

Maryluce Albuquerque da Silva

**APLICAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES
(FMA) NA ACLIMATIZAÇÃO DE DUAS PLANTAS ORNAMENTAIS
TROPICAIS MICROPROPAGADAS, VISANDO TOLERÂNCIA AO
PARASITISMO DE *Meloidogyne arenaria***

**Recife
Fevereiro/ 2005.**

Maryluce Albuquerque da Silva

**APLICAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES
(FMA) NA ACLIMATIZAÇÃO DE DUAS PLANTAS ORNAMENTAIS
TROPICAIS MICROPROPAGADAS, VISANDO TOLERÂNCIA AO
PARASITISMO DE *Meloidogyne arenaria***

Dissertação apresentada ao programa de
Pós-graduação em Biologia de Fungos da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito para obtenção do título de
Mestre em Biologia de Fungos.

Orientadora: Dr^a Leonor Costa Maia

Co-orientadores: Dr^a Adriana Mayumi
Yano-Melo e Dr. Nataniel Franklin de
Melo

**Recife
Fevereiro/ 2005.**

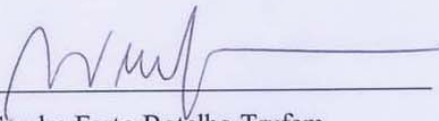
**APLICAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (FMA) NA
ACLIATIZAÇÃO DE DUAS PLANTAS ORNAMENTAIS TROPICAIS
MICROPROPAGADAS, VISANDO TOLERÂNCIA AO PARASITISMO DE
*Meloidogyne arenaria***

Maryluce Albuquerque da Silva

Dissertação apresentada e aprovada pela banca examinadora:



Dr^a Leonor Costa Maia (Orientadora)
(Departamento de Micologia-UFPE)



Dr^a Sandra Farto Botelho Trufem
(Universidade São Marcos SP/ 1º membro)



Dr^a Elvira Maria Régis Pedrosa
(Departamento de Agronomia- UFRPE/ 2º membro)

**Recife
Fevereiro/ 2005.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela energia e inspiração.

A meus pais, Reginaldo e Maria, pelo amor, apoio e paciência.

A minha prima Ana Cristina, pelo constante apoio, carinho e paciência.

A meu noivo, Marcos Paulo, por caminhar junto comigo.

A meus irmãos: Regivaldo, Renivaldo (*In memoriam*) e Marluce; a meus sobrinhos: Igor, Reinaldo e Emanuelle; à minha avó Maria (*In memoriam*) e a meus primos: Érika, Jéssica, Pedro e Victor, pelo apoio e carinho.

Ao colega Fábio Sérgio Barbosa da Silva, pela amizade, convívio e apoio durante o desenvolvimento e finalização do trabalho.

À Profª Leonor Costa Maia, pelo apoio e orientação.

À Profª Adriana Mayumi e a Dr. Nataniel F. de Melo, pelo apoio e co-orientação.

À Embrapa Semi-árido, pelo apoio logístico para o desenvolvimento do trabalho.

À Embrapa-SNT, pelo material vegetal cedido para obtenção de nematóides.

A Ivanice Borges, Maria Tereza de Souza e Helenício Coelho, todos da Embrapa Semi-árido, pela ajuda na parte prática do trabalho.

A Dr. Wellington A. Moreira e aos funcionários do Laboratório de Fitopatologia, da Embrapa Semi-árido, pelo auxílio com o experimento com nematóide.

A Drª Regina Carneiro, do Cenargen/ Embrapa, pela identificação do nematóide.

A Helena M. Q. Bezerra, da Embrapa Semi-Árido, pelos artigos conseguidos.

Aos colegas do Laboratório de Micorrizas (UFPE), do Laboratório de Nematologia (UFRPE) e do curso de pós-graduação, pelo convívio e apoio.

À Pós-graduação em Biologia de Fungos, pelo curso e apoio.

A CAPES, pela concessão da bolsa de Mestrado.

Aos membros da banca, pelas sugestões e participação.

LISTA DE TABELAS

Pág.

ARTIGO 1 - Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e vermicomposto na aclimatização de duas plantas ornamentais tropicais.....	41
Tabela 1 - Quantidade de fósforo (P) e matéria orgânica (MO), valor de pH e capacidade de troca catiônica (CTC) dos substratos utilizados na aclimatização de <i>Alpinia purpurata</i> e <i>Zingiber spectabile</i>	45
Tabela 2 - Efeito do substrato sobre variáveis de crescimento em mudas de <i>Alpinia purpurata</i> (alpínia) e <i>Zingiber spectabile</i> (sorvetão) micropropagadas e cultivadas em solo (s), solo e vermicomposto (s:v/ 3:1) e solo, areia e vermicomposto (s:a:v/ 2:2:1), após 70 (sorvetão) e 100 dias (alpínia) de aclimatização	48
Tabela 3 - Colonização micorrízica e produção de esporos de FMA associados a <i>Alpinia purpurata</i> cultivada em solo (s), solo e vermicomposto (s:v/ 3:1) e solo, areia e vermicomposto (s:a:v/ 2:2:1), após 100 dias de aclimatização.....	50
Tabela 4 - Colonização micorrízica e produção de esporos de FMA associados a <i>Zingiber spectabile</i> cultivada em solo (s), solo e vermicomposto (s:v/ 3:1) e solo, areia e vermicomposto (s:a:v/ 2:2:1), após 70 dias de aclimatização.....	51
 ARTIGO 2 - Aplicação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na aclimatização de <i>Alpinia purpurata</i> visando tolerância a <i>Meloidogyne arenaria</i>.....	 57
Tabela 1. Valores das variáveis de crescimento e da densidade de esporos de FMA na rizosfera de plantas de <i>Alpinia purpurata</i> (inoculadas e não inoculadas com FMA) na ausência de nematóide	64
Tabela 2. Valores das variáveis de crescimento de plantas de <i>Alpinia purpurata</i> (inoculadas e não inoculadas com FMA), infectadas com <i>Meloidogyne arenaria</i>	65
Tabela 3. Densidade de esporos (DE) de FMA na rizosfera, número de galhas (NG), de ovos (NO) e de massas de ovos (NMO) em raízes de plantas de <i>Alpinia purpurata</i> infectadas com <i>Meloidogyne arenaria</i> e inoculadas ou não (controle)	

com FMA.....	67
--------------	----

Tabela 4. Colonização micorrízica de raízes de <i>Alpinia purpurata</i> infectadas com <i>Meloidogyne arenaria</i>	68
---	----

Tabela 5. Colonização micorrízica de raízes de <i>Alpinia purpurata</i> em solo não infestado com <i>Meloidogyne arenaria</i>	69
--	----

SUMÁRIO

	Pág.
AGRADECIMENTOS.....	3
LISTA DE TABELAS.....	4
RESUMO.....	8
INTRODUÇÃO GERAL.....	9
REVISÃO DA LITERATURA.....	11
Micorrizas: Aspectos gerais.....	11
O mercado de flores.....	13
Plantas ornamentais tropicais.....	13
Micorrizas em plantas ornamentais.....	14
Micropropagação.....	16
FMA na aclimatização de plantas micropropagadas.....	17
Interação FMA e <i>Meloidogyne</i>.....	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
ARTIGO 1: Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e vermicomposto na aclimatização de duas plantas ornamentais tropicais.....	41
Resumo.....	42
Abstract.....	43
Introdução.....	44
Material e Métodos.....	45
Resultados e Discussão.....	47
Agradecimentos.....	52
Referências Bibliográficas.....	52
ARTIGO 2: Aplicação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na aclimatização de <i>Alpinia purpurata</i> visando tolerância a <i>Meloidogyne arenaria</i>..	57
Resumo.....	58
Abstract.....	59
Introdução.....	60

Material e Métodos.....	61
Resultados e Discussão.....	63
Conclusões.....	69
Agradecimentos.....	70
Referências Bibliográficas.....	70
CONCLUSÕES GERAIS.....	74
ANEXO.....	75

RESUMO

A produção de plantas pode ser otimizada pelo uso de bioinsumos, entre os quais se incluem os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), que tornam as plantas mais aptas para suportar estresses bióticos e abióticos. Para avaliar a eficiência micorrízica em substratos usados na aclimatização de *Alpinia purpurata* (alpinia) e *Zingiber spectabile* (sorvetão) e a tolerância de plantas de alpinia micorrizadas, ao ataque de nematóides, foram realizados dois experimentos. O primeiro foi inteiramente casualizado, em fatorial, com quatro tratamentos de inoculação (sem ou com *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora longula*), três substratos (solo; solo:vermicomposto e solo:areia:vermicomposto) com oito repetições. Após 100 dias não houve interação entre FMA e substratos relacionada ao crescimento das duas espécies, porém o substrato solo:vermicomposto beneficiou a produção vegetal. No segundo experimento, plantas de alpinia micorrizadas foram inoculadas com *Meloidogyne arenaria*. Após 270 dias plantas infestadas com o nematóide e associadas com *G. etunicatum* e com *A. longula* tiveram maior massa seca aérea e área foliar em relação aos demais tratamentos. A micorrização com *G. albida* e *A. longula* reduziu o número de galhas, enquanto o número de ovos do nematóide foi menor no tratamento com *G. albida*. A presença de *M. arenaria* afetou a colonização micorrízica. Concluiu-se que na fase de aclimatização, substratos orgânicos favorecem a formação de mudas vigorosas de alpinia e sorvetão, dispensando a inoculação com FMA, e que a micorrização de *A. purpurata* com *A. longula* induz tolerância a *M. arenaria*, constituindo alternativa para diminuir os prejuízos da meloidoginose.

Palavras-chave: *Alpinia purpurata*, *Zingiber spectabile*, alpinia, sorvetão, Zingiberaceae, micropropagação, Glomeromycota, nematóide.

INTRODUÇÃO GERAL

Micorriza é uma associação entre raízes de plantas e certos fungos do solo. Nessa relação, a planta fornece fotossintatos para o fungo, que em troca cede nutrientes minerais do solo, deixando o vegetal em melhor condição nutricional e mais resistente a estresses de origem biótica e abiótica, refletindo em aumento de produtividade e de sobrevivência (Saggin-Junior & Lovato, 1999). A micorriza arbuscular é caracterizada pela formação de estruturas denominadas arbúsculos cuja função é a troca de nutrientes entre os simbioses (Trufem, 1998). Os fungos que formam essa associação são conhecidos como micorrízicos arbusculares (FMA).

Desde a década de 1990 o mercado mundial de flores vem apresentando crescimento anual de 10% e atualmente a área de cultivo em todo o mundo está em torno de 190.000 hectares, movimentando cerca de 49 bilhões de dólares. O Brasil movimenta 1,2 bilhões de dólares, com crescimento anual de 6,26%. Pernambuco está entre os cinco principais produtores nacionais, possuindo 125 hectares cultivados, com 197 produtores, sendo 32 de flores tropicais e 165 de tradicionais ou temperadas, movimentando 36 milhões de reais por ano (Ferreira *et al.*, 2002).

Plantas ornamentais tropicais têm grande potencial econômico, pois não só as flores e folhagens são utilizadas na ornamentação, como a própria planta é usada em jardins. A maioria é originada de regiões tropicais e subtropicais (Lamas, 2002). Entre as plantas ornamentais tropicais mais produzidas e comercializadas estão *Alpinia purpurata* (Viell.) Schum (alpinia ou panamá) e *Zingiber spectabile* Griff. (sorvetão). Estas plantas vêm sendo parasitadas por fitopatógenos, destacando-se os fungos e os nematóides. Em relação aos nematóides, espécies dos gêneros *Meloidogyne*, *Radopholus*, *Helicotylenchus* e *Pratylenchus* são os principais problemas dessas plantas em Pernambuco, causando danos e perdas na produção (Coelho & Warumby, 2002).

Um dos métodos para produção de plantas é a propagação vegetativa *in vitro*, denominada micropropagação devido às pequenas dimensões do material vegetal utilizado (Grattapaglia & Machado, 1998). Esta técnica permite a obtenção de grande número de indivíduos com alta produtividade, sadios e geneticamente homogêneos, em curto período de tempo e pouco espaço físico (Carvalho, 1999).

Os FMA têm sido utilizados na produção de mudas, bem como na aclimatização de plantas micropropagadas de diversas culturas, com respostas promissoras, uma vez que um organismo benéfico está sendo reintroduzido na rizosfera da planta. No entanto, os

resultados da inoculação micorrízica variam, dependendo da espécie de planta, do isolado de FMA, do substrato e das condições experimentais. O efeito benéfico da micorrização no crescimento de plantas micropropagadas foi observado, entre outros, em morangueiro, *Fragaria ananassa* Duch. (Borkowska, 2002), bananeira, *Musa* spp. cv. Grand naine (Declerck *et al.*, 2002), macieira, *Prunus prunifolia* (Wild.) Borkh. (Locatelli & Lovato, 2002), *Sesbania sesban* (L.) Merr. (Subhan *et al.*, 1998) e pimenta chilena, *Capsicum annuum* L. (Estrada- Luna & Davies Jr., 2003).

Vários substratos são usados na aclimatização de plantas micropropagadas, podendo influenciar a associação micorrízica e o desenvolvimento da planta. Portanto, a escolha das proporções e tipos de substratos é importante para garantir respostas positivas de crescimento.

Um dos gêneros de nematóides importantes como causador de doenças em plantas é *Meloidogyne*, devido ao fato de induzir hipertrofia de tecidos da raiz, formando o que se denomina “galhas”. A doença causada por este nematóide é chamada de meloidoginose e produz danos radiculares, com a formação das galhas, muitas vezes associadas a necroses e posterior danos à parte aérea, com perdas de produção e até morte da planta.

Os FMA auxiliam a planta a suportar esse patógeno, entre outras razões, por melhorar o seu estado nutricional. Porém, essa interação é complexa e depende das espécies de FMA, do hospedeiro e do nematóide que interagem (Cofcewicz *et al.*, 2001; Jaizme-Veja *et al.*, 1997), assim como das condições às quais são submetidos (Calvet *et al.*, 2001).

Considerando que a presença de FMA pode melhorar a produção de plantas micropropagadas no período de aclimatização e reduzir os danos causados pelos nematóides, a utilização desses fungos como alternativa biotecnológica pode ser viável. No entanto, considera-se que cada interação nematóide- planta- FMA é única e necessita ser avaliada. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da utilização de espécies de FMA e substratos compostos na aclimatização de mudas de *A. purpurata* e *Z. spectabile* e a tolerância de plantas de *A. purpurata* micorrizadas ao parasitismo de *Meloidogyne arenaria* (Neal.) Chitwood.

REVISÃO DA LITERATURA

MICORRIZAS: ASPECTOS GERAIS

Micorriza é uma associação entre raízes de plantas e certos fungos do solo. Nessa relação, a planta fornece fotossintatos para o fungo, que em troca cede nutrientes minerais do solo, deixando o vegetal em melhor condição nutricional e mais resistente a estresses de origem biótica e abiótica, refletindo em aumento de produtividade e de sobrevivência (Saggin-Junior & Lovato, 1999). Essa simbiose data do Devoniano, há 400 milhões de anos, quando as plantas começaram a conquistar o ambiente terrestre; sem raízes diferenciadas e contando apenas com estruturas rudimentares que as fixavam ao solo, as plantas recebiam do fungo micorrízico a água e os nutrientes necessários ao crescimento (Trufem, 1998).

De acordo com as características morfoanatômicas, as micorrizas podem ser de três grupos: (a) ectomicorrizas, caracterizadas pela penetração intercelular de hifas no córtex do hospedeiro; (b) ectendomicorrizas, que apresentam hifas com penetração inter e intracelular; (c) endomicorrizas, caracterizadas pela penetração intracelular e também intercelular e formação de estruturas especializadas. As endomicorrizas se subdividem em: Ericóide, formada pela associação entre espécies de Ascomycota e de plantas da família Ericaceae; Orquidóide, constituída por representantes das Orchidaceae e espécies de Basidiomycota; Arbuscular, formada por espécies de Glomeromycota, que se associam à maioria das espécies vegetais (Silveira, 1992).

A micorriza arbuscular é caracterizada pela formação de estruturas denominadas arbúsculos, cuja função é a troca de nutrientes entre os simbioses (Trufem, 1998). Os fungos que formam essa associação são denominados micorrízicos arbusculares (FMA), dos quais aproximadamente 168 espécies são conhecidas e agrupadas no filo Glomeromycota, classe Glomeromycetes com os gêneros: *Glomus*, *Acaulospora*, *Archaeospora*, *Paraglomus*, *Scutellospora* e *Gigaspora* (Schübler *et al.*, 2001).

A maior parte das espécies vegetais, desde Briófitas e Pteridófitas até Gimnospermas e Angiospermas, formam associações com FMA. A associação pode ser formada em plantas herbáceas, arbustivas ou arbóreas que ocupam diversos ecossistemas como florestas, dunas, savanas, desertos, campos e agrossistemas (Siqueira *et al.*, 2002). O fungo, em geral, não possui especificidade hospedeira (Trufem, 1998), embora maior compatibilidade entre certos FMA e determinadas plantas tenham sido referidas (Silva *et al.*, 2004). Assim a importância ecológica e econômica das micorrizas arbusculares pode

ser diretamente relacionada com o fato de que aproximadamente quatro quintos de todas as plantas terrestres, incluindo as culturas agronomicamente importantes, formam este tipo de micorriza (Azcón-Aguilar & Barea, 1997).

A colonização por FMA tem início com a germinação do esporo ou desenvolvimento de outros propágulos, como hifas ou segmentos de raiz colonizados. Na superfície da raiz, a hifa infectiva se diferencia em apressório e penetra por combinação de pressão mecânica e ação enzimática. Na parte mais interna do córtex, hifas intracelulares sofrem na extremidade contínuas ramificações dicotômicas diferenciando-se em arbúsculos ou formando vesículas. Com o estabelecimento da simbiose, ocorre o desenvolvimento do micélio externo e a posterior produção de esporos (Smith & Read, 1997).

O principal benefício da micorrização é a melhoria no crescimento da planta pelo aumento da absorção de nutrientes (Marschner & Dell, 1994). O micélio externo desses fungos pode se estender até 8 cm além da raiz, sendo o volume de solo explorado significativamente maior em plantas com FMA (Trufem, 1998). Desta forma, ocorre maior absorção de nutrientes, principalmente daqueles transportados por difusão, como N, P, K, Ca, Zn e Cu (Saggin-Junior & Lovato, 1999). Além disso, o FMA proporciona aumento de duas vezes, em relação às plantas não micorrizadas, na absorção de água por unidade de comprimento radicular e no fluxo da solução de solo para a superfície da raiz (Marschner & Dell, 1994). Outros efeitos dos FMA estão relacionados com aumento de tolerância do hospedeiro a estresses abióticos como o salino, deficiência hídrica e nutricional, e estresses bióticos como ataque de patógenos. Por outro lado, maior tolerância leva ao aumento da biomassa vegetal, da taxa de sobrevivência ao transplântio e do controle de doenças (Dodd & Thomson, 1994).

Plantas micorrizadas são menos susceptíveis aos estresses ambientais, facilitando o estabelecimento e a sobrevivência em locais adversos. Por isso os FMA são considerados componentes essenciais em programas de recuperação de áreas degradadas e solos poluídos com metais pesados ou compostos orgânicos poluentes (Siqueira *et al.*, 2002).

Os FMA são importantes para as regiões tropicais e subtropicais, onde se encontra solos pouco férteis, condições ambientais estressantes, culturas que necessitam de elevado teor de nutrientes e suprimento limitado de fertilizantes em diversas áreas. Além disso, muitos produtores são minifundiários e têm pouco poder aquisitivo o que restringe o uso de fertilizantes (Siqueira, 1996). As micorrizas seriam, então, uma alternativa biotecnológica de insumo agrícola para essas regiões.

O MERCADO DE FLORES

Desde a década de 1990 o mercado mundial de flores vem apresentando crescimento anual de 10%. Atualmente, a área de cultivo em todo o mundo está em torno de 190.000 hectares, movimentando cerca de 49 bilhões de dólares, desde a fase de produção até a entrega final, sendo a Holanda o país que mais exporta flores (Ferreira *et al.*, 2002).

