

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

**PROPAGAÇÃO VEGETATIVA E INTERAÇÃO COM ENDOMICORRIZAS  
ARBUSCULARES EM MIRTÁCEAS NATIVAS DO SUL DO BRASIL**

Precila Zambotto Lopes  
Engenheira Agrônoma (CEFET-PR/UNED-PB)

Tese apresentada como um dos requisitos  
à obtenção do Grau de Doutor em Fitotecnia  
Área de Concentração Fitossanidade

Porto Alegre (RS), Brasil  
Março de 2009

PRECILA ZAMBOTTO LOPES  
Engenheira Agrônoma - CEFET-PR/UNED-PB  
Mestre em Fitotecnia - UFRGS


## TESE

Submetida como parte dos requisitos  
para obtenção do Grau de


### DOUTOR EM FITOTECNIA

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

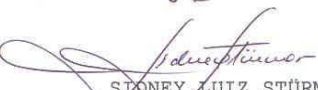
Aprovado em: 13.03.2009  
Pela Banca Examinadora

  
FÁBIO KESSLER DAL SOGLIO  
Orientador - PPG Fitotecnia


  
PAULO VITOR DUTRA DE SOUZA  
Co-orientador - PPG Fitotecnia


  
SÉRGIO FRANCISCO SCHWARZ  
PPG Fitotecnia

  
GILMAR SCHÄFER

  
STONEY LUIZ STÜRMER  
FURB - Universidade Regional  
de Blumenau /SC

Homologado em: 27.04.2009  
Por

  
PAULO VITOR DUTRA DE SOUZA  
Coordenador do Programa de  
Pós-Graduação em Fitotecnia

  
PEDRO ALBERTO SELBACH  
Diretor da Faculdade  
de Agronomia

“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.” (Chico Xavier).

## AGRADECIMENTOS

Muito agradeço,

A Deus, mais importante que o lugar que ocupas em mim é a intensidade de sua presença em tudo o que faço.

Ao meu amor Eduardo Alberto Cardoso pelo carinho, paciência e cumplicidade, por tantas vezes abdicar de momentos juntos em prol de meu crescimento. Por sempre acreditar que a “crespa” conseguiria e tornar minha vida completa.

A meus pais, João Batista Lopes e Alderina Zambotto Lopes, e a meus irmãos Júnior, Estefânia e Evandro, pelo amor, carinho e apoio que tanto me tem dirigido ao longo da vida, especialmente, pelo exemplo na perseverança pelo aprimoramento do intelecto.

Ao professor Fábio Kessler Dal Soglio, pela amizade, paciência, apoio, por muito contribuir em minha formação profissional e acima de tudo pelo exemplo de humanismo, ética profissional e visão de um todo. E, principalmente por sua orientação, no decorrer dos anos de muito trabalho.

Ao professor Paulo Vitor Dutra de Souza, pela amizade, pela co-orientação, seu apoio, confiança e por muito contribuir na realização e conclusão deste trabalho. E, principalmente pelo seu jeito especial de instigar a busca do saber com suas tiradas e o seu “ti atraca”, e sem poder esquecer das piadas do famoso “Veludo” em todos os churrascos.

Ao professor Sérgio Schwarz pela parceria na realização desse trabalho, pela amizade e carinho.

Ao Gilmar Schäfer por muito contribuir como profissional, pela paciência e compreensão nos momentos de apoio e acima de tudo por sua amizade incondicional.

A todos os demais professores dos Departamentos de Horticultura e Silvicultura e Fitossanidade, que em alguns momentos auxiliaram e fizeram parte de meu crescimento profissional.

Ao Prof. José F. Barbosa Neto pela contribuição nas análises de dados, carinho e aos churrascos com a turma.

Ao amigo e colega Ernani pelo auxílio e pela extraordinária dedicação nos trabalhos de laboratório, além da amizade e muitas risadas.

A amiga Cleusa por proporcionar momentos de descontração, muitas gargalhadas e muitos biscoitos nos momentos de apuro.

A amiga Marisa Bello pela paciência, conversas e risadas, nas minhas tantas idas e vindas à casa de vegetação.

Aos amigos e funcionários da Agronomia e da EEA/UFRGS Idenir, José, Antônio, Valter, Valmor, Júlia, Miguel, Marlene, Adelar e Arlindo pelo apoio na condução de trabalhos.

A Adriane Leite do Amaral, pelo apoio incondicional, pela amizade que me tem dedicado, por me transmitir confiança, carinho, por nunca duvidar que conseguiria vencer todos os percalços. E, pelo exemplo de perseverança e humildade.

A minha futura comadre e amiga Fernanda pela pessoa linda que és exemplo de cumplicidade e carinho. E, por muitas vezes ser a dinda de meus felinos.

A Ivone Cardoso, minha mentora espiritual, pela amizade, carinho, e, principalmente pela ajuda na construção da estrutura emocional e orientação espiritual necessárias para a realização deste trabalho.

Ao querido casal de amigos Glauce e André pela amizade e por proporcionarem momentos relax.

Em especial as amigas (os) Cândida, Rafaelle, Rita, Isabel, Daiane, Luana, Matheus, Pedro, Paulo e Cândido pela amizade, pelo apoio incondicional e por toda a descontração.

As amigas Paula, Tatiana, Josana, Thanise, pela amizade e por muitos mates e momentos festivos.

E todos aqueles que de uma forma ou de outra, colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho partilhando seus conhecimentos e experiências.

Aos professores Ana Paula Ott, Josué e aos colegas Ricardo e Caio pela colaboração na identificação das pragas com ocorrência nas espécies de mirtáceas trabalhadas no atual estudo.

Ao Biólogo Martin Grings do Departamento de Ecologia/UFRGS pela colaboração na identificação taxonômica das matrizes de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira.

Ao Prof. Sidney Luiz Stürmer do Laboratório de Botânica da Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB), em Santa Catarina, pela colaboração e dedicação na identificação taxonômica das espécies de fungos micorrízicos arbusculares.

Ao CNPq pelo financiamento do projeto/Edital CNPq 19/2004 – Universal.

A CAPES pela concessão da Bolsa de Doutorado, a qual tornou viável minha pós-graduação.

# PROPAGAÇÃO VEGETATIVA E INTERAÇÃO COM ENDOMICORRIZAS ARBUSCULARES EM MIRTÁCEAS NATIVAS DO SUL DO BRASIL

Autor: Precila Zambotto Lopes  
Orientador: Fábio Kessler Dal Soglio  
Co-orientador: Paulo Vitor Dutra de Souza

## RESUMO

Na região Sul do Brasil existe uma grande diversidade de frutíferas nativas, dentre elas as pertencentes à família Myrtaceae que representam um patrimônio genético com potencial agrônomo voltado à sustentabilidade de sistemas agrícolas e naturais, sendo uma alternativa de melhor utilização da propriedade rural proporcionando rentabilidade ao agricultor, além de ser uma grande fonte de vitaminas e compostos químicos importantes. O objetivo deste trabalho foi estabelecer metodologias e protocolos eficientes para a propagação vegetativa por estaquia, enxertia e micropropagação de *Eugenia involucrata* D.C., *E. uniflora* L. e *E. brasiliensis* Lam., identificadas em diferentes locais da Depressão Central do RS, além de identificar espécies autóctones de fungos micorrízicos arbusculares associados às suas raízes que venham a contribuir, futuramente, para o estabelecimento de tecnologias de produção de mudas dessas fruteiras. Também foram avaliadas as características físico-químicas de frutos de algumas matrizes destas mirtáceas cultivadas em diferentes locais. Dentre resultados obtidos na caracterização de frutos das espécies estudadas, foi encontrado um percentual médio de polpa de 85,7% e teores médios de vitamina C de 56,3 mg/100g de polpa. No tocante à propagação vegetativa pelo processo de estaquia não houve enraizamento dos diferentes tipos de estacas semi-lenhosas de *E. involucrata* D.C., *E. uniflora* L. e *E. brasiliensis* Lam., mesmo quando tratadas com diferentes doses de ácido indolbutírico (AIB). Já nos processos de enxertia, a garfagem no topo de fenda cheia se mostrou o melhor método de propagação das frutíferas dentro da mesma espécie (enxerto x porta-enxerto). Dentre as distintas formulações de meios nutritivos testadas no processo de micropropagação, o meio de cultura MS com metade da concentração de sais se mostrou mais eficiente para a propagação de *E. involucrata* D.C. Não foi possível propagar *in vitro* as espécies de *E. uniflora* L. e *E. brasiliensis* Lam. Um total de 27 espécies de FMAs foi identificado morfológicamente, distribuídas em seis gêneros, sendo *Glomus* e *Acaulospora* os mais representativos. Ao inocular-se *E. involucrata* D.C. com FMA, verificou-se uma eficiência dos fungos em acelerar o desenvolvimento das plantas, destacando-se *Gigaspora margarita*, *Acaulospora* sp. e *Scutellospora heterogama*, seguidas por *Glomus etunicatum*.

---

<sup>1</sup>Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (120p.) Março, 2009.

# VEGETATIVE PROPAGATION AND ENDOMYCORRIZAS ARBUSCULAR INTERACTION IN NATIVE MYRTACEAS FROM SOUTHERN BRAZIL

Author: Precila Zambotto Lopes  
Adviser: Fábio Kessler Dal Soglio  
Co-adviser: Paulo Vitor Dutra de Souza

## ABSTRACT

In southern Brazil there is a large diversity of natives fruit species. Amongst them, the Myrtaceae family represents a genetic patrimony with agronomic potential directed to sustainable agricultural and natural systems. The use of these fruit trees would be an excellent alternative for farmers, providing a great source of vitamins and important chemical composites. The objective of this work was to establish methodologies and efficient protocols for vegetative propagation for cutting, grafting and micropropagation of *Eugenia involucrata* D.C., *Eugenia uniflora* L. and *E. brasiliensis* Lam., collected in different locations of the Central Depression of the RS. Other objective was to identify autoctones species of arbuscular mycorrhizal fungi associated to roots. These fungi may contribute for future establishment of technologies for stock production of these fruit species. Also physiochemical traits of fruits of plants grown in different environments were evaluated. Results observed in the fruit characterization showed an average percentage of pulp of 85,7% and an average 56,3 mg/100g of vitamin C. Regarding vegetative propagation for the cutting process, there was no root production in the different types of semi-hardwood cuttings of *E. involucrata* D.C., *E. uniflora* L. and *E. brasiliensis* Lam., even with the application of different doses of indolebutiric acid (AIB). In the grafting processe, the cleft graft was the best method for in the species (graft x rootstock). Among the different formulations of nutritious means tested in the micropropagation processes, the MS culture with half salt concentration was more efficient for the propagation of cerejeira-do-mato. *In vitro* propagation was not possible for Surinam cherry and *E. brasiliensis* Lam.. A total of 27 species of FMAs was identified morphologically, distributed in six genera, being most representative *Glomus* and *Acaulospora*. The inoculation of *E. involucrata* D.C. with FMA was efficient to accelerate plant development, where *Gigaspora margarita*, *Acaulospora* sp. e *Scutellospora heterogama*, followed for *Glomus etunicatum* may be pointed out.

---

<sup>1</sup>Doctoral thesis in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (120p.) March, 2009.

## SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
2.1 Mirtáceas nativas.....	8
2.1.1 Propagação de mirtáceas nativas.....	12
2.1.1.1 Propagação sexuada.....	13
2.1.1.2 Propagação assexuada.....	14
2.1.1.2.1 Propagação vegetativa pela técnica de enxertia.....	15
2.1.1.2.2 Propagação vegetativa pela técnica de estaquia.....	17
2.1.1.2.3 Propagação vegetativa pela técnica de cultura de tecidos <i>in vitro</i> .....	19
2.2 Potencial de utilização dos fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de plantas.....	23
3. MATERIAL MÉTODOS.....	30
3.1 Localização geral dos experimentos e identificação da cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira.....	30
3.2 Caracterização fenológica das plantas e caracteres físico-químicos dos frutos de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira.....	31
3.2.1 Características fenológicas das espécies de plantas.....	32
3.2.2 Caracterização física e físico-química dos frutos.....	32
3.2.2.1 Características físicas.....	32
3.2.2.2 Características físico-químicas.....	33
3.3 Ensaio para a multiplicação das espécies frutíferas nativas por diferentes processos de propagação.....	37
3.3.1 Propagação vegetativa via estaquia.....	38
3.3.2 Propagação vegetativa via processos de enxertia.....	39
3.3.3 Micropropagação.....	42
3.4 Coleta, separação dos morfotipos de fungos micorrízicos arbusculares associados às raízes de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira.....	44
3.4.1 Coleta das amostras de solo e raízes das espécies frutíferas nativas em seus diferentes locais de ocorrência.....	44
3.4.2 Quantificação de estruturas de FMA presentes em raízes das espécies de <i>Eugenia</i> .....	46
3.4.3 Extração dos esporos de FMAs e a sua separação por morfotipos.....	48
3.5 Cerejeira-do-mato e grumixameira inoculados com fungos micorrízicos arbusculares.....	50
3.6 Análises estatísticas.....	52



4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
4.1 Identificação das plantas de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira.....	53
4.2 Fenologia das plantas de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira.....	55
4.3 Caracterização físico-química dos frutos.....	57
4.4 Ensaio para a multiplicação das espécies frutíferas nativas por diferentes processos de propagação.....	63
4.4.1 Propagação vegetativa via estaquia.....	63
4.4.2 Propagação vegetativa via processos de enxertia.....	70
4.4.3 Micropropagação.....	77
4.5 Quantificação de estruturas de FMA presentes em raízes das espécies de <i>Eugenia</i> .....	81
4.5.1 Identificação das espécies de fungos micorrízicos arbusculares em cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira.....	87
4.6 Mudanças de cerejeira-do-mato e grumixameira inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares.....	96
5. CONCLUSÕES.....	102
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	104
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	106

## RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Características químicas das amostras do solo das amostras coletadas em cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.), pitangueira ( <i>Eugenia uniflora</i> L.) e grumixameira ( <i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.), nos municípios de Eldorado do Sul, Arroio dos Ratos, Porto Alegre, São Jerônimo e Viamão, RS, 2006.....	46
2. Identificação e descrição taxonômica das frutíferas nativas coletadas em diferentes locais, no Herbário do Departamento de Botânica da UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008.....	54
3. Estádios fenológicos de cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.), pitangueira ( <i>Eugenia uniflora</i> L.) e grumixameira ( <i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.), nos anos de 2006, 2007 e 2008. UFRGS, Porto Alegre, RS.....	56
4. Valores médios de características físicas dos frutos de cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.), pitangueira ( <i>Eugenia uniflora</i> L.) e grumixameira ( <i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.), coletados nos anos de 2006, 2007 e 2008, nos Laboratório de Pós-Colheita da Faculdade de Agronomia, UFRGS, Porto Alegre, RS.....	59
5. Valores médios de parâmetros físico-químicos dos frutos de cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.), pitangueira ( <i>Eugenia uniflora</i> L.) e grumixameira ( <i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.) coletados nos anos de 2006, 2007 e 2008, nos Laboratórios de Biotecnologia e Pós-Colheita da Faculdade de Agronomia, UFRGS, Porto Alegre, RS.....	60
6. Formação de calo, em diferentes tipos de estacas de cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.), pitangueira ( <i>Eugenia uniflora</i> L.) e grumixameira ( <i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.), tratadas com ácido indolbutírico (AIB), aos 122 dias. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2006/2007.....	67
7. Formação de calo e enraizamento médio de estacas de cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.), tratadas por diferentes doses de ácido indolbutírico (AIB). UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008.....	68
8. Valores observados na porcentagem de sobrevivência e número de brotos por explante no estabelecimento <i>in vitro</i> de cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.) após 30 dias de cultura <i>in vitro</i> . Laboratório de Biotecnologia em Horticultura, Faculdade de Agronomia, UFRGS, Porto Alegre, 2006.....	78

9. Identificação de espécies de fungos micorrízicos arbusculares em cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.) em coletas nas épocas de inverno e verão, nos anos de 2007 e 2008, UFRGS, Porto Alegre, RS e FURB, Blumenau, SC.....	88
10. Identificação de espécies de fungos micorrízicos arbusculares em espécies de pitangueira ( <i>Eugenia uniflora</i> L.) em coletas sazonais, nos anos de 2007 e 2008, UFRGS, Porto Alegre, RS e FURB, Blumenau, SC.....	90
11. Identificação de espécies de fungos micorrízicos arbusculares em espécies de grumixameira ( <i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.) em coletas sazonais, nos anos de 2007 e 2008. UFRGS, Porto Alegre, RS e FURB, Blumenau, SC.....	91
12. Desenvolvimento vegetativo de mudas de cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.) e de grumixameira ( <i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.), submetidas a inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares, na casa-de-vegetação, com oito meses de inoculação. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2007/2008.....	97

## RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Frutos de grumixama ( <i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.) com sépalas de diferentes colorações. São Jerônimo, RS, 2008.....	55
2. Frutos das matrizes de cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.) (A), pitangueira ( <i>Eugenia uniflora</i> L.) (B) e grumixameira ( <i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.) (C). UFRGS, Porto Alegre, RS, 2006.....	57
3. Coloração representativa das polpas grumixameira ( <i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.) (1), pitangueira ( <i>Eugenia uniflora</i> L.) (7, 11 e 12) e cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.) (22). UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008.....	58
4. Sobrevivência de estacas de cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.) tratadas com ácido indolbutírico (AIB), aos 122 dias. UFRGS, Porto Alegre, 2006/2007. ns=não significativa.....	65
5. Sobrevivência de estacas de pitangueira ( <i>Eugenia uniflora</i> L.) tratadas com ácido indolbutírico (AIB), aos 122 dias. UFRGS, Porto Alegre, 2006/2007. ns=não significativa.....	66
6. Sobrevivência de estacas de grumixameira ( <i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.) tratadas com ácido indolbutírico (AIB), aos 122 dias. UFRGS, Porto Alegre, 2006/2007. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade; ns=não significativa.....	66
7. Raiz emergida da base da estaca de cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.) submetida à dose de 500 ppm de ácido indolbutírico, após 114 dias. UFRGS, Porto Alegre, 2008.....	68
8. Sobrevivência de estacas semi-lenhosas de espécies de mirtáceas nativas tratadas com diferentes doses de ácido indolbutírico (AIB), após 114 dias da estaquia. UFRGS, Porto Alegre, 2008. ns=não significativa.	69
9. Sobrevivência de enxertos ao longo de 207 dias, pelo método de enxertia por garfagem no topo de fenda cheia. EEA/UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2005/2006.....	71
10. Sobrevivência de enxertos ao longo de 362 dias após enxertia pelo método de garfagem no topo de fenda cheia. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2006/2007.....	74

11. Porcentagem de sobrevivência de enxertos brotados ao longo dos dias de avaliação da enxertia e de pegamento de enxertos aos 121 dias pelo método de enxertia por garfagem no topo de fenda cheia. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008..... 76
12. (A) Brotação de gemas laterais de segmentos nodais de cerejeira-domato (*Eugenia involucrata* D.C.) em meio metade MS (Murashige & Skoog, 1962), após 30 dias de cultura *in vitro*. (B) Detalhe de um segmento nodal com duas brotações. Laboratório de Biotecnologia em Horticultura, Faculdade de Agronomia, UFRGS, Porto Alegre, 2006..... 78
13. Índice de estruturas de FMAs (arbúsculos, hifas, e vesículas), em raízes das plantas de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.) (A): plantas cultivadas no Setor de Horticultura da EEA/UFRGS e (B): Plantas cultivadas na Sede da EEA/UFRGS nas coletas sazonais, nos anos de 2006, 2007 e 2008. Eldorado do Sul, RS..... 82
14. Índice de estruturas de FMAs (hifas, arbúsculos e vesículas), em raízes das matrizes de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) (A): Planta cultivada no Setor de Horticultura e (B): Planta cultivada próximo ao telado-sombrite do Setor de Horticultura, nas coletas sazonais, nos anos de 2006, 2007 e 2008, na EEA/UFRGS. Eldorado do Sul, RS..... 83
15. Índice de estruturas de FMAs (hifas, arbúsculos e vesículas), em raízes das plantas de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) (A) Arroio dos Ratos e (B) na localidade de Campo Novo, Porto Alegre, RS, nas coletas sazonais nos anos de 2006, 2007 e 2008. Arroio dos Ratos e Porto Alegre, RS..... 84
16. Índice de estruturas de FMAs (hifas, arbúsculos e vesículas), em raízes das plantas de grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.), situadas na Fazenda Panoramas Citros (A) e na localidade de Itapuã (B), nas coletas sazonais, nos anos de 2006, 2007 e 2008, São Jerônimo e Viamão, RS..... 85
17. Esporos de *Acaulospora* “big mellea” (A), *Acaulospora mellea* (B), *Acaulospora* sp.1 (C), *Glomus* sp.1 (D), *Glomus* “bastonete” (E), *Glomus* sp.4 (F) identificados em cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.), visualizados em microscópio óptico no aumento de 400x. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008..... 93
18. Esporo de *Glomus* sp.4 (A) em cerejeira-domato (*Eugenia involucrata* D.C.) e esporos de *Glomus* sp.6 (B), *Glomus* sp.8 (C), *Glomus* sp.5 (D), *Glomus laccatum* (E), *Acaulospora morrowiae* (F) em pitangueira (*Eugenia uniflora* L.), visualizados em microscópio óptico no aumento de 400x, com exceção de *Glomus* sp.5 (D), visualizado no aumento de 100x. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008..... 94

19. Esporos de <i>Scutellospora pellucida</i> (A), <i>Paraglomus occultum</i> (B), <i>Archaeospora trappei</i> (C), <i>Acaulospora scrobiculata</i> (D), <i>Acaulospora</i> sp.1 (E) e <i>Glomus laccatum</i> (F) em grumixameira ( <i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.), visualizados em microscópio óptico no aumento de 400x. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008.....	95
20. Produção inicial das mudas de cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.) em caixas rígidas, na casa de vegetação da Faculdade de Agronomia/Departamento de Fitossanidade, UFRGS, Porto Alegre, 2008.....	98
21. Crescimento do sistema radicular deformado em muda de cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.) produzida em caixas rígida inoculada com FMA, na casa de vegetação da Faculdade de Agronomia/Departamento de Fitossanidade, UFRGS, Porto Alegre, 2008.....	98
22. Altura média de mudas de cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.), submetidas a inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares, em casa-de-vegetação, após 151 dias do transplante para recipientes de 5 L. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008. Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Duncan.....	100
23. Diâmetro médio do colo de mudas de cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.), submetidas a inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares, em casa-de-vegetação, após 151 dias do transplante para recipientes de 5 L. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008. Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Duncan.....	101

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, no cenário agrícola, seja para fins sustentáveis e/ou comerciais, é vista a importância e a necessidade da diversificação de produção e de produtos. Com uma agricultura moderna extrapolando cada vez mais os limites físicos da propriedade, torna-se por vezes dependente de insumos de fora da propriedade e se caracteriza em grandes extensões de terra restrita a poucas espécies de plantas. A busca por diversificação de espécies se faz necessária e a domesticação das espécies silvestres presentes, geralmente, em muitos ecossistemas naturais torna-se interessante, e tende a ampliar a oferta de produtos com potencial de conquistar novos mercados.

A diversificação de pomares, quanto às espécies de fruteiras, bem como de cultivares dentro de cada espécie pode ser uma alternativa benéfica. As diferentes espécies de fruteiras e suas cultivares apresentam colheitas em diferentes épocas, evitando-se a concentração da colheita em poucos meses do ano permitindo oferta de frutas no decorrer do ano inteiro. A fruticultura garante a biodiversidade, fornece frutos para a fauna e para o homem embelezando a paisagem, tornando a propriedade com potencial, inclusive, para o turismo rural. Além disso, a sua diversificação contribui, ainda, para a conservação da riqueza do germoplasma nacional.

As espécies frutíferas nativas representam um patrimônio genético de grande valor, na sustentabilidade de sistemas agrícolas e naturais, uma opção de

melhor utilização da propriedade rural e de rentabilidade alternativa ao agricultor, além de serem úteis ao enriquecimento da dieta alimentar da população na forma *in natura* ou industrializada, na elaboração de fármacos ou em paisagismo, como ornamental, entre outras.

Dentre as opções sustentáveis para áreas desmatadas e áreas de destinação agropecuária, estão a silvicultura e fruticultura com espécies nativas. Espécies arbóreas nativas, incluindo frutíferas, tem a função de desenvolvimento sustentável podendo ser exploradas racionalmente mediante fiscalização dos órgãos governamentais competentes.

O Brasil tem o agronegócio como um dos setores mais competitivos da economia, produzindo em torno de 29% do produto interno bruto, segundo a Confederação Nacional da Agricultura (Lourenço, *et al.*, 2008). O setor frutícola contribui para o crescimento da economia brasileira, como fonte de alimentação, geradora de emprego, geradora de divisas com exportações de frutas frescas e secas, além do valor da produção frutícola ser superior a 10 bilhões de reais anuais (Almeida, 2008). Além disso, o país é considerado um dos principais centros de diversidade genética de espécies frutíferas. Entretanto, a quase totalidade da diversidade genética das espécies frutícolas é desconhecida e algumas continuam subutilizadas, mesmo muitas delas possuindo potencial agrônomo para se tornarem competitivas com as espécies frutíferas tradicionais.

Na região Sul do Brasil existe uma grande diversidade de frutas nativas que apresentam potencial agrônomo de interesse para o público consumidor pela simples preferência, novo sabor, aroma, aparência externa, ou seja, a novidade que mercados diferenciados buscam ou também por representarem grandes fontes de vitaminas, bem como de compostos químicos importantes para uma vida saudável.



Nas últimas décadas foram intensificados estudos por algumas instituições de ensino e de pesquisa brasileira envolvendo as espécies nativas de clima subtropical ou temperado, em áreas de fitotecnia, visando possibilitar a sua exploração comercial. Cabe ressaltar também a existência de programas que além de pesquisarem a propagação e cultivo de espécies nativas, visam treinamento e qualificação de pequenos produtores para formar e produzir mudas reduzindo a pressão do extrativismo e, através dessa construção de capacidades para o desenvolvimento de meios de vida sustentável, proporcionar geração de renda e inclusão social nas comunidades.

Dentre essas nativas, no Sul do Brasil, o destaque vem sendo dado, por exemplo, à pitangueira, à goiabeira-serrana, à jabuticabeira, todas as espécies pertencentes à família Myrtaceae. No entanto, várias outras espécies continuam praticamente inexploradas, com escassez de trabalhos científicos, como é o caso das culturas de cerejeira-do-mato, grumixameira, uvaieira, guabirobeira, guabijuzeiro entre outras. Entretanto, para que as frutíferas nativas do Sul do Brasil possam se constituir em atividade de importância sustentável do ponto de vista agrônomo, ambiental, sócio-econômico, faz-se necessário o estabelecimento de pesquisas básicas que contribuam para o conhecimento e entendimento dos processos evolutivos naturais e o desenvolvimento de tecnologias de produção das populações nativas em escala comercial.

Por isso, no estudo atual, sugere-se o desenvolvimento de metodologias biotecnológicas de macro e micropropagação vegetativa que são capazes de serem elaboradas para as espécies de mirtáceas frutíferas nativas do Sul do Brasil do gênero *Eugenia*, como a cerejeira-do-mato (*E. involucrata* D.C.), a grumixameira (*E. brasiliensis* Lam.) e a pitangueira (*E. uniflora* L.) que podem ser melhor propagadas pelo processo vegetativo, combinando características

desejáveis para fins agrônômicos, como para a produção e cultivo comercial dessas mudas, sendo uma nova alternativa em nichos de mercado futuro.

No Rio Grande do Sul, a produção de mudas é convencionalmente feita no campo, o que muitas vezes resulta em problemas fitossanitários, fazendo-se necessário mudanças no processo de produção, passando a produzi-las, por exemplo, em cultivo protegido. E, neste sistema, há necessidade do emprego de substratos desinfestados, ocasionando a eliminação dos microrganismos benéficos, como por exemplo, os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Estes fungos são simbioses ecológica e fisiologicamente importantes para o desenvolvimento e a sobrevivência de muitas plantas vasculares dos ecossistemas, apresentando grande potencial como insumo biológico para a agricultura. E no presente estudo, as espécies de FMAs também podem se constituir como uma ferramenta biológica, por serem isolados nativos que estão associados às raízes das espécies de frutíferas nativas *E. uniflora* L., *E. incolucrata* D. e *E. brasiliensis* Lam. e por estarem adaptados podem vir a ser úteis na indução de respostas diferenciais entre as mudas das *Eugenia* spp.

