospora</i> sp. (3)

Na primeira avaliação, aos 90 dias, 100% mudas associadas com *G. albida* e das sem inoculação apresentavam-se em bom estado, enquanto 19% das inoculadas com *G. etunicatum* não sobreviveram (Tabela 3). A altura, o diâmetro do caule e o número de ramos não diferiram entre as plantas, considerando os tratamentos de inoculação, embora as mudas em simbiose com *G. albida* tenham apresentado tendência para maior crescimento (Tabela 3).

**Tabela 3.** Taxa de sobrevivência e crescimento das mudas de mangabeira associadas a FMA, 93 dias após o transplante ao campo da Estação Experimental de Itapirema-IPA, Goiana-PE (outubro, 2003)

Tratamentos de inoculação	Taxa de sobrevivência (%)	Altura (cm)	Diâmetro do caule (mm)	Número de ramos
<i>Gigaspora albida</i>	100	23,88a	0,35a	4,12a
<i>Glomus etunicatum</i>	81	19,40a	0,33a	3,53a
Não inoculado	100	21,23a	0,32a	3,25a
CV (%)		34,74	22,09	25,45

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05\%$ ).

### Conclusões parciais

Tanto as mudas micorrizadas como as sem inoculação apresentaram alta taxa de sobrevivência após 90 dias. Os FMA nativos, presentes no solo, podem estar ajudando no estabelecimento em campo, uma vez que o número de esporos foi elevado, embora não tenham apresentado alto potencial de infectividade quando testados em plantas de milho. Neste caso, os FMA nativos podem ser efetivos para a mangabeira. O tempo requerido para um experimento de campo é muito longo e algumas culturas têm desenvolvimento lento, principalmente se as plantas foram oriundas de sementes, como foi o caso das mudas de mangabeira obtidas neste trabalho. Como o experimento é recente, ainda não foi possível observar diferenças significativas nos parâmetros de crescimento entre os tratamentos de inoculação. Por isso, todas as avaliações inicialmente realizadas serão utilizadas como referência nas comparações com dados futuros. Além das medidas de crescimento das plantas, também serão estudados parâmetros microbianos, como biomassa microbiana e atividade enzimática para melhor conhecimento das possíveis melhorias conferidas pelos FMA ao solo.

## Referências bibliográficas

- Andrade-Lima, D. de. 1960. Estudos fitogeográficos de Pernambuco. **Arquivos do Instituto de Pesquisas Agronômicas** **5**: 305-341.
- Cavalcante, U.M.T.; Maia, L.C.; Melo, A.M.M. & Santos, V.F. 2002. Influência da densidade de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **37** (5): 634-649.
- Charron, G.; Furlan, V.; Bernier-Cardou, M. & Doyon, G. 2001. Response of onion plants to arbuscular mycorrhizae 1. Effects of inoculation method and phosphorus fertilization on biomass and bulb firmness. **Mycorrhiza** **11**: 187-197.
- Costa, C.M.C.; Maia, L.C.; Cavalcante, U.M.T. & Nogueira, R.J.M.C. 2001. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de dois genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **36** (6): 893-901.
- Costa, C.M.C.; Cavalcante, U.M.T.; Lima Jr., M. R. & Maia, L.C. 2003. Inoculum density of arbuscular mycorrhizal fungi needed to promote growth of *Hancornia speciosa* Gomes seedlings. **Fruits** **58** (5): 247-254.
- Fitter, A. H. 1985. Functioning of vesicular-arbuscular mycorrhizas under field conditions. **New Phytologist** **99**: 257-265.
- Gerdemann, J.W. & Nicolson, T.H. 1963. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society** **46**: 235-244.
- Giovannetti, M.; Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist** **84**: 489-500.
- Gomes, S.P. & Trufem, S.F.B. 1998. Fungos micorrízicos arbusculares (Glomales, Zygomycota) na Ilha dos Eucaliptos, Represa do Guarapiranga, São Paulo, SP. **Acta Botanica Brasilica** **12**: 395-401.
- IBGE. 1999. **Anuário Estatístico do Brasil**. Rio de Janeiro.
- Jaizme-Vega, M. C. J. & Azcón, E. R. 1995. Responses of some tropical and subtropical cultures to endomycorrhizal fungi. **Mycorrhiza** **5**: 213-217.
- Jenkins, W.R. 1964. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report** **48**: 692.
- Kormanik, P. P. & McGraw, A. C. 1982. **Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots**. Pp. 37-45. In: Schenck, N. C. (ed). Methods and principles of mycorrhizal research. American Phytopathological Society, St. Paul.