No Brasil, a floricultura é um ramo que vem crescendo, apesar da descentralização da produção que provocou a desintegração do mercado (Aki, 2002). Atualmente o país movimenta 1,2 bilhões de dólares, com crescimento anual de 6,26%. As exportações atingiram 4,4 mil toneladas em 1999. Existem cerca de 2545 produtores no país, que cultivam 4850 hectares, gerando um faturamento de 322,3 milhões de reais por ano. As flores de clima temperado são as mais produzidas (Ferreira *et al.*, 2002) com mercado tradicional e auto-suficiente (Aki, 2002).

Pernambuco está entre os cinco principais produtores nacionais, possuindo 125 hectares de terra cultivada, com 197 produtores, sendo 32 de flores tropicais e 165 de tradicionais ou temperadas, movimentando 36 milhões de reais por ano. O Estado é o maior produtor nacional de flores tropicais, com crescimento de 1000% de 1994 a 1999 (Ferreira *et al.*, 2002). Apesar das muitas dificuldades em relação à falta de informações sobre demanda e produção, esta é uma área promissora, necessitando de atenção com respeito a detalhes de produção e comercialização.

PLANTAS ORNAMENTAIS TROPICAIS

Plantas ornamentais tropicais têm grande potencial econômico; as flores e folhagens são utilizadas na ornamentação e a própria planta é usada em jardins e projetos de paisagismo. A maioria é originada de regiões tropicais e subtropicais das Américas Central e do Sul e outras do Pacífico, desde a Indonésia até a Nova Guiné. São grandes, herbáceas, rizomatosas, perenes, algumas com formas exóticas, florescendo durante todo o ano. As inflorescências são compostas de brácteas externas, fortes, atrativas e vistosas que podem ser eretas ou pendulares, e com diferentes formas (Lamas, 2002).

Entre as plantas ornamentais tropicais mais produzidas e comercializadas estão *Alpinia purpurata* (Viell.) Schum (alpinia ou panamá) e *Zingiber spectabile* Griff. (sorvetão). Ambas pertencem à Classe Monocotyledoneae (Zingiberales, Zingiberaceae). Essas plantas são pouco estudadas do ponto de vista botânico, sendo um dos grupos taxonômicos mais complexos (Lamas, 2002).

Alpinia recebeu esse nome em homenagem a Alpino (1553- 1616), professor italiano de botânica (Smith, 1972). É originária das florestas e campos da Indo-Malásia. O uso como flor de corte tem crescido em função da durabilidade e beleza das inflorescências e folhagens; além disso, floresce durante todo o ano. Possui crescimento vigoroso, formando touceiras espessas e tem odor característico, similar ao do gengibre. O porte varia de 1,5 até 7m de altura e as touceiras podem ter até 1,5 m de expansão. As folhas são lanceoladas, com bordas orladas e produzidas em talos densos. As inflorescências são terminais e consistem de brácteas nas cores vermelha e rosa, envoltas em folhas apicais que podem alcançar de 15 a 30 cm de comprimento (Lamas, 2002).

Zingiber é derivado de singivera, palavra oriunda do oeste da Índia (Smith, 1972). A planta, conhecida como sorvetão ou gengibre ornamental, é nativa da Malásia, apresenta alta resistência e durabilidade, além da grande produtividade associada à beleza e ao perfume adocicado. Pode atingir até 2,5 m de altura. Possui folhas alongadas e lanceoladas; as inflorescências são terminais, com forma cilíndrica que lembra um sorvete e com brácteas de coloração amarela, sendo sustentadas por uma haste ereta de 0,30 a 0,80 m que se origina diretamente do rizoma, completamente separada das hastes vegetativas (Lamas, 2002).

Essas plantas ornamentais vêm sendo atacadas por fitopatógenos, destacando-se os fungos e os nematóides. Fatores como umidade e temperatura elevadas, densidade de cultivo, estresses hídrico ou nutricional contribuem para este problema. As principais doenças de origem fúngica são antracnose, manchas foliares e podridões de rizomas. Por outro lado, só há registro de uma doença bacteriana (murcha) que ocorre em helicônias. Em relação aos nematóides, espécies dos gêneros *Meloidogyne*, *Radopholus*, *Helicotylenchus* e *Pratylenchus* são os principais problemas em Pernambuco, causando danos e perdas na produção dessas plantas (Coelho & Warumby, 2002).

MICORRIZAS EM PLANTAS ORNAMENTAIS

A maioria dos trabalhos com plantas ornamentais tratam das espécies de clima temperado, não só porque em geral são feitos na região temperada, mas porque estas espécies são as mais produzidas e comercializadas. Devido à escassez de pesquisas com plantas ornamentais tropicais e micorrizas, serão apresentadas generalidades sobre o efeito de FMA associados a diversas plantas ornamentais.

Os efeitos positivos da inoculação micorrízica sobre o crescimento das plantas também se estendem às ornamentais, como observado em gérbera, *Gerbera* sp. (Sato *et al.*,

1999), hortênsia, *Hydrangea* sp. (Varma & Schuepp, 1994), girassol, *Helianthus annuus* L. (Rachel *et al.*, 1992), petunia, *Petunia hybrida* Vilm., aster da China, *Callistephus chinensis* Nees, bálsamo rosa, *Impatiens balsamina* L. (Gaur *et al.*, 2000), lílio, *Lilium* sp. (Varshney *et al.*, 2002).

Respostas negativas também podem ocorrer, dependendo da espécie vegetal e do FMA utilizado. A inoculação em helicônia (*Heliconia* sp.) com *Gigaspora margarita* Becker & Hall, *Glomus clarum* Nicolson & Schenck, *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann ou mistura destes FMA não beneficiou a planta, mesmo quando havia alta colonização (Sato *et al.* 1999).

Alguns fatores podem afetar a simbiose, influenciando tanto a colonização como o desenvolvimento da planta. Johnson *et al.* (1984) mencionaram que a adição de nitrato ou amônia em plantas de crisântemo (*Chrysanthemum marifolium* var. *circus* Flos.) influenciou o crescimento, a absorção de N e P e a colonização, enquanto inoculação com *Glomus fasciculatum* (Thaxter) Gerd. & Trappe emend. Walker & Koske, teve pouco efeito sobre a absorção de N, sobressaindo-se em relação à absorção de P e K. Em geral a amônia, em baixa concentração, foi melhor tanto para as plantas com FMA quanto para o controle, embora a colonização tenha sido maior no tratamento com nitrato. Em *Rosa multiflora* Thunb. ex J. A. Murray., a utilização de altas doses de osmocote (4,2 Kg/m³) adicionado a um substrato constituído de casca e areia induziu aumento no crescimento das mudas micorrizadas, mesmo não tendo efeito sobre a absorção de nutrientes (Davies, 1987).

A adição de P em plantas micorrizadas de *Lilium* sp., levou ao aumento no crescimento, sendo que tratamentos com mistura de inóculo nativo (*Glomus* sp., *Gigaspora* sp. e *Scutellospora* sp.) e com *Glomus intraradices* Schenck & Smith foram melhores no substrato com 13,6 ppm de P, enquanto o tratamento com o inóculo comercial Premier Tech (constituído de *G. intraradices*) apresentou melhor resultado com 12,5 ppm de P (Varshney *et al.*, 2002).

Dois dos maiores benefícios proporcionados pela inoculação micorrizica em plantas ornamentais são o aumento na quantidade de flores e o florescimento precoce. Gaur *et al.* (2000) observaram que *P. hybrida*, *C. chinensis* e *I. balsamina* associadas com FMA não só floresceram mais cedo como também produziram maior número de flores, sendo esta resposta similar ao tratamento com fertilizante químico. Similarmente, mudas de girassol micorrizadas floresceram mais cedo, tiveram mais flores e apresentaram maior número e peso de sementes (Rachel *et al.*, 1992). O mesmo ocorreu com plantas de *Lilium* sp.

recebendo inóculo de FMA nativos (*Glomus* sp., *Gigaspora* sp. e *Scutellospora* sp.), que floresceram 90 dias após o transplântio, enquanto as não micorrizadas só produziram flores aos 120 dias (Varshney *et al.*, 2002).

MICROPROPAGAÇÃO

Um dos métodos para a produção de plantas é a propagação vegetativa *in vitro*, denominada de micropropagação devido às pequenas dimensões do material vegetal utilizado (Grattapaglia & Machado, 1998). Esta técnica permite a obtenção de grande número de indivíduos sadios com alta produtividade e geneticamente homogêneos, em curto período de tempo e pouco espaço físico (Carvalho, 1999).

A primeira aplicação comercial da micropropagação ocorreu em 1966, na Europa, utilizando orquídeas, crisântemos e cravos, tendo assim as plantas ornamentais dominado o início deste processo (Lameira *et al.*, 2000). O estabelecimento da micropropagação comercial só ocorreu nas décadas de 1970 e 1980 (Kitto, 1997). Hoje a utilização deste método concentra-se na limpeza clonal e multiplicação de espécies ornamentais, fruteiras e árvores florestais (Grattapaglia & Machado, 1998), tendo destaque a produção mundial de espécies ornamentais (Lovato *et al.*, 1996b). Atualmente a produção de plantas micropropagadas está em torno de 200 a 300 milhões por ano na Europa e nos Estados Unidos. No Brasil a aplicação comercial da micropropagação é recente (Grattapaglia & Machado, 1998), sendo fruteiras como banana, maçã, abacaxi, citrus e acerola as mais produzidas (Lovato *et al.*, 1996b).

As plantas obtidas por meio de micropropagação diferem anatômica e fisiologicamente das obtidas por outros métodos, uma vez que as condições do cultivo *in vitro* são bastante específicas, influenciando determinadas características da planta que afetam a adaptação a condições *ex vitro* (Carvalho, 1999). Por isso, é necessário que passem por um período de aclimatização para melhor desenvolvimento e, conseqüentemente, aumento da taxa de sobrevivência, antes do transplântio ao campo. A baixa luminosidade e a alta umidade das salas de crescimento onde são produzidas as plantas micropropagadas favorecem a formação de cutícula pouco desenvolvida e estômatos não totalmente funcionais o que resulta em reduzida taxa transpiratória. Assim, ao serem aclimatizadas as mudas ficam muito susceptíveis ao estresse hídrico. Por outro lado, a produção em meio nutritivo com alta disponibilidade de nutrientes induz ao metabolismo heterotrófico e reduz a capacidade fotossintética. Além disso, as condições assépticas em que as mudas são produzidas fazem com que se tornem frágeis ao ataque de

microrganismos patogênicos, que eventualmente podem estar no substrato de transplântio (Preece & Sutter, 1991).

A micropropagação é constituída de cinco estágios. No estágio 0 e 1 são selecionadas e tratadas as plantas que se deseja propagar e os explantes que posteriormente vão para meio nutritivo. No estágio 2 os propágulos são multiplicados sucessivas vezes e no 3, transferidos para meio de enraizamento. O último estágio, chamado de aclimatização, é crítico, sendo muitas vezes fator limitante, pois as plantas obtidas são transplantadas para substratos desinfestados e transferidas para casa de vegetação (Debergh & Read, 1991). Assim, passam de uma condição heterotrófica, onde cresciam em meio de cultura com condições de umidade e luminosidade controladas, para uma condição autotrófica. É nessa fase, então, que há necessidade da utilização de alternativas para minimizar os estresses do transplântio. Como destacado por Kitto (1997), são necessárias pesquisas de novas tecnologias e protocolos para melhoria do processo de aclimatização.

FMA NA ACLIMATIZAÇÃO DE PLANTAS MICROPROPAGADAS

Os FMA vêm sendo utilizados na produção de mudas, bem como na aclimatização de plantas micropropagadas de diversas culturas, principalmente fruteiras, obtendo-se respostas promissoras, uma vez que um organismo benéfico está sendo reintroduzido na rizosfera da planta. Os resultados no entanto variam, dependendo da espécie de planta, do isolado de FMA, do substrato e das condições experimentais.

Geralmente as plantas micropropagadas são inoculadas com FMA na fase *ex vitro*, ou seja, quando são transplantadas do meio *in vitro* para substratos, e levados para casas de vegetação (aclimatização), podendo também ser inoculadas na fase *in vitro*, antes da aclimatização. A inoculação com FMA *in vitro* é processo mais laborioso, que inclui a esterilização dos esporos, que muitas vezes têm a germinação inibida pela grande quantidade de nutrientes no meio de cultura. Assim, a inoculação *ex vitro* é processo mais fácil e natural, não apresentando problemas técnicos (Rai, 2001).

Lovato *et al.* (1996b) consideram que os FMA têm três papéis no desenvolvimento das plantas micropropagadas durante a aclimatização: biorreguladores do crescimento, biofertilizantes e biocontroladores de organismos.

Como biorreguladores, os FMA podem eliminar o bloqueio do crescimento apical, que ocorre em plantas micropropagadas quando são aclimatizadas. Em experimentos utilizando mudas micropropagadas de maçã (*Malus pumila* L.) e de ameixa (*Prunus cerasifera* Ehrh.), Fortuna *et al.* (1996) observaram que apenas as micorrizadas mostravam

renovação do crescimento apical. De modo similar, Sbrana *et al.* (1994) acompanharam durante 30 dias mudas micropropagadas de maçã, de ameixa e de pêssego (*Prunus persica* (L.) Batsch. x *Prunus amygdalus* Stokes.) e observaram que aos 15 dias do transplântio 50% das micorrizadas apresentavam novas folhas, comparadas com 30% do controle e, após um mês, 40% das plantas controle não tinham ainda retomado o crescimento, enquanto todas as micorrizadas haviam superado a dormência do ápice. Em *Leucaena* micropropagada, *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit., após 30 dias de inoculação o FMA levou à renovação do crescimento apical, o que não ocorreu no controle, que morreu aos cinco meses (Naqvi & Mukerji, 1998). Mudas de hortênsia micropropagadas (*Hydrangea* sp.) também foram beneficiadas nesse aspecto pela inoculação, sendo sugerido que o benefício foi devido a modificações nutricionais e hormonais (Varma & Schuepp, 1994).

Considerando o papel biorregulador dos FMA, este também se manifesta em relação ao controle do crescimento do sistema radicular de mudas micropropagadas, que pode ser modificado pela presença desses fungos. Em videira micropropagada (*Vitis vinifera* L.), a micorrização produziu aumento do número de raízes laterais, que por outro lado, apresentavam menor crescimento e aumento na densidade de ramificações radiculares. Schellenbaum *et al.* (1991) sugerem que o fungo induziu a diminuição da atividade do meristema radicular e esta coincidiu com o desenvolvimento da parte aérea.

Nas plantas micropropagadas inoculadas com FMA pode ocorrer redução na relação entre parte aérea e radicular, como observado em mudas de maçã e pêssego (Estaun *et al.*, 1994; Estaun *et al.*, 1999), abacaxi, (*Ananas comosus* L. Merrill.) (Guillemin *et al.*, 1992), limão, (*Citrus limon* (L.) Burm.) (Quatrini *et al.*, 2003), pêssego e pêra, (*Pyrus communis* L.) (Rapparini *et al.*, 1994), e em pimenta chilena, (*Capsicum annuum* L.) (Estrada-Luna & Davies Jr., 2003). Isso leva à maior eficiência na produção de biomassa da parte aérea, uma vez que menor quantidade de energia é direcionada para a formação de raízes.

Outro fator biorregulador é a uniformidade das plantas, também influenciada pelos FMA. O coeficiente de variação da homogeneidade das plantas micorrizadas foi menor que o controle, em todas as variedades de macieira micropropagadas testadas por Branzanti *et al.* (1992), o mesmo ocorrendo em mudas de pêssego e pêra (Rapparini *et al.*, 1994).

Como biofertilizantes, os FMA aumentam a absorção de diversos nutrientes levando à melhoria no estado nutricional; como consequência, as plantas apresentam maior desenvolvimento, sendo esse efeito atribuído ao aumento no volume do solo explorado

pelo micélio externo do fungo, bem como ao sistema radicular mais ramificado (Lovato *et al.*, 1996a, Hooker *et al.*, 1994). Azcón-Aguilar *et al.* (1992) observaram que *Glomus deserticola* Trappe, Bloss & Menge, e em menor grau *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerdemann & Trappe, induziram aumento na altura, no número de folhas e no vigor em abacateiro (*Persea americana* Mill.) micropropagado. Em macieiras micropropagadas e micorrizadas, as variedades M9, M26 e Golden cresceram melhor que o controle (Branzanti *et al.*, 1992). Outros relatos também mostram o efeito benéfico da micorrização no crescimento de plantas micropropagadas, como observado em dendezeiro, (*Elaeis guineensis* Jacq.) (Blal *et al.*, 1990); (Blal & Gianinazzi-Pearson, 1989), morangueiro, (*Fragaria ananassa* Duch.) (Vestberg, 1992b); (Borkowska, 2002), bananeira, (*Musa* sp. cv. Pacovan) (Yano-Melo *et al.*, 1999); (*Musa* sp. cv. Grand naine) (Declerck *et al.*, 2002), ameixeira (Fortuna *et al.*, 1992), abacaxizeiro (Guillemin *et al.*, 1992), macieira variedade marubakaido, (*Prunus prunifolia* (Willd.) Borkh.) (Locatelli & Lovato, 2002), macieira, ameixeira e pessegueiro (Sbrana *et al.*, 1994), *L. leucocephala* (Naqvi & Mukerji, 1998), videira, (*Vitis rupestris* Scheele) (Ravolanirina *et al.*, 1989), pessegueiro e pereira (Rapparini *et al.*, 1994), leguminosas lenhosas: *Spartium junceum* L. e *Anthyllis cystisoides* L. (Salamanca *et al.*, 1992), *Sesbania sesban* (L.) Merr. (Subhan *et al.*, 1998), hortênsia (Varma & Schuepp, 1994) e pimenteira chilena (Estrada-Luna & Davies Jr., 2003).

Com o aumento na absorção de nutrientes proporcionado pela associação micorrízica, as plantas micropropagadas e associadas com FMA, em geral possuem maior conteúdo de nutrientes, que pode ser influenciado pelo substrato, espécie vegetal e FMA. Em dendezeiro, a inoculação com FMA aumentou a absorção de Zn, K, Fe, P e Cu (Blal & Gianinazzi-Pearson, 1989), enquanto em *Gentiana verna* L. não houve efeito sobre o conteúdo de Ca, Mg, K e P (Sýkorová *et al.*, 2003).

Nem sempre todos os nutrientes estão em alto teor nas plantas micropropagadas e micorrizadas. Estudando variedades de macieira, Granger *et al.* (1983) encontraram que a variedade M7 teve maior conteúdo de P que o controle, enquanto o teor de K foi maior no controle. Por outro lado, na variedade MM111 a inoculação com FMA não influenciou o conteúdo desses nutrientes. Em morangueiro, a presença de FMA influenciou positivamente o conteúdo de P em todas as partes da planta, porém o N não foi afetado (Hršelová *et al.*, 1989).

Taylor & Harrier (2001) observaram que em mudas de morangueiro da variedade Elvira micropropagadas e inoculadas com *G. clarum*, *G. etunicatum*, *Scutellospora heterogama* (Nicol. & Gerd.) Walker & Sanders, *Gigaspora rosea* Nicolson & Schenck e

Scutellospora persica (Koske & Walker) Walker & Sanders, a concentração de P foi maior que nos tratamentos com outros quatro FMA; os teores de Ca e Mg foram elevados em todos os tratamentos inoculados, enquanto o teor de K não diferiu. Em mudas micropropagadas de pimenta chilena inoculadas com FMA, a quantidade de N, P e K foi maior do que no controle, enquanto os teores de Ca, Fe, B e Cu não diferiram e os de Mg, Mn e Zn foram maiores no controle (Estrada-Luna & Davies Jr., 2003).