Assim, salienta-se a necessidade de se desenvolver tecnologias que visam domesticar estas espécies nativas, buscando-se credenciá-las como uma atividade econômica alternativa e de potencial à exploração agrícola. Para tanto, o presente trabalho teve como objetivos estabelecer metodologias e protocolos eficientes para propagação vegetativa por processos de estaquia, enxertias e pela micropropagação de cerejeira-do-mato (*E. incolucrata* D.), pitangueira (*E. uniflora* L.) e de grumixameira (*E. brasiliensis* Lam.), identificadas em diferentes locais da Depressão Central do Rio Grande do Sul, além de identificar as espécies autóctones de FMAs associados as suas raízes, que venham a contribuir,

futuramente, para o estabelecimento de tecnologias de produção de mudas dessas frutíferas.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A produção de frutas ocorre em todas as regiões do Brasil, com certa especialização regional (Almeida, 2008). Diferentes espécies frutíferas apresentam colheitas em distintas épocas do ano, permitindo uma oferta de frutas ao longo de todo o ano. As frutas têm um papel importante na alimentação humana, são nutritivas e ricas em fontes de vitaminas e sais minerais, e algumas são fontes energéticas de alto valor, principalmente, em suas regiões de origem onde são extensamente cultivadas (Donadio, 2002).

O Brasil é um país continental que apresenta excepcionais recursos naturais (Foelkel, 2007), abrigando uma das maiores biodiversidades do planeta, com muitas espécies botânicas ainda desconhecidas. Algumas dessas espécies nativas com potencial, muitas vezes, pouco explorados, ocupam lugar de destaque nos ecossistemas naturais e seus frutos, segundo Simarelli (2007), vêm sendo comercializados em feiras, com grande aceitação popular.

No entanto, para Degenhardt *et al.* (2007) ainda há uma baixa porcentagem de plantas frutíferas domesticadas e isso pode ser devido a fatores diversos, por exemplo, por muitas frutas não poderem ser comercializadas *in natura*, a maioria não ter uma vida útil de prateleira aceitável, ter texturas e sabores exóticos, e apresentarem grande variabilidade, devido a sua propagação seminífera. Por isso, são necessárias pesquisas básicas e aplicadas, na seleção de genótipos e métodos de propagação vegetativa que podem auxiliar a

solucionar alguns destes problemas e contribuir para a inserção destas espécies na cadeia produtiva de frutas.

Os mesmos autores salientam que além da intensificação desses estudos, nas últimas três décadas, nas áreas de fitotecnia e pré-melhoramento, envolvendo as espécies nativas do Sul do Brasil, foram estabelecidos Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) para várias espécies, como fomento para futuros programas de melhoramento genético e como forma de preservação de diversidade. Pois, com a constância no desmatamento e degradação dos ecossistemas, perdas de diversidade genética tornam-se irreversíveis para muitas dessas espécies.

O grande potencial econômico das espécies frutíferas nativas é visto especialmente pelo agricultor familiar, como uma possibilidade de produção de frutos diferenciados, uma vez que o mercado consumidor está sempre à procura de novidades. A família das mirtáceas brasileiras compreende diversos gêneros de árvores e arbustos, como exemplo as espécies do gênero *Eugenia* que apresentam frutos de sabor e aroma exóticos, além de plantas que podem ser utilizadas em paisagismo, como planta ornamental, devido a delicadeza da folhagem, pela beleza de suas flores e/ou pelo colorido dos seus frutos e mesmo por muitas serem de pequeno a médio porte, o que facilita o seu uso em jardins, além disso são interessantes para serem utilizadas em programas de recuperação de áreas degradadas e de preservação permanente, por terem frutos amplamente consumidos pela avifauna, que auxilia na dispersão das sementes (Lorenzi, 2002; Santos *et al.*, 2004; Degenhardt *et al.*, 2007).

Além das espécies frutíferas já exploradas comercialmente, como a pitangueira, a goiabeira e a jabuticabeira, outras espécies podem, portanto ser potencialmente utilizadas na fruticultura, devido à qualidade de suas frutas e

adaptação ao clima subtropical, como por exemplo, a cerejeira-do-mato, a grumixameira, o araçá, a uvaieira entre outras (Donadio *et al.*, 2002; Manica, 2002; Degenhardt *et al.*, 2007).

## 2.1 Mirtáceas nativas

Entre as muitas espécies nativas existentes, no Sul do Brasil destacam-se algumas pertencentes à família Myrtaceae. Uma das maiores famílias botânicas e uma das mais conhecidas devido ao grande potencial de suas espécies nativas, compreendendo aproximadamente 102 gêneros e mais de 3.000 espécies de arbustos e árvores conhecidas, distribuídas e cultivadas, principalmente, em países de clima tropical, subtropical e com algumas dessas espécies também ocorrendo em regiões de clima temperado. Quatro gêneros dessa família merecem destaque por sua importância econômica, como *Acca*, *Eugenia*, *Myrciaria* e *Psidium* (Franzom, 2004).

Espécies da família das mirtáceas nativas concentram fins diversos, de valor comercial, de potencial para consumo *in natura* para fins alimentares para o homem, fauna e avifauna, de usos industriais e farmacológicos, com potencial ornamental, no enriquecimento de florestas secundárias, no repovoamento de áreas degradadas, no reflorestamento e outros fins (Donadio, 1997; Andrade & Ferreira, 2000; Silva *et al.*, 2003; Santos *et al.*, 2004). Segundo Santos *et al.* (2004), geralmente, as mirtáceas brasileiras não produzem madeiras valiosas, limitando seu uso no fornecimento de lenha ou pequenas peças e objetos, como por exemplo, cabo de ferramentas.

Com relação as frutíferas nativas comestíveis, Gonçalves *et al.* (2004) relatam que a comercialização das frutas pode se tornar mais uma opção de renda para a pequena propriedade rural, além de serem comercializados na forma

*in natura*, os frutos podem ser usados na fabricação de sorvetes, sucos, iogurtes, licores, sobremesas, barras de cereais, doces e geléias.

O gênero *Eugenia* destaca-se como um dos maiores e figura entre os mais importantes economicamente nessa família, com espécies de valor comercial, nutritivo e potencial de aproveitamento de fármacos (Donadio, 1997; Manica, 2002; Silva *et al.*, 2003). Algumas espécies desse gênero de ocorrência na região Sul do Brasil são: cerejeira-do-mato ou cerejeira-do-rio-grande (*E. involucrata* D.C.), pitangueira (*E. uniflora* L.) e grumixameira (*E. brasiliensis* Lam.).

Segundo Coutinho *et al.* (1991) e Donadio *et al.* (2002) a cerejeira-do-mato é originada do Centro-Sul do Brasil, ocorrendo espontaneamente desde Minas Gerais ao Rio Grande do Sul (RS), norte do Uruguai, Argentina e Paraguai. A pitangueira também é nativa das mesmas regiões brasileiras além de ocorrer espontaneamente na região nordeste do Uruguai. A grumixameira é nativa desde o Sul da Bahia à Santa Catarina, vegetando na mata pluvial atlântica, até o Norte da Argentina.

A pitangueira é uma das espécies que vem sendo foco de estudos nos últimos anos, oferecendo grandes perspectivas de utilização e crescimento no mercado interno e externo. Seus frutos são pequenos apresentando aroma e sabor exótico, com fitoquímicos específicos, que podem trazer benefícios à saúde. Suas folhas têm aplicação na medicina popular, na forma de chás com atividades farmacológicas comprovadas (Glass, 1997; Auricchio & Bacchi, 2003; Vizzotto, 2006; Paroul *et al.*, 2007).

No entanto, Lima *et al.* (2000) relatam que no Brasil não são conhecidas cultivares perfeitamente definidas de pitangueira. Plantios desuniformes, frutos com variabilidade em suas características físicas e químicas, comprometem a quantidade e a qualidade da produção nacional de pitangas. Segundo Epstein

(2008), os primeiros plantios em escala comercial de pitanga foram feitos em Pernambuco, estimando-se que o Estado produz entre 1.300 a 1.700 toneladas/ano.

No RS, em Pelotas, a Embrapa de Clima Temperado-CPACT vem realizando pesquisas sobre o potencial de aproveitamento dessa cultura, além de outras frutíferas nativas da região, que são acessos pertencentes ao Banco de Germoplasma de fruteiras nativas da região Sul do Brasil. Vem sendo avaliados o araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine), a cerejeira-do-mato, a uvaieira (*Eugenia pyriformis* Camb.), a goiabeira-serrana (*Acca selowiana* (Berg.) Burret), a guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* Berg.) e o guabijuzeiro (*Myrciaria pungens*) (Franzom, 2004).

Como o potencial dessas fruteiras é diversificado, o conhecimento de seu aproveitamento tecnológico, tem sido alvo de estudos ao longo dos últimos anos.

Há algumas espécies da família das mirtáceas que têm seus frutos explorados comercialmente, como a goiabeira (*Psidium guajava* L.), uma das plantas mais estudadas da família das mirtáceas e de maior interesse econômico (Auricchio & Bacchi, 2003; Franzom, 2004); a jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg), além da pitangueira. Mas essas espécies representam apenas uma pequena fração do grande potencial econômico dessa família, com potencialidades de aproveitamento ainda pouco exploradas e com a carência de estudos que permitam a implantação de pomares comerciais (Gressler *et al.*, 2006; Kohama *et al.*, 2006). Um exemplo de espécie nativa com aproveitamento econômico pouco explorado no Brasil é a goiabeira-serrana, mas que atualmente vêm sendo lançadas variedades para o cultivo comercial em Santa Catarina (SC) pela Epagri, em parceria com a Universidade Federal de Santa Catarina (Ambiente Brasil, 2007) e, no RS, pela Embrapa de Clima Temperado.



Ainda assim, por exemplo, a cerejeira-do-mato, até o momento, recebeu pouca atenção pela pesquisa. A espécie carece de estudos em todas as áreas, entre elas a avaliação da variabilidade genotípica e fenotípica, o melhoramento genético, no desenvolvimento de técnicas de propagação capazes de selecionar e multiplicar genótipos promissores e cultivares, para a formação de pomares comerciais que ainda são inexistentes (Degenhardt *et al.*, 2007). Alguns estudos desta cultura estão voltados, por exemplo, à avaliação da caracterização de seus frutos em vista de seu potencial tecnológico, na composição química e na atividade microbiana do óleo essencial das folhas. Também estuda-se as qualidades organolépticas de seus frutos, podendo ser consumidos *in natura* ou na forma industrializada. As plantas também têm potencial para uso na recuperação de áreas degradadas (Lorenzi, 2002; Paroul *et al.*, 2007; Camlofski, 2008).

Além da cerejeira-do-mato, a grumixameira também tem pouquíssimos trabalhos realizados até o presente momento. Dentre eles, Donadio (2002) descreve esta e outras espécies de frutas brasileiras nativas; Ataíde *et al.* (2005) avaliou o comportamento e a caracterização física de seus frutos e Kohama *et al.* (2006) estudaram a viabilidade de sementes de grumixameira após sua secagem e armazenamento.

Oliveira & Figueirêdo (2006) também relatam que a diversidade de frutos da flora brasileira está aos poucos sendo explorada economicamente. Com a sua maioria apresentando qualidade sensorial excepcional que desperta o interesse do mercado pelo apelo exótico e nutricional. O interesse por frutos e seus subprodutos tem aumentado principalmente por serem alimentos ricos nutricionalmente que contribuem para uma dieta alimentar, atendendo as necessidades do organismo, melhorando o seu metabolismo e auxiliando na

prevenção de doenças, apresentando, por exemplo, na sua composição substâncias com atividades antioxidantes, carotenóides, vitamina C, flavonóides entre outras (Lima *et al.*, 2000). Segundo Kluge *et al.* (2002) a qualidade das frutas é dada tanto por seu valor nutricional, quanto por seus componentes, relacionados a aparência e sabor.

Os mesmos autores afirmam que uma série de alterações físico-químicas ocorre nas frutas durante a sua ontogenia. Em vista disto, alguns estudos têm-se voltado para a caracterização físico-química de frutos de algumas espécies de mirtáceas, como o trabalho de Santos *et al.* (2004) em goiabeira-serrana, guabirobeira, guabijuzeiro, araçazeiro-vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) e batingueira (*Eugenia rostrifolia* Legr.); Oliveira *et al.* (2003) em jabuticabeira; Vallilo *et al.* (2005) em cambucizeiro (*Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum); Silva *et al.* (2001) em cagaiteira (*Eugenia dysenterica* D.C.); Camlofski (2008) em cerejeira-do-mato e alguns relatos em pitangueira (Lima *et al.*, 2000; Auricchio & Bacchi, 2003; Rafael *et al.*, 2005; Oliveria *et al.*, 2006), além dessas espécies tem-se relato da caracterização física de grumixameira (Ataíde *et al.*, 2005).

Franzom *et al.* (2004) salientam que há boas perspectivas para comercialização dos frutos de fruteiras nativas. No entanto, se faz necessário a domesticação das espécies de frutíferas nativas pouco exploradas, agrupando algumas informações de conhecimento, desenvolvimento, manejo, condução, além de metodologias de propagação para a produção comercial de mudas e conseqüentemente de frutos.

### **2.1.1 Propagação de mirtáceas nativas**

A otimização de técnicas biotecnológicas de propagação de plantas que permitam a obtenção e seleção de mudas de qualidade, mais eficientes para a

formação de pomares para exploração comercial, se faz necessária. Multiplicando indivíduos e garantindo a manutenção das características agrônômicas essenciais às espécies (Trevisan *et al.*, 2004).

As árvores frutíferas, em geral, propagam-se tanto por sementes (via sexual, ou gâmica, ou seminípara), que é a técnica mais utilizada em frutíferas nativas, como por via vegetativa (ou assexuada, ou agâmica) (Simão, 1998; Trevisan *et al.*, 2004).

#### **2.1.1.1 Propagação sexuada**

Muitas espécies do gênero *Eugenia*, apesar da sua importância ecológica e do potencial de exploração comercial, apresentam uma baixa densidade de ocorrência de matrizes produtoras de sementes. Isso dificulta a obtenção de sementes em quantidade que permita a produção de mudas em larga escala, seja para o aproveitamento comercial e em programas de repovoamento vegetal, seja para o plantio de pomares de produção de frutas (Silva *et al.*, 2005).

Além disso, para Silva *et al.* (2003), a maioria das espécies de *Eugenia* nativas do Brasil produzem frutos com poucas sementes, freqüentemente uma ou duas. E diante desse fato, tentaram maximizar o uso das sementes na produção de mudas, fracionando sementes de uvaieira e obtiveram mais de uma planta normal por semente.

Fachinello *et al.* (1995) relatam que a propagação por sementes ocorre na maioria das plantas cultivadas, sendo utilizada extensivamente na obtenção de mudas. Entretanto, a importância deste tipo de propagação na fruticultura em nível comercial é mais restrita que a assexuada em virtude, principalmente, da variabilidade genética dos descendentes, que nem sempre assegura a manutenção das características da planta que forneceu as sementes (Donadio,

2002) e da dificuldade de germinação de sementes de algumas espécies. Fachinello & Nachtigal (1992) enfatizam que a goiabeira serrana, por exemplo, pode ser propagada por sementes, mas este método de propagação apresenta as desvantagens da segregação genética, originando plantas com grande variabilidade genética. E, ainda o período de juvenilidade por ser muito longo, inviabiliza o seu uso e à entrada em produção é mais tardia, ou seja, mudas oriundas de sementes sempre iniciam a produção anos após à muda enxertada (Donadio, 2002).

Bezerra *et al.* (2002) salientam por exemplo, que apesar da expansão e do potencial econômico de exploração da pitangueira, a maioria dos pomares existentes é proveniente de plantas propagadas por sementes, o que reflete de forma negativa na condução dos pomares, resultando em plantas desuniformes, de baixa produtividade e dando origem a frutos de qualidade inferior ao desejável. Segundo Fachinello *et al.* (1995) a propagação de espécies por sementes é utilizada quando há dificuldade de multiplicação pela técnica de propagação vegetativa.

#### **2.1.1.2 Propagação assexuada**

Na fruticultura, ao contrário da propagação sexuada que têm uma importância restrita, a propagação assexuada ou vegetativa é utilizada largamente na produção de mudas. Isso se deve à necessidade de se garantir a manutenção das características varietais que determinam o valor agrônomo do material a ser propagado (Fachinello, 1995), tais como (Hartmann & Kester, 1983): uniformidade, produção, qualidade do fruto, precocidade e sanidade.

Hartmann & Kester (1983) salientam que para realizar a propagação vegetativa é importante a escolha de plantas-matrizes, para o fornecimento do

material propagativo. Para a propagação vegetativa de espécies frutíferas normalmente são utilizadas as técnicas: mergulhia, alporquia, enxertia, estaquia e cultura de tecidos (micropropagação). Todas essas podem ser utilizadas em plantas frutíferas, se adotados os critérios específicos para cada tipo de propagação, visto que o sucesso de cada método vai depender da prática do executor e de fatores intrínsecos da planta, das condições nutricionais, de fatores climáticos e sazonais (Simão, 1998; Donadio *et al.*, 2002).

#### **2.1.1.2.1 Propagação vegetativa pela técnica de enxertia**

Muitas pesquisas na área frutícola têm-se utilizado da técnica de enxertia, como por exemplo, para impulsionar o desenvolvimento e o crescimento de plantas, garantindo a formação de pomares uniformes com populações de plantas homogêneas (clones), além de possibilitar a união de mais de um genótipo combinando características de interesse agrônomo (Gonzaga Neto *et al.*, 1982; Hartman & Kester, 1983; Dantas *et al.*, 1993, Lederman *et al.*, 1997, Rivero *et al.*, 2003). No entanto, para algumas espécies nativas, existem poucas ou ainda não existem informações de métodos viáveis de propagação vegetativa que garantam a formação de pomares com populações de plantas homogêneas, comparativamente a outras frutíferas, de clima temperado e subtropical (Trevisan *et al.*, 2004).

Bezerra *et al.* (1999) avaliaram, nas condições de Pernambuco, diferentes métodos de enxertia em porta-enxertos de pitangueira de diferentes idades. Verificaram que dos processos testados a garfagem no topo em fenda cheia ou à inglesa simples em porta-enxertos de 9 e 12 meses de idade foram mais eficientes apresentando 77,5% de pega em relação às borbulhias, sendo que a borbulhia de placa em janela aberta, independente da idade do porta-enxerto (12;

15 e 18 meses) foi mais eficiente com 56,7% de pega em relação a de T normal com 1,2%. A partir dos resultados deste trabalho, Bezerra *et al.* (2002), utilizando-se do método de enxertia de garfagem no topo em fenda cheia em dez genótipos de pitangueira e observaram comportamento diferente entre as diferentes combinações enxerto x porta-enxerto, sendo que genótipos com a melhor combinação apresentaram valores de pegamento da enxertia variando de 81,5 a 53,5% em IPA-7.3 a IPA-3.2, respectivamente. Já os IPA-1.1 e IPA-1.3 tiveram os menores percentuais de pega variando de 20,0 a 38,5%, respectivamente.

Franzom *et al.* (2008), nas condições do Sul do Brasil, avaliaram também na cultura de pitangueira, o processo de enxertia, garfagem no topo em fenda cheia e dupla, juntamente com a melhor época do ano para a condução desta prática (julho, agosto e setembro). Concluíram que dentre as duas técnicas de garfagem utilizadas durante o inverno, a enxertia no topo de fenda cheia apresentou os melhores percentuais de pega dos enxertos (60,0%). No entanto, isso não invalida o uso da técnica de enxertia de dupla fenda (44,2 %). A melhor época para a realização da prática foi observada no mês de setembro com 67,5% de pegamento dos enxertos. Os mesmos autores salientam ainda que para a expansão do cultivo da pitangueira, maiores avanços na propagação vegetativa da mesma se fazem necessário, à fim de encontrar alternativas viáveis para impulsionar a produção de mudas. Segundo eles, são raras as referências sobre métodos viáveis de propagação vegetativa desta espécie.

Ainda no Sul do Brasil, nas condições de Porto Alegre (RS), foi realizado trabalho por Lattuada *et al.* (2008) com a enxertia herbácea por garfagem com fenda cheia de pitangueira e cerejeira-do-mato nas diferentes combinações das mesmas. Os autores observam que essa técnica é viável para a propagação de

pitangueira sobre porta-enxerto de pitangueira, mas que estudos posteriores ainda são necessários.

Suguino *et al.* (2003) realizaram estudos, nas condições de Piracicaba (SP), visando propagar vegetativamente a espécie de camu-camu (*Myrciaria dubia* (Humb., Bonpl. & Kunth McVaugh)) com enxertia intergenérica entre as espécies da família mirtácea utilizando-se como porta-enxertos: pitangueira, goiabeira, além do camu-camu. Nesse trabalho eles submeteram as espécies de camu-camu, de pitangueira e de goiabeira à quatro enxertias (garfagens no topo de fenda cheia, em fenda lateral, em inglês simples e de colo). Eles concluíram que apenas o porta-enxerto camu-camu se mostrou compatível, havendo incompatibilidade na enxertia entre camu-camu e os porta-enxertos de pitangueira e de goiabeira. Entre os métodos utilizados para propagação desta espécie a garfagem em fenda lateral se mostrou como o processo mais eficiente.

Ainda na propagação vegetativa em Myrtaceae, Sampaio (1974) citado por Suguino (2006) verificou ao realizar a enxertia por borbulhia em T, nas condições de São Paulo, a existência de incompatibilidade intergenérica entre a pitangueira sobre o porta-enxerto de jambolão (*Eugenia jambolana*) com a ausência de união dos tecidos.

#### **2.1.1.2 Propagação vegetativa pela técnica de estaquia**

Pesquisas utilizando o método de propagação vegetativa por estaquia também têm sido realizadas em frutíferas nativas. Segundo Trevisan *et al.* (2004) o enraizamento de estacas é uma técnica viável para a propagação de espécies frutíferas nativas, sendo empregada amplamente em espécies de valor comercial. No entanto, essa prática apresenta algumas limitações que podem originar plantas com sistema radicular superficial e, em alguns casos, gerar maior custo

de produção. O sucesso dessa técnica é determinado pela interação entre o ambiente e fatores endógenos da planta, por exemplo, o tipo de estaca a ser enraizada, ou seja, estacas herbáceas apresentam uma maior capacidade de enraizamento do que espécies lenhosas.

Apesar disso, Assis & Teixeira (1998) ressaltam que a técnica de multiplicação vegetativa mais comumente utilizada para a clonagem de plantas lenhosas, em larga escala, tem sido o enraizamento de estacas que, embora seja utilizado com sucesso para algumas espécies, não tem obtido sucesso para outras.

Coutinho *et al.* (1991), ao estudarem o enraizamento de estacas semi-lenhosas de frutíferas nativas da família Myrtaceae com o uso de ácido indolbutírico (AIB) (0, 1000, 2000, 3000, 4000 e 5000 ppm) em pó, nas condições de Pelotas e Capão do Leão (RS), verificaram que estacas semi-lenhosas com duas folhas de pitangueira, cerejeira-do-mato e guabijueiro não enraizaram, mesmo quando tratadas com AIB. Já estacas de goiabeira-serrana e araçazeiro amarelo apresentaram baixa porcentagem de enraizamento, tanto sem tratamento (3,00 e 0,66 %, respectivamente) como com tratamento com AIB (6,33 % a 5000 ppm de AIB e 2,66 % a 1000 ppm de AIB, respectivamente).

Franzom *et al.* (2004), em Pelotas (RS), conduzindo dois experimentos, observaram o efeito de diferentes concentrações do AIB (0, 200 e 400; 0, 2000, 4000 e 8000 mg.L<sup>-1</sup>) e de diferentes tipos de estacas (lenhosas- apical, mediana e basal na porção dos ramos; herbáceas- 12 e 18 cm de comprimento) na propagação vegetativa da goiabeira-serrana. Eles verificaram a ausência de formação de raízes nos tratamentos aplicados, sendo que a sobrevivência de estacas lenhosas foi maior nas retiradas da porção basal dos ramos. Estacas herbáceas de 12 cm, estas apresentam uma baixa formação de calo. E as



estacas submetidas a concentração a partir de 4000 mg.L<sup>-1</sup> de AIB sofreram por fitotoxidez.

Outro estudo realizado ainda nas condições do Sul do Brasil, em Porto Alegre (RS), por Guerra *et al.* (2008) utilizando estacas com quatro folhas das porções basais, medianas e apicais dos ramos de goiabeira-serrana e tratadas com AIB (0, 500, 1000 e 2000 mg.L<sup>-1</sup>), observaram a ausência de raízes em quaisquer dos tratamentos aplicados, sugerindo que o período de 2 meses foi insuficiente para tal. Além disso, verificaram que estacas medianas e basais produzem mais calos em relação as estacas retiradas da porção apical, sendo que concentrações menores de AIB são mais efetivas na formação dos calos.

Casagrande Jr. *et al.* (2000) avaliaram as estacas de jaboticabeira retiradas da porção apical de ramos com e sem estiolamento, nas concentrações de AIB (0, 1000, 2000, 3000 mg.L<sup>-1</sup>). Eles verificaram a ausência de enraizamento das estacas nos diferentes tratamentos. Estacas não estioladas tiveram um maior percentual de calos, sendo que a formação foi maior até a concentração de 1000 mg.L<sup>-1</sup>. Nas estacas estioladas a formação de calo incrementou até 2000 mg.L<sup>-1</sup>, e nessa concentração foi maior o número de estacas brotadas. Ao contrário das estacas não estioladas que tiveram sua maior formação de brotos em até 1000 mg.L<sup>-1</sup> de AIB.

#### **2.1.1.2.3 Propagação vegetativa pela técnica de cultura de tecidos *in vitro***

Mesmo diante de informações que viabilizem o uso da técnica de micropropagação para várias fruteiras, comercialmente esta vem sendo utilizada para poucas (Donadio, 2002). Em frutíferas nativas existem poucos relatos utilizando a técnica de propagação pelo cultivo de tecidos *in vitro*, seja

micropropagação ou microenxertia em meios de cultura artificiais (Donadio, 2002; Trevisan *et al.*, 2004).

Segundo Simão (1998), a micropropagação é baseada na totipotência celular, isto é, cada célula tem o potencial genético de se reproduzir identicamente. Em frutíferas, os explantes mais empregadas são ápices caulinares, microestacas, embriões, calos celulares, entre outras (Trevisan *et al.*, 2004).

De acordo com Peres (2002), a indução ao crescimento de órgãos isolados em condições artificiais só é possível se conhecendo a natureza dos hormônios vegetais. Além disso, o mesmo autor salienta que para a indução e manutenção da organogênese *in vitro*, além do balanço hormonal (com a adição de reguladores de crescimento exógenos) é importante também testar para cada espécie, fontes de explantes, a composição mineral do meio de cultura e condições ambientais.

Em 1997, Olivier iniciou trabalhos com a instalação da pitangueira *in vitro*, testando diferentes fontes de explantes, composição de meio de cultura e diferentes reguladores de crescimento (citocinina e auxina). Obteve os melhores resultados em meio MS- Murashige Skoog completo na presença de citocinina e auxina.

Uematsu *et al.* (1999) propagaram a pitangueira utilizando brotações recentemente alongadas em meio MS. Observaram que o meio de cultura suplementado com  $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$  BAP- 6-Benzilaminopurina foi adequado para a regeneração e proliferação de brotações. Eles obtiveram sucesso na alongação das brotações e na indução e alongação das raízes ao repicarem o material para meio livre de regulador de crescimento.

Ainda em pitangueira, Souza *et al.* (2007) testaram em meio MS, tipos diferentes de solidificantes (ágar e geltrite) e tamanhos de segmentos nodais e chegaram a conclusão que para esta espécie deve-se utilizar explantes com 1,5 cm de comprimento e ágar como solidificante do meio. Em trabalho mais recente Souza *et al.* (2008) submeteram segmentos caulinares em diferentes tipos e concentrações de citocininas (BAP; zeatina; 2iP- isopenteniladenina) em meio WPM- Woody Plant Midium. Eles concluíram que para a multiplicação desta espécie *in vitro* a menor concentração de 5,0  $\mu\text{M}$  BAP mostrou-se mais promissora.

Já, Nascimento *et al.* (2008), estudando uma outra espécie de *Eugenia*, avaliaram segmentos nodais de uvaieira, na proliferação de brotos e enraizamento. O meio WPM utilizado foi suplementado com diferentes concentrações de BAP variando de 0,0 a 5,0  $\text{mg.L}^{-1}$  e diferentes concentrações de AIB variando de 0,0 a 4,0  $\text{mg.L}^{-1}$ . Os melhores resultados de desenvolvimento, proliferação e formação de raízes foram obtidos tanto em 1,0  $\text{mg.L}^{-1}$  de BAP como na mesma concentração de AIB.