- Leitão-Filho, H. F. & Martins, F. R. 1981. Espécies do Cerrado em potencial em fruticultura. In: **XXIX Congresso Anual da Sociedade Americana de Ciências Hortícolas**, UNICAMP. Campinas.
- Maia, L. C. & Trufem, S. F. B. 1990. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em solos cultivados no estado de Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **13**: 89-95.
- Plenchete, C.; Furlan, V. & Fortin, J. A. 1981. Growth stimulation of apple trees in unsterilized soil under field conditions with VA mycorrhiza inoculation. **Canadian Journal of Botany** **59** (11): 2003-2008.
- Phillips, J. M. & Hayman, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infections. **Transactions of the British Mycological Society** **55**: 158-161.
- Schenck, N.C. & Pérez, Y. 1990. **Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi**. 3<sup>rd</sup> ed. Synergistic Publ., Gainesville.
- Siqueira, J. O. 1994. **Micorrizas arbusculares**. Pp. 151-194. In: Araújo, R. S. & Hungria, M. (eds). **Microrganismos de importância agrícola**. EMBRAPA-SPI, Brasília.
- Siqueira, J. O.; Colozzi-Filho, A.; Saggin-Júnior, O. J.; Guimarães, P. T. G. & Oliveira, E. 1993. Crescimento de mudas e produção do cafeeiro sob influência de fungos micorrízicos e superfosfato. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** **17** (1): 53-60.
- Silva, G.A.; Maia, L.C.; Silva, F.S.B. & Lima, P.C.F. 2001. Potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares oriundos de área de caatinga nativa e degradada por mineração, no Estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **24** (2): 135-143.
- Souza, R.G.; Maia, L.C.; Sales, M. & Trufem, S.F.B. 2003. Diversidade e potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares em áreas de caatinga, na Região de Xingó, Estado de Alagoas, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **26** (1): 49-60.
- Sylvia, D. M.; Hammond, L. C.; Bennett, J. M.; Hass, J. H. & Linda, S. B. 1993. Field response of maize to a VAM fungus and water management. **Agronomy Journal** **85** (2): 193-198.
- Thingstrup, I.; Rubaek, G.; Sibbesen, E. & Jakobsen, I. 1998. Flax (*Linum usitatissimum* L.) depends on arbuscular mycorrhizal fungi for growth and P uptake at intermediated but not high soil P levels in the field. **Plant and Soil** **203**: 37-46.
- Trufem, S. B. 1995. Aspectos ecológicos de fungos micorrízicos arbusculares na rizosfera de plantas de restinga da Ilha do Cardoso, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **18**: 51-60.

- Vieira Neto, R. D. 1994. **Cultura de mangabeira**. Circular técnica n. 2. Embrapa-CPATC. Aracajú-SE.
- Yano-Melo, A. M. 2002. **Biologia de fungos micorrízicos arbusculares em solos salinizados**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Pernambuco, Recife.



## **CONCLUSÕES GERAIS**

## CONCLUSÕES GERAIS

A cultura da mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) está em evidência devido ao potencial que apresenta no setor agroindustrial de sucos e sorvetes, despertando estudos para discutir avanços tecnológicos em benefício da exploração racional da cultura. O primeiro simpósio nacional destinado ao estudo desta cultura, realizado de 2 a 4/12/03 em Aracaju-SE, abordou temas variados, desde técnicas de produção até industrialização e comercialização. O conhecimento mais amplo pode gerar resultados promissores para melhor desenvolvimento de fruteiras que apresentam potencial para a agricultura. A aplicação de fungos micorrízicos arbusculares surge como alternativa para produção de mudas em tempo reduzido e com melhor estabelecimento em campo, apresentando relevante importância na nutrição das plantas, tornando-as mais tolerantes a condições adversas de cultivo.