Em relação ao papel desempenhado como biocontroladores, os FMA podem aumentar a quantidade de microrganismos benéficos, como observado na rizosfera de plantas de hortênsia micropropagada, onde a quantidade de *Pseudomonas fluorescens* Migula 1895, envolvida no controle biológico de patógenos, aumentou (Varma & Schuepp, 1995), ou podem induzir a planta micropropagada a tolerar melhor os danos causados pelos patógenos. Jaizme-Vega *et al.* (1997) observaram que *G. mosseae* não só favoreceu o crescimento de bananeiras (*Musa* AAA cv. Grand naine) como suprimiu a formação de galhas e a reprodução do nematóide *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood.

Vários substratos usados na aclimatização de plantas micropropagadas podem influenciar a associação micorrízica e o desenvolvimento da planta, uma vez que este é o local de interação do fungo com o vegetal. Em experimento com *Fraxinus excelsior* L. inoculada com *G. intraradices*, em solo com argila e arenito, Lovato *et al.* (1994) observaram que as raízes foram bem colonizadas, porém o crescimento da planta foi diminuído. Quando estas foram transferidas para um substrato com turfa, argila, pedaços de madeira e arenito e fertilizadas com osmocote, a parte aérea das plantas micorrizadas foi maior. Em cereja selvagem (*Prunus avium* L.) apenas o substrato influenciou o desenvolvimento vegetativo (Lovato *et al.*, 1994). Outra cultura favorecida pelo uso de substratos ricos em nutrientes e pela inoculação com FMA (*G. mosseae*) foi a da macieira, com aumento de biomassa da parte aérea e do conteúdo de P na planta (Schubert & Lubraco, 2000). Em *G. verna*, o uso de adubos originados de esterco de vaca ou de cavalo não influenciou na colonização micorrízica nem na produção de biomassa (Sýkorová *et al.*, 2003).

Trindade *et al.* (2003) mencionaram que o substrato composto de turfa, vermiculita e 5% de esterco foi o melhor para a produção de bananeiras da variedade caipira micropropagadas e micorrizadas com *G. margarita*. O aumento das doses de esterco de 5 para 10% não trouxe benefícios e quando turfa e a vermiculita foram substituídas por solo e areia, houve influência negativa no crescimento, principalmente com o uso do esterco. Vestberg (1992a) observou que morangueiros micropropagados e micorrizados produzidos

em turfa, apesar da baixa esporulação do FMA, tiveram maior crescimento, principalmente quando farinha de osso e fertilizante (NPK) foram adicionados. Em areia a esporulação foi elevada e o crescimento das plantas reduzido.

Outra planta micropropagada beneficiada pela micorrização foi o bambu, (*Dendrocalamus asper* Backer ex K. Heyne), a adição de 5% de adubo, proveniente de estrume de búfalo, aumentou o crescimento, a absorção de nutrientes, a colonização e a produção de esporos (Verma & Arya, 1998). Assim, a escolha das proporções e tipos de substratos é importante na produção vegetal, pois além de influenciar o desenvolvimento da planta, afeta os FMA que podem favorecer o crescimento das mudas micropropagadas.

As doses de fertilizantes fosfatados utilizadas na produção vegetal também influenciam o desenvolvimento e o estabelecimento da simbiose, bem como o crescimento do vegetal, dentre outros aspectos. Em macieiras micropropagadas, o coeficiente de variação da homogeneidade de plantas micorrizadas foi menor que o do controle, em todas as variedades testadas, em níveis de 4 e 8 ppm de P, enquanto em alto nível de P (40 ppm) a inoculação não teve influência sobre a homogeneidade (Branzanti *et al.*, 1992). O crescimento apical em mudas micropropagadas de maçã e de ameixa diminuiu marcadamente nos tratamentos onde se adicionou P (Fortuna *et al.*, 1996). Em mudas micropropagadas de Kiwi (*Actinidia deliciosa* (A. Chev.) C. F. Liang & A. R. Ferguson.) houve aumento na área foliar e no peso fresco quando as plantas micorrizadas foram fertilizadas, porém nos tratamentos com níveis mais elevados de fertilização a presença do fungo não afetou o crescimento, que foi beneficiado apenas pela fertilização (Schubert *et al.*, 1992).

Utilizando fosfato solúvel e fosfato de rocha como fertilizantes, Blal *et al.* (1990) observaram que dendezeiros micropropagados, inoculados com espécies de *Glomus*, tiveram maior conteúdo de P que os sem FMA, sendo a máxima absorção de P e maior crescimento obtidos quando o fertilizante foi adicionado à planta micorrizada, mostrando uma interação positiva do FMA com a fertilização.

Em videiras micropropagadas, no nível intermediário de fertilização (20 mg/ Kg), as plantas inoculadas tiveram área foliar maior que o controle, o que não ocorreu em altos níveis de fertilização (Schubert *et al.*, 1990). Varshney *et al.* (2002) observaram que mudas de *Lilium* sp. micorrizadas e micropropagadas tiveram aumento em todos os parâmetros de crescimento nos níveis intermediários de P (12,53 e 13,63 ppm de P) sendo porém similares ao controle no tratamento com 14,6 ppm de P. Em Pistache (*Pistacia integerrima* Stew. ex Brand.) micropropagada, a aplicação de P no controle levou ao aumento do

crescimento da planta similar ao obtido nas micorrizadas, em solo sem fertilização, sendo que o uso de P não influenciou as plantas inoculadas (Schubert & Martinelli, 1988).

De modo geral, a aplicação de FMA é uma oportunidade para reduzir o uso de fertilizantes (Hooker *et al.*, 1994). Altos níveis de P no solo geralmente inibem a colonização e o desenvolvimento do fungo, bem como o estabelecimento da simbiose, porém, dependendo da planta e do fungo, mesmo em substratos com elevado teor de P a simbiose se estabelece eficientemente.

Os efeitos benéficos da associação micorrízica podem ou não proporcionar aumento na percentagem de sobrevivência de plantas micropropagadas. A inoculação com FMA não afetou a sobrevivência de abacateiros (Azcon-Aguilar *et al.*, 1992). O mesmo ocorreu em mudas de ameixeira que também não foram afetadas pela adição de P ao substrato (Fortuna *et al.*, 1996). Por outro lado, em pessegueiro a inoculação produziu 100% de sobrevivência (Estaun *et al.*, 1999), tal como observado em hortênsias (Varma & Schuepp, 1994), em morangueiros (Varma & Schuepp, 1995) e em *S. sesban* (Subhan *et al.*, 1998). Nesta última, apenas 30% do controle sobreviveu.

Os benefícios proporcionados pela associação micorrízica também podem contribuir para diminuir o período de aclimatização de plantas micropropagadas. Salamanca *et al.* (1992) observaram que a inoculação com *G. fasciculatum* encurtou o período de aclimatização de duas espécies de leguminosas lenhosas.

Fatores como interação com outros microrganismos também podem influenciar a associação micorrízica e o desenvolvimento do vegetal micropropagado. Utilizando FMA e *Rhizobium* em *Leucaena*, Naqvi & Mukerji (1998) observaram que a sobrevivência foi de 100% nas mudas inoculadas com os dois microrganismos, 91% nas inoculadas apenas com FMA, 65% nas inoculadas só com *Rhizobium* e o controle teve 100% de mortalidade aos 150 dias. Em *Ficus benjamina* L., um arbusto ornamental, Srinath *et al.* (2003) encontraram maior desenvolvimento e conteúdo de P quando *G. mosseae* foi inoculado juntamente com *Bacillus coagulans* Hammer 1915 e com *Trichoderma harzianum* Rifai. A inoculação com *G. mosseae*, associado ou não aos microrganismos promoveu efeitos benéficos quando comparado ao controle, mas este foi inferior ao obtido no tratamento com inoculação dos três organismos. Do mesmo modo a colonização, o número de esporos de *G. mosseae* e de unidades formadoras de colônias de *B. coagulans* e de *T. harzianum* foram maiores nesse tratamento, sugerindo a existência de interações sinérgicas entre os três organismos, com conseqüentes benefícios para o crescimento da planta. *Pseudomonas*

putida (Trevisan 1889) Migula 1895 atuou sinergicamente com *G. etunicatum* sobre o crescimento do morangueiro micropropagado (Vosatka *et al.*, 1992).

O tamanho da raiz da planta micropropagada que vai ser inoculada com FMA afeta a funcionalidade da simbiose. Em bananeira, o uso de FMA em um substrato contendo turfa, vermiculita e esterco proporcionou maior crescimento das plantas com sistema radicular desenvolvido ou intermediário do que naquelas que inicialmente não apresentavam raízes (Lins *et al.*, 2003). No entanto, em mudas de macieira a sobrevivência foi maior quando o FMA foi inoculado nas plantas com comprimento radicular curto (menor que 1,5 cm); naquelas com raízes longas (3 cm) houve perda de material (Sbrana *et al.*, 1994). Macieiras da variedade Marubakaido apresentaram maior incremento no crescimento quando o FMA foi inoculado no início do enraizamento (Locatelli & Lovato, 2002).

Algumas plantas micropropagadas necessitam de mais tempo para estabelecimento efetivo da simbiose, sendo este um fator importante a ser considerado na utilização de FMA. Em mudas de pêssago, Estaun *et al.* (1999) utilizando turfa (TKS- 1), uma mistura comercial contendo casca de pinho, turfa e solo vulcânico (BVU) e solo, observaram que em três meses não havia interações significativas entre FMA e substrato, sendo as plantas em turfa maiores que as inoculadas. Aos sete meses, as plantas associadas a *G. intraradices* tiveram aumento de 40% em relação ao controle no solo e em BVU, e após 14 meses, todas as plantas inoculadas foram maiores que o controle, independentemente do substrato. Do mesmo modo, Fortuna *et al.* (1996) observaram crescimento similar entre mudas de macieira e ameixeira micorrizadas e adubadas com P, aos dois meses. No entanto, após seis meses, esses valores aumentaram mais nas micorrizadas que nas adubadas, demonstrando que o efeito do P decaiu com o tempo, o que não ocorreu com o efeito da micorrização.

Diferenças em relação à simbiose micorrízica são observadas entre espécies vegetais e até mesmo entre variedades ou cultivares da mesma planta, tal como constatado entre variedades de macieira micropropagada (Locatelli & Lovato, 2002). Esses autores sugeriram que os FMA funcionaram como dreno de fotossintatos numa das variedades testadas, com reflexo negativo no crescimento. Salamanca *et al.* (1992) observaram efeitos diferenciados da micorrização comparando duas espécies de leguminosas arbóreas micropropagadas.

Em alguns casos, o FMA tem efeito negativo sobre certos parâmetros do crescimento vegetal em favor de outros. Mudanças de morangueiro micropropagadas e

micorrizadas tiveram um decréscimo de 5,6% na biomassa total, enquanto a biomassa e o comprimento dos estolões aumentaram 8,5% e 18%, respectivamente (Hršelová *et al.*, 1989).

Plantas micropropagadas e micorrizadas podem tolerar melhor os estresses de origem abiótica, como baixas temperaturas e estresse hídrico. Hortênsias micorrizadas suportaram melhor os períodos de inverno e outono restabelecendo-se mais rápido que as não inoculadas. Provavelmente a simbiose reduziu o potencial osmótico da planta, o que representa uma pré-adaptação significativa para aclimatização (Varma & Schuepp, 1994). Micorrização também aumenta a tolerância das plantas ao estresse hídrico. Em morangueiros, Borkowska (2002) observou que plantas controle, que foram completamente molhadas depois de sete dias de seca, não recuperaram o turgor, enquanto as micorrizadas foram ligeiramente molhadas e se recuperaram facilmente. O mesmo ocorreu com hortênsias micorrizadas que apresentavam menor taxa de murcha (Varma & Schuepp, 1994). Mudanças de pimenteira chilena micorrizadas tiveram maior quantidade de clorofila, condutância estomática, taxa de transpiração e conteúdo relativo de água, o que proporcionou menor estresse hídrico (Estrada-Luna & Davies Jr., 2003).

Outro tipo de estresse abiótico que plantas micropropagadas e micorrizadas toleram é o salino. Yano-Melo *et al.* (2003) observaram que bananeiras inoculadas com FMA foram menos afetadas pela salinidade que o controle, apresentando respostas positivas no crescimento, mesmo na presença do sal.

A colonização micorrízica é influenciada por tipo de substrato, espécie de FMA e de planta, como constatado em mudas micropropagadas de macieiras inoculadas com *G. intraradices*, *Glomus* sp., *G. mosseae* e *Acaulospora laevis* Gerdemann & Trappe (Estaun *et al.*, 1994), em mudas de morango selvagem, *Fragaria vesca* L. (Murphy *et al.*, 2000), em raízes de *Lilium* sp. inoculadas com mistura de FMA ou com *G. intraradices* (Varshney *et al.*, 2002) e em pistache que se apresentou altamente colonizada em substrato não fertilizado e teve a colonização reduzida com a fertilização (Schubert & Martinelli, 1988).

Em morangueiros micropropagados da variedade Elvira, Taylor & Harrier (2001) observaram que todas as espécies de FMA inoculadas foram capazes de colonizar as mudas, porém maior percentagem de colonização foi produzida por espécies de *Glomus*, em comparação com as de *Gigaspora* e *Scutellospora*. Morin *et al.* (1994) constataram que algumas cultivares de macieira micropropagadas (*Malus domestica* Borkh.) foram mais colonizadas do que outras.

Quatrini *et al.* (2003) encontraram colonização de 20% em raízes de limoeiros micropropagados associados a *G. mosseae* e de 79% naqueles inoculados com uma mistura de fungos nativos. Em helicônias, a percentagem de colonização variou de acordo com o FMA utilizado: 55,9% com *G. margarita*, 46,9% com inóculo múltiplo (*G. margarita*, *G. clarum* e *G. etunicatum*), 40,3% com *G. clarum* e 28,71% com *G. etunicatum* (Sato *et al.*, 1999).

A intensidade de colonização pode ou não afetar o desenvolvimento do vegetal e nem sempre se observa correlação entre a percentagem de raiz colonizada e o crescimento da planta. *G. clarum* colonizou extensivamente o sistema radicular de plantas de mandioca micropropagadas (*Manihot esculenta* Crantz.), mas não foi tão efetivo quanto *G. fasciculatum*, que colonizou em menor proporção, enquanto *Entrophosphora colombiana* Spain & Schenck não foi capaz de colonizar (Azcon-Aguilar *et al.*, 1997).

O tempo de estabelecimento da colonização pode variar em plantas micropropagadas. Estrada-Luna & Davies Jr. (2003) utilizando pimenteira chilena micorrizadas observaram hifas intracelulares após três dias da inoculação e no décimo dia, arbúsculos e vesículas foram visualizados. Em plantas de *S. sesban* inoculadas com *G. fasciculatum*, as raízes em um mês mostraram hifas inter e intracelulares, arbúsculos e micélio extraradicular. Grande número de vesículas entre cinco e seis semanas e, em alguns casos, esporos foram vistos depois de um intervalo de 10 semanas (Subhan *et al.*, 1998). Enquanto em *G. verna*, em cinco meses de cultivo a colonização foi ausente ou baixa (5%), e só aumentou após cinco meses nos tratamentos com mistura de FMA, atingindo 50% e permanecendo neste nível nos dois anos seguintes (Sýkorová *et al.*, 2003).

A espécie de FMA utilizada tem grande importância para o estabelecimento de uma simbiose efetiva em mudas micropropagadas. Em limoeiro, a relação parte aérea e raiz foi menor nas plantas inoculadas com FMA nativo e maior nas inoculadas com *G. mosseae*. O crescimento também foi melhor com o fungo nativo (Quatrini *et al.*, 2003). Mudas de macieira e ameixeira apresentaram melhor resposta de crescimento quando inoculadas com *G. mosseae* do que com *G. intraradices*, embora a percentagem de colonização não tenha diferido entre os dois tratamentos (Fortuna *et al.*, 1996). *Glomus versiforme* (Karsten) Berch promoveu maior crescimento em variedades de macieira do que *G. intraradices* e *G. aggregatum* (Morin *et al.*, 1994). Em experimento utilizando mudas de morangueiro colonizadas com nove espécies de FMA, Taylor & Harrier (2001) observaram que as plantas inoculadas com *G. margarita* e com *G. intraradices* apresentaram maior biomassa, enquanto as outras espécies de FMA prejudicaram o crescimento das plantas.

Os FMA influenciam e são influenciados por muitos fatores, de modo que a associação micorrizica é bastante complexa e afirmações generalizadas devem ser cautelosas. Assim, cada combinação de fungo-substrato-planta merece ser estudada. Segundo Hooker *et al.* (1994), é provável que no futuro a inoculação com FMA faça parte do protocolo de micropropagação, resultando em produção com economia de tempo, energia e fertilização, fazendo esta técnica não apenas economicamente competitiva, mas também sustentável.

INTERAÇÃO FMA E *Meloidogyne*

Interações biológicas na rizosfera afetam o desenvolvimento da planta, a produtividade do ecossistema e a dinâmica vegetal (Brussaard *et al.*, 2001). FMA e nematóides habitam o mesmo ambiente, ou seja, ocorrem na rizosfera e nas raízes de plantas, invadindo o tecido radicular. Observações sobre a ocorrência de interação entre nematóides e FMA no campo levaram à realização de diversos trabalhos em casa de vegetação, sob condições controladas, para melhor entendimento da interação (Ingham, 1988), que é bastante complexa e depende das espécies de FMA, da planta e do nematóide que interagem (Cofcewicz *et al.*, 2001; Jaizme-veja *et al.*, 1997), bem como das condições às quais são submetidos (Calvet *et al.*, 2001).

Um dos gêneros de nematóides mais importantes como causador de doenças em plantas é *Meloidogyne*, conhecido como o nematóide das galhas, devido ao fato de induzir hipertrofia de tecidos da raiz (galhas). *Meloidogyne* é um nematóide sedentário, que penetra na raiz quando jovem e nela se instala para crescer e reproduzir. A doença causada por este nematóide é chamada de meloidoginose e produz danos radiculares, com a formação das galhas, muitas vezes associadas à necroses, e posterior danos à parte aérea, com perdas de produção e até morte da planta. Sendo assim, representa grande problema para a agricultura mundial. Em geral, nematóides sedentários são mais beneficiados pelo FMA que os nematóides migradores (Borowicz, 2001).

Deficiência mineral é um sintoma comum em plantas parasitadas por *Meloidogyne*, uma vez que este impede a absorção e o transporte de água e nutrientes afetando o crescimento e o desenvolvimento da planta (Carneiro *et al.*, 2002). A inoculação com FMA em plantas atacadas por este nematóide pode diminuir a deficiência, aumentando a absorção de diversos nutrientes, dentre os quais o P, com posterior aumento no crescimento da planta.

O efeito do FMA sobre plantas com nematóide é mais que aumento no vigor e na nutrição de P. Redução da reprodução de nematóides é também atribuída à complexa mudança fisiológica no vegetal induzida pela micorrização. Essas mudanças podem se manifestar em vários aspectos da relação, alterando a atração produzida pela raiz (barreiras físicas ou químicas); os fatores de pré-infecção tais como exsudatos radiculares; a disponibilidade de sítios de infecção; a produção de compostos nematocidas (Ingham, 1988); a ativação de mecanismos de defesa da planta (Azcón-Aguilar & Barea, 1996). Essas mudanças podem fazer da raiz um recurso pobre para o nematóide, pela produção de condições inadequadas para ótimo desenvolvimento e reprodução do patógeno (Dehne, 1982). Além disso, o FMA e o nematóide competem por nutrientes (Azcón-Aguilar & Barea, 1996).

Os FMA também influenciam a micorrizosfera, induzindo mudanças na população microbiana do solo, o que pode estimular certos componentes da microbiota, antagonicos ao nematóide (Azcón-Aguilar & Barea, 1996).

O efeito do FMA sobre o crescimento de plantas infectadas com *Meloidogyne* é altamente variável, mas geralmente positivo (Borowicz, 2001). Atilano *et al.* (1981) observaram aumento na biomassa da parte aérea e radicular de videiras da variedade Thompson inoculadas com *G. fasciculatum* e infestadas com *Meloidogyne arenaria* (Neal.) Chitwood. Em *Hyoscyamus niger* L., a inoculação com *G. aggregatum* proporcionou aumento na biomassa de plantas parasitadas por *M. incognita* (Pandey *et al.*, 1999). No entanto, em plantas de soja (*Glycine Max* (L.) Merr.) com o mesmo patógeno, a inoculação com *Glomus macrocarpum* Tul. & Tul. não beneficiou o crescimento (Kellam & Schenck, 1980).