Soares *et al.* (2005), trabalhando com a multiplicação de segmentos caulinares de goiabeira-serrana e pitangueira, em meios de cultura WPM e MS, com ausência e presença de BAP, verificaram que para as duas espécies de mirtáceas estudadas, a presença de 2,2  $\mu\text{M}$  BAP, em meio WPM, foi essencial para a multiplicação destas. Além de salientarem que a espécie de *Eugenia* (pitangueira) tem maior potencial para a multiplicação *in vitro*.

Outros trabalhos foram realizados *in vitro* para a micropropagação da goiabeira-serrana. Por exemplo, Dal Vesco & Guerra (1999) ao realizarem estudos preliminares, baseados na organogênese de goiabeira-serrana, utilizando diferentes fontes de explantes de meristemas caulinares e microestacas,

diferentes composições de meios de cultura e concentrações de AIB, obtiveram alguns resultados na formação de eixos caulinares a partir de meristemas caulinares e na maior proliferação de brotações em microestacas cultivadas no meio MS, entre outros. Em outro trabalho, os mesmos autores juntamente com Oltramari *et al.* (2000) desenvolveram um novo protocolo para diferentes genótipos de goiabeira-serrana, partindo de sementes. Eles conduziram ensaios para a seleção do acesso com maior potencial de proliferação de brotos. Segmentos nodais dos acessos selecionados foram submetidos a diferentes tipos e concentrações de reguladores de crescimento (BAP; Kin- cinetina; 2iP), nas concentrações de 0,0 a 50  $\mu\text{M}$ . As microestacas obtidas foram submetidas a exposição de AIB em meio de cultura WPM, para a indução do sistema radicular. Alguns resultados obtidos demonstraram que os segmentos nodais, cultivados com a adição das citocininas não resultaram na superior proliferação de brotações, comparativamente ao meio isento desses e que as microestacas obtidas, submetidas a pulsos auxínico de 20  $\mu\text{M}$  AIB, proporcionaram as melhores respostas à indução ao enraizamento *in vitro*.

As principais diferenças da micropropagação com os métodos tradicionais de propagação de plantas estão relacionadas ao fato de se utilizar propágulos pequenos, do controle de assepsia, das condições ambientais e da rápida multiplicação (Trevisan *et al.*, 2004). Já Azcón-Aguilar & Barea (1997) salientam que ao se comparar essas técnicas, o componente chave que as diferencia, sem dúvida, é a assepsia que é obtida pelo sistema *in vitro*.

Com o propósito de reduzir perdas no processo de aclimatização das plântulas em viveiros, melhorando a absorção de nutrientes e o seu estabelecimento, além de melhorar a qualidade de plantas frutíferas, na produção de mudas propagadas nas diferentes técnicas de propagação, há registros do uso

de fungos micorrízicos arbusculares- FMA ou também conhecidos como fungos endomicorrízicos (Lovato *et al.*, 1992 e 1994; Azcón-Aguilar & Barea, 1997; Estrada-Luna *et al.*, 2000).

Um dos exemplos de registros de uso de fungos endomicorrízicos na aclimatização de plantas *in vitro* foi o trabalho de Estrada-Luna *et al.* (2000). Esses autores avaliaram o efeito da inoculação de espécies do FMA *Glomus* no crescimento, absorção de nutrientes e trocas de gás em plântulas micropropagadas de goiabeira (*Psidium guajava* L.) durante a etapa de aclimatização e estabelecimento das mesmas. Dentre as diferentes avaliações, observaram que todas as plântulas micropropagadas sobreviveram ao transplante. Após seis semanas as plântulas micorrizadas apresentaram maior taxa de crescimento de brotos e produção foliar com relação as não micorrizadas.

As plantas micropropagadas, quando inoculadas com FMAs, geralmente têm seu desenvolvimento melhorado, pois normalmente as técnicas mais comuns de propagação e, como por exemplo, as de micropropagação tendem a eliminar a população microbiana de seus tecidos e conseqüentemente microrganismos benéficos, tais como os FMAs (Lovato *et al.*, 1996; Azcón-Aguilar & Barea 1997).

## **2.2 Potencial de utilização dos fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de plantas**

Na natureza, os fungos micorrízicos integram parte da planta, assegurando de forma satisfatória seu crescimento e desenvolvimento em um ambiente rico de microrganismos e pobre em nutrientes (Lovato *et al.*, 1995). No entanto, com o interesse no potencial de uso dos fungos endomicorrízicos para melhorar a produção de plantas, Gianinazzi *et al.* (1990b) salientam que muitas das técnicas que vêm sendo utilizadas nas últimas décadas em práticas hortícolas tendem a

eliminar patógenos e plantas daninhas, mas também eliminam ou reduzem a possibilidade de infecção de fungos autóctones endomicorrízicos. Isso compromete a produção de plantas e, geralmente, tem como consequência uma baixa taxa de crescimento, um requerimento maior de fertilizantes, sensibilidade a condições estressantes, além de falhas no estabelecimento das mudas.

A utilização desse tipo de micorrização torna-se um potencial valioso na sustentabilidade de sistemas agrícolas, naturais e, principalmente, em áreas da horticultura que se utilizam de um estágio de transplântio, melhorando a sanidade e o crescimento das plantas (Azcón-Aguilar & Barea, 1997; Cripps, 2001).

Há, na natureza, dois tipos de maior ocorrência micorrízica, as ectomicorrizas (EcM) e as endomicorrizas (ou micorrizas arbusculares- MAs, ou FMAs), sendo que 82% de todas as espécies de plantas, incluindo plantas cultivadas na agricultura/horticultura e muitas gramíneas, arbustos e árvores em florestas/revegetação de terrenos, estão associadas com FMAs e esta é considerada uma das associações mais importantes entre microrganismos e plantas, além de mais abundantes que ocorrem nos ecossistemas naturais (Smith & Read, 1997; Lin, 2005). Jones & Smith (2004) salientam que a micorrização parece ser obrigatória para o desenvolvimento vegetativo e para a esporulação do FMA, supondo-se que o desenvolvimento do fungo é assegurado pelo suprimento de carbono por plantas autotróficas.

Os FMAs pertencem ao filo Glomeromycota (Schüßler *et al.*, 2001), penetram inter e intracelularmente as células do córtex radicular, se distinguindo de outros fungos micorrízicos, quando associados a espécies de plantas hospedeiras, pela formação de estruturas intracelulares denominadas de arbúsculos.

Os benefícios potenciais dos FMA para as plantas resultam de vários efeitos e mecanismos, seja como biofertilizadores, biorreguladores e biocontroladores. Por exemplo, primeiramente o seu papel biofertilizador resulta em uma maior absorção e utilização de nutrientes do solo, no favorecimento da nodulação e fixação de N<sub>2</sub>, em leguminosas, amenização de estresses nutricionais e nutrição balanceada e em acessos a nutrientes pouco disponíveis no solo como o fósforo (Siqueira *et al.*, 2002; Moreira e Siqueira, 2006). Conforme Govindarajulu *et al.* (2005), uma recente descoberta sugere que a simbiose por micorrizas desempenha um importante papel no ciclo global de nitrogênio.

Para Siqueira *et al.* (2002), Moreira & Siqueira (2006) e Nunes (2008), o papel dos FMAs como biorregulador se dá na produção e acúmulo de substâncias reguladoras do crescimento (desenvolvimento e floração), interferindo favoravelmente na relação água-planta, aumentando a tolerância a déficit hídrico e resultando em alterações histológicas, bioquímicas e fisiológicas como no acúmulo de certos metabólitos secundários. Segundo os mesmos autores, os FMAs atuam como biocontroladores, promovendo a ação de biocontrole, reduzindo danos causados por fatores bióticos (alguns patógenos e pragas), na amenização de estresses causados por fatores diversos como metais pesados e poluentes orgânicos e promovendo efeitos benéficos no solo. As micorrizas também beneficiam as plantas ao suportarem uma alta população de bactérias benéficas habitantes do solo (Govindarajulu *et al.*, 2005).

Por causa desses benefícios potenciais, desde 1960 tentativas vêm sendo feitas para melhorar o desempenho de plantas cultiváveis na agricultura por meio da inoculação artificial com fungos micorrízicos (Lin, 2005). Esse mesmo autor enfatiza a história na aplicação comercial de FMAs, sendo que o uso comercial destes fungos começou em 1970 pela Brokaw Nursey da Califórnia (E.U.A.),

produzindo inoculantes de FMAs para indústria de citros. Em 1980, eram no mínimo quatro companhias mundiais NPI (E.U.A.), Bioplanta (Brasil), Premier Peat Moss (Canadá) e Agro-Indústria JIRA & Ltda (Colômbia)) envolvidas no uso comercial dos FMAs para melhorar culturas agrícolas. O salto no interesse comercial pelo uso do FMAs ocorreu na segunda metade dos anos 90, quando a Plant Health Care, Inc. (PHC) de Pittsburgh (E.U.A.) entrou nos negócios e proporcionou um crescimento rápido no comércio de FMAs. Segundo Gianinazzi & Vosátka (2004), em 2001, no mínimo 33 companhias de diferentes partes do mundo estavam engajadas na comercialização de produtos do FMAs.

Lin (2005) salienta, ainda, que devido à complexidade de interações com a planta, a flora microbiana e as propriedades físicas do solo, a tarefa de transformar conhecimento científico no solo microbiano em aplicações práticas de campo, não é fácil. Os FMAs são simbiontes obrigatórios, tendo que crescer e se reproduzir em raízes vivas. Além disso, eles não se reproduzem facilmente em grande quantidade e o período de sobrevivência dos propágulos é curto. No entanto, Azcón-Aguilar & Barea (1997) afirmam que uma vez feita a seleção do FMA, a próxima etapa é a produção massal de quantidades de inóculo. Esta, segundo Hung & Sylvia (1988) pode ser feita em cultura de vasos, a qual utiliza-se de solo e é um método comum para a produção de inóculo de FMAs, sendo muito fácil de se obter, após alguns meses, inoculantes altamente infectivos. Que segundo Rai (2001) não devem ser somente puros, mas também o inóculo deve ser capaz de exibir um efeito biológico desejável (Rai, 2001).

Para Azcón-Aguilar & Barea (1997), uma seleção cuidadosa da combinação funcionalmente compatível de hospedeiro, FMA e substrato é crítica para o sucesso e o estabelecimento inicial dos FMAs. Após semeadura ou



aclimatação, a seleção do FMA é, portanto, fundamental para a melhor performance de plantas em práticas hortícolas (Gianinazzi *et al.*, 1990ab).

Assim, por não ter especificidade hospedeira os FMAs podem ser utilizados em diferentes espécies, o que torna interessante sua aplicação e estudos que envolvam sua prática (Lin, 2005).

O efeito dos FMAs no crescimento e desenvolvimento de plantas hortícolas tem sido estudado e descrito em muitos trabalhos de pesquisa, provando existir benefícios na sua utilização, por exemplo, alguns estudos realizados com espécies frutíferas, como abacateiro, citros, videira e pessegueiro (Menge *et al.*, 1975; Silva *et al.*, 1999; Souza *et al.*, 1999; Souza *et al.*, 2000; Agostini, 2001; Silveira *et al.*, 2002; Silveira, 2006; Nunes, 2008). Em geral, a cultura de frutíferas tem recebido mais atenção do que as demais culturas agrícolas e ornamentais (Azcón-Aguilar & Barea, 1997). No entanto, Franzom (2004) destaca as fruteiras nativas no Sul do Brasil, que apesar do grande campo em potencial a ser explorado para a inserção de novas espécies em sistemas produtivos, vêm sendo dizimadas para dar espaço a outras culturas. Por isso, tornam-se importantes estudos iniciais à fim de se conhecer as exigências nutricionais, ou mesmo as relações ecológicas das espécies que venham a facilitar o desenvolvimento de tecnologias para diversos fins e para a produção de mudas (Gonçalves *et al.*, 1992; Franzon, 2004).

Nos últimos anos, trabalhos vêm sendo desenvolvidos buscando se conhecer as relações da associação de espécies nativas com os FMAs. A pesquisa desenvolvida por Zangaro *et al.* (2002) relata a incidência de colonização de FMAs a campo e a resposta à inoculação em 81 espécies arbóreas nativas da Bacia do Rio Tibagi (Paraná) em casa de vegetação. Algumas pertencentes a família das mirtáceas como a pitangueira, a goiabeira e a

guabirobeira. As culturas de pitangueira e guabirobeira demonstraram uma resposta muito alta a inoculação (>80%) por FMAs. No entanto, a colonização por FMAs a campo na pitangueira foi baixa, (20-39%).

Já Schiavo & Martins (2002) direcionaram seu estudo avaliando o crescimento de mudas de goiabeira inoculadas com *Glomus clarum* Nicolson & Schenck em substrato agro-industrial, utilizando dois tipos de sistemas de produção de mudas: em blocos prensados e em tubetes. Observaram que a colonização micorrízica promoveu o crescimento das mudas de goiabeira apenas no sistema de blocos prensados, provando ser possível sua utilização em conjunto com a inoculação por FMAs.

Em outro trabalho, Carneiro *et al.* (1998) avaliaram a ocorrência de FMAs em raízes de espécies arbóreas e arbustivas nativas no sudeste do Brasil em diferentes condições de cultivo. Eles observaram que dentre as espécies em estudo, apenas raízes de algumas espécies de plantas não apresentavam FMAs, evidenciando a ocorrência generalizada da associação em espécies arbóreas tropicais. Das 37 famílias estudadas a Leguminosae foi a que apresentou uma maior incidência de espécies de plantas sem micorrizas (15%) ao contrário das espécies pertencentes às famílias Bignomeaceae e Myrtaceae, que tiveram 100% de presença de FMAs.

Os mesmos autores salientam a importância de se conhecer a condição de micorrização atual das espécies de plantas, pois a mesma servirá como suporte para pesquisas sobre a produção de mudas e o desenvolvimento de tecnologias que, por exemplo, venham a facilitar o reflorestamento com estas espécies.

Portanto, a interação planta x FMA pode garantir a produção de mudas de qualidade, com menores entradas de fertilizantes químicos e, muitas vezes,

garantindo uma maior estabilidade da produção quando expostas aos estresses bióticos e abióticos (Gianinazzi *et al.*, 1990b).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi dividido em quatro etapas. Na primeira, foram localizadas e caracterizadas exemplares das espécies cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.), pitangueira (*E. uniflora* L.) e grumixameira (*E. brasiliensis* Lam), nativas do Rio Grande do Sul. Na segunda foram otimizadas metodologias para a propagação vegetativa dessas espécies. Na terceira realizou-se a identificação das espécies autóctones de FMA associadas à essas frutíferas nativas, sendo realizada a coleta, quantificação e identificação destes fungos. Na quarta e última etapa, foi avaliada, em casa de vegetação, a interação entre as espécies de *Eugenia* spp. com espécies de FMAs.

#### **3.1 Localização geral dos experimentos e identificação da cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira**

Os experimentos foram executados ao longo dos anos de 2006, 2007 e 2008 nas diferentes condições de casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia da UFRGS em sala de crescimento climatizada e casa de nebulização do Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Horticultura e Silvicultura (DHS) nas dependências da Faculdade de Agronomia, UFRGS, Porto Alegre, RS e em condições de telado-sombrite e de campo da Estação Experimental Agrônômica da UFRGS (EEA-UFRGS) situada na rodovia BR 290 (Km 146), em Eldorado do Sul, RS.

As matrizes das árvores de frutíferas nativas em estudo foram localizadas e identificadas no Estado do Rio Grande do Sul. Estas eram compostas por seis matrizes de cerejeira-do-mato, cinco matrizes de pitangueira e três matrizes de grumixameira. Essas 14 plantas frutíferas foram utilizadas ao longo do tempo de execução do estudo, na coleta de material propagativo, frutos, solo e raízes para a realização dos diferentes ensaios. Coletou-se material vegetal no período de florescimento das plantas, visando sua classificação taxonômica. As exsicatas foram montadas mantendo o maior número de folhas, flores e frutos, quando possível, secados em estufa a 60 °C no Herbário do Departamento de Botânica-UFRGS. As matrizes foram identificadas em família, gênero e espécie pelo biólogo Martin Grings do Departamento de Ecologia-UFRGS. As etiquetas foram confeccionadas com a descrição do nome da espécie, família, nome popular, coletor, determinador, local e data de coleta e caracteres biológicos das espécies, além da seqüência numérica gerada ICN- Instituto de Ciências Naturais, do Departamento de Botânica da UFRGS. O material seco foi fixado em cartolina branca, com o anexo das etiquetas e então armazenado no Herbário.

### **3.2 Caracterização fenológica das plantas e caracteres físico-químicos dos frutos de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira**

Realizou-se a caracterização fenológica das matrizes e a determinação das características físicas e a composição química dos frutos à fim de se levantar os caracteres agronômicos relevantes e complementares a propagação dessas frutíferas.

### **3.2.1 Características fenológicas das espécies de plantas**

A caracterização da fenologia das plantas matrizes de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira foi realizada baseando-se em estudos realizados por Ducroquet & Hickel (1991), através de observações visuais dos estádios de início da brotação de gemas florais, floração, frutificação e maturação dos frutos, considerando seu pleno desenvolvimento, quando ao menos 90% desses estádios estivessem ocorrendo.

### **3.2.2 Caracterização física e físico-química dos frutos**

Os frutos, quando se encontravam, preferencialmente, em completa maturação foram avaliados pela determinação de características físicas e físico-químicas.

#### **3.2.2.1 Características físicas**

Para a determinação de caracteres físicos dos frutos foram realizadas coletas manuais, no período de frutificação das espécies em seus diferentes locais de ocorrência. Estes foram coletados quando se encontravam na fase de maturação completa, firmes e intactos. Eram armazenados em caixa de isopor resfriada com bolsa térmica e separados os lotes com plástico bolha. O material foi transportado para o laboratório de Fisiologia de Pós-colheita do Departamento de Horticultura e Silvicultura e, quando não processados no mesmo dia, foram armazenados em refrigerador. As amostras de frutos eram compostas por 36 frutos sendo distribuídos em bandejas plásticas alveoladas, as mesmas utilizadas para separação e armazenamento dos frutos de maçã. Foram realizadas para cada fruto determinações físicas de cor, diâmetro e comprimento (mm), peso do fruto (g) (polpa, casca e semente), número de sementes e peso da semente (g),

peso da polpa (g) e rendimento de polpa (%). Após a retirada das sementes, a polpa foi armazenada a -15 °C em freezer horizontal marca Metalfrio para a determinação dos caracteres de composição química dos frutos.

### **3.2.2.2 Características físico-químicas**

Para a determinação da composição química da polpa dos frutos foram realizadas determinações da leitura do teor de sólidos solúveis totais (% SST) ou °Brix, a acidez total titulável- ATT (g de ácido cítrico por 100 g) e o pH (AOAC, 1990). Também determinou-se a vitamina C (mg de ácido ascórbico por 100 g).

O procedimento de mensuração das análises de % SST, pH e ATT (AOAC, 1990) foi efetuado conforme as seguintes etapas:

#### a) Preparação das Amostras:

As amostras da polpa de no mínimo 36 frutos foram obtidas com a trituração de frutos frescos com o auxílio de um liquidificador, por tempo suficiente para obter uma pasta homogênea. A massa das polpas foi disposta em frascos com tampa de 150 mL e congelada em freezer a -15 °C até análise de sua composição.

Para dar início às análises químicas as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente ou em banho-maria (aproximadamente 40 °C) marca Thermomix/modelo BU18. Colocou-se aproximadamente 25 mL das amostras de polpa obtidas descongeladas em tubos de centrifuga (tipo Falcon, 50 mL) e balanceando-se os pesos aos pares opostos no rotor. Centrifugou-se por 5 min a 3.500 rpm e, após, pipetou-se o líquido semi-límpido para a determinação do teor de sólidos solúveis totais (% SST ou em °Brix).

b) Determinação de % SST:

O refratômetro digital marca Atago (0-53% Brix) foi calibrado com água destilada (0% SST), zerando-se a medição e secou-se o prisma com papel absorvente. Esse procedimento foi realizado sempre previamente entre as leituras das amostras.

O teor de SST (%) foi determinado pela deposição de aproximadamente 0,3 mL do suco centrifugado da amostra homogênea sobre o prisma do refratômetro. Em seguida, efetuou-se as leituras da % SST das amostras, já corrigida para a temperatura de 20 °C. Limpou-se o prisma entre as leituras das amostras com água destilada, secando completamente a superfície do mesmo com papel absorvente. Para cada amostra confirmou-se o valor de três leituras da alíquota de suco depositada sobre o prisma do refratômetro.

c) Determinação de pH e Acidez Total Titulável (ATT):

Com o restante da polpa foi determinado o pH da amostra de suco não diluído com o pHmêtro marca Digimed/modelo DM20, o qual foi calibrado previamente ao uso com as soluções padrão de pH 7,00 e 4,00.

Aproximadamente 6,0 g de polpa homogeneizada foi medida em copo de Becker de 250 mL, em balança eletrônica analítica marca OHAUS/modelo AS200, com o auxílio de uma micropipeta e, em seguida, foi adicionado 50 ml de água destilada. Acrescentou-se uma barra magnética para favorecer a reação de neutralização. Para cada amostra procedeu-se uma duplicata da mesma.

Cada amostra foi titulada, com o auxílio de uma bureta de 'zero' automático, vertendo-se uma solução de NaOH padronizada em 0,1 N até atingir o ponto final (pH 8,1) e anotou-se o volume de soda gasto em cada titulação. O cálculo da ATT foi realizado com a seguinte fórmula: ATT (% ácido cítrico)=



volume gasto NaOH (mL) x concentração NaOH x 0,06404 x 100 / massa do suco (g).

O fator da fórmula é o miliequivalente-ácido do ácido cítrico e constitui-se num ácido tricarboxílico cujo PM é 192,12 ( $192,12 : 3 H^+ : 1000 = 0,06404$ ).

d) Determinação de Vitamina C (mg de ácido ascórbico por 100 g):

A determinação de vitamina C foi baseada no protocolo de análise de frutos de morangos (Tereda *et al.*, 1978) e os reagentes preparados segundo os mesmos autores.

d.1) Curva de calibração: prepararam-se as seguintes diluições, a partir da solução padrão de ácido ascórbico (AA):

- 05 µg de AA/mL de solução;
- 10 µg de AA/mL de solução;
- 20 µg de AA/mL de solução;
- 30 µg de AA/mL de solução.

Cada alíquota da solução padrão de ácido ascórbico foi completada com a mistura ácida, até o volume dos respectivos balões volumétricos para cada concentração da curva.

Com o preparo dos reagentes e da curva de calibração, seguiu-se para a determinação de ácido ascórbico nos frutos das espécies de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira, adotando-se o procedimento abaixo:

- Mediu-se 2,5 g de polpa fresca em tubo tipo Falcon de 50 mL, em balança analítica, homogeneizado. Adicionou-se a mistura ácida, preparada no item (a) preparação dos reagentes, até completar o volume, fechou-se a tampa, agitando-se manualmente a mesma;
- Centrifugou-se por 10 min a 5.000 rpm e transferiu-se o sobrenadante para outro tubo de Falcon congelando a -15 °C.

- Descongelou-se o filtrado à temperatura ambiente, pipetou-se 400  $\mu$ L do sobrenadante para uma cubeta, adicionando-se também 600  $\mu$ L da mistura ácida.
- Pipetou-se 1 mL de cada uma das diluições da curva de calibração (05, 10, 20 e 30  $\mu$ g de ácido ascórbico) em três cubetas. Também, para o teste branco, pipetou-se 1 mL da mistura ácida em outra cubeta.
- Para cada cubeta foram adicionadas 0,05 mL da solução de 2,6-Diclorofenolindofenol (DCIP) a 2 %. Agitou-se os tubos, os quais foram mantidos em repouso por uma hora à temperatura ambiente.
- Adicionou-se 1 mL da solução de Tiouréia a 2 %, misturando-se bem.
- Adicionou-se 0,5 mL da solução de Dinitrofenilhidrazina (DNPH) a 2 % em cada cubeta de amostra e das diluições da curva de calibração, menos no tubo do teste em branco.
- Tampou-se as cubetas com parafilme, misturando-se no agitador Vortex e em seguida submeteu-as a um banho de imersão a 60 °C por três horas. O teste em branco foi mantido na temperatura ambiente.
- Após, refrigerou-se os tubos em banho de gelo.
- Adicionou-se, lenta e cuidadosamente, 2,5 mL da solução de ácido sulfúrico a 90 % previamente gelado em cada cubeta, inclusive no teste branco. Fechou-se novamente as cubetas com parafilme, e misturou-se completamente, invertendo-os várias vezes, garantindo a total homogeneização.
- Adicionou-se 0,5 mL da solução de DNPH a 2 % no tubo do teste branco, misturando-se no Vortex. Colocou-se no espectrofotômetro, previamente ajustado para o comprimento de onda 540 nM, e zerou-se a absorbância à temperatura ambiente.

- Em seguida, efetuou-se a leitura dos valores de absorvância das demais cubetas de amostras e da curva de calibração, atentando-se para que estivessem em temperatura ambiente.

- Calculou-se a vitamina C como mg de ácido ascórbico por 100 g de amostra (polpa), na base de peso fresco, pela fórmula:

Teor de vitamina C =  $(\text{Abs.} \times 2,5 \times 50 \times 0,001 \times 100) / M_{\text{am.}}$ , onde:

- Abs.= absorvância (média de três leituras, obtida a partir da curva de calibração);

- 2,5= fator de diluição da alíquota (1000  $\mu\text{L}$  / 400  $\mu\text{L}$  );

- 50= fator de diluição da polpa no tubo Falcon (50 mL);

- 0,001= fator de conversão de  $\mu\text{g}$  em mg;

- 100= fator de correção p/ 100 g de polpa fresca, e

-  $M_{\text{am.}}$ = massa inicial da amostra.

### **3.3 Ensaio para a multiplicação das espécies frutíferas nativas por diferentes processos de propagação**

Os ensaios de propagação vegetativa das espécies frutíferas foram realizados com o propósito de estabelecer metodologias para a multiplicação destas por via vegetativa, visando selecionar o melhor processo para produção de mudas destas espécies. Os materiais propagativos representados por estacas ou garfos, borbulhas e explantes (como segmentos nodais com gemas axilares e/ou ápices caulinares) retirados das plantas matrizes foram submetidos aos processos ou métodos de estaquia, enxertia e micropropagação. Esses métodos foram realizados para a propagação das espécies, conforme as etapas e seus ensaios demonstrados na seqüência.

### 3.3.1 Propagação vegetativa via estaquia

Os ensaios referentes ao processo de propagação por estaquia foram efetuados com a coleta de ramos das espécies de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira. Esses ramos tiveram a base imersa em recipiente com água, até a retirada de estacas. O comprimento das estacas foi de 7 a 10 cm, sendo mantidas de 4 a 6 folhas completas por estaca em cerejeira-do-mato e pitangueira e quatro folhas cortadas pela metade por estaca em grumixameira. Na base das estacas realizou-se dois cortes laterais, mantendo as estacas em recipiente com água até sua imersão no regulador de crescimento (Fanzon *et al.*, 2004). Quando prontas, a base das estacas foi imersa por 10 segundos, em diferentes concentrações de AIB, segundo Coutinho *et al.* (1991). Em seguida, as estacas foram introduzidas em substrato elaborado à base de casca de arroz carbonizada umedecida, em bandejas alveoladas de isopor de 72 células (100 cm<sup>3</sup>), mantidas em casa de vegetação com nebulização intermitente por um período de quatro meses.

Ao longo dos experimentos foram avaliadas a sobrevivência das estacas, a presença de calos e a ocorrência de raízes.

Realizou-se dois ensaios onde se avaliou o potencial de enraizamento de diferentes tipos de estacas de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira submetidas a diferentes concentrações de ácido indolbutírico AIB, como descreve-se a seguir:

- Ensaio I: o experimento foi instalado em dezembro do ano de 2006, com avaliações realizadas ao longo de 2007, durante 122 dias, e constou de diferentes doses de AIB (0, 1000, 2000 e 4000 ppm), três tipos de estacas semilenhosas (ápice, mediana e basal) e as três espécies de frutíferas. O delineamento foi em

blocos casualizados em esquema fatorial 4 x 3 x 3 com três repetições e seis unidades amostrais por parcela.

- Ensaio II: o experimento foi instalado em janeiro do ano de 2008 e constou de avaliação de doses de 0, 250, 500, 1000, 2000, 4000 e 8000 ppm de AIB, em estacas medianas semilenhosas de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira. O delineamento foi de blocos casualizados em esquema fatorial 7 x 3 com três repetições e cinco unidades amostrais por parcela.