Este trabalho, realizado com o intuito de esclarecer algumas questões e obter novos conhecimentos relativos à melhoria na produção da mangabeira permitiu chegar às seguintes conclusões:

- ▷ Em área com pomar natural de mangaba existem pelo menos 13 espécies de FMA, que apresentam os gêneros *Acaulospora* (5) *Archaeospora* (1), *Entrophospora* (1), *Gigaspora* (1) e *Glomus* (5);
- ▷ Promovendo melhor desenvolvimento de mudas de mangabeira, *Gigaspora albida* pode ser indicada como promissor inoculante micorrízico da cultura;
- ▷ O tempo de produção de mudas de mangabeira pode ser reduzido em 30 dias pela aplicação com cerca de 180 esporos de *G. albida*;
- ▷ A mangabeira não responde à adubação fosfatada e se mostra de excessiva a altamente dependente à micorrização, mesmo em solo deficiente em nutrientes, sendo a resposta dependente do isolado de FMA;
- ▷ A presença de outros microrganismos do solo não interfere na efetividade de *G. albida* em promover maior desenvolvimento das mudas de mangabeira;
- ▷ Sob condições de estresse hídrico a associação com *G. albida* promove maior controle estomático das mangabeiras, evidenciado por menores taxas de transpiração e maior resistência difusiva no horário de maior demanda evaporativa;

- ▷ A simbiose com *G. albida* promove melhor utilização da água, com redução nos danos causados pelo estresse hídrico, além de possibilitar melhor desenvolvimento das mudas em condições diferentes do seu habitat natural;
- ▷ A disponibilidade de água até o nível de 40% da CP não interfere na densidade de esporos de FMA na rizosfera e na colonização radicular de mudas de mangabeira;
- ▷ O potencial hídrico foliar e a concentração de solutos em mangabeira são alterados pela micorrização;
- ▷ Sob condições de 50% de estresse hídrico a associação com *G. albida* promove aumento na concentração de prolina e carboidratos, favorece a redução do potencial hídrico foliar necessário para manutenção da turgescência e do ajustamento osmótico em mudas de mangabeira;
- ▷ A simbiose com *G. albida* confere à mangabeira estratégias de sobrevivência quando submetida a condições de estresse moderado;
- ▷ A simbiose micorrízica pode contribuir para aumento da atividade da fosfatase ácida no solo;
- ▷ Após 90 dias de experimento em campo, o maior índice de estabelecimento (100%) das mudas de mangabeira, são das associadas a *G. albida*;

Os resultados evidenciaram que a prática da pré-inoculação com um isolado de FMA eficiente é capaz de proporcionar melhores condições de desenvolvimento das mudas acarretando, conseqüentemente, benefícios, sob diferentes condições de cultivo. As futuras avaliações a serem realizadas em campo confirmarão a real potencialidade da associação micorrízica em conferir melhorias à cultura da mangabeira.

## **ANEXOS**

# PESQUISA AGROPECUÁRIA BRASILEIRA

## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

1. São aceitos para publicação trabalhos técnico-científicos originais, resultantes de pesquisa de interesse agropecuário, ainda não publicados nem encaminhados à outra revista para o mesmo fim.
2. Uma vez aceitos, os trabalhos não poderão ser reproduzidos, mesmo parcialmente, sem o consentimento expresso da revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB).
3. São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos. Contudo, o Editor, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias.
4. Na elaboração dos originais deverão ser atendidas as normas abaixo:
  - a) Os trabalhos devem ser apresentados em duas cópias impressas, em espaço duplo, e em disquete, no programa Word. O texto será corrido, sem intercalação de tabelas e figuras, que, feitas em folhas separadas, serão anexadas ao final do trabalho; para as Referências, Abstract e relação das legendas das figuras, serão iniciadas folhas novas, mesmo que haja espaço na anterior; as folhas, ordenadas em texto, legendas, tabelas e figuras, serão numeradas sequencialmente. Após as correções sugeridas pela Assessoria Científica, o autor deverá retornar à editoria da revista uma cópia definitiva da versão corrigida, acompanhada de uma cópia em disquete;
  - b) O Resumo e o Abstract devem conter, no máximo, 200 palavras cada;
  - c) No rodapé da primeira página deverão constar a qualificação profissional principal, o endereço postal completo e o endereço eletrônico do(s) autor(es);
  - d) As referências serão normalizadas de acordo com as Normas de Referenciação e Descrição Bibliográfica para o Sistema Embrapa de Informação. Essa publicação é uma adaptação da NBR 6023, da ABNT, de agosto/1989.Os exemplos a seguir constituem os casos mais comuns, fornecidos como modelo:

Artigos de periódicos: CARVALHO, L.P. de; MOREIRA, J. de A.N. Correlações fenóticas envolvendo períodos de floração e rendimento em diferentes linhagens de algodoeiro herbáceo. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.25, n.7, p.983-990, jul. 1990.