Vários aspectos, como utilização de diferentes espécies de FMA, levaram a respostas variadas no crescimento de plantas infectadas com *Meloidogyne*. Em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) infectado com *Meloidogyne javanica* (Treub.) Chitwood, a inoculação com *G. margarita* reduziu a biomassa da parte aérea, o peso e o número de frutos, que foram similares ao controle, enquanto no tratamento com *G. etunicatum* esses parâmetros foram aumentados pelo fungo (Cofcewicz *et al.*, 2001). Habte *et al.* (1999) observaram aumento na biomassa de plantas de trevo branco (*Trifolium repens* L.) infestadas com *M. incognita* que receberam inóculo de *G. intraradices*, enquanto nos tratamentos com *G. aggregatum* e *G. mosseae* o peso seco da parte aérea das plantas diminuiu. A inoculação com *G. mosseae* nativo em bananeiras infestadas com *M. incognita*

resultou em aumento significativo no crescimento, comparado com o uso de isolado de *G. mosseae* não nativo (Jaizme- Veja *et al.*, 1997).

Respostas diferenciadas à inoculação com FMA também ocorreu em função da cultivar que estava sendo testada. Em algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) infestado com *M. incognita*, dois cultivares inoculados com *G. margarita* apresentaram maior desenvolvimento que o controle, porém a cultivar resistente foi melhor que a cultivar susceptível (Roncadori & Hussey, 1977). Resultado similar ocorreu com cultivares de alfafa (*Medicago sativa* L.) infestados com *Meloidogyne hapla* Chitwood (Grandison & Cooper, 1986).

A presença de outros organismos pode aumentar o efeito benéfico dos FMA. Diedhiou *et al.* (2003) observaram que a inoculação conjunta com *Glomus coronatum* Giovannetti e *Fusarium oxysporum* Schlechtend. Fr., não patogênico aumentou o crescimento de tomateiros infestados com *M. incognita*, em comparação com o tratamento onde apenas FMA foi usado como inóculo.

O tratamento do solo também influencia a resposta da planta micorrizada. Pessegueiros plantados em área infestada com *Meloidogyne* apresentaram maior desenvolvimento no tratamento inoculado artificialmente com mistura de FMA (*G. intraradices*, *G. mosseae*, *G. etunicatum*), em solo pasteurizado, do que nos tratamentos com solo não pasteurizado (Calvet *et al.*, 2001).

A disponibilidade de nutrientes, principalmente P, afeta diretamente a interação FMA, nematóide e hospedeiro e, conseqüentemente, o desenvolvimento da planta. Em geral, a micorrização favorece o crescimento em solos com baixa quantidade de P, porém em bananeiras (*Musa* AAA cv. Grand naine) inoculadas com *G. mosseae* e infestadas com *M. incognita*, a utilização de 42 ppm de P influenciou positivamente o crescimento, comparado ao tratamento com 16,2 ppm de P (Jaizme-Veja *et al.*, 1997). Em plantas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) inoculado com FMA, a adição de P aumentou a tolerância a *M. arenaria*, contudo foi no tratamento com baixo nível de P (25µg/g) que o efeito do fungo sobre o crescimento foi mais acentuado (Carling *et al.*, 1996). O mesmo ocorreu em pessegueiros inoculados com *G. etunicatum* e com *G. margarita*, os quais tiveram aumento na biomassa da parte aérea e no diâmetro do caule, no tratamento com menor nível de P (50µg/g) (Strobel *et al.*, 1982). Grandison & Cooper (1986), testando duas cultivares de alfafa, uma susceptível e outra resistente ao nematóide, observaram que ambas foram beneficiadas pela inoculação com FMA em todos os níveis de P utilizados.

O efeito benéfico da micorrização, em plantas parasitadas por nematóides, pode ser estendido ao campo. Em algodoeiro plantado em área infestada com *M. incognita*, a inoculação com FMA incrementou o crescimento das plantas durante vários anos de experimento (Smith *et al.*, 1986).

Todos os fatores que afetam a resposta de crescimento da planta também influenciam os FMA e os nematóides. Por outro lado, a colonização micorrízica e a densidade de esporos podem ou não ser afetadas pelo nematóide. Isso depende das espécies do FMA utilizado, do vegetal, do nematóide e das condições do solo, tais como a quantidade de P.

Em relação à densidade de esporos, Roncadori & Hussey (1977) observaram que em cultivares de algodoeiro micorrizados e infestados com *M. incognita* a esporulação de *G. margarita* foi maior no tratamento com a cultivar resistente do que naquele com a cultivar susceptível. Na rizosfera de tomateiros, *G. margarita* produziu mais esporos do que *G. etunicatum*, na presença de *M. javanica* (Cofcewicz *et al.*, 2001). Atilano *et al.* (1981) observaram que a presença de *M. arenaria* em raízes de videira levou a uma diminuição da quantidade de esporos produzidos por *G. fasciculatum*, ocorrendo o mesmo com *G. aggregatum* na rizosfera de *H. niger* L. infestado com *M. incognita* (Pandey *et al.*, 1999). Por outro lado, na rizosfera de pessegueiros (Strobel *et al.*, 1982) e de bananeiras (Jaizme-Vega *et al.*, 1997), a esporulação dos FMA não foi afetada pela presença de nematóides.

Em experimentos com cultivares de alfafa, Grandison & Cooper (1986) observaram que *M. hapla* diminuiu significativamente a colonização por FMA na cultivar susceptível, mas não afetou a produzida na cultivar resistente. Na rizosfera de tomateiros, *M. javanica* diminuiu a colonização por *G. margarita*, enquanto a produzida por *G. etunicatum* não foi alterada (Cofcewicz *et al.*, 2001). Carling *et al.* (1996) observaram que a colonização micorrízica não foi afetada pela presença de *M. arenaria* em plantas de amendoim. O mesmo ocorreu com *G. mosseae* em bananeiras associadas a *G. mosseae* e infestadas com *M. incognita* (Jaizme-Vega *et al.*, 1997). Em trevo branco, a presença de *M. incognita* induziu aumento na colonização por *G. intraradices*, porém não teve efeito sobre a colonização produzida por *G. aggregatum* e *G. mosseae* (Habte *et al.*, 1999). Raízes de *H. niger* tiveram a colonização por *G. aggregatum* reduzida pela presença de *M. incognita* (Pandey *et al.*, 1999).

Os fatores que interferem no desenvolvimento da planta e do FMA também afetam os nematóides. Assim, variações no número de galhas, de massas de ovos e de ovos,

dependem das espécies de FMA, da planta e de *Meloidogyne*, bem como das condições do solo.

Em plantas de amendoim, a presença de *G. etunicatum* e de *G. margarita* aumentou o número de galhas induzidas por *M. arenaria* nas raízes (Carling *et al.*, 1996), ocorrendo o mesmo em tomateiros associados com mistura de FMA (Cofcewicz *et al.*, 2001). A produção de galhas induzida por *M. incognita* foi reduzida pela presença de *G. mosseae* em bananeiras (Jaizme-Vega *et al.*, 1997), assim como por *G. aggregatum* em trevo branco (Habte *et al.*, 1999), por *G. macrocarpum* em sojas (Kellam & Schenck, 1980), por *G. coronatum* em tomateiros (Diedhiou *et al.*, 2003) e por *G. mosseae*, *G. intraradices* e *G. etunicatum* em pessegueiros (Calvet *et al.*, 2001).

A reprodução dos nematóides, ou seja, a quantidade de massas de ovos e de ovos, pode ser influenciada por FMA. Em cultivar susceptível de algodoeiro, o número de ovos de *M. incognita* aumentou quando *G. margarita* foi inoculada; no entanto, a presença do fungo não afetou o nematóide na rizosfera da cultivar resistente (Roncadori & Hussey, 1977). Em dois cultivares de alfafa, a quantidade de ovos foi menor no tratamento com FMA, indicando que o fungo aumentou a resistência das plantas ao patógeno (Grandison & Cooper, 1986).

A inoculação de pessegueiros com *G. margarita* induziu decréscimo do número de ovos de *M. incognita*, enquanto a presença de *G. etunicatum* não teve efeito sobre o nematóide (Strobel *et al.*, 1982). Em tomateiros infestados com *M. incognita*, o número de ovos diminuiu na presença de *G. coronatum* (Diedhiou *et al.*, 2003). Jaizme-Vega *et al.* (1997) observaram decréscimo no número de ovos de *M. incognita* quando *G. mosseae* foi inoculado em bananeiras.

Maior número de ovos de *M. javanica* em raízes de tomateiro foi encontrado no tratamento com *G. margarita* do que naquele com *G. etunicatum* (Cofcewicz *et al.*, 2001). Carling *et al.* (1996) observaram que a presença de FMA estimulou a produção de ovos por *M. arenaria* em plantas de amendoim, principalmente em substrato com baixo nível de P (25µg/g).

Considerando que a presença de FMA pode reduzir os danos causados pelos nematóides, modificando a reação da planta hospedeira para suportar a reprodução do nematóide e responder ao parasitismo, é possível que plantas susceptíveis a nematóides tolerem melhor o parasito (Hussey & Roncadori, 1982). Essa proteção é modulada pelo solo e por condições ambientais (Azcón-Aguilar & Barea, 1996), porém as respostas são bastante complexas, de modo que cada interação nematóide- planta- FMA é única.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aki, A. 2002. Caminhos para o mercado de flores em Pernambuco. Pp. 5- 9. In: E. Ramos (ed.). **Floricultura em Pernambuco**. Edição Sebrae, Série Agronegócio, Recife, Pernambuco.
- Atilano, R. A.; Menge, J. A. & Van Gundy, S. D. 1981. Interactions between *Meloidogyne arenaria* and *Glomus fasciculatus* in grape. **Journal of Nematology** **13** (1): 52- 57.
- Azcón-Aguilar, C.; Barcelo, A.; Vidal, M. T. & Vina, G. de la. 1992. Further studies on the influence of mycorrhizal on growth and development of micropropagated avocado plants. **Agronomie** **12**: 837- 840.
- Azcón-Aguilar, C. & Barea, J. M. 1996. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil- borne plant pathogens – an overview of the mechanisms involved. **Mycorrhiza** **6**: 457- 464.
- Azcón-Aguilar, C. & Barea, J. M. 1997. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. **Scientia Horticulturae** **68**: 1- 24.
- Azcón-Aguilar, C.; Cantos, M.; Troncoso, A. & Barea, J. M. 1997. Beneficial effect of arbuscular mycorrhizas on acclimatization of micropropagated cassava plantlets. **Scientia Horticulturae** **72**: 63- 71.
- Blal, B. & Gianinazzi-Pearson, V. 1989. Interest of endomycorrhizae for the production of micropropagated oil palm clones. **Agriculture, Ecosystems and Environment** **29**: 39- 43.
- Blal, B.; Morel, C.; Gianinazzi-Pearson, V.; Fardeau, J. C. & Gianinazzi, S. 1990. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on phosphate fertilizer efficiency in two tropical acid soils planted with micropropagated oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). **Biology and Fertility of Soils** **9**: 43- 48.
- Borkowska, B. 2002. Growth and photosynthetic activity of micropropagated strawberry plants inoculated with endomycorrhizal fungi (AMF) and growing under drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum** **24** (4): 365- 370.
- Borowicz, V. 2001. Do arbuscular mycorrhizal fungi alter plant-pathogen relations? **Ecology** **82** (11): 3057- 3068.
- Branzanti, B.; Gianinazzi-Pearson, V. & Gianinazzi, S. 1992. Influence of phosphate fertilization on the growth and nutrient status of micropropagated apple infected with endomycorrhizal fungi during the weaning stage. **Agronomie** **12**: 841- 845.

- Brussaard, L.; Kuiper, T. W. & Goede, R. G. M. 2001. On the relation between nematodes, mycorrhizal fungi and plants: functional composition of species and plant performance. **Plant and Soil** **232**: 155- 165.
- Calvet, C.; Pinochet, J.; Hernandez-Dorrego, A.; Estaún, V. & Camprubi, A. 2001. Field microplot performance of the peach-almond hybrid GF- 677 after inoculation with arbuscular fungi in a replant soil infested with root-knot nematodes. **Mycorrhiza** **10**: 295- 300.
- Carling, D. E.; Roncadori, R. W. & Hussey, R. S. 1996. Interactions of arbuscular mycorrhizae *Meloidogyne arenaria*, and phosphorus fertilization on peanut. **Mycorrhiza** **6**: 9- 13.
- Carneiro, R. G.; Mazzafera, P.; Ferraz, L. C. C. B.; Muraoka, T. & Trivelin, P. C. O. 2002. Uptake and translocation of nitrogen, phosphorus and calcium in soybean infected with *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. **Fitopatologia Brasileira** **27** (2): 141- 150.
- Carvalho, J. M. F. C. 1999. **Técnicas de micropropagação**. Documento 64. Embrapa-Algodão, Campina Grande, Paraíba.
- Coelho, R. S. & Warumby, J. F. 2002. Doenças de plantas ornamentais tropicais detectadas na zona da mata de Pernambuco. Pp. 67- 69. In: E. Ramos (ed.). **Floricultura em Pernambuco**. Edição Sebrae, Série Agronegócio, Recife, Pernambuco.
- Cofcewicz, E. T.; Medeiros, C. A. B.; Carneiro, R. M. D. G. & Pierobom, C. R. 2001. Interação dos fungos micorrízicos arbusculares *Glomus etunicatum* e *Gigaspora margarita* e o nematóide das galhas *Meloidogyne javanica* em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira** **26** (1): 65- 70.
- Davies Jr., F. T. 1987. Effects of VA- mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake of cuttings of *Rosa multiflora* in two container media with three levels of fertilizer application. **Plant and Soil** **104**: 31- 35.
- Debergh, P. C. & Read, P. E. 1991. Micropropagation. Pp. 1- 13. In: P. C. Debergh & R. H. Zimmerman (eds.). **Micropropagation: Technology and application**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, London.
- 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.
- Dehne, H. W. 1982. Interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and pathogens. **Phytopathology** **72** (8): 1115- 1119.

- Diedhiou, P. M.; Hallmann, J.; Oerke, E. C. & Dehne, H. W. 2003. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and a non-pathogenic *Fusarium oxysporum* on *Meloidogyne incognita* infestation of tomato. **Mycorrhiza** **13**: 199- 204.
- Dodd, J. C. & Thomson, B. D. 1994. The screening and selection of inoculant arbuscular-mycorrhizal and ectomycorrhizal fungi. **Plant and Soil** **159**: 149- 158.
- Estaun, V.; Calvet, C. & Camprubi, A. 1994. Arbuscular mycorrhizae and growth enhancement of micropropagated *Prunus* rootstock in different soilless potting mixes. **Agricultural Science in Finland** **3**: 263- 267.
- Estaun, V.; Calvet, C.; Camprubi, A. & Pinochet, J. 1999. Long-term effects of nursery starter substrate and AM inoculation of micropropagated peach x almond hybrid rootstock GF677. **Agronomie** **19**: 483- 489.
- Estrada-Luna, A. A. & Davies Jr., F. T. 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi influence water relations, gas exchange, abscisic acid and growth of micropropagated chile ancho pepper (*Capsicum annuum*) plantlets during acclimatization and post-acclimatization. **Journal of Plant Physiology** **160**: 1073- 1083.
- Ferreira, A.; Souza Filho, I. C. & Albuquerque, S. R. C. 2002. Panorama global da floricultura em Pernambuco. Pp. 23- 59. In: E. Ramos (ed.). **Floricultura em Pernambuco**. Edição Sebrae, Série Agronegócio, Recife, Pernambuco.
- Fortuna, P.; Citerinesi, S.; Morini, S.; Giovannetti, M. & Loreti, F. 1992. Infectivity and effectiveness of different species of arbuscular mycorrhizal fungi in micropropagated plants of Mr S 2/5 plum rootstock. **Agronomie** **12**: 825- 829.
- Fortuna, P.; Citerinesi, S.; Morini, S.; Vitagliano, C. & Giovannetti, M. 1996. Influence of arbuscular mycorrhizae and phosphate fertilization on shoot apical growth of micropropagated apple and plum rootstocks. **Tree Physiology** **16**: 757- 763.
- Gaur, A.; Gaur, A. & Adholeya, A. 2000. Growth and flowering in *Petunia hybrida*, *Callistephus chinensis* and *Impatiens balsamina* inoculated with mixed AM inocula or chemical fertilizers in a soil of low P fertility. **Scientia Horticulturae** **84**: 151- 162.
- Grandison, G. S. & Cooper, K. M. 1986. Interaction of vesicular-arbuscular mycorrhizae and cultivars of alfafa susceptible and resistant to *Meloidogyne hapla*. **Journal of Nematology** **18** (2): 141- 149.
- Granger, R. L.; Plenchette, C. & Fortin, J. A. 1983. Effect of a arbuscular (VA) endomycorrhizal fungus (*Glomus epigaeum*) on the growth and leaf mineral content of two apple clones propagated in vitro. **Journal of Plant Science** **63**: 551- 555.

- Grattapaglia, D. & Machado, M. A. 1998. Micropropagação. Pp. 183- 260. In: A. C.Torres & L. S. Caldas (eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Embrapa-CNPq, Brasília.
- Guillemin, J. P.; Gianinazzi, S. & Trouvelot, A. 1992. Screening of arbuscular endomycorrhizal fungi for establishment of micropropagates pineapple plants. **Agronomie 12**: 831- 836.
- Habte, M.; Zhang, Y. C. & Schmitt, D. P. 1999. Effectiveness of *Glomus* species in protecting white clover against nematode damage. **Canadian Journal of Botany 77**: 135- 139.
- Hooker, J. E.; Gianinazzi, S.; Vestberg, M.; Barea, J. M. & Atkinson, D. 1994. The application of arbuscular mycorrhizal fungi to micropropagation systems: an opportunity to reduce chemical inputs. **Agricultural Science in Finland 3**: 227- 232.
- Hršelová, H.; Gryndler, M. & Vancura, V. 1989. Influence of inoculation with VA mycorrhizal fungus *Glomus* sp. on growth of strawberries and runner formation. **Agriculture, Ecosystems and Environment 29**: 193- 197.
- Hussey, R. S. & Roncadori, R. W. 1982. Vesicular-arbuscular mycorrhizae may limit nematode activity and improve plant growth. **Plant Disease 66** (1): 7- 14.
- Ingham, R. E. 1988. Interactions between nematodes and vesicular-arbuscular mycorrhizae. **Agriculture, Ecosystems and Environment 24**: 169- 182.
- Jaizme-Vega, M. C.; Tenoury, P.; Pinochet, J. & Jaumot, M. 1997. Interactions between the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and *Glomus mosseae* in banana. **Plant and Soil 196**: 27- 35.
- Johnson, C. R.; Jarrell, W. M. & Menge, J. A. 1984. Influence of ammonium: nitrate ratio and solution pH on mycorrhizal infection, growth and nutrient composition of *Chrysanthemum marifolium* var. *circus*. **Plant and Soil 77**: 151- 157.
- Kellam, M. K. & Schenck, N. C. 1980. Interactions between a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and root-knot nematode on soybean. **Phytopathology 70** (4): 293- 296.
- Kitto, S. L. 1997. Commercial micropropagation. **HortScience 32** (6): 1012- 1014.
- Lamas, A. M. 2002. **Floricultura Tropical (técnicas de cultivo)**. Edição Sebrae, Série empreendedor, Recife, Pernambuco.
- Lameira, O. A.; Lemos, O. F.; Menezes, I. C. & Pinto, J. E. B. P. 2000. **Cultura de tecidos (manual)**. Documento 66. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará.