### **3.3.2 Propagação vegetativa via processos de enxertia**

Para a propagação por enxertia foram coletados garfos semilenhosos de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira. Os processos de enxertia testados foram garfagem no topo de fenda cheia e borbulhia em 'T' invertido, segundo Donadio *et al.* (2002).

Para a realização da garfagem no topo de fenda-cheia, utilizou-se garfos retirados de ramos do ano com comprimento variando em 10 a 15 cm e diâmetro de 0,5 a 1,0 cm, enxertadas a 10 cm do nível do colo.

Para execução da enxertia por borbulhia, o corte em forma de 'T' invertido foi feito no porta-enxerto, no sentido vertical do ramo, a 10 a 15 cm do chão e depois abriu-se o corte e introduziu-se na abertura a borbulha, contendo uma gema. Após a inserção amarrou-se com PVC plástico e esperou-se a brotação do enxerto.

As avaliações foram feitas em diferentes datas de leitura determinado a continuidade do pegamento dos enxertos nos dois processos de enxertia pelo desenvolvimento das brotações, considerando a longitude do broto (cm), com trena métrica marca mundial (5 m), e o diâmetro (mm) acima do ponto de enxertia, com paquímetro digital marca Digimed (0-150 mm), dos mesmos.

Ao longo dos anos de 2005 a 2008 foram executados diferentes ensaios dos dois processos de enxertias das três espécies de mirtáceas, que foram conduzidos da seguinte forma:

- Ensaio I: o experimento foi instalado em novembro de 2005, em condições de telado sombrite (50%) nas instalações do Setor de Horticultura da EEA-UFRGS, com sistema de irrigação por aspersão e a cobertura dos enxertos e porta-enxertos com saco plástico transparente amarrado levemente com fechos de arame no porta-enxerto, logo abaixo da enxertia.

Neste ensaio testou-se dois fatores envolvendo duas técnicas de enxertia (garfagem de fenda cheia e borbulhia) e 3 espécies de mirtáceas (cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira) como enxertos.

Como porta-enxerto usou-se plantas de cerejeira-do-mato obtidas de semente. No momento da enxertia estas apresentavam, em média, 30 cm de altura e 0,5 de diâmetro ao nível do colo.

Estes porta-enxertos foram cultivados em sacos de polietileno preto de 5 L, contendo como substrato solo x casca de acácia x areia (1:1:1 - V:V) que foi previamente corrigido em seu pH e macronutrientes.

As irrigações foram diárias mediante aspersão. Não procedeu-se adubação complementar ao longo do experimento.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 3 repetições e 12 plantas por parcela. Avaliou-se o pegamento dos enxertos pela porcentagem de sobrevivência dos mesmos, ao longo do período de condução do experimento.

- Ensaio II: o experimento foi instalado em dezembro de 2006. Este foi realizado em condições de casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia/UFRGS.

Repetiu-se os mesmos tratamentos descritos no ensaio I (2 métodos de enxertia e 3 espécies de mirtáceas), com mesma espécie de porta-enxertos, cultivado em semelhante recipiente e substrato.

O sistema de irrigação, neste caso, foi de gotejamento mediante irrigações diárias de pelo menos 3 vezes ao dia, variando conforme a necessidade, durante 2 min. Foi feita a cobertura dos enxertos e porta-enxertos com saco plástico transparente amarrado levemente com fechos de arame no porta-enxerto, logo abaixo da enxertia.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 3 repetições e 12 plantas por parcela. Avaliou-se o pegamento dos enxertos pela porcentagem de sobrevivência dos mesmos, ao longo do período de condução do experimento.

- Ensaio III: o experimento foi instalado em novembro de 2007. Este foi realizado em condições de casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia/UFRGS.

Repetiu-se os mesmos tratamentos descritos no ensaio I (as 2 técnicas de enxertia e as 3 espécies de mirtáceas como enxertos), entretanto como porta-enxerto, além do uso de plantas de cerejeira-do-mato, também utilizou-se pitangueira e grumixameira obtidas de sementes, cultivadas em sacos de polietileno preto de 5 L, contendo substrato Rendemax<sup>®</sup> da marca Eucatex.

O sistema de irrigação, neste caso, foi de gotejamento mediante irrigações diárias de pelo menos 3 vezes ao dia, variando conforme a necessidade, durante 2 min. Não foi feita a cobertura dos enxertos com sacos plásticos transparentes.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 3 repetições e 8 plantas por parcela. Avaliou-se o pegamento dos enxertos pela porcentagem de sobrevivência dos mesmos, ao longo do período de condução do experimento.

- Ensaio IV: o experimento foi instalado em agosto de 2008. Este foi realizado em condições de casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia/UFRGS.

Neste ensaio, com exceção da técnica de enxertia por borbulhia, não testada, repetiram-se os demais tratamentos descritos no ensaio III e os porta-enxertos foram cultivados em semelhante recipiente e substrato.

O sistema de irrigação, neste caso, foi de gotejamento mediante irrigações diárias de pelo menos 2 vezes ao dia, variando conforme a necessidade, durante 2 min. Foi feita a cobertura dos enxertos e porta-enxertos com saco plástico transparente amarrado levemente com fechos de arame no porta-enxerto, logo abaixo da enxertia.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 3 repetições e 8 plantas por parcela. Avaliou-se o pegamento dos enxertos pela porcentagem de sobrevivência dos mesmos, ao longo do período de condução do experimento.

### **3.3.3 Micropropagação**

Os estudos com micropropagação de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira foram realizados nas instalações do Laboratório de Biotecnologia em Horticultura do Departamento de Horticultura e Silvicultura da Faculdade de Agronomia, UFRGS. Os mesmos foram conduzidos em sala de crescimento climatizada, nas condições de temperatura de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de  $40\text{-}45 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , fornecidas pôr lâmpadas fluorescentes brancas frias.

Para o cultivo *in vitro* de cerejeira-do-mato foram testadas diferentes formulações salinas de meios de cultura e fontes de explantes formadas por ápices caulinares e segmentos nodais (gemas laterais), oriundos de mudas



produzidas em telado na EEA-UFRGS mantidas em condições de casa de vegetação. Das plantas matrizes foram coletados brotos em crescimento ativo, os quais foram seccionados em segmentos de duas a quatro gemas e posteriormente submetidos ao processo de desinfestação em etanol 70%, por um minuto, e hipoclorito de sódio (NaOCl) 1,25% por 15 min e, levados à câmara de fluxo laminar, onde os explantes foram submetidos a três lavagens com água destilada autoclavada.

As três formulações de meio de cultivo testadas foram compostos de sais de Lepoivre (Quoirin *et al.*, 1977), MS completo (Murashige & Skoog, 1962) e MS  $\frac{1}{2}$  (metade da concentração de sais). O material propagativo, ápices caulinares e segmentos nodais foram inoculados nos meios já citados anteriormente. Como recipiente utilizou-se tubos de ensaio (25x150mm) contendo 15 mL dos meios Lepoivre, MS completo e  $\frac{1}{2}$  do MS, todos com vitaminas MS e suplementados com sacarose (20 g.L<sup>-1</sup>), ágar (7 g.L<sup>-1</sup>) e 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. O pH dos meios de cultura composto de sais de Lepoivre e de sais MS, foram ajustados para 5,2-5,3 e para 5,5-5,7, respectivamente. Os demais componentes do meio foram adicionados antes da autoclavagem a 121 °C durante 15 min. O material vegetal foi então mantido em sala de crescimento climatizada. Após 30 dias, os explantes foram avaliados quanto ao índice de sobrevivência e o número de brotos desenvolvidos *in vitro*.

Foi adotado o delineamento experimental inteiramente ao acaso, com três formulações de meios, dois tipos de explantes, sete repetições por tratamento, sendo que a unidade experimental foi constituída de quatro tubos de ensaio contendo um explante cada.

Para o cultivo *in vitro* de pitangueira e grumixameira foi conduzido um experimento, utilizando como material propagativo segmentos nodais

desinfestados em etanol 70%, por um minuto, e hipoclorito de sódio (NaOCl) 1,25% por 15 min e, levados à câmara de fluxo laminar, onde os mesmos foram submetidos a três lavagens com água destilada autoclavada.

O meio de cultura utilizado foi  $\frac{1}{2}$  do MS, suplementados com sacarose (20 g.L<sup>-1</sup>), ágar (7 g.L<sup>-1</sup>) e 0,8 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8. Como recipiente utilizou-se tubos de ensaio (25x150mm) contendo 15 mL do meio. As culturas foram mantidas em sala de crescimento climatizada e após 30 dias de inoculação dos segmentos nodais, os explantes foram avaliados quanto ao índice de sobrevivência e o número de brotos desenvolvidos *in vitro*.

Foi adotado o delineamento experimental inteiramente ao acaso, com sete repetições por espécie de planta, sendo que a unidade experimental foi constituída de quatro tubos de ensaio contendo um explante cada.

### **3.4 Coleta, separação dos morfotipos de fungos micorrízicos arbusculares associados às raízes de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira**

O objetivo geral deste estudo foi recuperar, quantificar, identificar e avaliar a flutuação ao longo do ano dos esporos de FMA por morfotipos associados às diferentes espécies mirtáceas em diferentes estações do ano, para posterior identificação das mesmas.

#### **3.4.1 Coleta das amostras de solo e raízes das espécies frutíferas nativas em seus diferentes locais de ocorrência**

Amostras de radículas e de solo rizosférico foram coletadas das plantas matrizes das frutíferas nativas já identificadas, para determinar a presença de espécies nativas dos FMAs e quantificar suas estruturas presentes nas raízes. As

amostras de solo e raízes foram coletadas aleatoriamente, na profundidade de 0 a 20 cm do solo, na projeção da copa em cada planta matriz, sendo feitas duas coletas por planta, formando uma amostra composta de cada espécie frutífera de cerejeira-do-mato (seis matrizes), de pitangueira (cinco matrizes) e de grumixameira (três matrizes) no seu local de ocorrência. As sub-amostras foram colocadas no mesmo saco plástico; um, para as raízes e, outro, para o solo, devidamente identificado, amarrados e levados ao Laboratório do Departamento de Horticultura e Silvicultura, pernando no refrigerador a 4 °C, quando as mesmas não eram preparadas no mesmo dia. As coletas foram realizadas em épocas diferentes, durante as estações anuais (verão, outono, inverno, primavera) do ano de 2006 até o verão de 2008.

Na preparação das amostras, conforme método adotado por Focchi *et al.* (2004), as radículas coletadas das plantas, foram lavadas em água destilada e cortadas em segmentos menores e armazenadas em uma solução de F.A.A. (Formaldeído a 5%, Ácido acético glacial a 5% e Álcool etílico a 90%) para posterior determinação da presença e quantificação das estruturas dos FMA.

As amostras de solo, homogeneizadas, foram secadas ao ar livre, sendo que parte destas, compostas de 300 g de solo, foi encaminhada para o laboratório de Análise de Solos e Tecidos da UFRGS, para determinação dos teores de matéria orgânica, pH, macro e micronutrientes (Tabela 1). O restante do solo amostrado foi armazenado para a separação por morfotipos visando a identificação das espécies de FMA.

TABELA 1. Características químicas das amostras do solo coletadas em cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.), pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) e grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.), nos municípios de Eldorado do Sul, Arroio dos Ratos, Porto Alegre, São Jerônimo e Viamão, RS, 2006.

Local <sup>1</sup>	Características químicas do solo					
	pH (H <sub>2</sub> O)	P (mg/dm <sup>3</sup> )	K (mg/dm <sup>3</sup> )	Matéria Orgânica (%)	Ca (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	Mg (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )
Cerejeira-do-mato						
(A) Setor Horticultura	4,7	35	63	2,1	0,5	0,6
(B) Sede/EEA	4,9	6,3	>400	5,2	2,6	1,9
Pitangueira						
(A) Setor Horticultura	5,0	5,6	35	2,2	1,5	0,7
(B) Setor Horticultura	6,1	9,3	79	2,4	4,0	0,8
(C) Arroio dos Ratos, RS	6,0	>100	300	4,1	7,2	1,7
(D) Porto Alegre, RS	6,8	>100	163	3,6	10,0	2,3
Grumixameira						
(A) São Jerônimo, RS	4,9	43	161	4,4	3,8	1,6
(B) Viamão, RS	6,1	67	94	2,8	3,6	0,9

<sup>1</sup> Descrição dos locais de coleta da amostragem de solo realizada no ano de 2006: Cerejeira-do-mato: (A) plantas cultivadas no Setor de Horticultura da EEA/UFRGS e (B): Plantas cultivadas na Sede da EEA/UFRGS, Eldorado do Sul, RS. Pitangueiras: (A) Planta cultivada no Setor de Horticultura e (B): Planta cultivada próximo ao telado-sombrite do Setor de Horticultura, na EEA/UFRGS. Eldorado do Sul, RS e Pitangueiras (C) Arroio dos Ratos e (D) na localidade de Campo Novo, Porto Alegre, RS. Grumixameira: (A) na Fazenda Panoramas Citros e (B) na localidade de Itapuã, Viamão, RS.

### 3.4.2 Quantificação de estruturas de FMA presentes em raízes das espécies de *Eugenia*

Radicelas de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira foram coletadas dos quatro quadrantes sob projeção da copa de cada planta, em suas diferentes localidades (Tabela 1). Estas radículas foram lavadas e conservadas em solução de F.A.A. para posterior quantificação quanto à presença de hifas, arbusculos e vesículas, utilizando o método de tingimento de raízes (Phillips & Hayman, 1970 adaptado por Honrubia *et al.*, 1993; Schmitz, 1998). Para esse processo as raízes foram preparadas da seguinte maneira:

- Foram selecionados, ao acaso, 30 segmentos radiculares por planta de aproximadamente 1 cm de comprimento e imersos em solução de hidróxido de potássio (KOH) a 10% em copos de becker de 50 mL, e mantidos em banho maria por uma hora na temperatura de 90 °C. Após esse tempo, os segmentos

foram retirados do banho e lavados em água destilada por seis vezes e três lavagens em solução de Hipoclorito de sódio ( $\text{NaClO}+\text{NaCl}+\text{H}_2\text{O}$ ) + ácido clorídrico (HCL), descrita abaixo.

- Após os enxágües, os mesmos segmentos foram transferidos para uma solução de hipoclorito de sódio ( $\text{NaClO}+\text{NaCl}+\text{H}_2\text{O}$ ) + ácido clorídrico (HCL), (100 mL de  $\text{NaClO}+\text{NaCl}+\text{H}_2\text{O}$  a 1% + 0,5 mL de HCl com pH 4,9-5,0) a temperatura ambiente por até 15 min. Em seguida realizou-se a lavagem dos segmentos com água destilada por até quatro vezes.

- Finalmente, os segmentos foram corados com algumas gotas de Azul de Tripiano (lactofenol+azul de tripiano) em banho-maria por 10 min a 90 °C. Após este período retirou-se o excesso de tintura dos segmentos com água destilada dispondo os mesmos em lâminas de vidro para observação da colonização em microscópio óptico.

Preparou-se 20 segmentos por espécie de planta (cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira correspondentes aos diferentes locais de coleta), nas quatro estações do ano de 2006, 2007 até o verão de 2008. Estes segmentos foram examinados em microscópio óptico, no aumento de 100x e o índice de avaliação da colonização por hifas do FMA e a contagem das vesículas e arbúsculos, foi feito conforme descrição do índice de Nemeç (1992). Segundo esse índice, a presença das estruturas do fungo no córtex radicular foi avaliada em uma escala de 0 a 3. A presença de hifas nos segmentos radiculares foi classificada adotando-se o critério de 0 para a ausência de hifas no segmento; 1 para escasso desenvolvimento de hifas; 2 para moderado desenvolvimento de hifas; e 3 para amplo desenvolvimento de hifas. A presença de arbúsculos e vesículas nos segmentos radiculares foi classificada de acordo com os critérios de 0 para inexistência de estruturas no segmento; 1 para até 50 estruturas

presentes; 2 para 51 até 100 estruturas presentes; e 3 para mais de 100 estruturas presentes. A porcentagem de raízes colonizadas foi obtida através da relação: número de segmentos infectados/total analisado.

### **3.4.3 Extração dos esporos de FMAs e a sua separação por morfotipos**

Nos mesmos pontos de coleta de radículas descrito anteriormente, procedeu-se a coleta de amostras de solo (0 a 20 cm de profundidade). Essa etapa foi realizada com o objetivo de recuperar os esporos de FMAs de amostras de solo e separá-los em morfotipos, para a identificação das espécies autóctones de FMAs das espécies de mirtáceas em estudo. Para tanto, os esporos foram extraídos do solo amostrado pela técnica de peneiramento úmido e decantação (Gedermann & Nicolson, 1963), seguido de centrifugação com sacarose (Jenkins, 1964), como mostra o procedimento abaixo:

- Preparou-se cada uma das amostras de solo das matrizes das espécies de cerejeira-do-mato, de pitangueira e de grumixameira coletadas em seus diferentes locais de ocorrência, das estações de inverno de 2007 e verão de 2008, armazenadas a temperatura ambiente, retirando-se uma alíquota de 50 g de solo rizosférico com sua lavagem em água corrente, em uma seqüência de peneiras de malha de 750  $\mu\text{m}$  (para retenção de impurezas, raízes e material orgânico), 250  $\mu\text{m}$  (para esporos muito grandes e esporocarpos), 106  $\mu\text{m}$  (esporos de tamanho médio) e 53  $\mu\text{m}$  (esporos pequenos);
- Separou-se o solo retido na peneira de malha menor (53  $\mu\text{m}$ ) em tubo Falcon e adicionando-se água destilada;
- Centrifugou-se durante três minutos a 1750 rpm;

- Descartou-se o sobrenadante e adicionou-se uma solução de sacarose na concentração de 45 %;
- Centrifugou-se novamente durante um minuto a 1750 rpm;
- Filtrou-se o sobrenadante na peneira de 53  $\mu\text{m}$ , lavando cuidadosamente com água destilada;
- E, por fim, observou-se e separou-se por morfotipos (cor, forma e tamanho) os esporos de FMAs em estereomicroscópico, com aumento de 30x, e em microscópico óptico marca LEICA/modelo CME, com aumento de 100x. Com esporos inteiros foi feita a medição do seu tamanho ( $\mu\text{m}$ ). Separou-se esporos “limpos” e inteiros resistentes ao toque de agulha histológica (Focchi *et al.*, 2004). Montaram-se lâminas permanentes com as duas soluções fixadoras PVLG (Polivinil-Lacto-Glicerol) e PVLG+MELZER 1:1 (v/v) (INVAM, 2007) contendo os tipos morfológicos encontrados. Nas lâminas previamente identificadas com o código do morfotipo foram colocados, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, esporos de FMA em dois pontos distintos da lâmina (um para cada solução fixadora) cobrindo-as com uma lamínula. O número de esporos dispostos nas soluções presentes na lâmina variou conforme quantidade de esporos/morfotipos encontrados. Os esporos foram rompidos com uma leve pressão sobre a lamínula e, então, essas lâminas contendo os esporos dos morfotipos foram secadas em estufa a temperatura de 35 °C durante dois dias. Após este período, as imagens dos esporos presentes nas lâminas foram capturadas do microscópico óptico no aumento de 400x e/ou 100x com o auxílio de máquina digital marca SONY 7.2 megapixels/modelo DSC-W55.

Logo após a captura das imagens dos esporos, as lâminas foram dispostas em caixas plásticas próprias para armazenamento de lâminas e encaminhadas para a identificação taxonômica a nível de espécies pelo pesquisador PhD.

Sidney Luiz Stürmer do Laboratório de Botânica do Departamento de Ciências Biológicas da Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB), em Santa Catarina.

### **3.5 Cerejeira-do-mato e grumixameira inoculados com fungos micorrízicos arbusculares**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia da UFRGS.

Frutos maduros das plantas de cerejeira-do-mato e grumixameira foram coletados e transportados ao laboratório de Biotecnologia do Departamento de Horticultura e Silvicultura dos quais extraiu-se suas sementes manualmente com o auxílio de uma peneira, água corrente e cal virgem. Após a lavagem, as sementes foram dispostas em jornais e secas à temperatura ambiente por, aproximadamente, uma semana. Após, foram acondicionadas em sacos plásticos com fecho hermético, conservadas em refrigerador (4 °C) por quatro meses.

Para a produção de mudas de porta-enxerto de cerejeira-do-mato e grumixameira inoculadas com as espécies de FMAs (*Glomus etunicatum*, *Gigaspora margarita*, *Acaulospora* sp. e *Scutellospora heterogama*), foi instalado em dezembro de 2007, nas condições de casa de vegetação do Departamento de Fitossanidade, o cultivo inicial das mudas da seguinte forma:

- Autoclavagem de areia a 121 °C por 1 h duas vezes, com intervalos de 24 h.
- Após cinco dias da autoclavagem foram separadas aproximadamente 100 sementes de cerejeira-do-mato e grumixameira, desinfestadas em álcool 70 % por um minuto e hipoclorito de sódio 2,5% sob agitação durante 15 min e seguidas de três enxágües em água destilada, secas com papel absorvente e reservadas até a sua semeadura.



- Um volume de 10 L da areia autoclavada umedecida foi utilizada como substrato base para a produção inicial das mudas frutíferas em caixas plásticas de frutas com 52x32x12cm (comprimento, largura e altura) já desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio de 2,5 %. A inoculação das espécies de FMA foi feita com a distribuição em cada tratamento de 150 g de solo rizosférico de cada espécie/caixas, as quais foram cobertas com a areia e então realizou-se a semeadura das sementes de cada espécie de planta, cobertas com o restante da areia. As caixas foram dispostas sobre uma mesa de madeira, com repelente de formiga em pasta pincelado em toda a volta da mesma.

Para a avaliação de determinações do desenvolvimento das mudas micorrizadas, aos 242 dias após a semeadura das sementes foram selecionadas ao acaso de cada tratamento e em cada caixa um total de 150 plantas de cerejeira-do-mato (30 plantas de cada uma das quatro espécie de FMA e 30 da testemunha, com ausência dos fungos) e 100 plantas de grumixameira (20 plantas de cada uma das quatro espécies de FMA e 20 plantas testemunhas). Avaliou-se da parte aérea das plantas, a altura (cm) e diâmetro do colo (mm), a área foliar (cm<sup>2</sup>), a massa seca (g) e determinações radiculares de massa seca das raízes (g), a avaliação do comprimento das raízes, segundo Tennant (1975), além da avaliação da colonização radicular (conforme item 3.4.2) das diferentes espécies de FMA inoculadas.

Após as avaliações, um total de 20 plantas de cerejeira-do-mato que ainda encontravam-se nas caixas de cultivo inicial de cerejeira-do-mato inoculadas nas diferentes espécies de FMAs, foram repicadas para sacos plásticos de 5 L de volume com substrato Rendemax<sup>®</sup> da marca Eucatex e permaneceram em casa de vegetação em mesas com sistema de irrigação por gotejamento, dando continuidade as avaliações da interação das plantas com os FMAs, de acordo

com a resposta de desenvolvimento vigoroso da planta, com medições de comprimento (cm) e diâmetro (mm). As mesmas, futuramente, serão encaminhadas para o campo para avaliação de seu desenvolvimento ao longo dos anos.

### **3.6 Análises estatísticas**

Para as avaliações dos diferentes estudos, os resultados de valores médios foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), sendo a significância das diferenças entre as médias, avaliadas pelo teste de Duncan. E, quando necessário procedeu-se à análise de regressão. Os valores médios expressos em porcentagem foram transformados para arcoseno  $\sqrt{x}/100$ . Essas análises foram realizadas com o auxílio de programa computacional estatístico SAS para Windows 8.2 (2001). A significância da estatística utilizada ANOVA, foi uma probabilidade de  $\alpha=0,05$ , considerando como Hipótese nula ( $H_0$ ):  $P>0,05$  e Hipótese alternativa ( $H_a$ ):  $P\leq 0,05$ .

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Identificação das plantas de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira**

A identificação de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira em seus locais de origem e o levantamento de algumas características botânicas encontram-se descritas na Tabela 2. Nesta Tabela, com exceção das peculiaridades descritas quanto a coloração das sépalas dos frutos de grumixameira diferir entre as matrizes, apresentando tanto em frutos verdes como maduros colorações de sépalas com pigmentação verde como vermelho a violáceos (Figura 1), as demais características botânicas descritas se assemelham as já descritas na literatura para a grumixameira, cerejeira-do-mato e pitangueira (Donadio, 2000; Sanchotene, 1989; Sobral, 2003). Essa característica de manutenção das sépalas de coloração verdes em frutos maduros se assemelha ao descrito por Donadio (2000), no entanto o mesmo autor não destacou a conservação de sépalas vermelhas a violáceas para a grumixameira tanto em seus frutos verdes como maduros.

TABELA 2. Identificação e descrição taxonômica das frutíferas nativas coletadas em diferentes locais, no Herbário do Departamento de Botânica da UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008\*.

Nome Científico	Família	ICN	Nome Popular	Localização (Brasil)	Habitat	Biologia
<i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.	Myrtaceae	157160	grumixama	RS, Viamão	em residência particular	árvore ± 2 m, folhas verde escuras lustrosas, ovaladas, flores 4 pétalas brancas, frutos globosos negro-violáceos c/ 4 sépalas verdes
<i>Eugenia involucrata</i> D.C.	Myrtaceae	157161	Cerejeira	RS, Eldorado do Sul	na estação experimental agrônômica/ UFRGS	árvore ± 5 m, folhas verde oblongo-lanceolada, flores 4 pétalas brancas, frutos alongados a globosos, brilhantes, vermelho escuro a arroxeados
<i>Eugenia involucrata</i> D.C.	Myrtaceae	157162	Cerejeira	RS, Eldorado do Sul	na estação experimental agrônômica/ UFRGS	árvore ± 5 m, folhas verde oblongo-lanceolada, flores 4 pétalas brancas, frutos globosos c/ depressão, brilhantes, vermelho escuro a arroxeados
<i>Eugenia involucrata</i> D.C.	Myrtaceae	157163	Cerejeira	RS, Eldorado do Sul	na estação experimental agrônômica/ UFRGS	árvore ± 5 m, folhas verde oblongo-lanceolada, flores 4 pétalas brancas, frutos alongados a globosos, brilhantes, vermelho escuro a arroxeados
<i>Eugenia involucrata</i> D.C.	Myrtaceae	157164	Cerejeira	RS, Eldorado do Sul	na estação experimental agrônômica/ UFRGS	árvore ± 5 m, folhas verde oblongo-lanceolada, flores 4 pétalas brancas, frutos alongados a globosos, brilhantes, vermelho escuro a arroxeados
<i>Eugenia involucrata</i> D.C.	Myrtaceae	157165	Cerejeira	RS, Eldorado do Sul	na estação experimental agrônômica/ UFRGS	árvore ± 5 m, folhas verde oblongo-lanceolada, flores 4 pétalas brancas, frutos alongados a globosos, brilhantes, vermelho escuro a arroxeados
<i>Eugenia involucrata</i> D.C.	Myrtaceae	157166	Cerejeira	RS, Eldorado do Sul	na estação experimental agrônômica/ UFRGS	árvore ± 5 m, folhas verde oblongo-lanceolada, flores 4 pétalas brancas, frutos alongados a globosos, brilhantes, vermelho escuro a arroxeados
<i>Eugenia uniflora</i> L.	Myrtaceae	157167	pitangueira	RS, Eldorado do Sul	na estação experimental agrônômica/ UFRGS	arbusto denso ± 2 m, folhas verde, ovaladas, flores 4 pétalas brancas, frutos globosos costados, vermelhos
<i>Eugenia uniflora</i> L.	Myrtaceae	157168	pitangueira	RS, Arroio dos Ratos	em residência particular	árvore ± 3 m, folhas verde, ovaladas, flores 4 pétalas brancas, frutos globosos costados, roxo escuro
<i>Eugenia uniflora</i> L.	Myrtaceae	157169	pitangueira	RS, Arroio dos Ratos	em residência particular	árvore ± 3 m, folhas verde, ovaladas, flores 4 pétalas brancas, frutos globosos costados, vermelho
<i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.	Myrtaceae	157170	grumixama	RS, São Jerônimo	na sede da fazenda Panoramas Citros	árvore ± 4 m altura, folhas verde escuras lustrosas, ovaladas, flores 4 pétalas brancas, frutos globosos negro-violáceos c/ sépalas vermelhas a violáceas
<i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.	Myrtaceae	157171	grumixama	RS, São Jerônimo	na sede da fazenda Panoramas Citros	árvore ± 4 m altura, folhas verde escuras lustrosas, ovaladas, flores 4 pétalas brancas, frutos globosos negro-violáceos c/ 4 sépalas verdes
<i>Eugenia uniflora</i> L.	Myrtaceae	157172	pitangueira	RS, POA	em residência particular	árvore ± 1,8 m, folhas verde, ovaladas, flores 4 pétalas brancas, frutos globosos costados, vermelho a alaranjado escuro
<i>Eugenia uniflora</i> L.	Myrtaceae	157173	pitangueira	RS, Eldorado do Sul	na estação experimental agrônômica/ UFRGS	árvore ± 2 m, folhas verde, ovaladas, flores 4 pétalas brancas, frutos globosos costados, vermelho

\* Informações descritas no catálogo de etiquetas do Herbário - ICN.