Livros: CRUCIANI, D.E. A drenagem na agricultura. São Paulo : Nobel, 1980. 333p.

Trabalhos de congressos: OLIVEIRA, F.A. de. Evapotranspiração, índice de área foliar e desenvolvimento radicular do arroz (*Oryza sativa* L.) sob irrigação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 9., 1979, Campina Grande. Anais. Campina Grande : UFPB/CCT, 1980. p.145-150.

- e) É norma da Revista não citar trabalhos extraídos de resumos e abstracts, trabalhos no prelo e comunicação pessoal.
  - f) É norma da Revista não discutir dados não apresentados.
5. As figuras devem ser apresentadas com qualidade que permita boa reprodução gráfica; devem ter 7,2 cm ou 14,8 cm de largura; devem ser enviadas em disquete, no programa Word, de maneira que possam ser editadas para possíveis correções, acompanhadas de uma cópia impressa. Quando for utilizado um outro software para criação das figuras, deve ser usado o recurso de "copiar e colar" para que sejam inseridas em arquivo Word. A chave das convenções adotadas deve ser incluída na área da figura. As fotografias não devem ser montadas, mas apenas colocadas em envelopes.

6. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em TÍTULO, AUTORES, RESUMO, ABSTRACT, NOTAS DE RODAPÉ, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS E DISCUSSÃO, CONCLUSÕES, AGRADECIMENTOS e REFERÊNCIAS.

7. Outros pormenores para confecção de trabalhos a serem enviados à PAB são fornecidos, por requisição dos interessados, pelo Editor.

8. Os autores receberão, sem ônus, 20 separatas do seu artigo publicado. Aqueles que desejarem receber além desse número deverão avisar ao Editor, com antecedência, e assumir o custo das cópias solicitadas.

# NORMAS GERAIS PARA PUBLICAÇÃO

1. A Acta Botanica Brasilica (Acta bot. bras.) publica em Português, Espanhol e Inglês artigos originais, comunicações curtas e resumos de dissertações e teses em Botânica.
2. Os artigos devem ser concisos, em 4 vias, com até 30 laudas, sequencialmente numeradas, incluindo ilustrações e tabelas (usar letra Times New Roman, tamanho 12, espaço entre linhas 1,5; imprimir em papel tamanho carta, com todas as margens ajustadas em 1,5 cm). A critério da Comissão Editorial, mediante entendimentos prévios, artigos mais longos poderão ser aceitos, sendo que o excedente será custeado pelo(s) autor(es).
3. Palavras em latim no título ou no texto, como por exemplo: *in vivo*, *in vitro*, *in loco*, *et al.*, devem estar em itálico.
4. O título deve ser escrito em caixa alta e centralizado.
5. Os nomes dos autores devem ser escritos em caixa alta e baixa, alinhados à direita, com números sobrescritos que indicarão, em rodapé, a filiação Institucional e/ou fonte financiadora do trabalho (bolsas, auxílios, etc.).
6. A estrutura do trabalho deve, sempre que possível, obedecer à seguinte sequência:
  - RESUMO e ABSTRACT (em caixa alta e negrito) - texto corrido, sem referências bibliográficas, em um único parágrafo e com cerca de 200 palavras. Deve ser precedido pelo título do artigo em Português, entre parênteses. Ao final do resumo citar até cinco palavras-chave. A mesma regra se aplica ao Abstract em Inglês ou Espanhol.
  - Introdução (em caixa alta e baixa, negrito, deslocado para a esquerda): deve conter uma visão clara e concisa de: a) conhecimentos atuais no campo específico do assunto tratado; b) problemas científicos que levaram o(s) autor(es) a desenvolver o trabalho; c) objetivos.
  - Material e métodos (em caixa alta e baixa, negrito, deslocado para a esquerda): deve conter descrições breves, suficientes à repetição do trabalho; técnicas já publicadas devem ser apenas citadas e não descritas.
  - Resultados e discussão (em caixa alta e baixa, negrito, deslocado para a esquerda): podem ser acompanhados de tabelas e de figuras (gráficos, fotografias, desenhos, mapas e pranchas), estritamente necessárias à compreensão do texto.
  - As figuras devem ser todas numeradas sequencialmente, com algarismos arábicos, colocados no lado inferior direito; as escalas, sempre que possível, devem se situar à esquerda da figura.
  - As tabelas devem ser sequencialmente numeradas, com algarismos arábicos e numeração independente das figuras.
  - Tanto as figuras como as tabelas devem ser apresentadas em folhas separadas ao final do texto (originais e três cópias). Para garantir a boa qualidade de impressão, as figuras não devem ultrapassar duas vezes a área útil da revista que é de 12cm larg. x 18cm alt.
  - As ilustrações devem ser apresentadas em tinta nanquim, sobre papel vegetal ou cartolina.
  - As fotografias devem estar em papel brilhante e em branco e preto. Fotografias coloridas poderão ser aceitas a critério da Comissão Editorial e se o(s) autor(es) arcar(em) com os custos de impressão.