- 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.
- Locatelli, L. M. & Lovato, P. E. 2002. Inoculação micorrízica e aclimatização de dois porta-enxertos de macieira micropropagados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **37** (2): 177- 184.
- Lovato, P. E.; Gianinazzi- Pearson, V.; Trouvelot, A. & Gizninazzi, S. 1996a. The state of art of mycorrhizas and micropropagation. **Advanced Horticultural Science** **10**: 46- 52.
- Lovato, P. E.; Hammatt, N.; Gianinazzi-Pearson, V. & Gianinazzi, S. 1994. Mycorrhization of micropropagated mature wild cherry (*Punus avium* L.) and common ash (*Fraxinus excelsior* L.). **Agricultural Science in Finland** **3**: 297- 301.
- Lovato, P. E.; Trouvelot, A.; Gianinazzi-Pearson, V. & Gianinazzi, S. 1996b. Micorrização de plantas micropropagadas. P. 175- 201. In: J. O. Siqueira, (ed.). **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras.
- Marschner, H. & Dell, B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. **Plant and Soil** **159**: 89- 102.
- Morin, F.; Fortin, J. A.; Hamel, C.; Granger, R. L. & Smith, D. L. 1994. Apple rootstock response to vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in a high phosphorus soil. **Journal of America Society Horticultura Science** **119** (3): 578- 583.
- Murphy, J. G.; Rafferty, S. M. & Cassells, A. C. 2000. Stimulation of wild strawberry (*Fragaria vesca*) arbuscular mycorrhizas by addition of shellfish waste to the growth substrate: interaction between mycorrhization, substrate amendment and susceptibility to red core (*Phytophthora fragariae*). **Applied Soil Ecology** **15**: 153-158.
- Naqvi, N. S. & Mukerji, K. G. 1998. Mycorrhization of micropropagated *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. **Symbiosis** **24**: 103- 114.
- Pandey, R.; Gupta, M. L.; Singh, H. B. & Kumar, S. 1999. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi alone or in combination with *Meloidogyne incognita* on *Hyoscyamus niger* L. **Bioresource Technology** **69**: 275- 278.
- Preece, J. E. & Sutter, E. G. 1991. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. P. 71- 93. In: P. C. Debergh & R. H. Zimmerman (eds.). **Micropropagation: Technology and application**. Kluwer Academic publishers, Dordrecht, Netherlands, London..
- Quatrini, P.; Gentile, M.; Carimi, F.; Pasquale, F. & Puglia, A. M. 2003. Effect of native arbuscular mycorrhizal fungi and *Glomus mosseae* on acclimatization and development

- of micropropagated *Citrus limon* (L.) Burm. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology** **78** (1): 39- 45.
- Rachel, E. K.; Reddy, S. R. & Reddy, S. M. 1992. Seedling preinoculation with VAM fungi on transplant survival and growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.) **Proceedings Nature Academy of Science** **62**: 429- 432.
- Rai, M. K. 2001. Current advances in mycorrhization in micropropagation. **In Vitro Cell Development Biology**. **37**: 158- 167.
- 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.
- Ravolanirina, F.; Gianinazzi, S.; Trouvelot, A. & Carre, M. 1989. Production of endomycorrhizal explants of micropropagated grapevine rootstock. **Agriculture, Ecosystems and Environment** **29**: 323- 327.
- Roncadori, R. W. & Hussey, R. S. 1977. Interaction of the endomycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* and root-knot nematode on cotton. **Phytopathology** **67**: 1507- 1511.
- Saggin Júnior, O. J. & Lovato, P. E. 1999. Aplicação de micorrizas arbusculares na produção de mudas e plantas micropropagadas. Pp. 725-773 In: J.O. Siqueira; F.M.S. Moreira; A.S. Lopes; L.R.G. Guilherme; V. Faquin; A.E. Furtini Neto & J.G. Carvalho (eds.). **Inter-relação Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas**. SBCS, UFPA, DCS, Lavras.
- Salamanca, C. P.; Herrera, M. A. & Barea, J. M. 1992. Mycorrhizal inoculation of micropropagated woody legumes used in revegetation programmes for desertified Mediterranean ecosystems. **Agronomie** **12**: 869- 872.
- Sato, A. Y.; Nannetti, D. C.; Pinto, J. E. B. P.; Siqueira, J. O. & Blank, M. F. A. 1999. Fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de mudas de helicônia e gerbera micropropagadas. **Horticultura Brasileira** **17** (1): 25- 28.
- Sbrana, C.; Giovannetti, M. & Vitagliano, C. 1994. The effect of mycorrhizal infection on survival and growth renewal of micropropagated fruit rootstocks. **Mycorrhiza** **5**: 153- 156.
- Schellenbaum, L.; Berta, G.; Ravolanirina, F.; Tisserant, B.; Gianinazzi, S. & Fitter, A. H. 1991. Influence of endomycorrhizal infection on root morphology in a micropropagated woody plant species (*Vitis vinifera* L.). **Annals of Botany** **68**: 135- 141.
- Schubert, A.; Bodrino, C. & Gribaudo, I. 1992. Vesicular arbuscular mycorrhizal inoculation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) micropropagated plants. **Agronomie** **12**: 847- 850.

- Schubert, A. & Lubraco, G. 2000. Mycorrhizal inoculation enhances growth and nutrient uptake of micropropagated apple rootstock during weaning in commercial substrates of high nutrient availability. **Applied Soil Ecology** **15**: 113- 118.
- Schubert, A.; Mazzitelli, M.; Ariusso, O. & Eynard, I. 1990. Effects of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi on micropropagated grapevines: influence of endophyte strain, P fertilization and growth medium. **Vitis** **29**: 5- 13.
- Schubert, A. & Martinelli, A. 1988. Effect of vesicular arbuscular mycorrhizae on growth of in vitro propagated *Pistacia integerrima*. **Acta Horticulturae** **227**: 441-443.
- Schübler, A.; Schwarzott, D. & Walker, C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycological Research** **105** (12): 1413- 1421.
- Silva, M. A.; Cavalcante, U. M. T.; Silva, F. S. B; Soares, S. A. G. & Maia, L. C. 2004. Crescimento de mudas de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis) associadas a fungos micorrízicos arbusculares (Glomeromycota). **Acta Botânica Brasileira** **18** (4): 981- 985.
- Silveira, A. P. D. 1992. Micorrizas. Pp. 258- 282. In: E. J. B. N Cardoso; S. M. Tsai & M. C. P. Neves (eds.). **Microbiologia do Solo**. Sociedade Brasileira de Ciências do Solo. Campinas.
- Siqueira, J. O. 1996. Micorrizas e Micorrizologia. Pp. 1- 4. In: J. O. Siqueira (ed.). **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras.
- Siqueira, J. O.; Lambais, M. R. & Stürmer, S. L. 2002. Fungos micorrízicos arbusculares. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento** **25**: 12- 21.
- Smith, A. W. 1972. **A gardener's dictionary of plant names**. Press St. Martin's, Cassel e Company Ltd., New York.
- Smith, S. E. & Read, D. J. 1997. **Mycorrhizal symbiosis**. Segunda edição. Academic Press, London.
- Smith, G. S.; Roncadori, R. W. & Husey, R. S. 1986. Interactions of endomycorrhizal fungi, superphosphate and *Meloidogyne incognita* on cotton in microplot and field studies. **Journal of Nematology** **18** (2): 208- 216.
- Srinath, J.; Bagyaraj, D. J. & Satyanarayana, B. N. 2003. Enhanced growth and nutrition of micropropagated *Ficus benjamina* to *Glomus mosseae* co-inoculated with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus coagulans*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology** **19**: 69- 72.

- Strobel, N. E.; Husey, R. S. & Roncadori, R.W. 1982. Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi *Meloidogyne incognita*, and soil fertility on peach. **Phytopathology** **72** (6): 690- 694.
- Subhan, S.; Sharmila, P. & Pardha Saradhi, P. 1998. *Glomus fasciculatum* alleviates transplantation shock of micropropagated *Sesbania sesban*. **Plant Cell Reports** **17**: 268-272.
- Sykorová, Z.; Rydlova, J. & Vosatka, M. 2003. Establishment of mycorrhizal symbiosis in *Gentiana verna*. **Folia Geobotanica** **38**: 177- 189.
- 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.
- Trindade, A. V.; Lins, G. M. L. & Maia, I. C. S. 2003. Substratos e fungo micorrizico arbuscular em mudas micropropagadas de bananeira na fase de aclimação. **Revista Brasileira de Fruticultura** **25** (1): 137- 142.
- Trufem, S. F. B. 1998. Utilização de Zigomicetos em processos biotecnológicos. Pp. 61- 66. In . V. L. R Bononi (ed.). **Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas**. Instituto de Botânica, São Paulo.
- Varma, A. & Schuepp, H. 1995. Mycorrhization of the commercially important micropropagated plants. **Critical Reviews in Biotechnology** **15** (3/4): 313- 328.
- Varma, A. & Schuepp, H. 1994. Positive influence of arbuscular mycorrhizal fungus on *in vitro* raised Hortensia plantlets. **Angewandti Botanik** **68**: 108- 115.
- Varshney, A.; Sharma, M. P.; Adholeya, A.; Dhawan, V. & Srivastava, P. S. 2002. Enhanced growth of micropropagated bulblets of *Lilium* sp. inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi at different P fertility levels in an alfisol. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology** **77** (3): 258- 263.
- Verma, R. K. & Arya, I. D. 1998. Effect of arbuscular mycorrhizal fungal isolates and organic manure on growth and mycorrhization of micropropagated *Dendrocalamus asper* plantlets and on spore production in their rhizosphere. **Mycorrhiza** **8**: 113- 116.
- Vestberg, M. 1992a. The effect of growth substrate and fertilizer on the growth and vesicular-arbuscular mycorrhizal infection of three hosts. **Agricultural Science Finland** **1**: 85- 105.
- Vestberg, M. 1992b. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation on the growth and root colonization of ten strawberry cultivars. **Agricultural Science Finland** **1**: 527- 534.

- Vosatka, M.; Gryndler, M. & Prikryl, Z. 1992. Effect of the rhizosphere bacterium *Pseudomonas putida*, arbuscular mycorrhizal fungi and substrate composition on the growth of strawberry. **Agronomie 12**: 859- 863.
- Yano-Melo, A. M.; Saggin-Júnior, 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-Júnior, 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.

**Artigo elaborado segundo as normas do periódico:
Acta Botanica Brasilica, da Sociedade Brasileira de
Botânica, para o qual será enviado.**

Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e vermicomposto na aclimatização de duas plantas ornamentais tropicais

Maryluce Albuquerque da Silva¹

Fábio Sérgio Barbosa da Silva¹

Adriana Mayumi Yano- Melo¹

Nataniel Franklin de Melo²

Leonor Costa Maia^{1, 3}

¹Departamento de Micologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife, PE, Brasil

²Embrapa Semi-árido, BR 428, Km 152, Zona Rural, 56302-970, Petrolina, PE, Brasil

³Autor para correspondência (leonoremaia@yahoo.com.br)

RESUMO (Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e vermicomposto na aclimatização de duas plantas ornamentais tropicais) - Foram conduzidos experimentos para selecionar FMA e substratos mais promissores para produção de mudas micropropagadas de alpinia (*Alpinia purpurata* (Viell.) Schum.) e sorvetão (*Zingiber spectabile* Griff.), conhecidas espécies ornamentais tropicais. Mudas foram inoculadas com cerca de 1500 propágulos infectivos de *Gigaspora albida* Becker & Hall, *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann e *Acaulospora longula* Spain & Schenck, em recipientes contendo: (a) solo; (b) solo e vermicomposto (3:1); (c) solo, areia e vermicomposto (2:2:1). O delineamento foi inteiramente casualizado em fatorial de: quatro tratamentos de inoculação (três com FMA e um controle não inoculado), três substratos e oito repetições, para cada vegetal. Após 70 (sorvetão) e 100 (alpinia) dias da inoculação, avaliaram-se: altura, n° de folhas e perfilhos, massa seca da parte aérea e subterrânea, área foliar, colonização micorrízica e esporulação dos FMA. Não houve interações significativas entre os FMA e os substratos testados tanto em alpinia quanto em sorvetão, em todas as variáveis de crescimento. No entanto, em alpinia os dois substratos com vermicomposto promoveram maior desenvolvimento, enquanto em sorvetão, o substrato com maior proporção de vermicomposto (25%) induziu crescimento diferenciado do observado para os demais substratos. A aplicação de vermicomposto inibiu a colonização micorrízica nos dois hospedeiros e a esporulação de *A. longula*, não afetando a dos demais FMA. Na fase de aclimatização, o uso de substratos orgânicos é suficiente para favorecer a formação de mudas vigorosas de alpinia e sorvetão, dispensando a inoculação com FMA.

Palavras-chave: *Alpinia purpurata*, *Zingiber spectabile*, micropropagação, micorriza, Zingiberaceae

ABSTRACT (Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and the use of vermicompost on the acclimatization of two tropical ornamental plants) - An experiment was performed to select AMF and substrates that enhance production of micropropagated seedlings of *Alpinia purpurata* (Viell.) Schum. and *Zingiber spectabile* Griff., well known tropical ornamental species. Seedlings were inoculated with an average of 1500 infective propagules of *Gigaspora albida* Becker & Hall, *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann and *Acaulospora longula* Spain & Schenck, in pots containing: (a) soil; (b) soil and vermicompost (3:1); (c) soil, sand and vermicompost (2:2:1). The experimental design was completely randomized in a factorial of: four inoculation treatments (three with AMF and an uninoculated control), three substrates, with eight replicates for each plant species. After 70 (*A. purpurata*) and 100 (*Z. spectabile*) days of inoculation, height, leaf and perfolia number, dry mass of shoots and roots, leaf area, mycorrhizal colonization and AMF sporulation were evaluated. Significant interactions were not observed between AMF and substrates, for both hosts considering all growth variables. However, in *A. purpurata*, the two substrates with vermicompost promoted growth, while in *Z. spectabile* the substrate with higher proportion of vermicompost (25%) induced better growth comparing with the other treatments. Use of vermicompost inhibited mycorrhizal colonization in both hosts and the sporulation of *A. longula* but it did not affect that of the others AMF. During the acclimatization period, application of organic amendment is recommended in order to induce formation of healthy, seedlings of *A. purpurata* and *Z. spectabile* without need of AMF inoculation.

Key words: *Alpinia purpurata*, *Zingiber spectabile*, Zingiberaceae, micropropagation, mycorrhiza

Introdução

As plantas ornamentais tropicais possuem características únicas, tais como formas exóticas, durabilidade e alta produtividade, além de beleza peculiar. O mercado tem crescido, pois essas plantas têm boa aceitação e, por outro lado, há saturação na oferta de flores tradicionais (Lamas 2002). Pernambuco é o maior Estado produtor de flores tropicais no Brasil, com registro de crescimento de cerca de 1000% de 1994 a 1999 (Ferreira *et al.* 2002). Dentre as plantas ornamentais tropicais, duas são comumente produzidas e comercializadas: a *Alpinia purpurata* (Viell.) Schum (conhecida como alpinia ou Panamá) e *Zingiber spectabile* Griff. (conhecida como sorvetão).

A propagação vegetativa *in vitro* (micropropagação) permite a obtenção de grande número de indivíduos sadios e geneticamente homogêneos, em curto período de tempo, com alta produtividade e pouco espaço físico (Carvalho 1999). Porém, o último estágio do processo (aclimatização) é crítico, sendo muitas vezes fator limitante, pois as plantas obtidas são transplantadas para substratos desinfestados e transferidas para casa de vegetação (Debergh & Read 1991), passando assim de uma condição heterotrófica, onde cresciam em condições de umidade e luminosidade controladas, para uma condição autotrófica. É nessa fase que há necessidade da utilização de alternativas para minimizar o estresse produzido pelo transplântio.

Micorrizas, formadas pela maioria das espécies vegetais, são associações entre raízes de plantas com certos fungos do solo. Nessa relação, a planta fornece fotossintatos para o fungo, que em troca cede nutrientes minerais do solo, deixando o vegetal em melhor condição nutricional e mais resistente a estresses de origem biótica e abiótica (Azcón-Aguilar & Barea 1997). O tipo mais comum de micorriza, sobretudo nas regiões tropicais, é aquele formado pelos fungos micorrízicos arbusculares (FMA).

Os FMA têm sido utilizados na produção de mudas, bem como na aclimatização de plantas micropropagadas de diversas culturas, principalmente fruteiras, com respostas promissoras dos hospedeiros, pois um organismo benéfico está sendo reintroduzido na rizosfera (Lovato *et al.* 1996). O resultado da associação micorrízica é dependente da espécie de planta, do isolado de FMA, do substrato e das condições ambientais (Sato *et al.* 1999; Lins *et al.* 2003).

Os FMA podem influenciar o crescimento de plantas micropropagadas pela redução do bloqueio do crescimento apical (Naqvi & Mukerji 1998) e pela redução da relação entre parte aérea e radicular (Quatrini *et al.* 2003), afetando ainda a uniformidade (Rapparini *et al.* 1994), e a sobrevivência (Varma & Schuepp 1994) e diminuindo o período de

aclimatização (Salamanca *et al.* 1992). Além desses efeitos benéficos, a micorrização aumenta a absorção de nutrientes, melhorando o estado geral da planta e, conseqüentemente, o crescimento, como observado em mudas de morangueiro, *Fragaria ananassa* Duch. (Borkowska 2002), bananeira, *Musa* spp. cv. Grand naine (Declerck *et al.* 2002) e macieira, *Prunus prunifolia* (Wild.) Borkh. (Locatelli & Lovato 2002).

Os substratos utilizados na aclimatização podem influenciar a associação micorrízica e o desenvolvimento da planta, sendo muitas vezes favoráveis, quando aplicados em doses adequadas, como relatado em macieira, *Malus pumila* L. (Schubert & Lubraco 2000), bambu, *Dendrocalamus asper* Backer ex K. Heyne (Verma & Arya 1998) e bananeira variedade caipira (Trindade *et al.* 2003), ou desfavoráveis, como observado em *Gentiana verna* L. (Sýkorová *et al.* 2003). Em altas doses de P ($> 250 \text{ mg Kg}^{-1}$), mudas de citros micorrizadas apresentaram redução de crescimento quando comparadas com o controle (Sena *et al.* 2004). Assim, é importante a escolha de substratos e respectivos teores que sejam benéficos para determinada cultura, levando-se em consideração que o uso de fontes e doses impróprias podem comprometer os benefícios da micorrização.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da inoculação com três espécies de FMA e de substratos compostos na aclimatização de *Alpinia purpurata* e *Zingiber spectabile*.

Material e métodos

Substrato – foram utilizados (Tab. 1) três substratos: (a) solo; (b) solo, areia e vermicomposto (proveniente da compostagem de esterco misturado com solo, utilizando-se minhocas) (2:2:1 v/v); (c) solo e vermicomposto (3:1 v/v), previamente (15 dias) desinfestados com bromex® (98% brometo de metila e 2% de cloropicrina).

Tabela 1. Quantidade de fósforo (P) e matéria orgânica (MO), valor de pH e capacidade de troca catiônica (CTC) dos substratos utilizados na aclimatização de *Alpinia purpurata* e *Zingiber spectabile*

Substratos	pH (H ₂ O-1:2,5)	P (mg dm ⁻³)	MO (g kg ⁻¹)	CTC (cmol _c dm ⁻³)
Solo	7,1	21	13,3	9,64
Solo e vermicomposto	7,1	209	92,5	18,95
Solo, areia e vermicomposto	7,1	192	69,5	14,79

Material vegetal – plântulas micropropagadas de *Alpinia purpurata* e *Zingiber spectabile* foram multiplicadas em meio MS (Murashige & Skoog 1962) suplementado com 4 mg/L de BAP (6-benzilaminopurina) no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semi-árido e transplantadas, no início do período de aclimatização, para sacos pretos contendo 2 Kg de cada substrato testado.