FIGURA 1. Frutos de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lam.) com sépalas de colorações diferentes. São Jerônimo, RS, 2008.

O levantamento dos locais de ocorrência dessas espécies, assim como a identificação taxonômica das plantas são de extrema importância para dar continuidade aos trabalhos a seguir de caracterização da fenologia e de frutos, propagação vegetativa e identificação das espécies de FMAs.

#### **4.2 Fenologia das plantas de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira**

Na Tabela 3 são descritos os registros da época do ano de concentração dos estádios fenológicos das matrizes de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira. Em geral, os estádios fenológicos dessas espécies de *Eugenias*, se assemelham aos períodos já descritos em outros trabalhos (Donadio, 2000; Sobral, 2003, Degenhardt *et al.*, 2007).

Mesmo não demonstrado na Tabela 3, observou-se ao longo dos anos de condução dos trabalhos, que as plantas de pitangueira foram mais sensíveis a oscilações climáticas podendo vir a florescer e frutificar duas ou mais vezes no ano. Esse mesmo fato foi verificado por Sanchotene (1989) ao descrever em seu estudo a fenologia da pitangueira.

Observando a Tabela 3 conclui-se que, os estádios fenológicos das espécies avaliadas e observadas em suas diferentes localidades (Tabela 2) em geral foram semelhantes, dentro de cada ano, o que concentrou a colheita de frutos em mesmos períodos.

TABELA 3. Estádios fenológicos de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.), pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) e grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.), avaliados nos anos de 2006, 2007, 2008. UFRGS, Porto Alegre, RS.

Estádios	Períodos					
	Agosto		Setembro		Outubro	
	1ªquinzena	2ªquinzena	1ªquinzena	2ªquinzena	1ªquinzena	2ªquinzena
Anos						
2006						
Cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.)						
Brotação	X					
Floração	X					
Frutificação		X				
Maturação				X		
Pitangueira ( <i>Eugenia uniflora</i> L.)						
Brotação	X					
Floração	X					
Frutificação		X				
Maturação				X		
Grumixameira ( <i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.)						
Brotação		X				
Floração		X				
Frutificação			X			
Maturação				X		
2007						
Cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.)						
Brotação			X	X		
Floração				X		
Frutificação					X	
Maturação						X
Pitangueira ( <i>Eugenia uniflora</i> L.)						
Brotação				X		
Floração				X		
Frutificação					X	
Maturação						X
Grumixameira ( <i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.)						
Brotação				X		
Floração				X		
Frutificação					X	
Maturação						X
2008						
Cerejeira-do-mato ( <i>Eugenia involucrata</i> D.C.)						
Brotação				X		
Floração				X		
Frutificação					X	
Maturação						X
Pitangueira ( <i>Eugenia uniflora</i> L.)						
Brotação				X		
Floração				X		
Frutificação					X	
Maturação						X
Grumixameira ( <i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.)						
Brotação				X		
Floração				X		
Frutificação					X	
Maturação						X

### 4.3 Caracterização físico-química dos frutos

Os frutos coletados das diferentes matrizes de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.), pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) e grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.) apresentaram colorações da epiderme, respectivamente, de vermelho escuro a arroxeadado, vermelho-alaranjado intenso e negro-violáceo, dependendo do grau de maturação dos mesmos, todos apresentando polpa sucosa (Figuras 2 e 3). As características físicas dos frutos, como a cor, o tamanho e o número de sementes, assim como a quantidade de polpa e o conteúdo de água, podem influenciar e variar o seu consumo tanto pelo homem quanto pela avifauna (Cipollini & Stiles, 1993).



FIGURA 2. Frutos das matrizes de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.) (A), pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) (B) e grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.) (C). UFRGS, Porto Alegre, RS, 2006.



FIGURA 3. Coloração representativa das polpas grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.) (1), pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) (7, 11 e 12) e cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.) (22). UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008.

As características físicas dos frutos de cereja-do-mato, de pitanga e de grumixama amostrados nos diferentes anos de avaliação, encontram-se descritas na Tabela 4.

Os frutos de cereja (Tabela 4) com peso médio de 5,48 g apresentaram o maior rendimento de polpa (91,34 %) na coleta do ano de 2006 e quanto aos demais parâmetros físicos avaliados não se observou diferença entre os anos amostrados. Valores inferiores foram encontrados por Donadio (2002) apresentando um percentual de polpa de 74 % para frutos com peso médio de 2,1g.

Em geral, diferenças significativas foram observadas para os frutos de pitanga (Tabela 4), apresentando melhores resultados no ano de 2008, com valores de comprimento e diâmetro médio, respectivamente, de 17,62 mm e 22,15 mm e valores de polpa 3,49 a 4,77 g, sendo superiores aos relatados por Donadio (2002) que apresentou valores quanto à altura (1,40 cm) e diâmetro (1,75 cm) dos



frutos de pitanga. Apesar destas diferenças, os valores de polpa observados pelo autor foram semelhantes, pesando entre 3,0 e 4,8 g.

TABELA 4. Valores médios de características físicas dos frutos de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.), pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) e grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.), coletados nos anos de 2006, 2007 e 2008, no Laboratório de Pós-Colheita da Faculdade de Agronomia, UFRGS, Porto Alegre, RS.

Determinações	Anos <sup>1</sup>		
	2006	2007	2008
Cerejeira-do-mato			
Comprimento (mm)	22,14ns	20,13ns	20,18ns
Diâmetro (mm)	20,80ns	19,35ns	20,00ns
Peso do Fruto (g)	5,48ns	5,13ns	5,02ns
Numero de Sementes	1,85ns	2,17ns	2,10ns
Peso da semente (g)	0,54ns	0,67ns	0,75ns
Peso da Polpa (g)	4,93ns	4,46ns	4,27ns
Rendimento da Polpa (%)	91,34a	87,05b	85,98b
Pitangueira			
Comprimento (mm)	16,38b	*	17,26a
Diâmetro (mm)	19,65b	*	22,15a
Peso do Fruto (g)	3,49b	*	4,77a
Numero de Sementes	1,15b	*	1,31a
Peso da semente (g)	0,47b	*	0,69a
Peso da Polpa (g)	2,79b	*	4,03a
Rendimento da Polpa (%)	80,09ns	*	90,67ns
Grumixameira			
Comprimento (mm)	15,69ns	17,64ns	16,85ns
Diâmetro (mm)	19,28ns	21,07ns	22,44ns
Peso do Fruto (g)	3,97ns	4,92ns	4,86ns
Numero de Sementes	1,44ns	1,71ns	1,96ns
Peso da semente (g)	0,74ns	0,84ns	0,75ns
Peso da Polpa (g)	3,23ns	4,08ns	4,12ns
Rendimento da Polpa (%)	82,17ns	82,66ns	83,67ns

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas nas linhas, entre os anos, diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5 % de probabilidade; ns=não significativa.

\*Frutos de pitangueira não coletados.

Em geral, verificou-se que os frutos de cerejeira-do-mato, pitanga e grumixameira apresentaram de uma a duas sementes por fruto (Tabela 4). Esta presença de sementes, que normalmente permite grande número de sementes por planta, com grande potencial de germinação, explica o hábito de propagar sexuadamente estas espécies.

Na Tabela 5, verifica-se que os frutos de cereja-do-mato amostrados nos anos de 2006 a 2008 apresentaram valores de ATT que oscilaram de 0,93 % a 1,63 % de ácido cítrico/100 g. As pitangas, por sua vez, apresentaram acidez variando de 1,15 a 1,53 % e as grumixamas, de 1,0 % a 1,16 %. Estes resultados se assemelham aos observados por Santos *et al.* (2002), que analisando pitangas do tipo vermelha no decorrer da maturação, encontraram acidez com valores oscilando de 0,86% a 1,58% de ácido cítrico/100 g.

TABELA 5. Valores médios de parâmetros físico-químicos dos frutos de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.), pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) e grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.) coletados nos anos de 2006, 2007 e 2008, no Laboratório de Pós-Colheita da Faculdade de Agronomia, UFRGS, Porto Alegre, RS.

Determinações	Anos <sup>1</sup>		
	2006	2007	2008
Cerejeira-do-mato			
Sólidos solúveis Totais – SST (%)	10,47ns	8,49ns	8,05ns
Acidez Total Titulável - ATT (% ácido cítrico)	1,63 <sup>a</sup>	0,93 <sup>b</sup>	1,42 <sup>a</sup>
Relação SST/ATT	6,55 <sup>ab</sup>	9,71 <sup>a</sup>	5,73 <sup>b</sup>
Vitamina C total (mg/100 g)	56,59ns	48,82ns	54,32ns
Pitangueira			
Sólidos solúveis Totais – SST (%)	10,60ns	*	11,8ns
Acidez Total Titulável - ATT (% ácido cítrico)	1,15ns	*	1,53ns
Relação SST/ATT	9,10ns	*	7,70ns
Vitamina C total (mg/100 g)	54,89ns	*	46,24ns
Grumixameira			
Sólidos solúveis Totais – SST (%)	17,10 <sup>a</sup>	11,28 <sup>b</sup>	11,57 <sup>b</sup>
Acidez Total Titulável - ATT (% ácido cítrico)	1,16ns	1,03ns	1,00ns
Relação SST/ATT	14,75ns	11,62ns	11,78ns
Vitamina C total (mg/100 g)	94,29 <sup>a</sup>	56,82 <sup>b</sup>	56,87 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas nas linhas, entre os anos, diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade; ns=não significativa.

\*Frutos de pitangueira não coletados.

Com relação ao SST (Tabela 5), apesar da ausência de diferenças estatísticas, em 2006 houve um aumento mais acentuado para cereja-do-mato, com valor de 10,47 % comparado aos valores de 2007 (8,49 %) e 2008 (8,05 %). Os frutos de pitanga apresentaram percentuais semelhantes aos de cereja-do-

mato, variando de 10,6 % em 2006 a 11,8 % em 2008. A grumixama, por sua vez, apresentou maiores teores de açúcar, que variaram de 11,3 % a 17,1 %. Segundo Silva *et al.* (2000), com o avanço da maturação, observaram que os teores de SST aumentaram de 8,13% até máximos de 12,56%, para os frutos de pitanga, do tipo vermelho. Os mesmos autores referem que o aumento de SST foi mais acentuado nos estádios de maturação mais avançados, o que evidencia o início do amadurecimento quando os frutos começam a acumular açúcar.

A relação SST/ATT em cereja-do-mato oscilou de 5,73 em 2008 a 9,71 em 2007. Em pitanga, variou de 7,7 a 9,1 e em grumixama foi maior, variando de 11,6 a 14,7. Valores semelhantes desta relação aos encontrados para cereja-do-mato e pitanga foram encontrados por Silva *et al.* (2000), em frutos de pitanga, do tipo vermelho, de 6,42 a 9,42, e do tipo roxo, de 5,76 a 10,61.

Os frutos de cereja-do-mato avaliados não apresentaram diferenças significativas quanto aos valores de vitamina C, independentemente dos anos de amostragem, variando de 48 a 57mg/100g.

Os conteúdos em vitamina C nas pitangas foram semelhantes aos das cerejas do mato, com valores variando entre 46,2 e 54,9 mg/100g.

A grumixama apresentou maior riqueza em vitamina C comparativamente às espécies anteriores, com valores variando de 56,8 a 94,3.

Os frutos destas três espécies de mirtáceas podem ser considerados ricos em vitamina C, visto que se apresentam quantidades semelhantes às encontradas em frutas cítricas, consideradas tradicionalmente ricas nesta vitamina.

Também observou-se uma tendência de aumento nos valores de ATT, com o aumento na concentração de vitamina C. De acordo com Nagy (1980), condições ambientais que aumentam a acidez dos frutos podem também

aumentar os conteúdos de vitamina C. Ainda para o autor, fatores climáticos, principalmente temperatura, têm uma forte influência na qualidade e composição de frutos de citros. Este mesmo fato ocorreu para os frutos de grumixama (Tabela 5) onde, a maior concentração de vitamina C, novamente pode estar associada aos níveis de ATT. O contrário foi observado nos frutos de pitanga quando, em concentrações menores de vitamina C, tiveram maior percentual de ATT. Entretanto, estatisticamente não houve correlação entre os parâmetros de ATT x Vitamina C nos frutos de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira.

A incidência constante da praga mosca-das-frutas (*Anastrepha fraterculus*), provavelmente, pôde influenciar na qualidade dos frutos, o que impossibilitou o processamento dos mesmos, no ano de 2007. Amostras coletadas em 2007 apresentaram em 65 frutos (160,91 g) de pitangueira analisados 54 indivíduos imaturos de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) e outras pragas em número menor, além de coleoptera (*Curulionidae*) nas sementes. Frutos de cerejeira-do-mato também apresentaram incidência da praga no mesmo ano, sendo quantificado em 17 frutos (82,07 g) a presença de 23 mosca-das-frutas. O que pôde ter influenciado na qualidade dos frutos.

Thum & Costa (1998;1999) registraram, em espécies florestais nativas, a maior ocorrência de mosca-das-frutas (*Anastrepha fraterculus*) em cerejeira-do-mato (59,73 %) seguida de pitangueira (29,71 %).

As características físico-químicas de frutos podem ser influenciadas por diversos fatores, entre eles o grau de maturação, variedades, as condições climáticas e edáficas, a exposição ao sol, a posição da fruta na planta, o manuseio pós-colheita, condições de armazenamento, entre outras (Silva *et al.*, 2000).

#### **4.4 Ensaio para a multiplicação das espécies frutíferas nativas por diferentes processos de propagação**

##### **4.4.1 Propagação vegetativa via estaquia**

No ensaio I, os diferentes tipos de estacas semi-lenhosas (apical, mediana e basal) das espécies de cerejeira-do-mato (*E. involucrata* D.C.), pitangueira (*E. uniflora* L.) e grumixameira (*E. brasiliensis* Lam) não apresentaram enraizamento independentemente da dose de AIB (0, 1000, 2000 e 4000 ppm) utilizada. A ausência de enraizamento encontrada pode estar relacionada a diversos fatores, dentre eles o tipo de estaca e a dose do regulador de crescimento utilizados, a liberação de compostos fenólicos que provocam a oxidação na região do corte da estaca, as condições inerentes ao ambiente da casa de vegetação, as peculiaridades genéticas do material em estudo com relação ao potencial destas em formar raízes, entre outros fatores que de alguma forma vem a influenciar na resposta das estacas ao enraizamento. Em geral, muitas plantas perenes lenhosas, como certas espécies da família mirtácea apresentam dificuldade de enraizamento (Peres & Kerbauy, 2000; Franzon, 2004). Estacas lenhosas que não formam raízes podem apresentar alta atividade de enzimas que inativam a auxina, por exemplo, pela degradação oxidativa (Normanly, 1997), além da falta de resposta do tecido à auxina acumulada (Trewavas, 1991). Plantas perenes lenhosas são consideradas ricas em substâncias derivadas do metabolismo secundário, como polifenóis que exercem importante papel no metabolismo destas espécies (Teixeira, 2001) e a liberação de compostos fenólicos provoca a oxidação dos tecidos (Franzon, 2004). A época do ano, o tipo de tecido é outro fator que também influenciam na liberação desses compostos (Teixeira, 2001) e conseqüentemente na falha em formar raízes adventícias (Peres & Kerbauy, 2000; Franzon, 2004). Além disso, a recalcitrância em formar raízes pode ser

provocada pela presença de substância inibidoras da iniciação radicular, citocininas (Trewavas, 1991).

A falta de resposta ao enraizamento de estacas semi-lenhosas de cerejeira-do-mato e de pitangueira tratadas com as mesmas doses de AIB (0, 1000, 2000, 4000 ppm) também foi observado por Coutinho et al. (1991). Eles concluíram que mesmo quando foram tratadas com AIB até 5000 ppm essas estacas não enraizaram.

No tocante à sobrevivência das estacas, observa-se que, em cerejeira-do-mato, apenas o tipo de estaca exerceu influência significativa, ao contrário das doses de AIB (Figura 4). Não houve interação significativa entre os fatores estudados. Deve-se destacar que nas estacas da porção mediana e basal, os percentuais médios de sobrevivência atingiram, respectivamente, 50 % e 55,5 % enquanto que nas do ápice 100 % de mortalidade (Figura 4). Franzon *et al.* (2004) sugerem que estacas retiradas da porção apical dos ramos apresentam uma baixa quantidade de reservas acumuladas, isso justificaria em parte a ausência de sobrevivência nesse estudo. Os mesmos autores salientam que, estacas da porção basal apresentam uma maior quantidade de reservas, o que proporciona maior capacidade de sobrevivência em certo espaço de tempo. Além disso, acredita-se que a consistência dos tecidos também exerça influência, pois estacas apicais, por serem mais tenras, podem sofrer mais por desidratação.

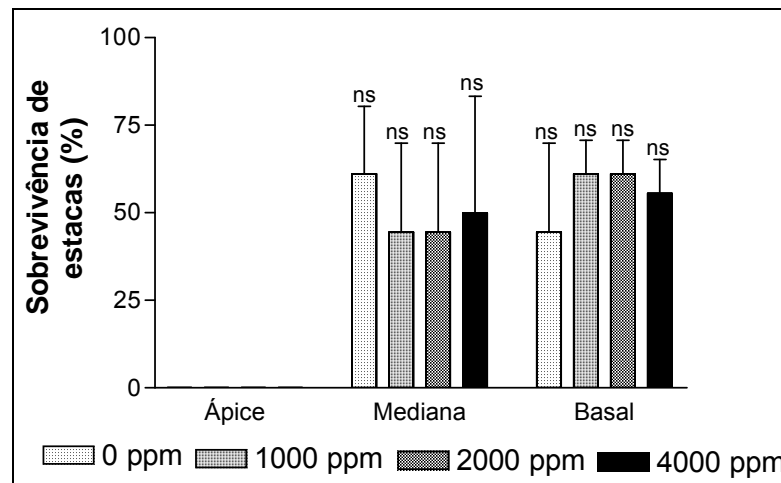


FIGURA 4. Sobrevivência de estacas de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.) tratadas com ácido indolbutírico (AIB), aos 122 dias. UFRGS, Porto Alegre, 2006/2007. ns=não significativa.

Ao contrário do observado em cerejeira-do-mato, estacas da porção apical dos ramos de pitangueira apresentaram valores médios de sobrevivência de 22,2% (Figura 5). No tocante a grumixameira foi a que apresentou maior sobrevivência de estacas apicais, atingindo valor médio de 59,7% (Figura 6).

Na grumixameira, embora não tenha ocorrido interação entre os fatores doses de AIB e tipos de estaca, verificou-se uma estabilidade na sobrevivência das estacas da porção mediana e basal nas doses de 1000 e 2000 ppm e tendência à diminuição no percentual de sobrevivência desses mesmos tipos de estacas quando submetidas a maior dose de AIB (Figura 6). No caso da pitangueira, o efeito do tipo de estaca foi mais marcante apresentando um baixo percentual de sobrevivência, inclusive ocorrendo morte total das estacas basais no momento da avaliação (Figura 5).

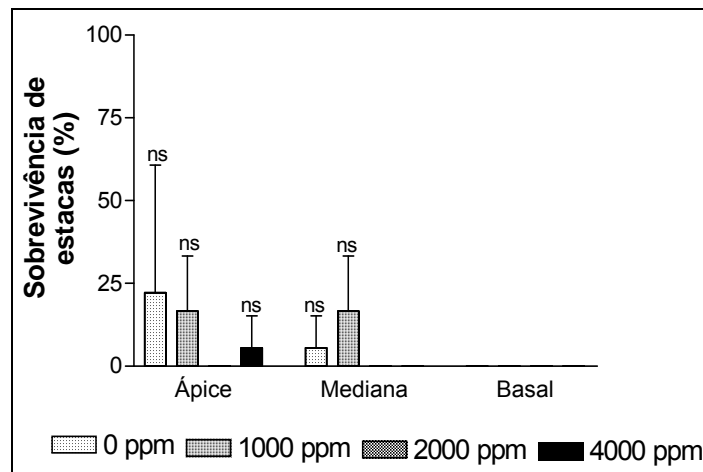


FIGURA 5. Sobrevivência de estacas de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) tratadas com ácido indolbutírico (AIB), aos 122 dias. UFRGS, Porto Alegre, 2006/2007. ns=não significativa.

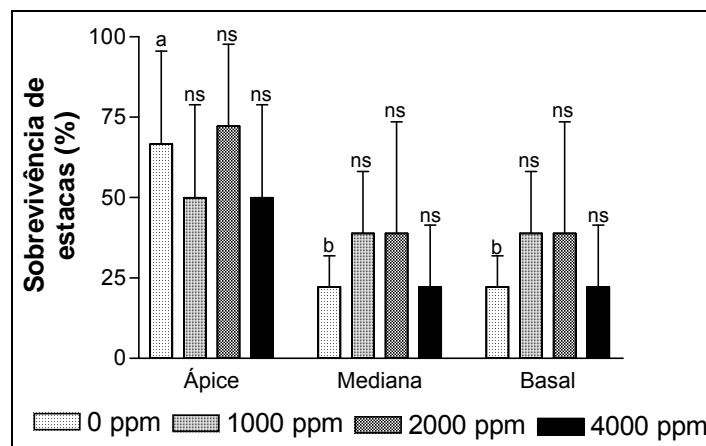


FIGURA 6. Sobrevivência de estacas de grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.) tratadas com ácido indolbutírico (AIB), aos 122 dias. UFRGS, Porto Alegre, 2006/2007. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade; ns=não significativa.

Com relação à sobrevivência e, ao contrário do observado nesse estudo, Franzon *et al.* (2004) verificaram em estacas lenhosas de goiabeira da porção basal dos ramos (15%), contrastando com as estacas da porção mediana (5,8%), percentuais inferiores aos observados para o mesmo tipo de estaca de cerejeira-do-mato e grumixameira (Figuras 4 e 6). Os mesmos autores verificaram que concentrações de AIB (0, 1000, 2000, 4000, 8000 mg.L<sup>-1</sup>) não influenciaram na sobrevivência das estacas, não havendo ainda interação entre o fatores.



Na base das estacas sobreviventes, independente do tipo e da dose de AIB utilizada, houve a formação de calos, não havendo diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 6). Franzon *et al.* (2004) observaram em seu estudo com estacas herbáceas de diferentes tamanhos de goiabeira-serrana que o número de estacas com formação de calo não diferiu significativamente entre os diferentes tratamentos testados com concentrações de AIB (0, 2000, 4000, 8000 mg.L<sup>-1</sup>), além da ausência de enraizamento das mesmas.

TABELA 6. Formação de calo, em diferentes tipos de estacas de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.), grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.) e pitangueira (*Eugenia uniflora* L.), tratadas com ácido indolbutírico (AIB), aos 122 dias. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2006/2007.

Tipo de estaca	Formação de calo (%)			
	Dose de AIB (ppm)			
	0	1000	2000	4000
Cerejeira-do-mato				
Apical*	0*	0*	0*	0*
Mediana	61,11ns	44,44ns	44,44ns	50,00ns
Basal	44,44ns	61,11ns	61,11ns	55,55ns
Pitangueira				
Apical	22,22ns	16,66ns	0ns	5,53ns
Mediana	5,55ns	16,66ns	0ns	0ns
Basal*	0*	0*	0*	0*
Grumixameira				
Apical	66,66ns	50,00ns	72,22ns	50,00ns
Mediana	22,22ns	38,89ns	38,89ns	22,22ns
Basal	22,22ns	38,89ns	38,89ns	22,22ns

\*Estacas mortas; ns=não significativa.

Fachinello *et al.* (1995) sugerem que a formação dos calos, muitas vezes é resultado do corte feito na base das estacas e, apesar de ser um processo independente ao enraizamento, pode dar indícios de ocorrência deste evento.

No ensaio II, com exceção das estacas de cerejeira-do-mato que apresentaram enraizamento de 6,67 % daquelas tratadas com AIB 500 e 1000 ppm (Tabela 7 e Figura 7), as espécies de pitangueira e grumixameira não

apresentaram a formação de raízes, independente da dose de AIB utilizada. As doses de AIB não influenciaram significativamente na formação de calos das espécies de pitangueira e grumixameira apresentando, respectivamente, valores médios de 90,5 % e 85 % de presença de calos, respectivamente.

TABELA 7. Formação de calo e enraizamento médio de estacas de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.), tratadas por diferentes doses de ácido indolbutírico (AIB). UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008.

Dose (ppm)	Calo (%)	Número de raízes/estaca	Enraizamento (%)
0	100ns*	0,0	0,0
250	93,33ns	0,0	0,0
500	86,67ns	1,00	6,67
1000	86,67ns	1,00	6,67
2000	86,67ns	0,0	0,0
4000	86,67ns	0,0	0,0
8000	100ns	0,0	0,0

\*ns=não significativa.



FIGURA 7. Raiz emergida da base da estaca de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.) submetida à dose de 500 ppm de ácido indolbutírico, após 114 dias. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008.

Após 114 dias da realização da estaquia verificou-se que a sobrevivência das estacas de pitangueira foi afetada negativamente pelas maiores doses de AIB (Figura 8) e a grumixameira não houve efeito significativo. Já em cerejeira-do-

mato houve uma correlação entre o incremento das doses de AIB e sobrevivência das estacas.

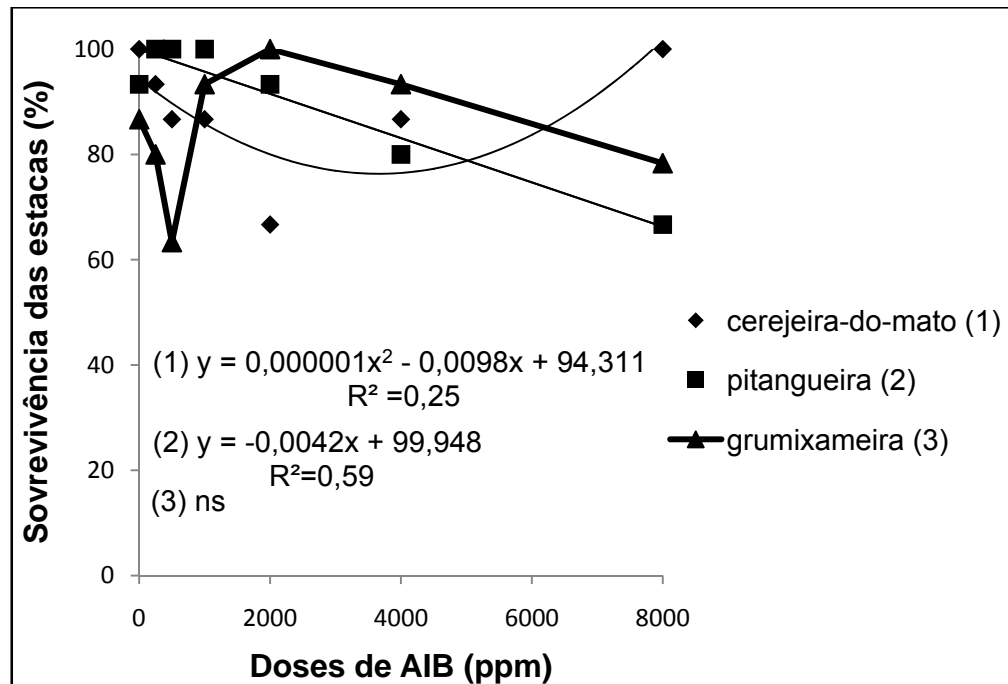


FIGURA 8. Sobrevivência de estacas semi-lenhosas de espécies de mirtáceas nativas tratadas com diferentes doses de ácido indolbutírico (AIB), após 114 dias da estaquia. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008. ns=não significativa.

A recalcitrância em formar raízes, observada nos ensaios I e II das espécies estudadas, demonstram a necessidade de mais estudos e adoção de novas metodologias para a propagação vegetativa destas espécies via processo de estaquia. A ausência de formação de raízes nas espécies de mirtáceas avaliadas pode estar ligado ao fato dessas espécies serem lenhosas. Certas espécies, entre elas as plantas lenhosas, falham em formar raízes adventícias, o que pode estar relacionado à presença de alta atividade de enzimas que inativam a auxina por degradação oxidativa (Peres & Kerbauy, 2000; Normanly, 1997).