- As figuras e as tabelas devem ser referidas no texto, em caixa alta e baixa, de forma abreviada e sem plural (Fig. e Tab.). Todas as figuras e tabelas apresentadas devem, obrigatoriamente, ter chamada no texto.
- As siglas e abreviaturas, quando utilizadas pela primeira vez, devem ser precedidas do seu significado por extenso. Ex: Universidade Federal de Pernambuco (UFPE); Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).
- Usar unidades de medida apenas de modo abreviado. Ex.: 11cm; 2,4mm.
- Escrever por extenso os números de um a dez (não os maiores), a menos que sejam referentes à medida ou venha em combinação com outros números. Ex.: quatro árvores; 6,0mm; 1,0-4,0mm; 125 exsiccatas.
- Em trabalhos taxonômicos, os materiais botânicos examinados devem ser selecionados de maneira que sejam citados apenas aqueles representativos do táxon em questão e na seguinte ordem: PAÍS. Estado: Município, data (dd/mm/aaaa), fenologia, *coletor(es)* e *n°* (sigla do herbário).
- Ex.: BRASIL. São Paulo: Santo André, 03/XI/1997, fl. fr., *Milanez 435* (SP).
- No caso de dois coletores, citar ambos, ligados por &.
- No caso de três ou mais coletores, citar o primeiro, seguido de *et al.* (atentar para o que deve ser grafado em CAIXA ALTA, Caixa Alta e Baixa, caixa baixa, negrito, *italico*)
- Chaves de identificação devem ser, preferencialmente, indentadas. Nomes de autores de táxons não devem aparecer. Os táxons da chave, se tratados no texto, devem ser numerados, seguindo a ordem alfabética. Ex.:

1. Plantas terrestres

2. Folhas orbiculares, mais de 10cm diâm. .... 4. *S. orbicularis*

2. Folhas sagitadas, menos de 8cm compr. .... 6. *S. sagittalis*

1. Plantas aquáticas

3. Nervuras paralelas

4. Flores brancas ..... 1. *S. albicans*

4. Flores roxas ..... 5. *S. purpurea*

3. Nervuras furcadas

5. Frutos oblongos ..... 2. *S. furcata*

5. Frutos esféricos ..... 3. *S. nanuzae*

- O tratamento taxonômico no texto deve reservar o *italico* e negrito apenas para os nomes de táxons válidos. Basiônimo e sinonímia aparecem apenas em *italico*. Autores de nomes científicos devem ser citados de forma abreviada, de acordo com o índice taxonômico do grupo em pauta (Brummit & Powell 1992, para fanerógamas). Ex.:

1. *Sepulveda albicans* L., Sp. pl. 2:25. 1753.

*Pertencia albicans* Sw., Fl. bras. 4:37, t. 23, f. 5. 1870.

*Cabralia zeleyensis* Anisio, Hoehnea 33(2):65. 1995.

Fig. 1-12.