FMA – foram utilizados isolados de *Gigaspora albida* Becker & Hall (UFPE 01), *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann (UFPE 06) e *Acaulospora longula* Spain & Schenck (UFPE 21), mantidos no Banco de Inóculo de FMA da UFPE. O inóculo foi multiplicado em vasos com areia e vermiculita (1:1 v/v) irrigados com solução nutritiva de Hoagland & Arnon, modificada por Jarstfer & Sylvia (1992), e suplementada com Tris-HCl (pH 6,5), tendo como hospedeiro *Panicum miliaceum* L. Após multiplicação, o número de propágulos infectivos de cada FMA foi avaliado pelo método de Feldmann & Idczak (1994), de forma a equalizar a quantidade de propágulos para inoculação.

Inoculação - As plântulas foram inoculadas com FMA no momento do transplante da condição *in vitro* para *ex vitro* em potes (2 Kg), sendo o solo-inóculo colocado na região próxima às raízes. Foram aplicados cerca de 1.500 propágulos infectivos de FMA por vaso, no respectivo tratamento.

Condições experimentais – o experimento foi realizado na casa de vegetação da Embrapa Semi-Árido, em Petrolina, Pernambuco, sob condições ambientais controladas (temperatura: 27 ± 2 °C; umidade relativa: 75%; luminosidade: 250 a 560 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$).

Avaliação - Após 70 e 100 dias, respectivamente, em sorvetão e em alpinia, foram avaliados: altura, número de folhas e perfilhos, taxa de sobrevivência, massa seca da parte aérea e subterrânea, área foliar, colonização micorrízica e densidade de esporos de FMA. A biomassa seca foi obtida após secagem em estufa (65 °C) até peso constante. A colonização micorrízica foi estimada pelo método da interseção dos quadrantes (Giovannetti & Mosse 1980) após as raízes serem diafanizadas (KOH 10%) e coradas com Clorazol Black, 0,03% (Brundett *et al.* 1984). Os esporos de FMA foram extraídos do solo por decantação e peneiramento úmido seguido por centrifugação em água e sacarose (Gerdemann & Nicolson 1963; Jenkins 1964) e posteriormente quantificados em estereomicroscópio (40x). A área foliar foi estimada utilizando-se o aparelho Li 3100 (LI-Cor Inc. Lincoln, Neb., USA).

Delineamento experimental – Para cada espécie vegetal o delineamento experimental foi do tipo inteiramente casualizado, em arranjo fatorial de: três substratos (solo, solo e vermicomposto (25%)-3:1 e solo, areia e vermicomposto (20%)-2:2:1) x 4 tratamentos de

inoculação (não inoculado e inoculado separadamente com *G. albida*, *G. etunicatum* e *A. longula*) com oito repetições, totalizando 96 parcelas experimentais por espécie vegetal.

Análise estatística - os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o Programa Statistica (Statsoft 1997). Para análise, valores em percentual e em número de esporos foram transformados em $\arcseno x/100$ e de $\sqrt{x+2,5}$, respectivamente.

Resultados e discussão

Nenhuma das espécies de FMA utilizadas influenciou o crescimento das plantas e apenas os substratos com vermicomposto favoreceram o desenvolvimento das duas espécies vegetais (Tab. 2). Resultados semelhantes foram encontrados por Lovato *et al.* (1994) em cereja selvagem (*Prunus avium* L.) inoculada com *Glomus intraradices* Schenck & Smith, onde apenas o substrato influenciou o desenvolvimento vegetativo. Por outro lado, em *Gentiana verna* L nem a inoculação com FMA nem o uso de adubos orgânicos alterou a produção de biomassa vegetal (Sýkorová *et al.* 2003).

Os benefícios da micorrização são variados e dependentes do genótipo da planta e do fungo, modulados pelas condições edafoclimáticas (Lovato *et al.* 1996). Apesar de existir relatos de benefícios da aplicação de FMA em plantas ornamentais, como gérbera, *Gerbera* sp. (Sato *et al.* 1999), *Lilium* sp. (Varshney *et al.* 2002) e hortênsia, *Hydrangea* sp. (Varma & Schuepp 1994), tanto a alpinia quanto o sorvetão não foram beneficiados pela inoculação com FMA. Fatores como a não dependência da planta pela micorrização e os elevados teores de P, especialmente nos tratamentos adubados, podem ter contribuído para as respostas negativas obtidas.

Nas mudas de sorvetão, o substrato com maior quantidade de vermicomposto (25%) induziu melhores respostas de crescimento em todas as variáveis, diferindo significativamente dos outros dois tratamentos de substrato, que também diferiram entre si, sendo o crescimento favorecido pela presença de vermicomposto. As mudas de alpinia cultivadas nos dois substratos adubados com vermicomposto (nas proporções de 20 e 25%) também apresentaram maior desenvolvimento, com exceção da altura, do que o observado no tratamento sem adubo (Tab. 2). O solo, sem vermicomposto, foi o substrato menos favorável ao crescimento das espécies estudadas, com os resultados diferindo estatisticamente, para a maioria das variáveis de crescimento, dos obtidos nos demais substratos testados.

Tabela 2. Efeito do substrato sobre variáveis de crescimento em mudas de *Alpinia purpurata* (alpinia) e *Zingiber spectabile* (sorvetão) micropropagadas e cultivadas em solo (s), solo e vermicomposto (s:v/ 3:1) e solo, areia e vermicomposto (s:a:v/ 2:2:1), após 70 (sorvetão) e 100 dias (alpinia) de aclimatização

	Substratos			CV (%)
	s	s:v	s:a:v	
	Altura (cm)			
<i>Alpinia purpurata</i>	18,14 a	21,31 a	19,98 a	8,02
<i>Zingiber spectabile</i>	11,91 c	31,35 a	24,36 b	43,65
	Número de folhas			
<i>Alpinia purpurata</i>	12,63 b	26,55 a	25,87 a	36,16
<i>Zingiber spectabile</i>	6,28 c	17,71 a	12,25 b	47,26
	Número de perfilhos			
<i>Alpinia purpurata</i>	2,50 b	5,98 a	5,69 a	40,88
<i>Zingiber spectabile</i>	0,78 c	2,59 a	1,90 b	52,00
	Massa seca da parte aérea (g)			
<i>Alpinia purpurata</i>	0,69 b	1,59 a	1,47 a	38,40
<i>Zingiber spectabile</i>	0,24 c	1,51 a	0,77 b	75,00
	Massa seca da parte subterrânea (g)			
<i>Alpinia purpurata</i>	0,08 b	0,23 a	0,27 a	52,63
<i>Zingiber spectabile</i>	0,14 c	0,35 a	0,23 b	41,66
	Área foliar (cm ²)			
<i>Alpinia purpurata</i>	105,73 b	254,09 a	243,61 a	41,16
<i>Zingiber spectabile</i>	59,12 c	360,72 a	214,08 b	71,37

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Não houve interações significativas entre a inoculação de FMA e os substratos, tanto para alpinia quanto para o sorvetão. Do mesmo modo, em pessegueiros (*Prunus persica* (L.) Batsch. x *Prunus amygdalus* Stokes.) micropropagados, Estaun *et al.* (1999) observaram que três meses após a inoculação não havia interações significativas entre FMA e o substrato de cultivo.

As altas doses de vermicomposto (20% e 25%) utilizadas podem ter inibido o estabelecimento da simbiose ativa, uma vez que os FMA inoculados não beneficiaram os

hospedeiros testados. Trindade *et al.* (2003) observaram que o uso de doses reduzidas de esterco (5%) favoreceu a atuação de *Gigaspora margarita* Becker & Hall sobre o crescimento de bananeiras micropropagadas.

Algumas plantas necessitam de mais tempo para estabelecimento de simbiose efetiva, principalmente quando se utiliza substratos ricos em nutrientes, sendo este um fator importante a ser considerado na utilização de FMA. Em mudas de pessegueiro, respostas positivas em relação a substratos e à inoculação micorrízica foram registradas só após sete meses, nas plantas associadas a *G. intraradices*, que apresentaram aumento de 40% em relação ao controle; aos 14 meses, todas as plantas inoculadas foram maiores que o controle, independentemente do substrato testado (Estaun *et al.* 1999). De modo similar, Fortuna *et al.* (1996) observaram que plantas micorrizadas de macieira e de ameixeira (*Prunus cerasifera* Ehrh.) apresentavam crescimento similar ao controle não inoculado aos dois meses, com o efeito da micorrização sendo observado apenas depois de seis meses de iniciado o experimento. Estes resultados mostram que o efeito benéfico da simbiose pode aparecer em estádios mais tardios do desenvolvimento da planta, principalmente em substratos ricos em nutrientes. No presente experimento não houve possibilidade de estender a duração do experimento, pois as mudas estavam sendo aclimatizadas e esta etapa, para as espécies testadas, é de três meses.

A percentagem de sobrevivência das mudas de sorvetão foi de 100% em todos os tratamentos com FMA e substrato, com exceção daquele com *G. etunicatum* em solo, onde apenas 85% das plantas sobreviveram. Isto indica que a inoculação com este FMA pode representar dreno adicional de fotossintatos, sem trazer benefícios para o vegetal associado, como observado por Locatelli & Lovato (2002), em mudas micropropagadas de macieira inoculadas com mistura de *Scutellospora pellucida* (Nicol. & Schenck) Walker & Sanders, *G. etunicatum* e *Glomus* sp.

Mudas de alpinia tiveram grande variação na taxa de sobrevivência, sendo esta diferenciada entre os substratos e entre os fungos. No tratamento sem FMA, a sobrevivência nos substratos com vermicomposto foi de 100% e em solo 87,5%. As mudas inoculadas com *G. albida* tiveram 50%, 87% e 100%, com *G. etunicatum* 25%, 75% e 75% e com *A. longula* 62%, 87% e 100% de sobrevivência nos substratos solo, solo:vermicomposto e solo:areia:vermicomposto, respectivamente. Estaun *et al.* (1996) também observaram que a inoculação com FMA não afetou a sobrevivência de mudas de ameixeira micropropagadas.

A adição de vermicomposto inibiu a colonização micorrízica por todos os FMA testados em alpinia, com formação de estruturas fúngicas em quantidade estatisticamente superior nos tratamentos apenas com solo, sem adubo (Tab. 3). Colonização micorrízica mais pronunciada (40,3%) foi formada apenas por *G. albida* em alpinia, no tratamento não adubado, sendo a colonização propiciada pelos outros fungos menor. Nos tratamentos com adição de vermicomposto, a colonização produzida pelos três FMA não diferiu estatisticamente (Tab. 3). Em contrapartida, as mudas de sorvetão associadas a *A. longula* tiveram a colonização micorrízica visivelmente prejudicada pela adubação orgânica, o que não ocorreu nos demais tratamentos de FMA (Tab. 4). De modo geral, a colonização produzida em sorvetão foi baixa (<10%, com exceção de tratamento com *A. longula*) e provavelmente por isso não se detectou possíveis diferenças na atuação dos FMA.

Tabela 3. Colonização micorrízica e produção de esporos de FMA associados a *Alpinia purpurata* cultivada em solo (s), solo e vermicomposto (s:v) e solo, areia e vermicomposto (s:a:v), após 100 dias de aclimatização

	Substratos		
	s	s:v	s:a:v
	Colonização micorrízica (%)		
<i>Gigaspora albida</i>	40,30aA	1,37bA	0,59bA
<i>Glomus etunicatum</i>	28,33aB	2,12bA	2,42bA
<i>Acaulospora longula</i>	33,12aB	0,53bA	0,40bA
CV (%) 50			
	Esporos em 50 g ⁻¹ solo		
	s	s:v	s:a:v
	Esporos em 50 g ⁻¹ solo		
<i>Gigaspora albida</i>	7,25aB	0,42aA	0,50aA
<i>Glomus etunicatum</i>	5,50aB	0,33aA	0,83aA
<i>Acaulospora longula</i>	117,40aA	0,28bA	0,12bA
CV (%) 33.22			

Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Altos níveis de P no solo inibem a colonização e o desenvolvimento do FMA, bem como o estabelecimento da simbiose (Schubert & Martinelli 1988). No presente estudo foram encontrados elevados teores de P nos substratos com vermicomposto (Tab. 1) o que pode ter comprometido o estabelecimento do fungo na raiz. Varshney *et al.* (2002)

observaram que houve redução na colonização micorrízica em plântulas de *Lilium* sp., quando cultivadas em substrato com elevados teores de P (14,6 ppm).

Tabela 4. Colonização micorrízica e produção de esporos de FMA associados a *Zingiber spectabile* cultivada em solo (s), solo e vermicomposto (s:v) e solo, areia e vermicomposto (s:a:v), após 70 dias de aclimatização

	Substratos		
	s	s:v	s:a:v
	Colonização micorrízica (%)		
<i>Gigaspora albida</i>	9,39aA	2,35aA	0,37aA
<i>Glomus etunicatum</i>	5,74aA	1,05aA	0,14aA
<i>Acaulospora longula</i>	18,51aA	0,04bA	0,21bA
CV (%) 50			
	Esporos em 50 g ⁻¹ solo		
	s	s:v	s:a:v
	Colonização micorrízica (%)		
<i>Gigaspora albida</i>	2,12aB	0,50aA	0,42aA
<i>Glomus etunicatum</i>	0,12aB	0,87aA	0,37aA
<i>Acaulospora longula</i>	25,25aA	0,75bA	0,87bA
CV (%) 53.67			

Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Houve correspondência entre a reduzida colonização e a ineficiência dos FMA utilizados. Em certos casos, mesmo produzindo elevada taxa de colonização radicular o FMA não beneficiou o hospedeiro (Lovato *et al.* 1994), o que também ocorreu no presente estudo: as plantas de alpinia cultivadas em solo, sem adubo, apresentaram-se bem colonizadas, mas não tiveram o crescimento beneficiado pela presença do fungo micorrízico. Resultados semelhantes foram obtidos por Lovato *et al.* (1992) em mudas micropropagadas de videira (*Vitis vinifera* L.) e de abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merril.) inoculadas com AGC (inoculante comercial), as quais apresentaram elevada taxa de colonização micorrízica (93%), sem o conseqüente aumento no crescimento.

Nas duas espécies ornamentais estudadas, a presença de vermicomposto inibiu a esporulação de *A. longula*, enquanto os demais FMA tiveram a reprodução inalterada pela adição do adubo orgânico (Tab. 3 e 4). A adição de doses adequadas de matéria orgânica no substrato pode estimular a esporulação de FMA (Zambolim *et al.* 1992). A redução na

reprodução de *A. longula* pode indicar sensibilidade deste FMA aos elevados teores de matéria orgânica e P presentes nos substratos com vermicomposto (Tab. 1). Esse comportamento é reforçado pela elevada esporulação desta espécie em solo sem adubo, em relação aos demais FMA estudados (Tab. 3 e 4). Por outro lado, espécies da família Acaulosporaceae não têm sido referidas em solos submetidos a adubação orgânica (Douds Jr. *et al.* 1995; 1997).

Como observado, a aplicação dos FMA estudados não constitui alternativa para reduzir o tempo de aclimatização e aumentar o crescimento de mudas micropropagadas de alpinia e de sorvetão. Por outro lado, a aplicação de substratos orgânicos favorece a formação de mudas dessas espécies ornamentais. Considera-se, entretanto, que respostas positivas à micorrização poderão ocorrer se outros FMA forem testados.

Agradecimentos

À CAPES, pela concessão de bolsas a M. A. da Silva e F. S. B. da Silva; ao CNPq pelo apoio financeiro e bolsa concedida a L. C. Maia; ao Laboratório de Biotecnologia e Microbiologia da Embrapa Semi-Árido, pelo apoio logístico para o desenvolvimento do trabalho.

Referências bibliográficas

- Azcón-Aguilar, C. & Barea, J.M. 1997. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. **Scientia Horticulturae** **68**: 1-24.
- Borkowska, B. 2002. Growth and photosynthetic activity of micropropagated strawberry plants inoculated with endomycorrhizal fungi (AMF) and growing under drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum** **24** (4): 365- 370.
- Brundett, M.C; Piché, Y. & Peterson, R.L. 1984. A new method for observing the morphology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. **Canadian Journal of Botany** **62**: 2128-2134.
- Carvalho, J. M. F. C. 1999. **Técnicas de micropropagação**. Documento 64. Embrapa-Algodão, Campina Grande, Paraíba.
- Debergh, P. C. & Read, P. E. 1991. Micropropagation. Pp. 1- 13. In: P. C. Debergh & R. H. Zimmerman (eds.). **Micropropagation: Technology and application**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, London.

- Douds Jr., D.D.; Galvez, L.; Franke-Snyder, M.; Reiders, C. & Drinkwater, L. E. 1997. Effect of compost addition and crop rotation point upon VAM fungi. **Agriculture, Ecosystems and Environment** **65**: 257-266.
- Douds Jr., D.D.; Galvez, L.; Janke, R.R. & Wagoner, P.M. 1995. Effect of tillage and farming system upon population and distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Agriculture, Ecosystems and Environment** **52**: 111-118.
- 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.
- Estaun, V.; Calvet, C. & Camprubi, A. 1996. Arbuscular mycorrhizae and growth enhancement of micropropagated *Prunus* rootstock in different soilless potting mixes. **Agricultural Science in Finland** **3**: 263- 267.
- Estaun, V.; Calvet, C.; Camprubi, A. & Pinochet, J. 1999. Long-term effects of nursery starter substrate and AM inoculation of micropropagated peach x almond hybrid rootstock GF677. **Agronomie** **19**: 483- 489.
- Feldmann, F & Idczak, E. 1994. Inoculum production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for use in tropical nurseries. Pp.799-817. In: J. R. Norris; D. Read & A. K. Varma, (eds.). **Techniques for Mycorrhizal Research. Methods in Microbiology**. Academic Press, London.
- Ferreira, A.; Souza Filho, I. C. & Albuquerque, S. R. C. 2002. Panorama global da floricultura em Pernambuco. Pp. 23- 59. In: E. Ramos (ed.). **Floricultura em Pernambuco**. Edição Sebrae, Série Agronegócio, Recife, Pernambuco.
- Fortuna, P.; Citeresi, S.; Morini, S.; Vitagliano, C. & Giovannetti, M. 1996. Influence of arbuscular mycorrhizae and phosphate fertilization on shoot apical growth of micropropagated apple and plum rootstocks. **Tree Physiology** **16**: 757- 763.
- 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** (2): 235-244.
- Giovanetti, M & Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist** **84**: 489-500.
- Jarstfer, A. G. & Sylvia, D. M. 1992. Inoculum production and inoculation strategies for vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. Pp. 349-377. In: **Soil Microbial Technologies: Applications in Agriculture, Forestry and Environmental Management**. Ed. B. Metting. Marcel Dekker, New York.

- Jenkins, W. R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report** **48** (9): 692.
- Lamas, A. M. 2002. **Floricultura Tropical (técnicas de cultivo)**. Edição Sebrae, Série empreendedor, Recife, Pernambuco.
- 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.
- Locatelli, L. M. & Lovato, P. E. 2002. Inoculação micorrízica e aclimatização de dois porta-enxertos de macieira micropropagados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **37** (2): 177-184.
- Lovato, P. E.; Guillemain, J. P. & Gianinazzi, S. 1992. Application of commercial arbuscular endomycorrhizal fungal inoculants to the establishment of micropropagated grapevine rootstock and pineapple plants. **Agronomie** **12**: 873- 880.
- Lovato, P. E.; Gianinazzi- Pearson, V.; Trouvelot, A. & Gianinazzi, S. 1996. The state of art of mycorrhizas and micropropagation. **Advances in Horticultural Science** **10**: 46- 52.
- Lovato, P. E.; Hammatt, N.; Gianinazzi-Pearson, V. & Gianinazzi, S. 1994. Mycorrhization of micropropagated mature wild cherry (*Punus avium* L.) and common ash (*Fraxinus excelsior* L.). **Agricultural Science in Finland** **3**: 297- 301.
- Murashige, T & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum** **15**: 473- 497.
- Naqvi, N. S. & Mukerji, K. G. 1998. Mycorrhization of micropropagated *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. **Symbiosis** **24**: 103- 114.
- Quatrini, P.; Gentile, M.; Carimi, F.; Pasquale, F. & Puglia, A. M. 2003. Effect of native arbuscular mycorrhizal fungi and *Glomus mosseae* on acclimatization and development of micropropagated *Citrus limon* (L.) Burm. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology** **78** (1): 39- 45.
- 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.
- Salamanca, C. P.; Herrera, M. A. & Barea, J. M. 1992. Mycorrhizal inoculation of micropropagated woody legumes used in revegetation programmes for desertified Mediterranean ecosystems. **Agronomie** **12**: 869- 872.