Desta forma, a injúria sofrida na base das estacas durante o preparo das mesmas libera substâncias fenólicas, que podem ser inibidoras à formação de

raízes. Segundo Assis & Teixeira (1998) compostos fenólicos provocam o escurecimento das superfícies de cortes e são altamente inibitórios ao processo de rizogênese, o que é comum nas mirtáceas.

A otimização de doses de AIB, o uso de diferentes tipos de estacas, enfim o efeito de tratamentos de condicionamento prévio das estacas são sugeridos para a obtenção de um percentual satisfatório de enraizamento. Segundo Fachinello *et al.* (2005) quanto maior a dificuldade de formação de raízes adventícias, maior a necessidade de escolha do tipo de estaca e este varia com a espécie de planta utilizada. Além disso, devido a realização desses ensaios apenas em uma estação do ano (início do verão), sugere-se também avaliar diferentes épocas para o processo de estaquia. Há diferença entre as espécies no que diz respeito a época de obtenção das estacas para a promoção do enraizamento (Fachinello *et al.*, 2005).

#### **4.4.2 Propagação vegetativa via processos de enxertia**

No ensaio I não houve sucesso no processo de enxertia por borbulhia em 'T' invertido, ocorrendo 100 % de morte das borbulhas de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira enxertadas sobre cerejeira-do-mato.

Já, pelo método de garfagem no topo de fenda cheia, verificou-se que garfos de cerejeira-do-mato enxertados sobre o porta-enxerto de mesma espécie vegetal apresentaram 54,2 % de sobrevivência, aos 207 dias (Figura 9). No entanto, quando garfos de pitangueira foram enxertados sobre a cerejeira-do-mato, observou-se uma pega inicial da enxertia, que foi de 15 % aos 75 dias, mas seguida da morte dos enxertos (Figura 9).

Quando garfos de grumixameira foram enxertados sobre porta-enxertos da cerejeira-do-mato ocorreu uma incompatibilidade imediata, verificada pela

ausência de regeneração dos tecidos, perdurando a ausência no pagamento dos mesmos durante toda a condução do experimento (Figura 9).

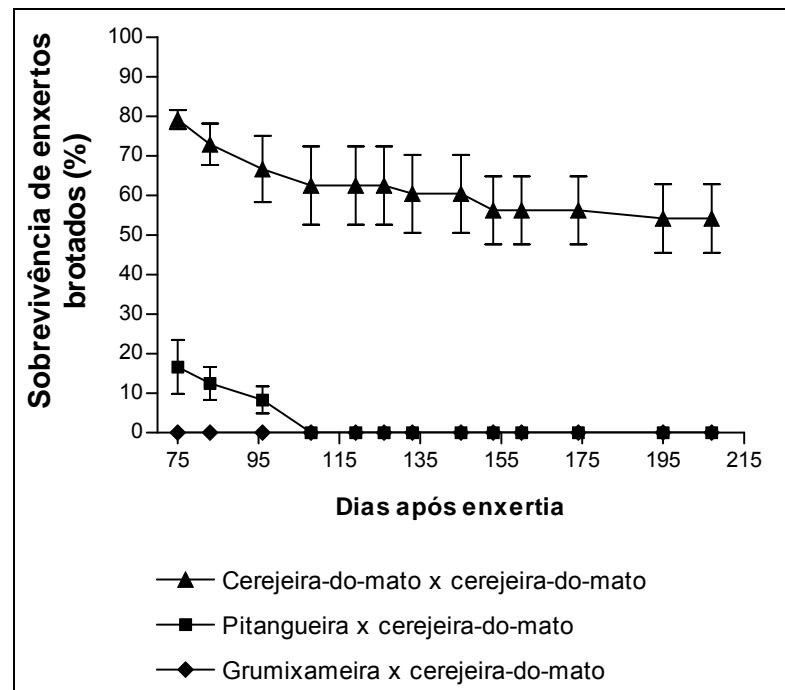


FIGURA 9. Sobrevivência de enxertos ao longo de 207 dias, pelo método de enxertia por garfagem no topo de fenda cheia. EEA/UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2005/2006.

Vários fatores podem ter influenciado no pagamento dos enxertos e na redução mesmo não significativa da sobrevivência dos enxertos brotados de cerejeira-do-mato. Entre eles, segundo Fachinello *et al.* (1995) ao se trabalhar com espécies da família das mirtáceas, como por exemplo a pitangueira, a goiabeira e o araçazeiro, há uma grande exsudação de substâncias tóxicas ao tecido, em decorrência ao traumatismo sofrido no mesmo. Essas substâncias são principalmente os compostos fenólicos, que sofrem oxidação ao entrarem em contato com as condições ambientais. Teixeira (2001) salienta a oxidação fenólica como sendo altamente dependente do genótipo, alguns gêneros mais suscetíveis do que outros. A oxidação dos polifenóis ocorre por meio da enzima polifenol oxidase que leva a produção de substâncias amareladas do tipo quinonas; estas

podem se ligar a proteínas da membrana ou enzimas e levar a toxidez e morte da célula do tecido.

Além da oxidação, a ausência e a diminuição no pegamento pode ter sido influenciada também pela exposição dos tecidos as condições ambientais que poderiam ter acarretado na desidratação dos mesmos. A fim de se reduzir tal desidratação, Fachinello *et al.* (1995) citam a importância de um enxertador hábil, experiente na uniformidade dos cortes e acima de tudo que o processo seja realizado com rapidez.

A época em que foi realizada a enxertia (primavera/verão de 2005), em condições de telado sombrite do Setor de Horticultura da EEA/UFRGS, também pode ter influenciado no pegamento do material enxertado. As temperaturas registradas no boletim de 2005, pela base física meteorológicas do Departamento de Forrageiras e Agrometeorologia, localizada na EEA/UFRGS, foram superiores a 35 °C, dias após a realização da enxertia (Ensaio I). As altas temperaturas registradas, provavelmente podem ter influenciado na ausência de pegamento das borbulhas das três espécies envolvidas no processo de enxertia, podendo estar associada a desidratação das mesmas, sendo observada pela retração do tecido enxertado. Além da temperatura, a falta de molhamento ocasionada pelo entupimento do sistema de aspersão pode também ter influenciado negativamente no pegamento dos enxertos.

Para Fachinello *et al.* (1995) temperaturas superiores a 32 °C, além de influenciarem no processo de desidratação, dificultam o processo de cicatrização. Além disso, salientam que algumas plantas apresentam baixo índice de pegamento quando a enxertia é realizada no período de primavera/verão, principalmente em decorrência da desidratação das gemas.

Ao realizar-se o ensaio II comprovou-se a ineficiência da enxertia em T invertido para as espécies de mirtáceas estudadas, pois somente obteve-se 8,3% de pegamento para cerejeira sobre cerejeira e nenhuma pega com as outras.

Concomitantemente, a ausência de pegamento de garfos das espécies de pitangueira e grumixameira sobre o porta-enxerto de cerejeira-do-mato, repetiu-se quando instalado o ensaio II, em condições de casa de vegetação (Figura 10). Também confirmou-se a compatibilidade de cerejeira-do-mato com porta-enxerto de mesma espécie, pelo processo de garfagem no topo de fenda cheia, apresentando uma constância no percentual médio de sobrevivência não inferior a 40 %, durante os 362 dias de condução desse experimento (Figura 10).

Bezerra et al. (1999) observaram em seu estudo que os métodos de enxertia por garfagem no topo de fenda cheia ou a inglesa simples, em porta enxertos com 9 e 12 meses de idade, foram mais eficientes, com 77,5 % de pega. Obtiveram, no mesmo estudo, uma baixa percentagem de pega em borbulhia em T normal (1,2 %) em relação a borbulhia em janela aberta (56,7 %). Para os mesmos autores, isso se deve, possivelmente, à menor superfície de contato entre o porta-enxerto e a borbulhia, uma menor área para a união dos tecidos.

No ensaio III, realizado na primavera de 2007, em condições de casa de vegetação, não houve sucesso na enxertia realizada para as combinações entre enxerto e porta-enxerto das espécies de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira em ambos processos de enxertia, garfagem no topo de fenda cheia e borbulhia, apresentando 100% de morte de garfos e borbulhas.

A ineficiência da borbulhia já ocorrera nos ensaios anteriores. A surpresa ficou por conta da mortalidade verificada no processo de garfagem, pois nos ensaios anteriores superou os 40% de pegamento. Esse fato pode ser

decorrência da falta de uso, neste estudo, de sacos plásticos, após a realização do processo de enxertia para a cobertura dos garfos.

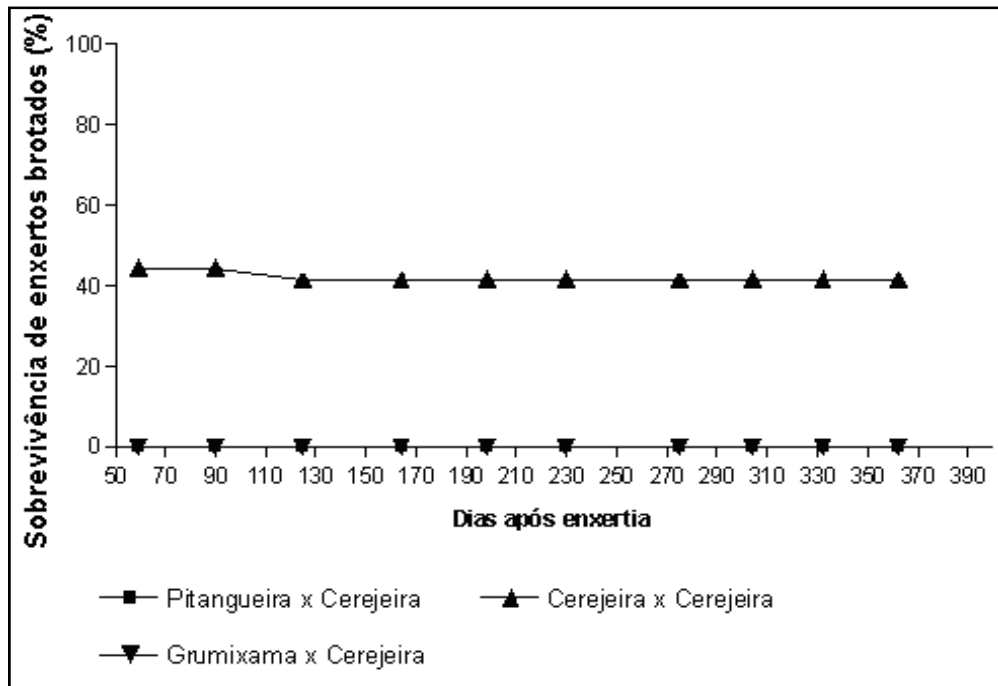


FIGURA 10. Sobrevivência de enxertos ao longo de 362 dias após enxertia pelo método de garfagem no topo de fenda cheia. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2006/2007.

Segundo Fachinello *et al.* (1995) a cobertura do enxerto e porta-enxerto com um saco plástico transparente reduz a desidratação das gemas, formando uma câmara úmida, podendo viabilizar a enxertia por garfagem na primavera-verão.

Em função dos resultados obtidos nos ensaios anteriores, realizou-se o ensaio IV, objetivando avaliar a compatibilidade intra e interespecífica das 3 espécies de mirtáceas. Diante disso, testou-se as distintas combinações entre cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira tanto enxerto como porta enxerto, testadas somente pelo processo de enxertia por garfagem no topo de fenda cheia. Houve compatibilidade somente entre garfos e porta-enxertos da mesma espécie, ocorrendo uma sobrevivência média dos enxertos para grumixameira, pitangueira



e cerejeira-do-mato, respectivamente, de 45,8 %, 29,2 % e 25 %, não havendo diferença significativa em cada uma das espécies, durante os 121 dias avaliados (Figura 11).

Verificou-se, em valores absolutos, redução no percentual de sobrevivência dos enxertos com cerejeira-do-mato, em relação aos ensaios anteriores, que haviam sido superiores a 40% e neste, 25%. O que pode ter influenciado este baixo percentual de sobrevivência foi a idade dos porta-enxertos, pois as mudas de cerejeira-do-mato utilizadas como porta-enxertos, nos ensaios anteriores tinham dois anos de idade e na realização do ensaio IV estavam com mais de quatro anos. Esse fato foi relatado por Bezerra *et al.* (1999), que demonstraram que independentemente do processo de enxertia realizado, a idade dos porta-enxertos influi na eficiência da enxertia.

O percentual de sobrevivência de pitangueira enxertada sobre a mesma espécie, que em março/abril, foi de 29,2 %, pelo método de garfagem no topo de fenda cheia (Figura 11) foi menor que o encontrado por Franzon *et al.* (2008), que obtiveram 60% de pega utilizando o mesmo método de enxertia. Isso se deve, possivelmente, aos genótipos de origem diferente, além da diferente época de realização da enxertia que no presente estudo foi de agosto e por esses autores foi no período de inverno, onde ocorre menor temperatura e desidratação.

Quanto a compatibilidade das espécies propagadas, fica evidente que ela somente ocorre quando há combinação de enxerto e porta-enxerto dentro da mesma espécie de planta, mesmo porque apesar da proximidade de grau de parentesco, não houve afinidade entre as combinações de garfos e porta-enxertos das espécies avaliadas. Hartmann & Kester (1983) ressaltam que mesmo que algumas plantas tenham tido sucesso na enxertia entre espécies diferentes dentro do mesmo gênero, há alguns casos de insucesso. Portanto, quanto maior o grau

de parentesco, ou seja, quanto maior a afinidade botânica entre as partes envolvidas na enxertia, maiores são as chances de sucesso da união dos tecidos, como por exemplo a enxertia dentro de clones, clones dentro da espécie, seguida de espécies dentro de gênero, entre gêneros dentro de famílias e, por fim, entre famílias.

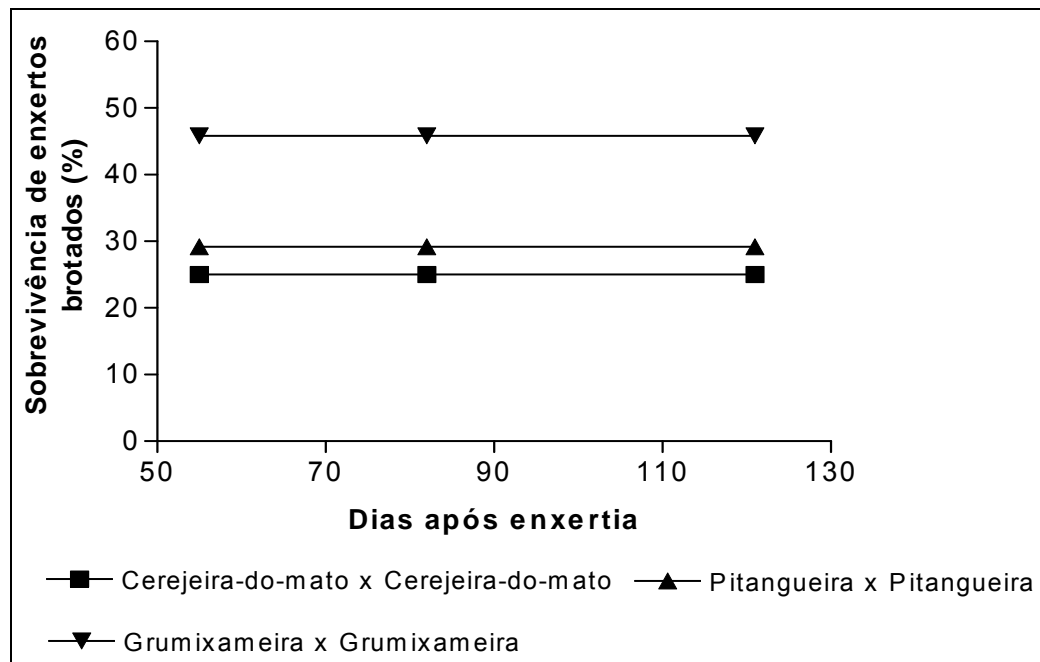


FIGURA 11. Porcentagem de sobrevivência de enxertos brotados ao longo dos dias de avaliação da enxertia e de pegamento de enxertos aos 121 dias pelo método de enxertia por garfagem no topo de fenda cheia. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008.

A compatibilidade de enxertia intraespecífica também foi demonstrada por Santana (1998) através da enxertia de garfagem no topo de fenda cheia de garfos e porta-enxertos de mesmo material genético, neste caso a mirtácea camu-camu (*Myrciaria dubia* (Humb. Bonpl. & Kunth) McVaugh) sobre porta-enxertos de camu-camu (22,2%). Suguino (2003) também somente obteve sucesso com a enxertia de garfos de camu-camu em porta-enxertos de camu-camu, o que não ocorreu ao utilizar como porta-enxerto outras espécies, como a pitangueira e a goiabeira.

Esses resultados obtidos demonstraram a possibilidade de se propagar dentro de mesma espécie as *Eugenias* estudadas pelo método de garfagem no topo de fenda cheia.

#### **4.4.3 Micropropagação**

O meio de cultura com metade ( $\frac{1}{2}$ ) da concentração de sais MS (Murashige & Skoog, 1962) foi significativamente superior ao MS completo e ao meio composto por sais de Lepoivre (meio QL) (Quoirin et al., 1977), quanto à percentagem de sobrevivência dos explantes e número de brotos por explante de cerejeira-do-mato (Tabela 8 e Figura 12). Já o meio MS completo não diferiu do meio QL quanto à percentagem de sobrevivência dos explantes, mas foi significativamente superior para a variável número de brotos por explante (Tabela 8).

A formulação salina QL apresentou a maior taxa de oxidação dos explantes (25%), enquanto a formulação MS e metade de sua concentração apresentaram em torno de 9% de oxidação. A média geral da taxa de contaminação de explantes foi de 17,39%, após 30 dias de cultura *in vitro*.

Assim como constatado neste trabalho, alguns autores verificaram que meios de cultura mais diluídos em macronutrientes, como o WPM (Lloyd e McCown, 1980) e o QL (Quoirin et al., 1977) e também modificações e diluições do MS (Murashige & Skoog, 1962) têm apresentado bons resultados na micropropagação de algumas espécies frutíferas (Dal Vesco & Guerra, 1999; Pérez-Tornero & Burgos, 2000 e Soares et al., 2005).

TABELA 8. Valores observados na porcentagem de sobrevivência e número de brotos por explante no estabelecimento *in vitro* de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* DC.) após 30 dias de cultura *in vitro*. Laboratório de Biotecnologia em Horticultura, Faculdade de Agronomia, UFRGS, Porto Alegre, 2006.

Meio de cultura	% Sobrevivência*	Número de brotos / explante
½ MS	89,30 a	1,28 a
MS	71,40 b	0,90 b
QL	70,00 b	0,20 c
CV (%)	24,65	52,15

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $\alpha = 0,05$ ).

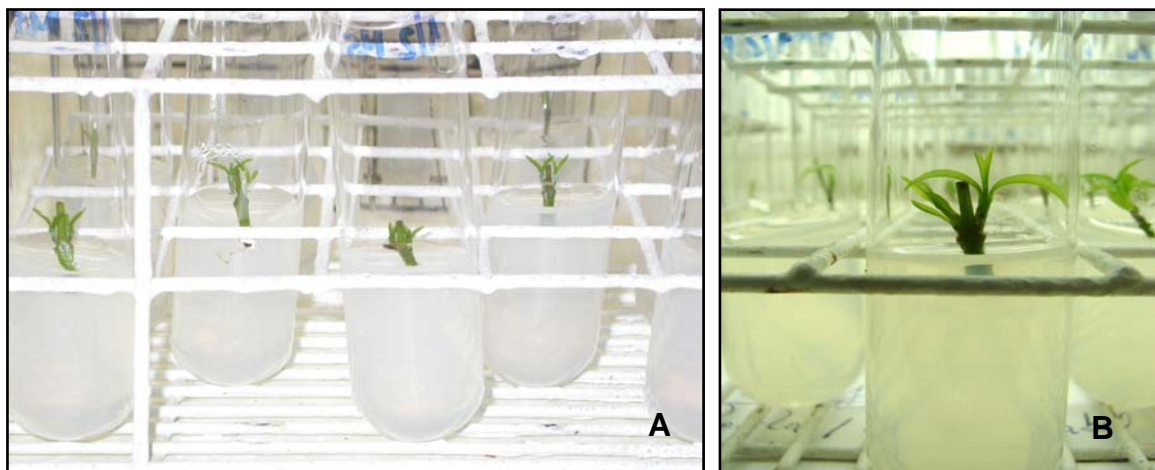


FIGURA 12. (A) Brotação de gemas laterais de segmentos nodais de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.) em meio metade MS (Murashige & Skoog, 1962), após 30 dias de cultura *in vitro*. (B) Detalhe de um segmento nodal com duas brotações. Laboratório de Biotecnologia em Horticultura, Faculdade de Agronomia, UFRGS, Porto Alegre, 2006.

Os resultados obtidos para as variáveis porcentagem de sobrevivência (89,30%) e número de brotos por explante (1,28) com metade da concentração de sais MS (Murashige & Skoog, 1962), estão de acordo com os resultados encontrados por Dal Vesco & Guerra (1999) e por Soares et al. (2005) com o meio WPM (Lloyd e McCown, 1980) para feijoa (*Acca sellowiana* (Berg) Burr.) e para pitangueira (*Eugenia uniflora* L.), respectivamente.

Dal Vesco & Guerra (1999) obtiveram superioridade da formulação salina WPM (Lloyd & McCown, 1980), em comparação à formulação MS na organogênese e micropropagação de microestacas de feijoa. Estes autores

encontraram melhores índices de proliferação *in vitro* de gemas adventícias para microestacas oriundas de plantas matrizes mantidas em vasos e em casa de vegetação, em relação às culturas originadas de plantas mantidas a campo, devido a menor contaminação por microrganismos epifíticos e endofíticos, chegando a atingir um índice de sobrevivência de 90% após 30 dias em cultura.

A utilização de ápices caulinares como fonte de explante para micropropagação de cerejeira não se mostrou viável devido à alta taxa de oxidação (100%). Geralmente, explantes muito pequenos são mais sensíveis à oxidação dos compostos fenólicos liberados pelas células quando são cortadas no momento do isolamento do explante. Em espécies lenhosas este efeito é mais pronunciado, pois os tecidos apresentam maiores teores de composto fenólicos, precursores da síntese de lignina (Santarém & Astarita, 1999).

Soares et al. (2005) utilizaram segmentos caulinares com uma gema sem o ápice, provenientes de brotações de feijoa (*Acca sellowiana* (Berg) Burr.) e pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) cultivadas *in vitro*. Estes autores testaram duas formulações de meios de cultura (MS e WPM) suplementadas ou não com 2,2  $\mu\text{M}$  de BAP (0,5 mg L<sup>-1</sup>). Após 45 dias de cultura, o meio WPM adicionado de BAP produziu a maior taxa de multiplicação de feijoa (0,36) e pitangueira (1,16), respectivamente. As citocininas são indispensáveis para a quebra de dominância apical e indução de proliferação de gemas axilares. O tipo de citocinina e a sua concentração são os fatores que mais influenciam o sucesso da multiplicação *in vitro*. O BAP tem sido muito eficaz para promover a multiplicação em diversas espécies, inclusive às mirtáceas (Dal Vesco & Guerra, 1999; Soares et al., 2005).

Já Pérez-Tornero & Burgos (2000), revelaram em ensaios de estabelecimento e multiplicação *in vitro* de damasco, que a formulação salina de Leproive (Quoirin et al., 1977) mostrou-se superior aos meios MS (Murashige &

Skoog, 1962), WPM (Lloyd e McCown, 1980) e M3 (Pérez-Tornero et al.1999). Para estes autores o número de brotos foi significativamente afetado pela cultivar e a interação do genótipo com o meio de cultura, sendo que o meio QL (Quoirin et al., 1977) proporcionou o maior número médio de brotações por explante inicial (3,38).

Uma vez que cada espécie ou clone apresenta características únicas, determinadas por fatores genéticos, as necessidades para seu cultivo *in vitro* tendem a ser únicas. A capacidade de regeneração e crescimento *in vitro* parece estar associada não apenas ao genótipo, mas também ao tipo de explante e a atividade fisiológica na planta-matriz, sob o controle de diversos fatores endógenos (Dal Vesco & Guerra, 1999).

Estes mesmos autores confirmaram que a resposta morfogenética *in vitro* da feijoa (*Acca sellowiana* (Berg) Burr.) é genótipo dependente, ao estudarem a organogênese *in vitro* de diferentes acessos desta espécie. Por isso, os meios nutritivos se baseiam nas exigências das plantas, quanto aos nutrientes minerais, com algumas modificações para atender às necessidades específicas de cultivo *in vitro* (Caldas et al., 1998).

Não foi possível evoluir os trabalhos até a etapa de enraizamento do material obtido *in vitro* da espécie de cerejeira-do-mato. Ao se repetir o meio ½ MS para explantes oriundos de mudas de pitangueira e grumixameira, cultivadas em casa de vegetação, não foi obtido sucesso na instalação dos mesmos, devido à oxidação e contaminação fúngica dos tecidos, levando a mortalidade dos mesmos.

No tocante a micropropagação das culturas das espécies de *Eugénias* em estudo, a cerejeira-do-mato foi a que melhor se adaptou as condições iniciais de cultivo *in vitro* em meio ½ MS.

#### **4.5 Quantificação de estruturas de FMA presentes em raízes das espécies de *Eugenia***

Todos os segmentos de radículas de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira analisados apresentaram colonização por FMAs, variando a intensidade de ocorrência das estruturas (arbúsculos, hifas e vesículas) em função das espécies vegetais, épocas e locais amostrados.

As matrizes de cerejeira-do-mato apresentaram similar intensidade de colonização por FMA (Figura 13). Encontrou-se uma maior intensidade de arbúsculos e hifas, comparativamente às vesículas, nas épocas amostradas (Figura 13). Também ocorreu uma variação na intensidade de presenças de arbúsculos e hifas ao longo das estações do ano, ocorrendo incrementos no verão e outono, com tendência de queda no inverno e primavera, em ambas matrizes avaliadas nos dois locais (Figura 13). A presença de vesículas é que se manteve mais estável ao longo do período avaliado.

Essa variação em intensidade de colonização radicular por FMA já foi relatada por Nunes (2008), ao estudar a ocorrência desta classe de fungos em pomares de pessegueiro.

Segundo Cordeiro et al. (2005), fatores como espécie vegetal, locais e diferentes formas de manejo do solo e das culturas podem influenciar a colonização micorrízica. E variações nesses fatores bióticos e abióticos, ao longo do ano, podem influenciar nas diferentes fases de desenvolvimento dos fungos (germinação, infecção e colonização radicular e esporulação) e determinar variações sazonais na população micorrízica (Balota & Lopes, 1996; Sylvia, 1986; Stürmer & Bellei, 1994). Muthukumar & Udaiyan (2002) salientam que a colonização por fungos micorrízicos em plantas de ecossistema natural pode ser,

particularmente, dependente da interação entre aspectos fenológicos das plantas e níveis de umidade do solo.

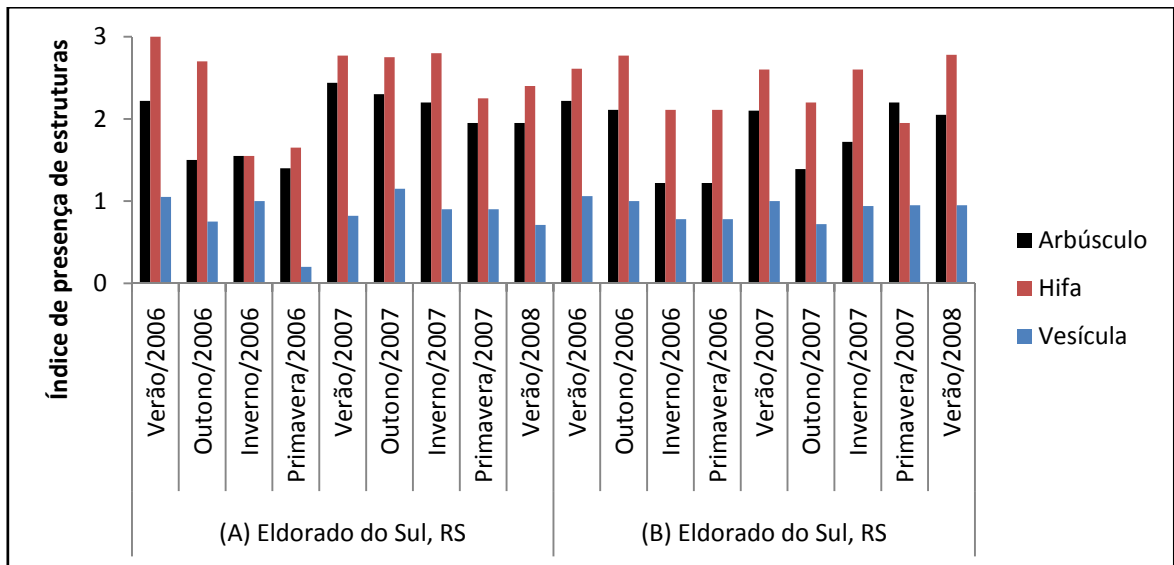


FIGURA 13. Índice de estruturas de FMAs (arbúsculos, hifas, e vesículas), em raízes das plantas de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.) (A): plantas cultivadas no Setor de Horticultura da EEA/UFRGS e (B): Plantas cultivadas na Sede da EEA/UFRGS nas coletas sazonais, nos anos de 2006, 2007 e 2008. Eldorado do Sul, RS.