- Subdivisões dentro de Material e métodos ou de Resultados devem ser escritas em caixa alta e baixa, seguida de um traço e o texto segue na mesma linha. Ex.: Área de estudo - localiza-se ...
- Discussão deve incluir as conclusões.
- Agradecimentos (em caixa alta e baixa, negrito, deslocado para a esquerda): devem ser sucintos.
- Referências bibliográficas ao longo do texto: seguir esquema autor, data. Ex.:



- Silva (1997), Silva & Santos (1997), Silva *et al.* (1997) ou Silva (1993, 1995), Santos (1995, 1997) ou (Silva 1975/Santos 1996/Oliveira 1997).
- Ao final do artigo: em caixa alta e baixa, deslocado para a esquerda; seguir ordem alfabética e cronológica de autor(es); nomes dos periódicos, títulos de livros, dissertações e teses devem ser grafados por extenso e em negrito. Exemplos:  
 Santos, J. 1995. Estudos anatômicos em Juncaceae pp. 5-22. In Anais do XXVIII Congresso Nacional de Botânica, Aracaju 1992. HUCITEC Ed., São Paulo.  
 Santos, J.; Silva, A. & Oliveira, B. 1995. Notas palinológicas: Amaranthaceae. Hoehnea 33(2):38-45.  
 Silva, A. 1996. A família Urticaceae no Estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Paraná, Londrina.  
 Silva, A. 1997. O gênero *Pipoca* L. no Brasil. Acta Botanica Brasilica 2(1):25-43.  
 Silva, A. & Santos, J. 1997. Rubiaceae pp. 27-55. In F.C. Hoehne (ed.). Flora Brasilica. Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, São Paulo.

*SBB - SOCIEDADE BOTÂNICA DO BRASIL*

<http://www.botanica.org.br>

# Journal of Experimental Botany Submission Page

## Preparation of Manuscripts

### *By post:*

Disks should be sent to the Journal of Experimental Botany, Institute of Environmental and Natural Sciences, Lancaster University, Lancashire LA1 4YQ, UK. We can accept 3.5" disk, Iomega Zip disk or CD-ROM (PC formatted). Please identify the disk by labelling it with the names of the authors and title of the manuscript.

### *Via email:*

Manuscripts should be sent to: [j.exp.bot@lancaster.ac.uk](mailto:j.exp.bot@lancaster.ac.uk)

For manuscript file(s) exceeding 3 MB, the on-line submission is recommended.

### *On-line submission:*

Manuscript files can be uploaded from <http://www.lancs.ac.uk/users/jexb/submissions/>. Files should be submitted preferably in .PDF; otherwise, Word or WordPerfect are also accepted.

### *Other formats:*

Manuscripts not submitted in .PDF should be prepared using Microsoft Word or WordPerfect for the PC. All elements should be included in one single file (Title Page, Abstract, Text, References, Figure Legends, Tables and Figures). Alternatively, send an .RTF file. If *figures* are not included in the text, they should be submitted as .JPG, .GIF, and *should be clearly numbered*. If figures (and photographs) are not available electronically, please send one high-quality hard copy suitable for scanning

### Covering Letter

In the covering letter authors should state that all the material is original (excluding Reviews), that no part has been submitted for publication elsewhere, and that all authors have agreed to submission. Other additional information may be included, e.g. section heading for the manuscript to appear in the journal, suggestion of suitable referees (please provide full addresses of your potential reviewers), request for exclusion of referees on conflict grounds, or anything that the author(s) wish to highlight.

**IMPORTANT:** Do not include the covering letter in the body of the manuscript!

### Format for Accepted Manuscripts

Authors of accepted manuscripts will be asked to supply two high quality hard copies together with an electronic copy. At that stage, the file containing all the text elements (Title Page, Abstract, Text, References, Figure Legends and Tables) should be provided as Microsoft Word, WordPerfect for the PC or .RTF. Figures should be saved as .TIFF files. It is essential that the final version of the hard copy and the disk are identical.