- Sato, A. Y.; Nannetti, D. C.; Pinto, J. E. B. P.; Siqueira, J. O. & Blank, M. F. A. 1999. Fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de mudas de helicônia e gerbera micropropagadas. **Horticultura Brasileira** 17 (1): 25- 28.
- Schubert, A. & Lubraco, G. 2000. Mycorrhizal inoculation enhances growth and nutrient uptake of micropropagated apple rootstock during weaning in commercial substrates of high nutrient availability. **Applied Soil Ecology** 15: 113- 118.
- Schubert, A. & Martinelli, A. 1988. Effect of vesicular arbuscular mycorrhizae on growth of “in vitro” propagated *Pistacia integerrima*. **Acta Horticulturae** 227: 441-443.
- Sena, J. O. A.; Labate, C. A. & Cardoso, E. J. B. N. 2004. Caracterização fisiológica da redução de crescimento de mudas de citros micorrizadas em altas doses de fósforo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo** 28: 827- 832
- Statsoft, 1997. **Statistica for Windows**. Tulsa: CD-ROM.
- Sýkorová, Z.; Rydlova, J. & Vosatka, M. 2003. Establishment of mycorrhizal symbiosis in *Gentiana verna*. **Folia Geobotanica** 38: 177- 189.
- 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.
- Varma, A. & Schuepp, H. 1994. Positive influence of arbuscular mycorrhizal fungus on *in vitro* raised Hortensia plantlets. **Angewandti Botanik** 68: 108- 115.
- Varshney, A.; Sharma, M. P.; Adholeya, A.; Dhawan, V. & Srivastava, P. S. 2002. Enhanced growth of micropropagated bulblets of *Lilium* sp. inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi at different P fertility levels in an alfisol. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology** 77 (3): 258- 263.
- Verma, R. K. & Arya, I. D. 1998. Effect of arbuscular mycorrhizal fungal isolates and organic manure on growth and mycorrhization of micropropagated *Dendrocalamus asper* plantlets and on spore production in their rhizosphere. **Mycorrhiza** 8: 113- 116.
- Zambolim, L.; Reis, M.A. & Costa, L.M. 1992. Substratos para multiplicação de inóculo do fungo micorrízico vesículo-arbuscular *Glomus etunicatum*. **Fitopatologia Brasileira** 17: 28-31.

**Artigo elaborado segundo as normas do
periódico: Pesquisa Agropecuária Brasileira
(PAB), da EMBRAPA, para o qual será enviado.**

Aplicação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na aclimatização de *Alpinia purpurata* visando tolerância a *Meloidogyne arenaria*

Maryluce Albuquerque da Silva^{1,5}

Fábio Sérgio Barbosa da Silva^{1,5}

Adriana Mayumi Yano-Melo^{2,5}

Nataniel Franklin de Melo^{2,6}

Wellington Antonio Moreira^{4,6}

* Leonor Costa Maia^{3,5}

¹Biólogo, (marylucealbuquerque@bol.com.br; fsbsbarbosa@bol.com.br)

²Biólogo, Dr. em Ciências Biológicas. (amymelo17@hotmail.com; nataniel@cpatsa.embrapa.br)

³ Bióloga, PhD em Fitopatologia. * (leonorcmaia@yahoo.com.br)

⁴ Eng. Agrônomo, D.Sc. em Fitopatologia (wmoreira@cpatsa.embrapa.br)

⁵ Departamento de Micologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, PE, Brasil

⁶ Embrapa Semi-árido, BR 428, Km 152, Zona Rural, Petrolina, 56302-970, PE, Brasil

RESUMO

Foram conduzidos experimentos para avaliar a tolerância de plantas micropropagadas e micorrizadas de alpinia (*Alpinia purpurata*) ao parasitismo de *Meloidogyne arenaria*. O primeiro experimento sem e o segundo com inoculação de plantas com suspensão aquosa contendo cerca de 3000 ovos e juvenis de *M. arenaria*, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos de inoculação com FMA (com *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora longula* e não inoculado) e cinco repetições. Após 270 dias da micorrização e 170 dias da infestação com nematóide foram avaliados: altura, número de folhas e perfilhos, massa fresca da parte subterrânea e seca da parte aérea, área foliar, colonização micorrízica, esporulação do FMA, número de galhas, ovos e massas de ovos do nematóide. No experimento sem nematóide, as plantas associadas tanto a *A. longula* quanto a *G. etunicatum* apresentaram maior incremento em todas as variáveis de crescimento (exceto altura) em relação ao controle e às plantas associadas a *G. albida*. No segundo experimento, as plantas infectadas com *Meloidogyne* e inoculadas com *G. etunicatum* e com *A. longula* tiveram maior massa seca da parte aérea e área foliar em relação ao controle sem inoculação e às plantas associadas a *G. albida*. Por outro lado, maior massa fresca da parte subterrânea foi obtida nas plantas inoculadas com *G. etunicatum*, que diferiram dos demais tratamentos. As plantas controle e as associadas com *G. etunicatum* produziram maior número de galhas por grama de raiz, diferindo dos tratamentos com *A. longula* e *G. albida*. A micorrização de plantas micropropagadas de *A. purpurata* com *A. longula* ou *G. etunicatum* induziu tolerância ao parasitismo de *M. arenaria*, constituindo-se numa alternativa para diminuir os prejuízos causados pela meloidoginose.

Termos para indexação: alpinia, micropropagação, micorriza, nematóide, Zingiberaceae

ABSTRACT

Experiments were performed to evaluate tolerance of micropropagated and mycorrhized plants of *Alpinia purpurata* to *Meloidogyne arenaria*, the first one without nematodes and the second with a suspension about of the 3000 eggs and juvenile of *M. arenaria*. The experimental design was completely randomized, with four AMF inoculation treatments (*Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* and *Acaulospora longula* and a uninoculated control), with five replicates. After 270 days of mycorrhization and 170 days of infection with nematodes, height, leaf and oofshoot number, fresh matter of roots, dry matter of shoots, leaf area, mycorrhizal colonization, number of AMF spores, number of galls, nematode eggs mass and nematode eggs were evaluated. In the experiment without nematodes, plants associated with *A. longula* and *G. etunicatum* showed higher increment in all growth variables (except height) in comparison to control and plants associated with *G. albida*. In the second experiment, plants infected with *M. arenaria* and inoculated with *G. etunicatum* and *A. longula* showed higher dry matter of shoots and leaf area, in comparison with the uninoculated control and plants associated with *G. albida*. On the other hand, higher fresh matter of roots was obtained in plants inoculated with *G. etunicatum*, which differed from the other treatments. Control plants and those associated with *G. etunicatum* produced higher number of galls/g of roots, differing from the treatments with *A. longula* and *G. albida*. The association of micropropagated plants of *A. purpurata* with *A. longula* or *G. etunicatum* enhance tolerance to *M. arenaria*, what constitutes an alternative to mitigate the damage caused by the knot-root nematode.

Index terms: micropropagation, mycorrhiza, nematode, Zingiberaceae

1 INTRODUÇÃO

2 As plantas ornamentais tropicais possuem formas exóticas, durabilidade e alta
3 produtividade, o que tem contribuído para ampliação do mercado (Lamas, 2002).
4 Pernambuco é o maior produtor nacional de flores tropicais, tendo apresentado, de 1994 a
5 1999, crescimento de 1000% (Ferreira *et al.*, 2002). Entre estas, *Alpinia purpurata* (Viell.)
6 Schum (alpinia ou panamá) vem se destacando em produção e comercialização. Porém, em
7 muitos plantios vem sendo parasitada por fitonematóides do gênero *Meloidogyne*, que
8 ocasionam redução no crescimento, originando plantas raquíticas, com perda da
9 produtividade.

10 A micropropagação destaca-se entre os métodos para produção de plantas por
11 permitir a obtenção de grande número de indivíduos com alta produtividade,
12 geneticamente homogêneos e livres de patógenos, em curto período de tempo e pouco
13 espaço físico (Carvalho, 1999).

14 A formação de micorrizas deixa o vegetal em melhor condição nutricional e mais
15 resistente a estresses de origem biótica e abiótica (Azcón-Aguilar & Barea, 1997). Em
16 regiões tropicais, as micorrizas do tipo arbuscular, formadas por fungos micorrízicos
17 arbusculares (FMA), são as mais comumente encontradas, sendo de ocorrência na maioria
18 das plantas nativas e de interesse econômico. Benefícios da micorrização com FMA têm
19 sido obtidos na fase de muda, bem como na aclimatização de plantas micropropagadas de
20 diversas culturas (Borkowska, 2002; Declerck *et al.*, 2002; Locatelli & Lovato, 2002).

21 A biota do solo vive em contínua interação, influenciando a comunidade vegetal.
22 Interações entre FMA, planta e nematóides são complexas e dependem das espécies
23 envolvidas (Cofcewicz *et al.*, 2001; Jaizme-Veja *et al.*, 1997), bem como das condições às
24 quais são submetidas (Calvet *et al.*, 2001). Os efeitos do FMA sobre o crescimento de

plantas infectadas com nematóides do gênero *Meloidogyne* são variáveis, mas geralmente positivos (Borowicz, 2001).

A produção de mudas micropropagadas, aliada à inoculação com FMA, pode constituir ferramenta biotecnológica para o controle de *Meloidogyne* em plantas que vêm sendo parasitadas por esse patógeno. Este trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento e a tolerância de plantas de *A. purpurata*, micropropagadas e micorrizadas, a *Meloidogyne arenaria* (Neal.) Chitwood.

MATERIAL E MÉTODOS

Substrato – foi utilizado solo (latossolo amarelo) desinfestado com Bromex[®] (98% brometo de metila e 2% de cloropicrina) com as seguintes características químicas: pH 7,1; 21 mg dm⁻³ P; 1,1 cmol_c dm⁻³ K; 4,7 cmol_c dm⁻³ Ca; 1,3 cmol_c dm⁻³ Mg; 0,07 cmol_c dm⁻³ Na.

Material vegetal – plântulas micropropagadas de *A. purpurata* foram multiplicadas em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com 4 mg/L de BAP (6-benzilaminopurina) no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semi- Árido.

FMA – foram utilizados *Gigaspora albida* Becker & Hall (UFPE 01), *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann (UFPE 06) e *Acaulospora longula* Spain & Schenck (UFPE 21), mantidos no Banco de Inóculo de FMA da UFPE. Os inóculos foram multiplicados em vasos com areia e vermiculita (1:1 v/v), irrigados com solução nutritiva de Hoagland & Arnon modificada por Jarstfer & Sylvia (1992) e suplementada com Tris-HCl (pH 6,5), tendo como hospedeiro *Panicum miliaceum* L. Após multiplicação, foi estimado o número de propágulos infectivos de FMA pelo método de Feldmann & Idczak (1994).

Inoculação com FMA – No início da aclimatização, quando as plantas foram transplantadas da condição *in vitro* para potes de 2 Kg contendo solo, foi colocado na

1 região próxima das raízes, solo-inóculo contendo cerca de 1500 propágulos infectivos nos
2 tratamentos com FMA. Após 125 dias, as plantas foram transferidas para vasos contendo 3
3 Kg de solo.

4 **Obtenção do nematóide** – Para obtenção da suspensão de nematóides, amostras de raízes
5 de *A. purpurata* infectadas pelo patógeno foram coletadas na Embrapa – SNT (Embrapa
6 transferência de tecnologia) em Petrolina, Pernambuco, cuidadosamente lavadas e os ovos
7 extraídos pelo método de Hussey & Barker (1973), com posterior contagem em
8 estereomicroscópio para determinação da quantidade de ovos por mL.

9 **Inoculação com o nematóide** – Após três meses de aclimatização, uma suspensão aquosa
10 com cerca de 3.000 ovos e juvenis de *M. arenaria* foi colocada na região das raízes de *A.*
11 *purpurata*.

12 **Condições experimentais** – o experimento foi realizado na casa de vegetação da Embrapa
13 Semi-Árido, Petrolina, Pernambuco, sob condições ambientais controladas (temperatura:
14 27 ± 2 °C; umidade relativa: 75%; luminosidade: 250 a 560 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$).

15 **Avaliação** – Após 270 dias do início do experimento, foram avaliadas: altura, número de
16 folhas, número de perfilhos, massa seca da parte aérea e fresca da subterrânea, área foliar,
17 colonização micorrízica, densidade de esporos de FMA, número de galhas, número de
18 massas de ovos e número de ovos do nematóide. A massa seca foi obtida após secagem em
19 estufa (65 °C) até peso constante. A área foliar foi medida no aparelho Li 3100 (LI-Cor
20 Inc. Lincon, Neb., USA). A colonização micorrízica por hifas, arbúsculos e vesículas foi
21 estimada pelo método de McGonigle *et al.* (1990) em raízes diafanizadas em KOH 10% e
22 coradas com Clorazol Black, 0,03% (Brundett *et al.*, 1984). Os esporos de FMA foram
23 extraídos do solo por decantação e peneiramento úmido seguido por centrifugação em água
24 e sacarose (Gerdemann & Nicolson, 1963; Jenkins, 1964) e posteriormente quantificados
25 em estereomicroscópio (40x). O número de galhas e o de massas de ovos foram avaliados

por contagem direta a olho nu e o número de ovos extraídos das raízes (Hussey & Barker, 1973) foi avaliado em estereomicroscópio.

Delineamento experimental – Foram conduzidos dois experimentos, um sem inoculação com nematóide (Experimento 1) e outro com a presença do patógeno (Experimento 2), em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos de inoculação (não inoculado e inoculado com *G. albida*, ou com *G. etunicatum* ou com *A. longula*), com cinco repetições.

Análise estatística - os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o Programa Statistica (Statsoft, 1997), e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para os valores das variáveis em percentual e em número foram transformados em $\arcseno x/100$ e $\sqrt{x+2,5}$, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No experimento sem nematóide, de modo geral, as plantas inoculadas com FMA apresentaram melhor crescimento do que o observado no controle (sem inoculação), (Tabela 1). Com exceção da altura, plantas de alpinia associadas a *A. longula* apresentaram maior desenvolvimento em todas as variáveis avaliadas em relação ao controle. O tratamento com *G. etunicatum* também se destacou em relação ao controle na altura, número de perfilhos, massa seca da parte aérea e área foliar. Em experimento de curta duração (100 dias), utilizando o mesmo solo e os mesmos isolados de FMA, não foi observado benefício da micorrização (Silva *et al.*, dados não publicados). No entanto, neste experimento, avaliado após 270 dias, a inoculação com *A. longula* e com *G. etunicatum* mostrou benefícios da micorrização, em comparação com o tratamento não inoculado. Estaún *et al.* (1999) observaram que os benefícios da aplicação de FMA em plantas micropropagadas de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch. x *Prunus amygdalus*

Stokes.) só foram evidenciados 14 meses após a inoculação. Também se pode considerar o efeito da depleção do fósforo, presente inicialmente em elevados teores (21 mg dm^{-3}) no solo, devido ao crescimento do vegetal, o que pode ter favorecido a atuação do fungo com o decorrer do experimento, visto que esse nutriente afeta a simbiose.

Tabela 1. Valores das variáveis de crescimento de plantas de *Alpinia purpurata* (inoculadas e não inoculadas com FMA) e da densidade de esporos de FMA na rizosfera, na ausência de nematóide

Tratamentos	ALT(cm)	NF	NP	MFPS(g)	MSPA(g)	AF(cm^2)	DE($50\text{g}^{-1}\text{solo}$)
Controle	22,27b	50,66b	8,0b	66,34b	10,72b	1697,26b	-----
<i>Gigaspora albida</i>	33,72a	62,75ab	5,3c	86,60b	16,11ab	2427,48ab	168,00b
<i>Glomus etunicatum</i>	33,97a	66,75ab	11,0a	111,87ab	18,41a	2755,22a	143,33b
<i>Acaulospora longula</i>	23,86b	73,50a	12,0a	146,67a	18,08a	2707,15a	451,50a
CV (%)	21,99	15,12	33,40	33,66	22,42	20,36	61,54

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%). ALT= altura; NF= número de folhas; NP= número de perfilhos; MFPS= massa fresca da parte subterrânea; MSPA= massa seca da parte aérea, AF= área foliar, DE= densidade de esporos

No experimento com nematóide, as plantas inoculadas com *A. longula* e *G. etunicatum* apresentaram melhor desenvolvimento do que as não inoculadas em relação à massa seca da parte aérea, massa fresca da parte subterrânea e área foliar (Tabela 2). Por outro lado, as plantas associadas a *G. albida* tiveram crescimento similar ao observado no tratamento controle (Tabela 2). O fato da maior massa fresca da parte subterrânea ocorrer nas plantas associadas com *G. etunicatum* pode estar relacionado com a maior quantidade de galhas encontrada nessas raízes o que aumentou o peso da parte subterrânea, como

também observado em plantas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) inoculadas com FMA e infectadas com *Meloidogyne* (Carling *et al.*, 1996).

Tabela 2. Valores das variáveis de crescimento de plantas de *Alpinia purpurata* (inoculadas e não inoculadas com FMA), infectadas com *Meloidogyne arenaria*

Tratamentos	ALT(cm)	NF	NP	MFPS(g)	MSPA(g)	AF(cm ²)
Controle	21,82ab	45,4a	12,8a	13,15c	2,61b	429,49b
<i>Gigaspora albida</i>	12,12b	61,6a	13,8a	27,54c	5,75b	668,05b
<i>Glomus etunicatum</i>	17,35b	74,2a	17,8a	97,12a	17,10a	2264,05a
<i>Acaulospora longula</i>	32,35a	70,0a	14,2a	75,36b	15,27a	2339,98a
CV (%)	41,08	20,25	14,88	74,12	69,54	71,37

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%). ALT= altura; NF= número de folhas; NP= número de perfilhos; MFPS= massa fresca da parte subterrânea; MSPA= massa seca da parte aérea, AF= área foliar.

Diferenças em relação à espécie de FMA inoculada, sobre o crescimento de plantas infestadas com *Meloidogyne*, foram observadas por Pandey *et al.* (1999): *Glomus aggregatum* Schenck & Smith proporcionou aumento, enquanto *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerdemann & Trappe não teve efeito sobre a biomassa de mudas de *Hyoscyamus niger* L. infestadas com *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. Em trevo branco (*Trifolium repens* L.), mudas inoculadas com *G. mosseae* apresentaram aumento de biomassa, o que não ocorreu nos tratamentos com *G. aggregatum* e *Glomus intraradices* Schenck & Smith (Habte *et al.*, 1999). A inoculação com um isolado de *G. mosseae* nativo, em bananeiras (*Musa* AAA cv. Grand naine) infectadas com *M. incognita*, resultou em aumento significativo no crescimento das plantas, comparado com o uso de isolado não nativo de FMA da mesma espécie (Jaizme-Veja *et al.*, 1997). Tomateiros (*Lycopersicon*

1 *esculentum* L.) infectados com *Meloidogyne javanica* (Treub.) Chitwood e inoculados com
2 *Gigaspora margarita* Becker & Hall apresentaram redução na biomassa seca da parte
3 aérea, no peso e em número de frutos, que foram similares ao observado no controle,
4 enquanto no tratamento com *G. etunicatum* essas variáveis foram aumentadas na presença
5 do fungo (Cofcewicz *et al.*, 2001). No presente experimento, *G. etunicatum* e *A. longula*
6 proporcionaram maior crescimento, enquanto *G. albida* foi menos efetivo, não
7 incrementando o crescimento das plantas na presença de *Meloidogyne*. Isso reforça a
8 proposta de que a tolerância de plantas micorrizadas ao parasitismo de fitonematóides é
9 dependente da espécie de FMA (Azcon-Aguilar & Barea, 1996).