As duas matrizes de pitangueira da Estação Experimental Agrônômica da UFRGS (Figura 14) apresentaram, à semelhança do verificado para as matrizes de cerejeira-do-mato (Figura 13), similaridade na intensidade de ocorrência de hifas e vesículas. Porém, a ocorrência de arbúsculos foi maior na matriz “A” daquela Estação Experimental, podendo ser atribuído a diferente afinidade genética e/ou características químicas dos solos.

Também foi encontrada uma menor presença de vesículas ao longo do período amostrado, em relação aos arbúsculos e hifas nas matrizes de pitangueira da Estação Experimental (Figura 14).

Houve uma variação na intensidade de presença de arbúsculos e hifas ao longo das estações avaliadas, distintas entre as matrizes. Na matriz “A” houve tendência de maior presença destas estruturas no verão e no outono, enquanto



que, na matriz “B”, esta maior intensidade tendeu a ocorrer nos meses de inverno e primavera.

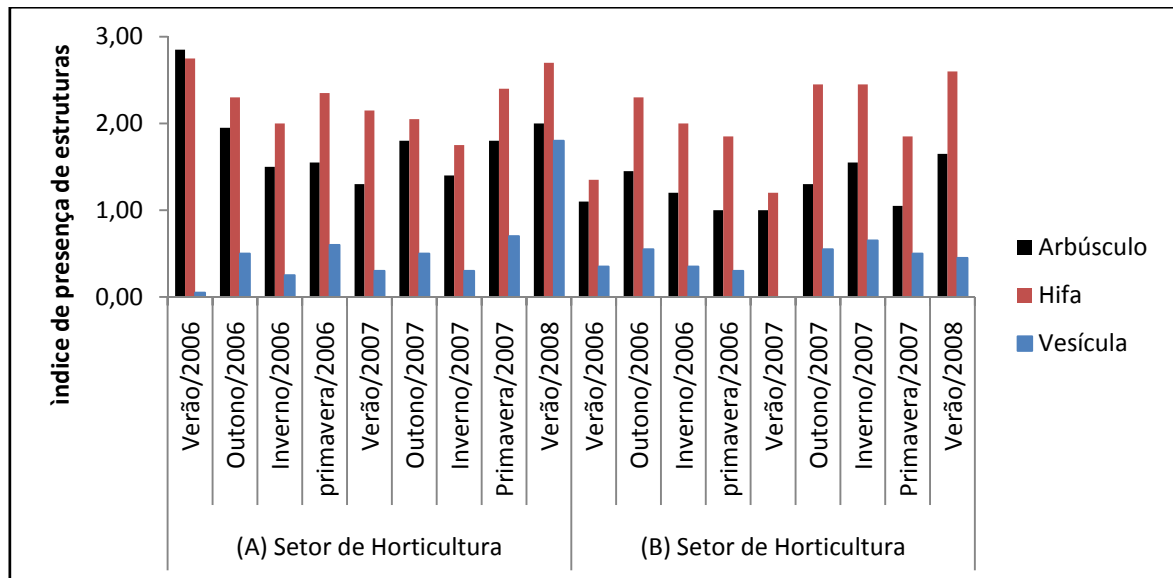


FIGURA 14. Índice de estruturas de FMA (hifas, arbúsculos e vesículas), em raízes das matrizes de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) (A): Planta cultivada no Setor de Horticultura e (B): Planta cultivada próximo ao telado-sombrite do Setor de Horticultura, nas coletas sazonais, nos anos de 2006, 2007 e 2008, na EEA/UFRGS. Eldorado do Sul, RS.

A intensidade média de ocorrência de arbúsculos, hifas e vesículas de FMA das matrizes de pitangueira cultivadas em Arroio dos Ratos (Figura 15 C) e em Porto Alegre (Figura 15 D) foi semelhante à encontrada nas matrizes da Estação Experimental Agronômica da UFRGS (Figura 14). No entanto, a variação ao longo das estações do ano apresentou uma certa peculiaridade.

As matrizes cultivadas em Arroio dos Ratos apresentaram uma tendência de aumento linear de arbúsculos e hifas do verão ao inverno, em ambos anos avaliados. Por sua vez, a matriz cultivada em Porto Alegre mostrou um incremento destas estruturas nos meses de verão e outono, com sua redução nos meses de inverno e primavera, uma clara a correlação de sua ocorrência com a temperatura e velocidade de crescimento vegetal.

Cabe destacar, que nestas matrizes de pitangueira, ao contrário do encontrado com as matrizes anteriores (cerejeira-do-mato e pitangueiras da EEA/UFRGS), houve uma variação na presença de vesículas ao longo do ano. Verificou-se claramente, um aumento na sua intensidade nos meses mais frios (outono e inverno) e uma redução nos meses mais quentes.

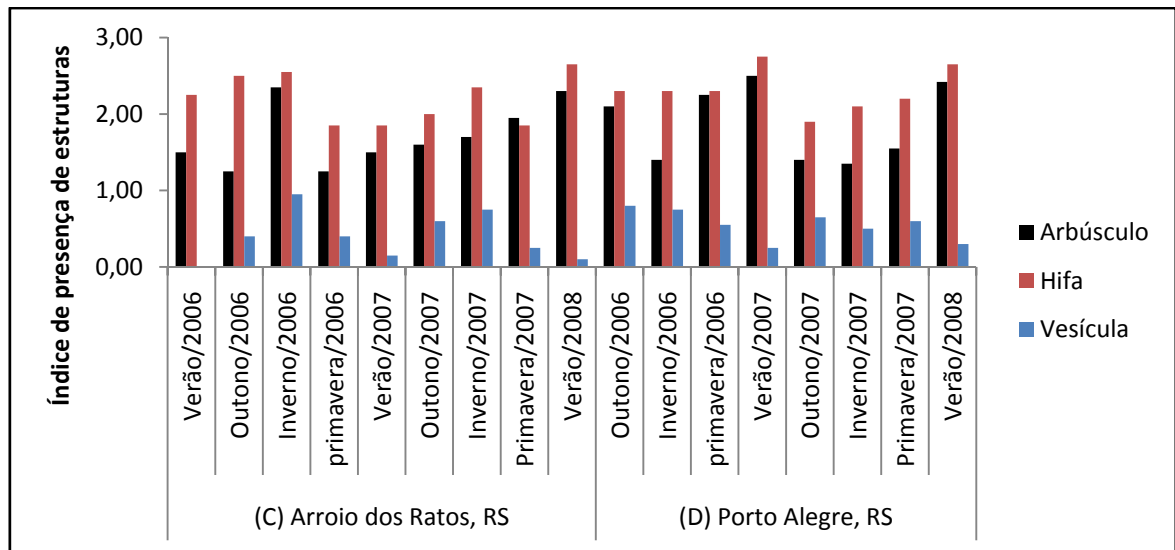


FIGURA 15. Índice de estruturas de FMA (hifas, arbúsculos e vesículas), em raízes das plantas de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) (C) Arroio dos Ratos e (D) na localidade de Campo Novo, Porto Alegre, RS, nas coletas sazonais nos anos de 2006, 2007 e 2008. Arroio dos Ratos e Porto Alegre, RS.

Esta variação sazonal de ocorrência de vesículas era esperada, visto que são estruturas de reserva, sendo mais produzidas pelos FMA nos meses em que as condições climáticas são adversas ao desenvolvimento vegetal e fúngico, garantindo sua sobrevivência.

Na Figura 16, observou-se para grumixameira a presença de altos índices de estruturas de colonização do FMA (hifas e arbúsculos) ao longo dos anos e nos dois locais amostrados. Também observou-se picos de ocorrência de vesículas nos períodos de verão e outono de 2007 na localidade de Itapuã em Viamão, RS. Provavelmente, este maior aumento no índice de vesículas se deva

à períodos secos, condições estressantes, que possam ter ocorrido nestas duas estações e estimulado este aumento. Segundo Moreira & Siqueira (2006) as vesículas, em espécies Glomeraceae, possuem aparentemente a função de reserva, por serem ricas em lipídios.

As matrizes de grumixameira apresentaram diferentes níveis de colonização radicular, onde aquela cultivada em Viamão apresentou uma maior presença de estruturas, explicado por diferenças nutricionais dos locais de cultivo (Figura 16).

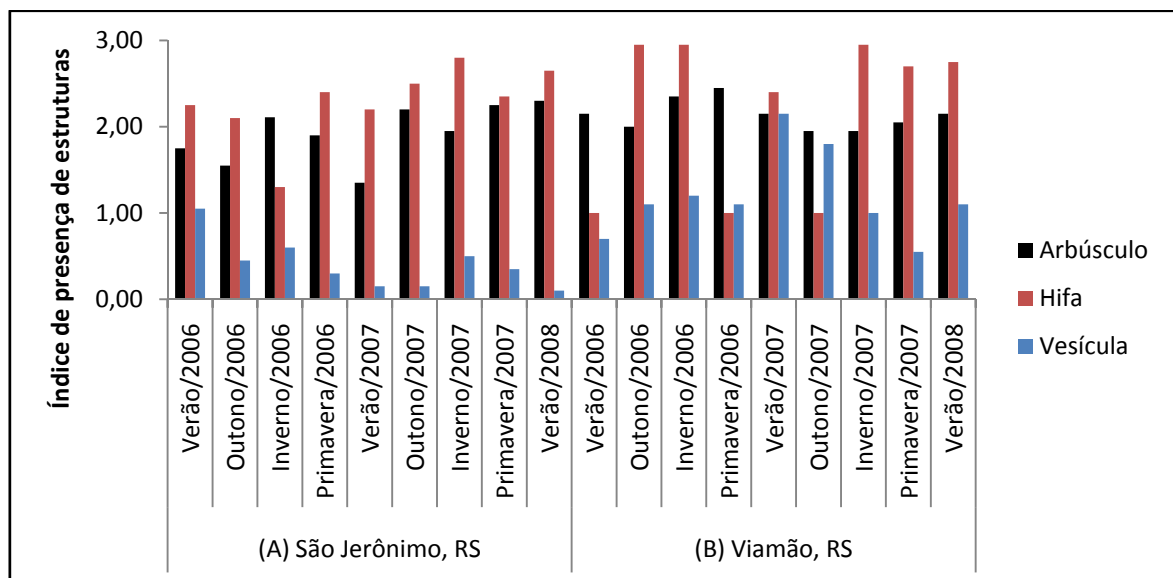


FIGURA 16. Índice de estruturas de FMA (hifas, arbúsculos e vesículas), em raízes das plantas de grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.), situadas na Fazenda Panoramas Citros (A) e na localidade de Itapuã (B), nas coletas sazonais, nos anos de 2006, 2007 e 2008, São Jerônimo e Viamão, RS.

Ao contrário do verificado para as demais espécies de mirtáceas, a variação sazonal da colonização micorrízica não foi tão marcante, ocorrendo uma certa constância, com algumas exceções, ao longo do período de estudo.

Em geral, para a cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira, o percentual de colonização radicular nas diferentes épocas e locais de amostragem, mostrou-se sempre elevado (>95 %). Mesmo com teores elevados

de fósforo ( $>100 \text{ mg/dm}^3$ , Tabela 1), as matrizes de pitangueira dos municípios de Arroio dos Ratos e de Porto Alegre, mantiveram o alto percentual de colonização, mas que segundo Moreira & Siqueira (2006) em níveis elevados de fósforo a colonização seria inibida. Brundrett & Kendrick (1988) verificaram a existência de uma menor variação sazonal na colonização das raízes por FMAs em plantas como de florestas temperadas, que apresentam raízes de vida longa. Siqueira & Saggin Júnior (2001) atribuem a menor colonização radicular das plantas nativas, tanto à característica diversa em sua vegetação, onde coexistem espécies de plantas com diferentes dependências micorrízicas, como pela estabilidade do ecossistema, além do efeito da sazonalidade.

Isso leva a acreditar na possibilidade dessa maior colonização micorrízica, encontrada nas espécies das mirtáceas nativas em estudo ser devida à localização das matrizes em um ambiente com interferência antrópica. Áreas de cerrado sem a interferência antrópica apresentam uma menor colonização micorrízica e uma menor densidade de FMAs, em comparação às áreas agrícolas (Cordeiro *et al.*, 2005).

Entretanto, pode-se sugerir que a elevada percentagem de colonização micorrízica encontrada nas raízes das mirtáceas nativas em estudo, se deva ao seu hábito perene e à presença de um sistema radicular de vida longa, ao contrário do que ocorre com as raízes de espécies anuais. Plantas perenes não apresentam um ponto final definitivo para o crescimento de raízes, não há a morte total do sistema radicular das espécies perenes, mas sim um processo dinâmico e concomitante de substituição das raízes senescentes por outras, já o oposto acontece com as plantas anuais (Moreira *et al.*, 2006; Balota & Lopes, 1996). Também tem sido sugerido por Gemma & Koske (1988) que em plantas perenes,

os FMAs apresentam um comportamento diferente, não há uma esporulação condensada ao término do seu ciclo de vida, como em espécies anuais.

Além disso, o resultado obtido com relação à alta percentagem de colonização micorrízica presente nos segmentos de raízes avaliados em cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira, ao longo das épocas amostradas, corroboraram com os encontrados por Baylis (1969) em plantas perenes quando, crescidas em clima temperado, observou uma alta taxa de colonização e um baixo número de esporulação com uma distribuição mais ou menos plana ao longo do ano. Estádios fisiológicos e fenológicos de plantas perenes também podem ter grande influência na esporulação (Moreira et al., 2006) e, em alguns casos, a esporulação e a colonização radicular parecem estar correlacionadas com a fenologia e fisiologia das plantas (Escudero & Rodolfo, 2005).

Para Bohrer et al. (2004) fatores ambientais parecem influenciar somente a extensão da colonização de FMAs em alguns momentos, enquanto que as espécies e eventos fenológicos das plantas (crescimento de raízes novas, crescimento de plantas, floração e frutificação) parecem influenciar na variação sazonal da colonização micorrízica arbuscular.

#### **4.5.1 Identificação das espécies de fungos micorrízicos arbusculares em cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira**

Em vista dos resultados observados nos padrões sazonais (item 4.5) para cada frutífera em estudo, mostrando as variações na intensidade de colonização dos FMAs, diante das amostragens em duas épocas, inverno e verão, em anos e locais diferentes foi possível identificar nas matrizes de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira um total de 27 espécies diferentes, sendo

representadas por seis gêneros *Acaulospora*, *Archaeospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Paraglomus*, *Scutellospora*. Dentre estas, o gênero mais representativo em todas as amostras das frutíferas avaliadas foi *Glomus* (14), seguida de *Acaulospora* (8). A ocorrência de espécies de FMAs é muito variável, mas bastante diversa, sofrendo influências de condições ambientais, como sazonalidade, temperatura, entre outros e por inúmeros fatores edáficos (Moreira & Siqueira, 2006).

Nas matrizes de cerejeira-do-mato, localizadas no setor da Horticultura (A) e na Sede da EEA/UFRGS (B) em Eldorado do Sul, RS foram identificadas um total 11 espécies (Tabela 9), distribuídas entre os gêneros de *Acaulospora*, *Glomus* e *Scutellospora* (A) e *Acaulospora* e *Glomus* (B). A *Acaulospora* “big mellea” (considerada uma espécie nova) foi a que ocorreu nas duas épocas, locais e anos avaliados.

TABELA 9. Identificação de espécies de fungos micorrízicos arbusculares em cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.) em coletas nas épocas de inverno e verão, nos anos de 2007 e 2008. UFRGS, Porto Alegre, RS e FURB, Blumenau, SC

Espécie de FMA	Cerejeira-do-mato			
	(A) Setor Horticultura <sup>1</sup>		(B) Setor Sede	
	Inv <sup>2</sup> 2007	Ver 2008	Inv 2007	Ver 2008
<i>Acaulospora cavernata</i>	X			
<i>Acaulospora mellea</i>	X	X	X	
<i>Acaulospora</i> “big mellea”	X	X	X	X
<i>Acaulospora</i> sp.1		X		
<i>Glomus geosporum</i>		X		X
<i>Glomus</i> “bastonete”	X	X	X	
<i>Glomus</i> sp.1		X	X	X
<i>Glomus</i> sp.2	X		X	
<i>Glomus</i> sp.3	X			
<i>Glomus</i> sp.4		X		
<i>Scutellospora heterogama</i>	X	X		

<sup>1</sup>Descrição Locais: (A): plantas (código ICN 157163-157166) no setor da Horticultura e (B): plantas (ICN 157161-157162) no setor da Sede, na EEA/UFRGS, Eldorado do Sul, RS.

<sup>2</sup>Estações do ano: Verão (Ver); Inverno (Inv).

Houve uma maior ocorrência de espécies no Setor de Horticultura, com alto teor de fósforo ( $P = 35 \text{ mg/dm}^3$ ), comparado à Sede da EEA/UFRGS ( $P = 6,3 \text{ mg/dm}^3$ ) (SBCS, 2004). Existe freqüentemente uma pequena associação quantitativa entre fosfato disponível no solo e a extensão da colonização micorrízica em plantas crescidas nesses solos. Por exemplo, maiores níveis de fosfato disponível podem ter altos níveis de infecção e/ou maiores números de esporos; porém, o contrário também pode ocorrer (Abbott & Robson, 1991; Hayman, 1978; Gianinazzi-Pearson *et al.*, 1980; Jeffries *et al.*, 1988).

Algumas espécies de FMAs, diferente de outras, são capazes de colonizar raízes com maiores adições de fosfato, e é possível que aplicações contínuas de grande quantidades do mesmo podem, eventualmente levar ao desenvolvimento de populações de FMAs capazes de colonizar raízes de plantas que já contêm quantidades de fosfato suficiente para o máximo crescimento. Tais mudanças podem não ocorrem rapidamente (Thomson *et al.*, 1986; Porter *et al.*, 1978).

No local na Sede da EEA/UFRGS observou-se, também uma maior quantidade de Potássio ( $>400 \text{ mg/dm}^3$ ), comparado ao Setor de Horticultura ( $63 \text{ mg/dm}^3$ ), o que pode ter influenciado na menor quantidade de esporos. Segundo Mosse & Bowen (1968) algumas adições de fósforo e potássio diminuem o número de determinados tipos de fungo, como por exemplo, de esporos reticulados bulbosos e brancos, mas não de outros.

O número de espécies de FMAs identificadas nas matrizes de pitangueira localizadas na EEA/UFRGS, em Arroio dos Ratos (C) e em Porto Alegre (D) foi 15, distribuídas entre os gêneros de *Acaulospora*, *Glomus* (EEA/UFRGS) e *Acaulospora*, *Glomus* (Arroio dos Ratos) e *Glomus* (Porto Alegre) (Tabela10). Nesta tabela não foi identificados espécies de FMAs no inverno de 2007 nas localidades "A e C".

Nas matrizes de pitangueiras (Tabela 10) observa-se que as espécies do gênero *Glomus* tiveram uma maior ocorrência em maiores valores de pH (Tabela 1). Esse fato corrobora com o constatado por Zandavalli *et al.* (2008) que ao estudarem a riqueza de espécies de FMAs em florestas com *Araucaria* no sul do Brasil, encontraram um maior número de espécies de *Glomus*. A maior ocorrência de espécies de *Glomus* foi observada no setor da Horticultura na EEA/UFRGS, comparado aos locais “C e D”, devendo-se provavelmente às diferenças na composição química do solos. A quantidade nos teores de P entre os locais (A, B, C e D) foram consideráveis com os teores, respectivamente, de 5,6, 9,3, >100 e >100 mg/dm<sup>3</sup> como foi demonstrado na Tabela 1. Segundo Moreira & Siqueira (2002), solos com teores elevados de P promovem reduções acentuadas na colonização micorrízica.

TABELA 10. Identificação de espécies de fungos micorrízicos arbusculares em pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) em coletas nas épocas de inverno e verão, nos anos de 2007 e 2008. UFRGS, Porto Alegre, RS e FURB, Blumenau, SC.

Espécie de FMA	Pitangueira					
	(A) Eldorado do Sul, RS <sup>1</sup>	(B) Eldorado do Sul, RS		(C) Arroio do Ratos, RS	(D) Porto Alegre, RS	
	Ver <sup>2</sup>	Inv	Ver	Ver	Inv	Ver
	2008	2007	2008	2008	2007	2008
<i>Acaulospora mellea</i>	X		X	X		
<i>Acaulospora morrowiae</i>		X	X			
<i>Acaulospora</i> “big mellea”	X	X				
<i>Acaulospora</i> sp. 1	X					
<i>Glomus laccatum</i>			X			
<i>Glomus microaggregatum</i> cf.	X					
<i>Glomus mosseae</i> cf.			X*			
<i>Glomus viscosum</i>						X*
<i>Glomus</i> sp. 5			X			
<i>Glomus</i> “bastonete”	X					X
<i>Glomus</i> sp. 1	X			X		
<i>Glomus</i> sp. 3		X	X	X		X
<i>Glomus</i> sp. 6						X
<i>Glomus</i> sp. 7					X	
<i>Glomus</i> sp. 8		X				

<sup>1</sup> Descrição Locais: Eldorado do Sul, RS: (A): planta (código ICN 157173) no início do setor da Horticultura e (B): planta (ICN 157167) próximo ao telado-sombrite do setor da Fruticultura; Arroio dos Ratos, RS: (C) ICN 157168-157169 e Porto Alegre, RS: (D) ICN 157172 na localidade de Campo Novo

<sup>2</sup> Estações do ano: Verão (Ver); Inverno (Inv).

\* Identificação dúbia devido à presença de apenas um esporo.



Nas matrizes de frutíferas de grumixameiras localizadas em São Jerônimo (A) e na localidade de Itapuã em Viamão (B), RS foram identificadas um total de 13 espécies nos dois locais amostrados: na área “A” cinco *Acaulospora*, uma *Archaeospora*, uma *Gigaspora*, três *Glomus*, um *Paraglomus* e uma *Scutellospora* e na área “B” duas *Acaulospora* e três *Glomus* (Tabela 11). *Glomus* do tipo “marrom” e “bastonete” ocorreram nas duas épocas, locais e anos avaliados.

TABELA 11. Identificação de espécies de fungos micorrízicos arbusculares em grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.) em coletas nas épocas de inverno e verão, nos anos de 2007 e 2008. UFRGS, Porto Alegre, RS e FURB, Blumenau, SC.

Espécie de FMA	Grumixameira			
	(A) São Jerônimo, RS <sup>1</sup>		(B) Viamão, RS	
	Inv <sup>2</sup> 2007	Ver 2008	Inv 2007	Ver 2008
<i>Acaulospora mellea</i>		X	X	
<i>Acaulospora morrowiae</i>	X*			
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	X			
<i>Acaulospora</i> “big mellea”	X	X		X
<i>Acaulospora</i> sp. 2		X		
<i>Archaeospora trappei</i>	X			
<i>Gigaspora decipiens</i>	X			
<i>Glomus</i> “bastonete”	X	X	X	X
<i>Glomus</i> sp.2	X	X		
<i>Glomus</i> sp.3	X	X	X	X
<i>Glomus</i> sp.6			X	
<i>Paraglomus occultum</i>	X			
<i>Scutellospora pellucida</i>	X			

<sup>1</sup> Descrição Locais: (A) plantas (código ICN 157170-157171), na Fazenda Panoramas Citros e (B) ICN 157160, na localidade de Itapuã.

<sup>2</sup> Estações do ano: Verão (Ver); Inverno (Inv).

\* Identificação dúbia devido à presença de apenas um esporo.

Mesmo diante da tendência de maior intensidade de estruturas, observadas para grumixameira no local “B” (item 4.5, Figura 16) a Tabela 11 demonstrou a ocorrência de um maior número de espécies encontradas no local “A”, o que se deve provavelmente ao menor valor de pH (4,9) em relação ao local “B” (6,1). Segundo Abbott & Robson (1991), existem diferenças marcantes entre espécies e isolados de FMAs no que diz respeito as propriedades do solo e sua

distribuição e abundância, por exemplo algumas espécies de FMA são restritas a solos ácidos e alcalinos, enquanto outras ocorrem em ambos (Abbott & Robson, 1991; Young et al., 1985; Porter et al., 1987 e Robson & Abott, 1989).

Algumas espécies de FMAs identificadas nas matrizes de cerejeira-domato, pitangueira e grumixameira encontram-se ilustradas nas Figuras 17, 18 e 19.

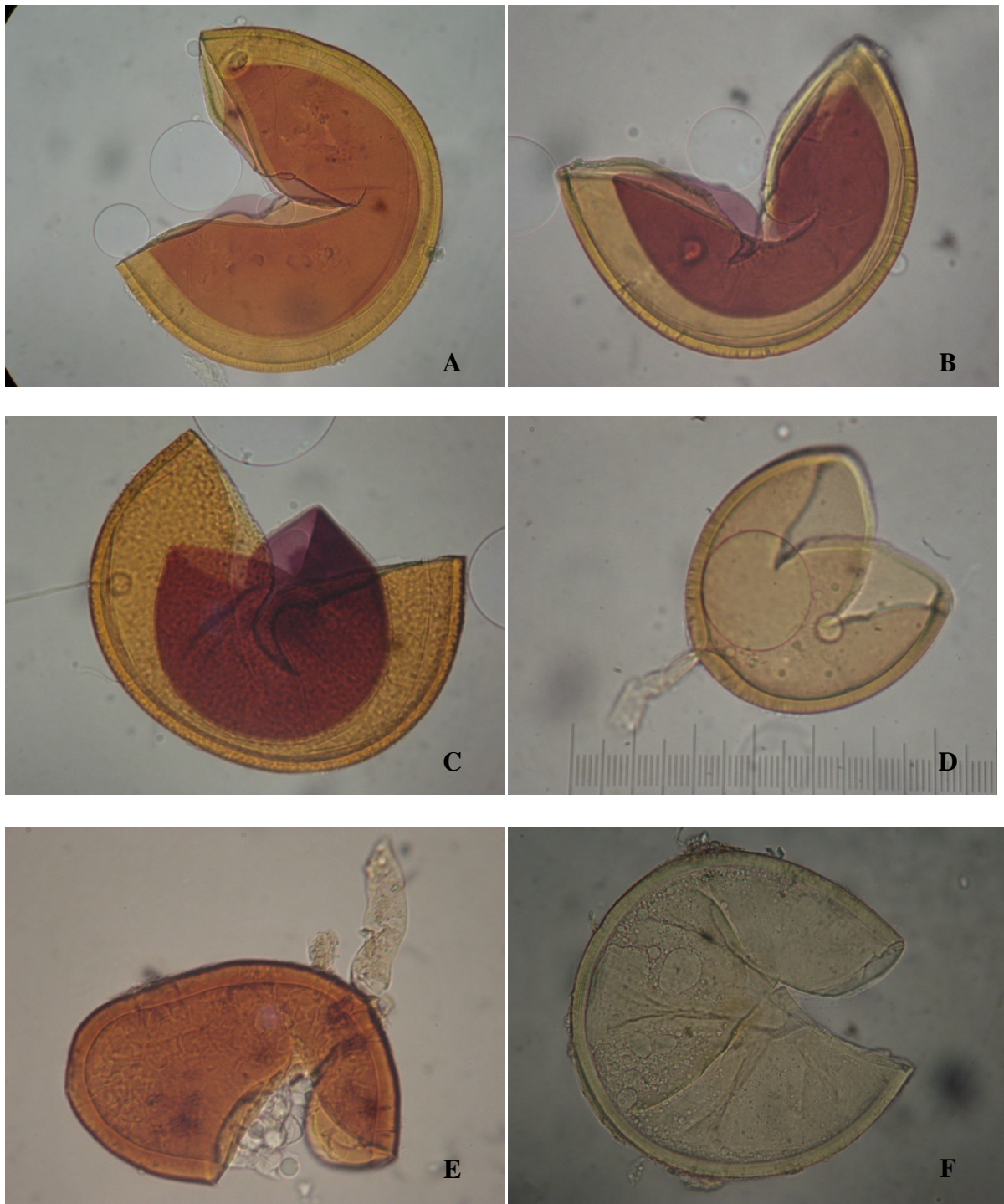


FIGURA 17. Esporos de *Acaulospora* "big mellea" (A), *Acaulospora mellea* (B), *Acaulospora* sp.1 (C), *Glomus* sp.1 (D), *Glomus* "bastonete" (E), *Glomus* sp.4 (F) identificados em cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.), visualizados em microscópio óptico no aumento de 400x. UFRGS, Porto alegre, RS, 2008.