### Guidelines for Presentation

Manuscripts should be typewritten on one side only of an A4 sheet, double-spaced throughout and with at least a 4 cm margin on the left. All pages should be numbered consecutively and each line should be numbered in the left-hand margin. The first page should contain the title,

the name(s) of the author(s), the name(s) and address(es) of the institution(s) where the work was carried out, followed by the contact details of the author to whom correspondence should be sent (address, telephone, fax, and e-mail). The date of submission and the number of tables and figures should also be given on the first page. The *Title* should be specific and concise but informative to those scanning contents listings and abstract journals. Authors should also suggest a short running title. An *Abstract*, not exceeding 250 words, will be published at the beginning of each paper: it should contain no discursive matter or references. Authors are asked to suggest not more than ten *Key words* for their article in alphabetical order. Generally, manuscripts should be divided into *Introduction*; *Materials and methods*; *Results*; and *Discussion* and may contain subheadings. If appropriate, *Results* and *Discussion* may be combined. Authors should write as clearly and concisely as possible, and in the third person. Large bodies of primary data should not be presented, and data should not be presented in both tabular and graphical form.

*Numbers* up to ten should be spelled out in the text except when referring to measurements. Numbers higher than ten are to be represented as numerals except at the beginning of a sentence. Fractions are to be expressed as decimals.

*Dates* should be cited thus: 7 June 2001 and the 24 hour clock should be used.

#### Abbreviations

Abbreviations and their explanation should be composed in a list. Standard chemical symbols may be used in the text where desirable in the interests of conciseness. For long chemical names and other cumbersome terms, widely accepted abbreviations may be used in the text (e.g. ATP, DNA); the list of standard abbreviations published by *The Biochemical Journal* is an acceptable guide for the journal. Abbreviations for the names of less common compounds may be used, but the full term should be given on first mention. It is confusing and unnecessary to use abbreviations for common English words (e.g. L for light).

#### Scientific Names

The complete scientific name (genus, species, and authority, and cultivar where appropriate) must be cited for every organism at the first mention. The generic name may be abbreviated to the initial thereafter except where intervening references to other genera with the same initial could cause confusion. If vernacular names are employed, they must be accompanied by the correct scientific name on first use.

#### Chemical and Molecular Biology Nomenclature

Follow *Chemical Abstracts* and its indexes for chemical names. The IUPAC and IUBMB recommendations on chemical, biochemical, and molecular biology nomenclature should be followed

#### Units of Measurement

The metric system is adopted as standard. The system of units known as 'SI' should be used. If non-standard abbreviations must be used they should be defined in the text. Units of measurement should be spelled out except when preceded by a numeral, when they should be abbreviated in the standard form: g, mg, cm<sup>3</sup>, etc. and not followed by full stops. Use negative exponents to indicate units in the denominator (i.e. mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

#### Sequence Data

Deposition of amino acid sequences of proteins or nucleotide sequences is required before publication, and the database accession number must be given in the text of the manuscript.

#### Tables

*Tables* should be numbered in Arabic numerals with an appropriate legend at the head. The preferred position in the text should be indicated. If possible they should be included in the

text file.

## Figures

*Figures* should be self-explanatory and contain as much information as is consistent with clarity. Wherever possible, figures should be grouped to fill a page. All figures must carry the figure number in Arabic numerals. Citation in the text should take the form Fig. 1A etc.

Figures must be supplied as .TIFF. The minimum resolution for the figures is 300 dpi for tone or colour, 1200 dpi for line art at approximately the correct size for publication. Colour figures should be CMYK (Cyan-Magenta-Yellow-Black).

*Line drawings* should be clear: faint shading or stippling will be lost upon reproduction and should be avoided and heavy shading or stippling may appear black. Lines and symbols should be drawn boldly enough to stand reduction to the desired size. For *graphs* where reduction to one-half in linear dimensions is intended, a suitable thickness for the axis would be 0.3 mm and for the other lines 0.4 or 1.0 mm depending on the complexity of the graph. The preferred symbols are closed circle, open circle, closed square, open square, closed triangle, and open triangle and should be no smaller than 2 mm (height/diameter) for reduction to one-half. The symbols x and + should be avoided. The typeface used for lettering should be of a type similar in style to the text of the journal, i.e. in a clear sans-serif font (e.g. Arial or Helvetica). The height of the lettering should be uniform throughout and should have a capital height of 4.0 mm on the originals for reduction to one-half.