10 As plantas associadas com *A. longula* e *G. albida* apresentaram menor número de
11 galhas do que o observado nos demais tratamentos (Tabela 3). A inoculação com FMA não
12 interferiu na produção de massas de ovos pelo fitonematóide, enquanto a quantidade de
13 ovos produzidos por grama de raiz foi reduzida nas plantas inoculadas com *G. albida*, em
14 comparação ao observado no tratamento controle. A produção de ovos nas raízes de
15 plantas micorrizadas com *G. etunicatum* e *A. longula* não diferiu do registrado no
16 tratamento controle sem FMA (Tabela 3). Geralmente a inoculação de FMA diminui a
17 formação de galhas e a reprodução do nematóide, sendo considerado ideal o fungo que tem
18 a capacidade de reduzir a reprodução do nematóide e ao mesmo tempo promover o
19 crescimento do hospedeiro (Habte *et al.*, 1999). No presente estudo, as inoculações com *G.*
20 *albida* e *A. longula* reduziram a produção de galhas, porém apenas o isolado de
21 Acaulosporaceae incrementou o desenvolvimento do vegetal, sendo portanto mais
22 recomendado para fins de inoculação, visando tolerância a *Meloidogyne*. A produção de
23 galhas e ovos por *M. incognita* foi reduzida em bananeiras pela presença de *G. mosseae*
24 (Jaizme-Vega *et al.*, 1997), em plantas de tomateiro associadas com *Glomus coronatum*
25 Giovannetti (Diedhiou *et al.*, 2003) e em pessegueiros inoculados com *G. mosseae*, *G.*

intraradices e *G. etunicatum* (Calvet *et al.*, 2001). Entretanto, a presença de FMA aumentou a quantidade de galhas e o número de ovos de *M. arenaria* em raízes de amendoim (Carling *et al.*, 1996). Comportamento semelhante foi observado neste estudo, em relação ao número de galhas produzidas nas plantas associadas a *G. etunicatum*.

Tabela 3. Densidade de esporos (DE) de FMA na rizosfera, número de galhas (NG), de ovos (NO) e de massas de ovos (NMO) em raízes de plantas de *Alpinia purpurata* infectadas com *Meloidogyne arenaria* e inoculadas ou não (controle) com FMA

Tratamentos	DE(50g ⁻¹ de solo)	NG(g ⁻¹ raiz)	NMO(g ⁻¹ raiz)	NO(g ⁻¹ raiz)
Controle	----	25,11a	32,64a	47285a
<i>Gigaspora albida</i>	3,75b	3,75b	17,20a	8637b
<i>Glomus etunicatum</i>	66,25b	18,58a	24,50a	23400ab
<i>Acaulospora longula</i>	400,66a	6,93b	17,25a	26048ab
CV (%)	78,54	73,36	32,06	60,45

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Acaulospora longula produziu o maior número de esporos tanto no experimento com nematóide como naquele sem o patógeno (Tabela 1 e 3). Embora a diferença não tenha sido significativa, na rizosfera de plantas infestadas com o nematóide *G. etunicatum* produziu mais esporos do que *G. albida*, com o inverso ocorrendo na rizosfera de plantas não inoculadas com o patógeno. Comportamento similar foi observado por Cofcewicz *et al.* (2001), em plantas de tomateiro infectadas por *M. javanica*, onde houve maior esporulação de *G. margarita* do que de *G. etunicatum*. Mais uma vez fica demonstrado que a amplitude de respostas da interação FMA e nematóide é dependente tanto do isolado de FMA quanto da espécie de fitonematóide testados.

Nas plantas infestadas por nematóides, maior taxa de colonização micorrízica (total e por hifas) foi registrada nas raízes colonizadas por *A. longula*, embora esta não tenha diferido do produzido por *G. albida*, que não diferiu do observado com *G. etunicatum* (Tabela 4). Aparentemente, *A. longula* ocupou maior área do córtex radicular, deixando pouco espaço físico para a produção de galhas (Tabela 3). Em contrapartida, *G. etunicatum* colonizou em menor extensão as raízes de alpinia; com menor capacidade para bloquear a ação do nematóide, assim, maior número de galhas foi observado nas raízes colonizadas por esse fungo (Tabela 3).

Tabela 4. Colonização micorrízica de raízes de *Alpinia purpurata* infectadas com *Meloidogyne arenaria*

Tratamentos	% colonização micorrízica			
	Hifas	Arbúsculos	Vesículas	Total
<i>Gigaspora albida</i>	29,95ab	19,24a	---	52,08ab
<i>Glomus etunicatum</i>	23,44b	9,24a	4,99a	37,67b
<i>Acaulospora longula</i>	39,41a	26,16a	4,73a	70,30 ^a
CV (%)	6,4	5,79	0,06	19,19

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

A colonização total e por hifas produzida pelos três FMA não diferiu no experimento sem nematóide. Por outro lado, a colonização por arbúsculos e vesículas não diferiu entre os tratamentos de inoculação, nos experimentos com e sem inoculação com nematóide (Tabelas 4 e 5). Apesar dos FMA apresentarem estratégias de colonização diferenciadas (Hart & Reader, 2002), a similaridade na colonização arbuscular e vesicular entre os tratamentos de inoculação pode indicar que em estádios mais avançados da simbiose, ocorre equitabilidade na formação dessas estruturas entre fungos pertencentes a espécies distintas.

Tabela 5. Colonização micorrízica de raízes de *Alpinia purpurata* em solo não infestado com *Meloidogyne arenaria*

Tratamentos	% colonização micorrízica			
	Hifas	Arbúsculos	Vesículas	Total
<i>Gigaspora albida</i>	33,90a	26,61a	---	63,52a
<i>Glomus etunicatum</i>	31,37a	20,41a	4,14a	55,93a
<i>Acaulospora longula</i>	34,71a	25,86a	2,67a	62,72a
CV (%)	0,81	2,27	0,45	5,49

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Habte *et al.* (1999) considera ideal o FMA que tem a capacidade de induzir resistência da planta ao nematóide, ou seja, reduzir a reprodução do nematóide e ao mesmo tempo promover o crescimento do hospedeiro, porém situação de resistência induzida por FMA é menos comum que os de tolerância, onde nematóide e planta se desenvolvem bem. No presente trabalho as plantas inoculadas com *A. longula* e *G. etunicatum* cresceram bem juntamente com o nematóide, sendo considerados, portanto, fungos com capacidade de induzir a tolerância à *M. arenaria*, podendo ser utilizados como alternativa para diminuir os danos causados por este patógeno que ocorre em áreas de cultivo desta ornamental tropical.

CONCLUSÕES

O crescimento de plantas micropropagadas de alpinia pode ser beneficiado pela inoculação com *G. etunicatum* ou *A. longula*.

A associação de plantas de alpinia micropropagadas com *A. longula* ou *G. etunicatum*, favorece a tolerância ao parasitismo de *M. arenaria*.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pela concessão de bolsas a M.A. da Silva e F.S.B da Silva; ao CNPq pelo apoio financeiro e bolsa concedida a L. C. Maia. Ao Laboratório de Biotecnologia e Microbiologia da Embrapa Semi-Árido, pelo apoio logístico para o desenvolvimento do trabalho. A Dr^a Regina Carneiro do Cenargen/Embrapa, pela identificação do nematóide.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZCÓN-AGUILAR, C.; BAREA, J.M. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. **Scientia Horticulturae**, v. 68, p. 1-24, 1997.

AZCÓN-AGUILAR, C.; BAREA, J. M. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens – an overview of the mechanisms involved. **Mycorrhiza**, v.6, p. 457-464, 1996.

BORKOWSKA, B. Growth and photosynthetic activity of micropropagated strawberry plants inoculated with endomycorrhizal fungi (AMF) and growing under drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 24, p. 365-370, 2002.

BOROWICZ, V. Do arbuscular mycorrhizal fungi alter plant-pathogen relations? **Ecology**, v. 82, p. 3057-3068, 2001.

BRUNDETT, M.C; PICHÉ, Y.; PETERSON, R.L. A new method for observing the morphology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. **Canadian Journal of Botany**, v. 62, p. 2128-2134, 1984.

CALVET, C.; PINOCHET, J.; HERNANDEZ-DORREGO, A.; ESTAÚN, V.; CAMPRUBI, A. Field microplot performance of the peach-almond hybrid GF- 677 after inoculation with arbuscular fungi in a replant soil infested with root-knot nematodes. **Mycorrhiza**, v. 10, p. 295- 300, 2001.

- 1 CARLING, D. E.; RONCADORI, R. W.; HUSSEY, R. S. Interactions of arbuscular
- 2 mycorrhizae, *Meloidogyne arenaria*, and phosphorus fertilization on peanut. **Mycorrhiza**, v.
- 3 6, p. 9-13, 1996.
- 4 CARVALHO, J. M. F. C. **Técnicas de micropropagação**. Documento 64. Campina Grande:
- 5 Embrapa-Algodão/ PB, 1999, 39p.
- 6 COFCEWICZ, E. T.; MEDEIROS, C. A. B.; CARNEIRO, R. M. D. G.; PIEROBOM, C. R.
- 7 Interação dos fungos micorrízicos arbusculares *Glomus etunicatum* e *Gigaspora margarita* e
- 8 o nematóide das galhas *Meloidogyne javanica* em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.
- 9 26, p. 65-70, 2001.
- 10 DECLERCK, S.; RISEDE, J. M.; DELVAUX, B. Greenhouse response of micropropagated
- 11 bananas inoculated with “in vitro” monoxenically produced arbuscular mycorrhizal fungi.
- 12 **Scientia Horticulturae**, v. 93, p. 301-309, 2002.
- 13 DIEDHIOU, P. M.; HALLMANN, J.; OERKE, E. C.; DEHNE, H. W. Effects of arbuscular
- 14 mycorrhizal fungi and a non-pathogenic *Fusarium oxysporum* on *Meloidoyne incognita*
- 15 infestation of tomato. **Mycorrhiza**, v. 13, p. 199-204, 2003.
- 16 ESTAUN, V.; CALVET, C.; CAMPRUBI, A.; PINOCHET, J. Long-term effects of nursery
- 17 starter substrate and AM inoculation of micropropagated peach x almond hybrid rootstock
- 18 GF677. **Agronomie**, v. 19, p. 483-489, 1999.
- 19 FELDMANN, F; IDCZAK, E. Inoculum production of vesicular-arbuscular mycorrhizal
- 20 fungi for use in tropical nurseries. In: NORRIS; J. R.; READ, D.; VARMA, A.K. (Eds.).
- 21 **Techniques for Mycorrhizal Research. Methods in Microbiology**. London. Academic
- 22 Press. 1994, p.799-817.
- 23 FERREIRA, A.; SOUZA FILHO, I. C.; ALBUQUERQUE, S. R. C. Panorama global da
- 24 floricultura em Pernambuco. In: RAMOS, E. (Ed.). **Floricultura em Pernambuco**. Série
- 25 Agronegócio. Recife: SEBRAE/ PE, 2002, p. 23-59.

- 1 GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species
- 2 extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological**
- 3 **Society**, v 46, p.235-244, 1963.
- 4 HABTE, M.; ZHANG, Y. C.; SCHMITT, D. P. Effectiveness of *Glomus* species in
- 5 protecting white clover against nematode damage. **Canadian Journal of Botany**, v. 77, p.
- 6 135-139, 1999.
- 7 HART, M. .M.; READER, R. J. Does percent root lenght colonization and soil hyphal lenght
- 8 reflect the extent of colonization of all AMF? **Mycorrhiza**, v. 12, p. 297-301, 2002.
- 9 HUSSEY, R.S.; BARKER, K.R. A comparison of methods of collecting inocula of
- 10 *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, v. 57, p.1025–1028,
- 11 1973.
- 12 JAIZME-VEGA, M. C.; TENOURY, P.; PINOCHET, J.; JAUMOT, M. Interactions
- 13 between the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and *Glomus mosseae* in banana.
- 14 **Plant and Soil**, v. 196, p. 27-35, 1997.
- 15 JARSTFER, A. G.; SYLVIA, D.M. Inoculum production and inoculation strategies for
- 16 vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. In: **Soil Microbial Tecnologies: Applications in**
- 17 **Agriculture, Forestry and Environmental Management**. New York. Ed. B. Metting
- 18 Marcel Dekker, 1992, Pp. 349-377.
- 19 JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil.
- 20 **Plant Disease Report**, v. 48, p. 692, 1964.
- 21 LAMAS, A. M. **Floricultura Tropical (técnicas de cultivo)**. Série empreendedor. Recife:
- 22 SEBRAE/ PE, 2002, 88p.
- 23 LOCATELLI, L. M.; LOVATO, P. E. Inoculação micorrízica e aclimatização de dois porta-
- 24 enxertos de macieira micropropagados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 177-
- 25 184, 2002.

- 1 MC GONIGLE, T.P.; MILLER, M.H.; EVANS, D.G.; FAIRCHILD, G.L.; SWAN, J.A. A
2 new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-
3 arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v. 115, p. 495-501, 1990.
- 4 MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with
5 tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- 6 PANDEY, R.; GUPTA, M. L.; SINGH, H. B.; KUMAR, S. The influence of vesicular-
7 arbuscular mycorrhizal fungi alone or in combination with *Meloidogyne incognita* on
8 *Hyoscyamus niger* L. **Bioresource Technology**, v. 69, p. 275-278, 1999.
- 9 STATSOFT, **Statistica for windows**. Tulsa: CD-ROM. 1997.

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

CONCLUSÕES GERAIS

O uso de substrato à base de solo e com até 25% de vermicomposto, favorece a produção de mudas micropropagadas de alpinia e sorvetão;

A inoculação com *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora longula* não incrementa o crescimento de mudas de alpinia e de sorvetão micropropagadas até 100 e 70 dias, respectivamente, mesmo em substrato sem adubo orgânico;

A aplicação de vermicomposto inibe a colonização e a reprodução dos FMA estudados;

A inoculação de *Glomus etunicatum* ou *Acaulospora longula* favorece o crescimento de plantas micropropagadas de alpinia;

A micorrização de plantas micropropagadas de *Alpinia purpurata* com *Acaulospora longula* ou *Glomus etunicatum* induz tolerância ao parasitismo de *Meloidogyne arenaria*, sendo alternativa para diminuir os prejuízos causados pela meloidoginose, doença comum em áreas de cultivo desta ornamental tropical.

ANEXO

NORMAS GERAIS PARA PUBLICAÇÃO : *Acta Botanica Brasílica*

1. A **Acta Botanica Brasílica (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, seqüencialmente 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 seqüência:
 - **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 seqüencialmente, com algarismos arábicos, colocados no lado inferior direito; as escalas, sempre que possível, devem se situar à esquerda da figura.
 - As tabelas devem ser seqüencialmente 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 a medida ou venha em combinação com outros números. Ex.: quatro árvores; 6,0mm; 1,0-4,0mm; 125 exsicatas.
- 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**, *itálico*)
- 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. 2. Folhas sagitadas, menos de 8cm compr. 1. Plantas aquáticas 3. Nervuras paralelas 4. Flores brancas 1. S. <i>albicans</i> 4. Flores roxas 5. S. <i>purpurea</i> 3. Nervuras furcadas 5. Frutos oblongos 2. S. <i>furcata</i>	4. S. <i>orbicularis</i> 6. S. <i>sagittalis</i> 1. S. <i>albicans</i> 5. S. <i>purpurea</i> 2. S. <i>furcata</i>
--	---

5. Frutos esféricos 3. S. *nanuzae*
O tratamento taxonômico no texto deve reservar o itálico e negrito apenas para os nomes de táxons válidos. Basiônimo e sinonímia aparecem apenas em itálico. 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

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Objetivos

A revista **Pesquisa Agropecuária Brasileira** é uma publicação mensal da Embrapa, que edita e publica trabalhos técnico-científicos originais, em português, espanhol ou inglês, resultantes de pesquisas de interesse agropecuário. A principal forma de contribuição é o Artigo, mas a PAB também publica Notas Científicas, Novas Cultivares e Revisões a convite do Editor.

Submissão

Os originais submetidos à publicação devem ser enviados por via eletrônica (pab@sct.embrapa.br) acompanhados de mensagem com os seguintes dados: nome, formação profissional, grau acadêmico e endereço institucional e eletrônico dos autores; indicação do autor-correspondente; declaração de não-submissão do trabalho à publicação em outro periódico. Cada autor deve enviar mensagem expressando sua concordância com a submissão do artigo. Os manuscritos podem também ser encaminhados pelos correios, para o seguinte endereço:

Embrapa Informação Tecnológica
Pesquisa Agropecuária Brasileira - PAB
Caixa Postal 040315
70770-901 Brasília, DF

Apresentação

- O artigo deve ser digitado em Word, espaço duplo, Times New Roman, corpo 12, folha formato A4, com páginas e linhas numeradas.
- As figuras, na forma de gráficos, devem ser apresentadas no final do texto, em Excel ou Word.
- As figuras, na forma de fotografias, imagens ou desenhos, com 8,5 cm ou 17,5 cm de largura, devem ser escaneadas com 300 dpi e gravadas, separadas do texto, em arquivos TIF.
- As tabelas devem ser apresentadas em Word, no final do texto, somente com linhas horizontais; os dados devem ser digitados em fonte Times New Roman.

Estrutura e organização

O artigo, com no máximo 20 páginas, deve ser apresentado na seguinte sequência: título, nome completo dos autores, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, Título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, Tabelas e Figuras.

Título: 15 palavras no máximo, em letras minúsculas.

Autores: nomes completos, com chamada para nota de endereços; autores de uma mesma instituição devem ter a mesma nota de endereço.

Notas de endereços: endereços institucionais e eletrônicos dos autores.

Resumo: máximo de 200 palavras; Abstract deve ser tradução fiel do Resumo.

Termos para indexação: mínimo três e máximo seis.

Conclusões: frases curtas, com o verbo no presente do indicativo, sem comentários adicionais e elaboradas com base nos objetivos do artigo.

Citações: não são aceitas citações de dados não publicados, comunicação pessoal, resumos e publicações no prelo.

Referências: de acordo com a NBR 6023 da ABNT; em ordem alfabética dos nomes dos autores; principalmente dos últimos dez anos e de artigos de periódicos. Exemplos:

Eventos (considerados em parte)

ALBUQUERQUE, F.C.; DUARTE, M.L.R.; NUNES, A.M.L.; STEIN, R.L.B.; OLIVEIRA, R.P. Comportamento de germoplasma de pimenta-do-reino em áreas de ocorrência de fusariose no Estado do Pará. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PIMENTA E CUPUAÇU, 1., 1996, Belém. **Anais.** Belém: Embrapa-CPATU; JICA, 1997. p.269-276. (Embrapa-CPATU. Documentos, 89).

Artigos de periódicos

BAK, P.; TANG, C.; WIESENFELD, K. Self-organized criticality. **Physical Review A**, v.38, p.364-374, 1988.

Capítulos de livros

DIAS-FILHO, M.B. Pastagens cultivadas na Amazônia oriental brasileira: processos e causas de degradação e estratégias de recuperação. In: DIAS, L.E.; MELLO, J.W.V. (Ed.). **Recuperação de áreas degradadas.** Viçosa: UFV; Sociedade Brasileira de Recuperação de Áreas Degradadas, 1998. p.135-147.

Livros

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética.** 3.ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1998. 220p.

Teses e dissertações

MACHADO, C.A.E. **Padrões isoenzimáticos de superóxido dismutase de alguns genótipos de pessegueiro *Prunus persica* (L.) Batsch.** 1984. 36p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Outras informações

- Todos os manuscritos são revisados por no mínimo dois especialistas.
- O editor e a assessoria científica reservam-se o direito de solicitar modificações

nos artigos e de decidir sobre a sua publicação.

- São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos.
- Os trabalhos aceitos não poderão ser reproduzidos, mesmo parcialmente, sem o consentimento expresso do editor da PAB.
- **Contatos com a secretaria da revista podem ser feitos pelos fones: (61) 448-4231 e 273-9616, fax: (61) 340-5483 ou e-mail: pab@sct.embrapa.br.**