*Photographs* not supplied electronically, must be of high quality, printed on glossy paper and mounted neatly on a thin white card base, leaving a narrow gap between each print. Irregular and asymmetrically distributed groups of photographs will not be accepted. Individual figures should be lettered, A, B, C, etc. on the photograph using a lettering set. Other lettering, arrows, etc. may be put on the photograph by the author; otherwise they should be indicated in the exact position required on a transparent or translucent self-locating overlay. On no account should any marks be made on the photograph itself.

*Colour figures* will be printed free of charge if the Editor believes that they enhance the scientific presentation of the paper. Authors should combine colour plates to make a single composite figure whenever possible. A scale should be included; otherwise the scale of the original should be stated in the legends so that the final scale can be calculated.

*Legends:* A separate typewritten, double-spaced list of legends of *all* figures must be supplied and included in the text file. Each legend should contain sufficient explanation to be meaningful without cross-referencing. A scale of the original should be included in the legend unless already indicated in the picture.

*Cover illustrations* will be taken from, or be associated with, an article that appears in the journal. Authors wishing to submit a potential cover illustration should indicate it at the time of submission. Authors submitting by post should send a hard copy with a short legend, and submissions via e-mail should send a .TIFF file with the short legend included in the covering letter.

## Supplementary Material for Online-only Publication

Supplementary data/information may be submitted for online only publication if it adds value for potential readers. However, it must not contain material critical to the understanding of the manuscript. The hard copy should stand alone, but it should be indicated in the text that supplementary material is available online. The availability of supplementary material should also be indicated in the manuscript by a paragraph to appear before the Acknowledgements and References. *Electronic files* of supplementary material are preferable as .GIFS or .JPEGs. The minimum acceptable resolution for viewing on screen is 120 dpi.

*Videos:* The preferred formats for video clips are .mov, .mpg, .avi, and animated .gif files. Authors are advised to use a readily available program to create movies so that they can be

viewed easily with e.g., Windows Media Player or QuickTime.

### Literature Citation

Citations in the text should have the authors immediately followed by the date to facilitate the electronic linkages which are available on-line, for example: (Shen and Ma, 2001) or Shen and Ma (2001). If several papers by the same author in the same year are cited, they should be lettered in sequence (2000*a*, *b*), etc. When papers are by more than two authors they should be cited thus: (Shen *et al.*, 2001). In the list, references must be placed in alphabetical order without serial numbering. The following standard form of citation should be used, including the title of each paper or book:

Jiang Q, Gresshoff PM. 1993. *Lotus japonicus* - a model plant for structure–function analysis in nodulation and nitrogen fixation. In: Gresshoff PM, ed. *Current topics of plant molecular biology*, Vol. II. Boca Raton, FL: CRC Press, 97–110.

N'tchobo H. 1998. Sucrose unloading in tomato fruits. II. Subcellular distribution of acid invertase and possible roles in sucrose turnover and hexose storage in tomato fruit. PhD thesis, Laval University, Canada, 87–118.

Richard C, Granier D, Inzé D, De Veylder L. 2001. Analysis of cell division parameters and cell cycle gene expression during the cultivation of *Arabidopsis thaliana* cell suspensions. *Journal of Experimental Botany* 52, 1625–1633.

Only papers published or in press should be cited in the literature list. Unpublished results, including submitted manuscripts and those in preparation, should be cited as unpublished in the text. Journal titles should not be abbreviated but be given in full. Citation of articles from e-journals and journal articles published ahead of print should have the author names, year, title, journal title followed by the assigned digital object identifier (DOI) or the appropriate URL:

Parry MAJ, Andralojc PJ, Mitchell RAC, Madgwick PJ, Keys AJ. (March 14, 2003.) Manipulation of Rubisco: the amount, activity, function and regulation. *Journal of Experimental Botany* 10.1093/jxb/erg141.

Citation of the paper after print publication should be:

Parry MAJ, Andralojc PJ, Mitchell RAC, Madgwick PJ, Keys AJ. 2003. Manipulation of Rubisco: the amount, activity, function and regulation. *Journal of Experimental Botany* 54, 1321–1333. Advance access published on March 14, 2003; 10.1093/jxb/erg141.

Citation of other URL addresses (unless in reference to an e-journal) may be made in the text but should not be included in the reference list.

The list of literature must be typed double-spaced throughout and checked thoroughly before submission. If the list is not in the correct form it will be returned to the author for amendment and publication of the paper may be delayed.