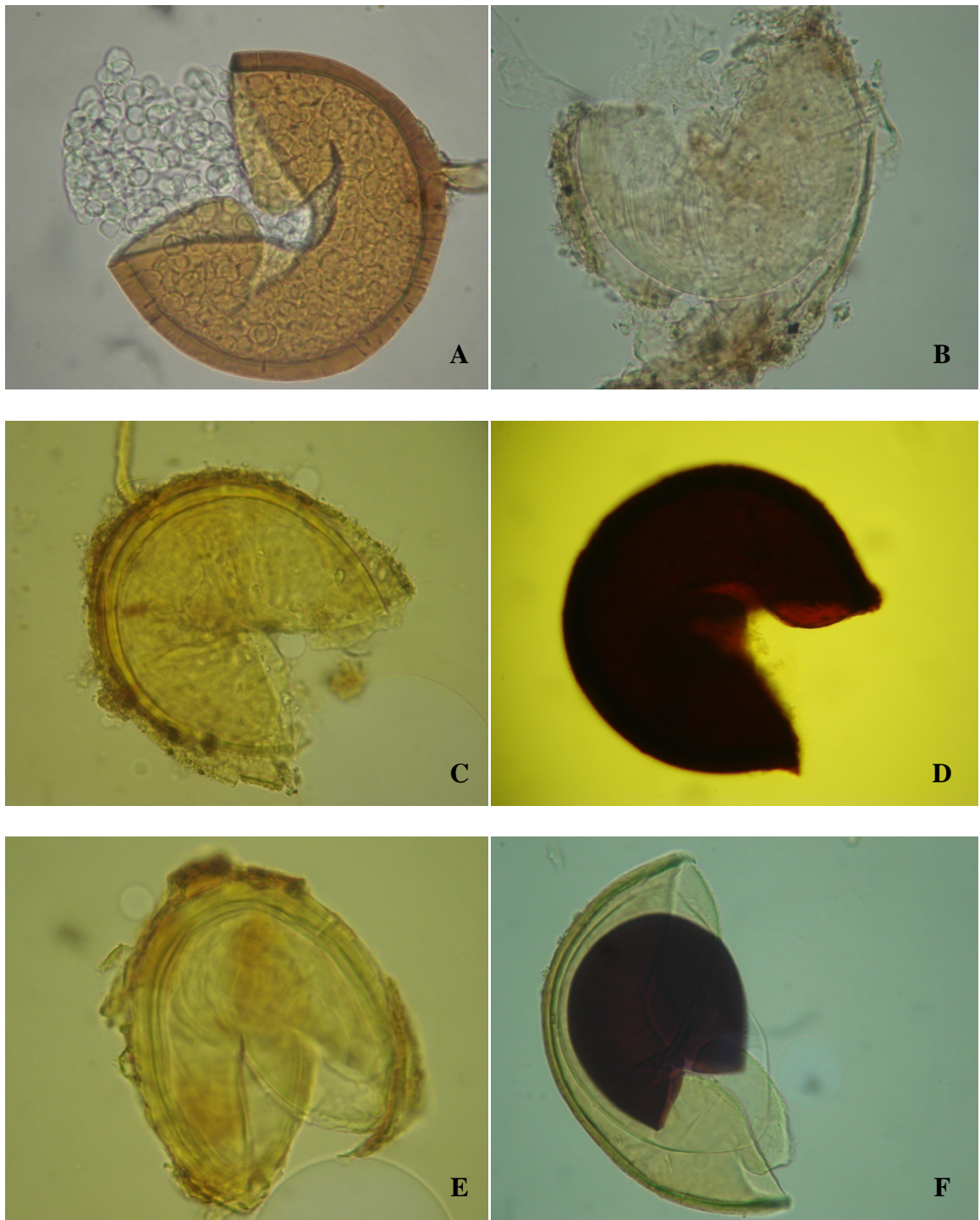


FIGURA 18. Esporo de *Glomus* sp.4 (A) em cerejeira-domato (*Eugenia involucrata* D.C.) e esporos de *Glomus* sp.6 (B), *Glomus* sp.8 (C), *Glomus* sp.5 (D), *Glomus laccatum* (E), *Acaulospora morrowiae* (F) em pitangueira (*Eugenia uniflora* L.), visualizados em microscópio óptico no aumento de 400x, com exceção de *Glomus* sp.5 (D), visualizado no aumento de 100x. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008.

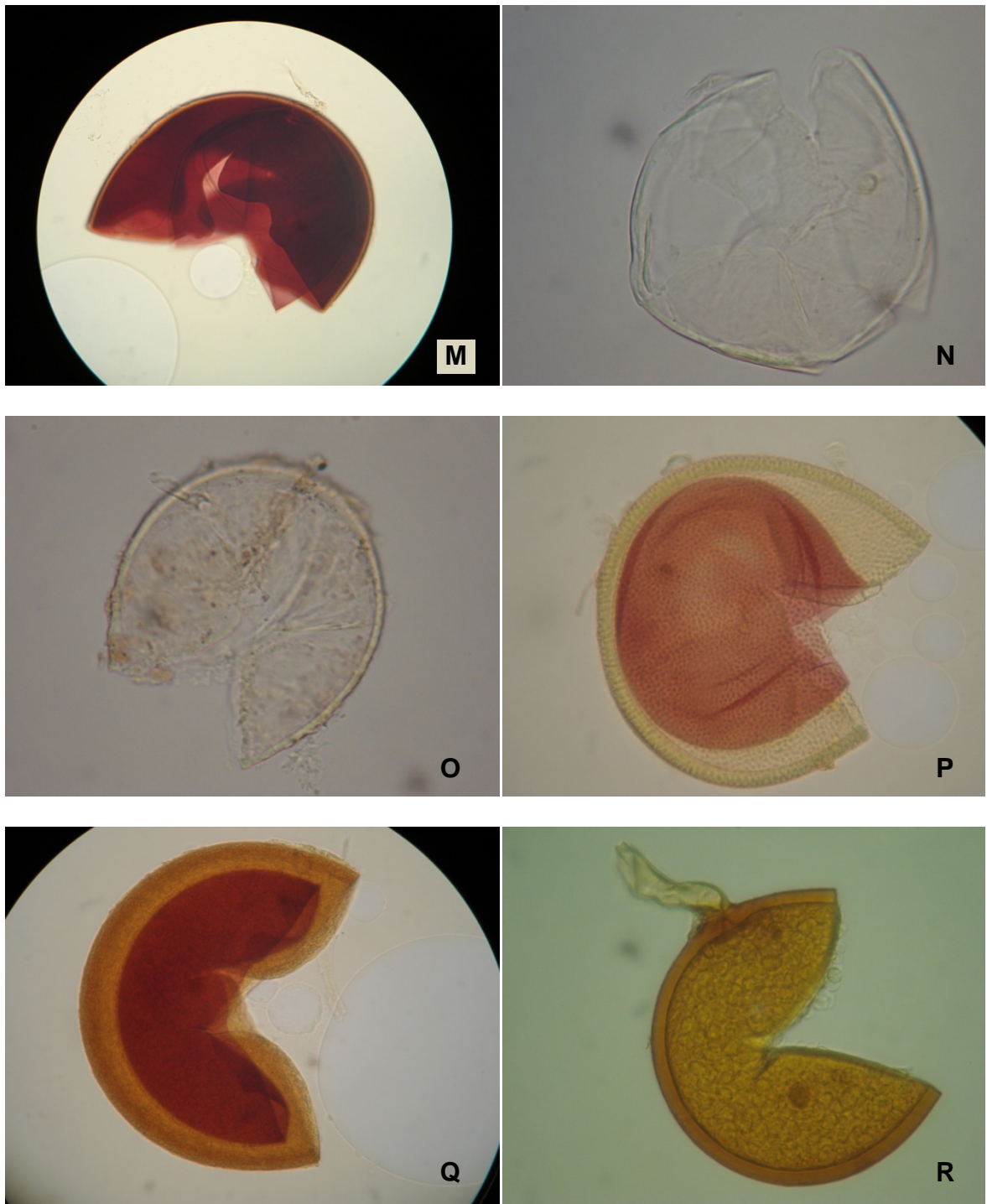


FIGURA 19. Esporos de *Scutellospora pellucida* (A), *Paraglomus occultum* (B), *Archaeospora trappei* (C), *Acaulospora scrobiculata* (D), *Acaulospora* sp.1 (E) e *Glomus laccatum* (F) em grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.), visualizados em microscópio óptico no aumento de 400x. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008.

#### **4.6 Mudanças de cerejeira-do-mato e grumixameira inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares**

Na cerejeira-do-mato a porcentagem de raízes colonizadas foi de 95 % para os segmentos analisados inoculados com os isolados *Glomus etunicatum*, *Gigaspora margarita* e *Scutellospora heterogama* e de 100 % para *Acaulospora* sp. Na Tabela 12 observou-se que as mudas inoculadas com *Scutellospora heterogama* apresentaram um maior incremento na superfície foliar do que as testemunhas, não diferindo significativamente de *Acaulospora* sp. Observou-se também um incremento no comprimento total de raízes das mudas inoculadas com *Acaulospora* sp. em relação às testemunhas e os demais tratamentos com FMAs. Para o parâmetro altura, não houve diferenças entre os tratamentos, com exceção das mudas inoculadas com *Gigaspora margarita* que foi inferior à testemunha, mas não foi diferente estatisticamente das demais espécies de FMAs avaliadas.

Para a grumixameira a colonização foi de 100 % de segmentos analisados. No entanto, não houve diferenças significativas com relação a nenhum dos parâmetros de desenvolvimento vegetativo avaliados, independente dos tratamentos com e sem FMAs (Tabela 12).

Entre alguns isolados de FMAs houve ausência de incremento no desenvolvimento vegetativo avaliado para ambas as frutíferas estudadas (Tabela 12).

TABELA 12. Desenvolvimento vegetativo de mudas de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.) e de grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.), submetidas a inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares, na casa-de-vegetação, com oito meses de inoculação. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2007/2008.

Tratamento	Diâmetro colo (mm)	Altura (cm)	Parte aérea		Comprimento total raízes (cm)	Área foliar/planta (cm <sup>2</sup> )
			Massa Seca (g)	Raízes		
Cerejeira-do-mato						
Testemunha	1,21ns	7,44a*	0,12ns	0,08ns	64,44b	9,21c
<i>Glomus etunicatum</i>	1,20ns	7,11ab	0,11ns	0,05ns	74,85b	9,01c
<i>Gigaspora margarita</i>	1,11ns	6,70b	0,11ns	0,06ns	80,38b	9,49bc
<i>Scutellospora heterogama</i>	1,13ns	7,07ab	0,13ns	0,06ns	73,89b	12,11a
<i>Acaulospora sp.</i>	1,12ns	7,02ab	0,13ns	0,08ns	102,63a	11,59ab
Grumixameira						
Testemunha	1,53ns	9,45ns	0,24ns	0,11ns	146,67ns	17,23a
<i>G. etunicatum</i>	1,41ns	8,70ns	0,23ns	0,14ns	171,86ns	16,01a
<i>G. margarita</i>	1,38ns	9,74ns	0,19ns	0,10ns	148,25ns	8,43b
<i>S. heterogama</i>	1,54ns	10,20ns	0,29ns	0,12ns	237,27ns	17,91a
<i>Acaulospora sp.</i>	1,48ns	9,88ns	0,25ns	0,11ns	150,30ns	16,04a

\*Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna e espécie de planta, diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Duncan; ns=não significativa.

Um fator importante que pode ter influenciado o desempenho dos isolados no incremento de parâmetros de desenvolvimento vegetativo destas espécies frutíferas foi o arranjo das raízes e o recipiente adotado (caixas rígidas) que apesar de não afetarem o crescimento lateral das raízes, provocaram deformações ao não direcionar o crescimento da mesma para baixo (Figuras 20 e 21).

O volume de substrato disponível para o desenvolvimento das mudas e raízes de cerejeira-do-mato e grumixameira micorrizadas, também não foi adequado para observar a eficiência dos fungos, com relação ao crescimento das raízes e ao desenvolvimento da parte aérea das plantas. Neste sistema de produção as mudas das frutíferas se desenvolveram pouco, possivelmente em

função do pouco volume de substrato utilizado, o que restringiu o crescimento e desenvolvimento das plantas (Figura 20).



FIGURA 20. Produção inicial das mudas de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.) em caixas rígidas, na casa de vegetação da Faculdade de Agronomia/Departamento de Fitossanidade, UFRGS, Porto Alegre, 2008.



FIGURA 21. Crescimento do sistema radicular deformado em muda de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.) produzida em caixas rígida inoculada com FMA, na casa de vegetação da Faculdade de Agronomia/Departamento de Fitossanidade, UFRGS, Porto Alegre, 2008.



Peterson et al. (1991b) verificaram o efeito do volume do recipiente no crescimento de plantas de tomate e observaram que a restrição radicular pode diminuir o crescimento da parte aérea e raízes das plantas. Silveira (2006) ao cultivar inicialmente inóculos de FMAs em plantas aromáticas de *Mentha piperita* observou que em bandejas de isopor alveoladas de substratos com volume de 100 mL propiciaram melhor desenvolvimento de parte aérea e de colonização radicular do que o cultivo inicial no volume de 40 mL.

As suposições levantadas neste experimento foram esclarecidas quando as mudas de cerejeira-do-mato e de grumixameira foram transplantadas para sacos plásticos com volume maior de substrato (5 L) e demonstraram diferenças quanto aos parâmetros de crescimento em altura e diâmetro das plantas em resposta a eficiência das diferentes espécies de FMAs inoculadas. Foi possível observar que aos 151 dias após a repicagem das mudas de cerejeira-do-mato houve diferenças em relação aos parâmetros de crescimento das mudas micorrizadas com as espécies de *Gigaspora margarita*, *Acaulospora* sp. e *Scutellospora heterogama* e as plantas testemunhas (Figura 22 e 23).

Por sua vez, em relação ao *Glomus etunicatum* a resposta em altura foi menor que nas demais espécies inoculadas e igualou-se a *Acaulospora* sp. e a *Scutellospora heterogama* em relação ao diâmetro, sem diferir significativamente quando comparado a testemunha (Figuras 22 e 23). A eficiência de espécies de FMA em incrementar o desenvolvimento vegetativo das plantas vem sendo comentada por outros pesquisadores (Souza, 1995; Souza et al., 1999; Silva et al. 1999). É bastante conhecido que as espécies ou isolados de FMAs diferem em relação aos seus efeitos no crescimento da planta ou em funções específicas, bem como também são conhecidas diferenças destes efeitos de

acordo com a espécie vegetal associada (Rogers *et al.*, 1994; Sanders *et al.*, 1996).

Diferenças de desenvolvimento vegetativo de plantas de *Eucalyptus* foram observadas por Leles *et al.* (2000), ao testarem os métodos de produção de mudas em blocos prensados e em tubetes. Eles verificaram que aos dez meses de inoculação com FMAs, as mudas produzidas em blocos prensados apresentaram maior crescimento em altura e diâmetro em relação as mudas produzidas em tubetes. Eles atribuíram tal fato, a liberdade de desenvolvimento do sistema radicular no sistema de blocos prensados na absorção de água e nutrientes, uma vez que o volume de substrato explorado pelas raízes foi muito maior, em cada célula do bloco prensado (250 cm<sup>3</sup>), do que o dos tubetes (50 cm<sup>3</sup>).

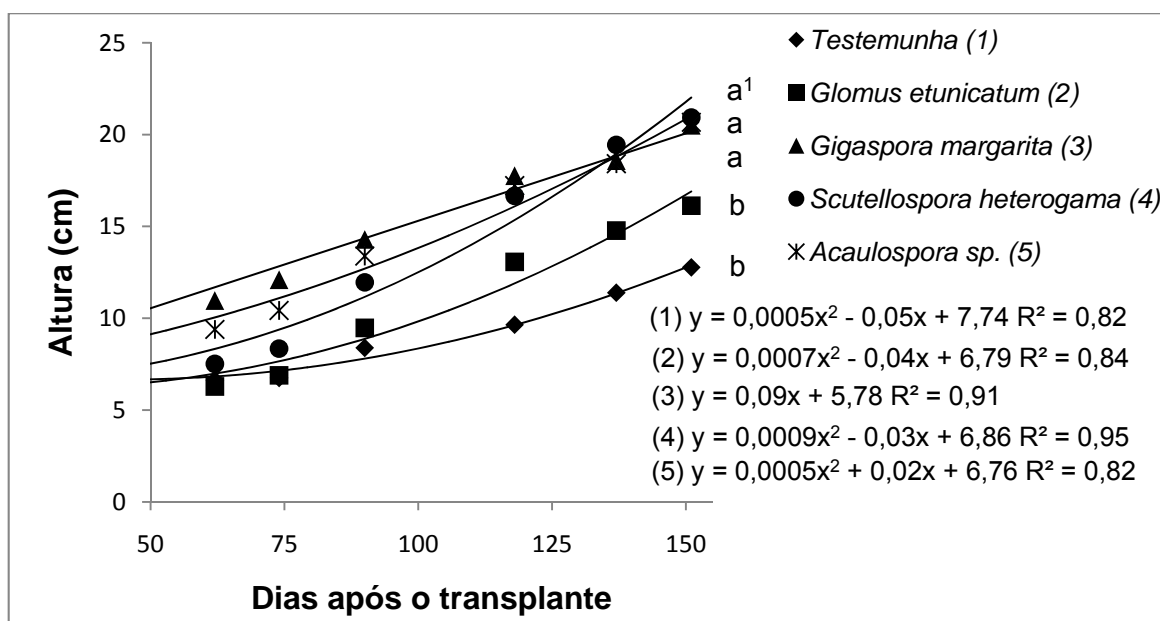


FIGURA 22. Altura média de mudas de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucreta* D.C.), submetidas a inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares, em casa-de-vegetação, após 151 dias do transplante para recipientes de 5 L. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008. <sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Duncan.

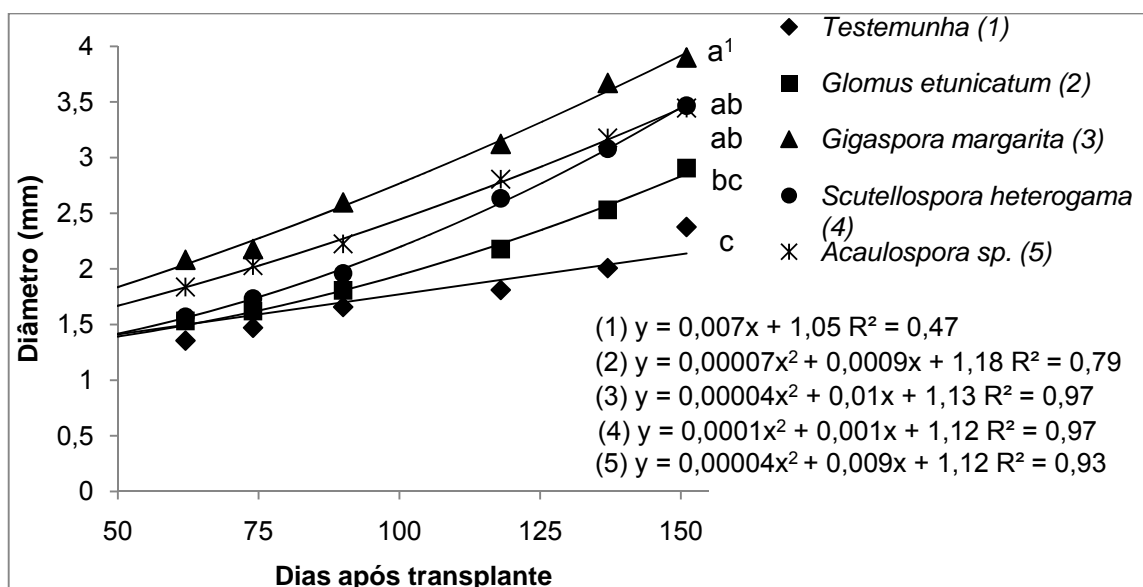


FIGURA 23. Diâmetro médio do colo de mudas de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* D.C.), submetidas a inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares, em casa-de-vegetação, após 151 dias do transplante para recipientes de 5 L. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008. <sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Duncan.

Pode-se concluir com este estudo que a influência dos FMAs no desenvolvimento vegetativo das mudas de cerejeira-do-mato varia conforme o isolado fúngico inoculado e o tipo de recipiente utilizado para a produção da muda.

## 5 CONCLUSÕES

Nas condições do presente estudo conclui-se, que:

- os frutos de cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira são ricos em conteúdo de vitamina C;
- cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira são plantas de difícil enraizamento, dificultando sua propagação pelo processo de propagação por estaquia;
- dentre os processos de enxertia testados, a enxertia de topo por garfagem de fenda cheia apresenta maior potencial para as três espécies de mirtáceas estudadas;
- ocorre incompatibilidade entre as espécies de mirtáceas testadas, somente ocorrendo pegamento na enxertia quando o porta-enxeto e o garfo são da mesma espécie;
- é possível o estabelecimento inicial de segmentos nodais de cerejeira-do-mato *in vitro*, somente em meio de cultura MS (1/2 de concentrações salinas);
- há dificuldade em se propagar vegetativamente as mirtáceas cerejeira-do-mato, pitangueira e grumixameira;
- as mirtáceas são intensamente colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares, com grande riqueza de espécies presentes, mas há variação nesta em função do genótipo, do local amostrado e da época de coleta;

- o desenvolvimento vegetativo de cerejeira do mato é acelerado por FMA, mas a eficiência da simbiose é dependente da espécie de endomicorriza e do tamanho do recipiente de cultivo.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No decorrer do trabalho pontuaram-se aspectos que podem ser relevantes para a continuidade de estudos posteriores com as espécies de mirtáceas testadas. Essas observações são comentadas a seguir:

A propagação vegetativa por estaquia dessas mirtáceas deve ser revista para a promoção do enraizamento das mesmas. O estabelecimento de novos protocolos que auxiliem o enraizamento se faz necessário visto que as espécies testadas falham em formar raízes adventícias. Isso pode ser um agravante para condução de trabalhos que se utiliza deste método de propagação quando espécies lenhosas de difícil enraizamento tendem a rápida oxidação.

Sugere-se que a propagação vegetativa por enxertia seja testada utilizando porta-enxertos de até dois anos e que os experimentos sejam conduzidos em condições de casa-de-vegetação e telado na mesma época do ano, à fim de se estabelecer as melhores condições ambientais para garantir a melhor sobrevivência de enxertos.

Para a continuidade de estudos de propagação vegetativa *in vitro* de cerejeira-do-mato devem ser testadas doses de reguladores de crescimento, que venham a favorecer a multiplicação dos explantes.

Os substratos devem apresentar características físicas que evitem acúmulo excessivo de água no momento da irrigação, que venham a comprometer o desenvolvimento do porta-enxerto.

Recomenda-se a quantificação dos esporos de FMAs logo após a coleta das amostras de solo para evitar a contaminação e degradação dos mesmos nas condições e tempo de armazenamento.

Os teores de fósforo e pH do solo podem vir a influenciar a ocorrência das espécies de FMAs nas frutíferas do gênero *Eugenia* nativas do Sul do Brasil.

A cerejeira-do-mato, a pitangueira e a grumixameira mostram-se interessantes para estudos de diversificação e sustentabilidade de agroecossistemas.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, L.K. ROBSON, A.D. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v.35, p.121-150, 1991.

AFEK, U.E.; RINALDELLI, J.A.; MENGE, E.L.V.; POND, J.&E. Mycorrhizal inoculum influence colonization of cotton, onion and pepper seedlings. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria.115, n.1, p.938-942, 1990.

AGOSTINI, S. **Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos de videira. 2002. 63 f.** Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. **Introductory mycology**. New York: John Wiley & Sons, Inc, 1996. 869p.

ALMEIDA de, C.O. **Fruticultura brasileira em análise**. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=24830>>. Acesso em: 03 de dezembro de 2008.

AMBIENTE BRASIL. **Depois de ser cultivada até na Nova Zelândia, goiabeira nativa será disponibilizada para produtores brasileiros**. Disponível em: <<http://noticias.ambientebrasil.com.br/noticia/?id=30519>>. Acesso em: 10 de dezembro de 2008.

ANDRADE, R.N.B.; FERREIRA, A.G. Germinação e armazenamento de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Camb.) - Myrtaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, vol.22, n.2, p.118-125, 2000.

ASSIS, T.F. de; TEIXEIRA, S.L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Eds). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, 1998. p.261-296.

ASSOCIATION OF ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 15th ed. Arlington, V.A.: **AOAC**, 1990.

ATAIDE, E.M.; ANDRADE, R.A.; MARTINS, A.B.G. **Comportamento e caracterização de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lam), nas condições de Jaboticabal, SP.** Disponível em:



<[http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais\\_xvii\\_cbf/fisiologia/863.htm](http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais_xvii_cbf/fisiologia/863.htm)>. Acesso em: 28 de dezembro de 2005.

AURICCHIO, M.T.; BACCHI, E.M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitangueira): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.62, n.1, p.55-61, 2003.

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

BALOTA, E.L.; LOPES, E.S. Introdução de fungo micorrízico arbuscular no cafeeiro em condições de campo: II. Flutuação sazonal de raízes, de colonização e de fungos micorrízicos arbusculares associados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.20, p.225-232, 1996.

BAYLIS, G.T.S. Host treatment and spore production by *Endogone*. **New Zealand Journal of Botany**, Wellington, v.7, p.155-160, 1969.

BECÁRD, G.; FORTIN, J.A. Early events of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation on Ri-DNA transformed roots. **New Phytologist**, Cambridge, v.108, p.211-218, 1988.

BÉCARD, G.; PICHE, Y. Fungal growth stimulation by CO<sub>2</sub> and root exudates in vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.55, n.9, p.2329-2325, 1989.

BERBARA, R.L.L.; FONSECA, H.M.A. Colonização radicular e esporulação de fungos micorrízicos arbusculares *in vitro*. In: SIQUEIRA, J.O. (Ed.). **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras: UFLA/DCS E DCF, 1996. p.39-65.

BEZERRA, J.E.F.; LEDERMAN, I.E.; PEDROSA, A.C.; DANTAS, A.P.; FREITAS, E.V. de. Performance of surinam cherry, *Eugenia uniflora* L., in Pernambuco, Brasil. **Acta Horticultura**, Vitória, v.370, 77-81, 1995.

BEZERRA, J.E.F.; LEDERMAN, I.E.; FREITAS, E.V.; SANTOS, V.F. Método de enxertia e idade de porta-enxerto na propagação da pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.21, n.3, p.262-265, 1999.

BEZERRA, J.E.F.; LEDERMAN, I.E.; FREITAS, E.V. de; SILVA JÚNIOR, J.F. da. Propagação de genótipos de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) pelo método de enxertia de garfagem no topo em fenda cheia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, p.160-162, 2002.

BOHRER, K.E.; FRIESE C.F.; AMON. J.P. Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in differing wetland habitats. **Mycorrhiza**, Adelaide, v.14, p.329-337, 2004.

BONFANTE, P.; PEROTTO, S. Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. **New Phytologist**, Cambridge, v.130, n.1, p.3-21, 1995.

BRUNDRETT, M.C. & KENDRICK, B. The mycorrhizal status, root anatomy, and phenology of plants in a sugar maple forest. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.66, p.1153-1173, 1988.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios Nutritivos In: TORRES, A.C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J.A. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. 1. ed. Brasília: EMBRAPA – SPI / EMBRAPA – CNPH, 1998. p.87-132.

CAMLOFSKI, A.M.O. **Caracterização do fruto de cerejeira (*Eugenia involucrata* DC) visando seu aproveitamento tecnológico**. 2008. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2008.

CARDOSO, J.T. **Produção *in vitro* de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de tomateiro**. 2005. 81 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

CARNEIRO, M.A.C.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; CARVALHO, D.; BOTELHO, S.A.; JUNIOR, O.J. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas nativas de ocorrência no sudeste do Brasil. **Cerne**, Lavras, v.4, 129-145, 1998.

CARNIEL, E. **Uso de fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de porta-enxertos de videira e no controle Biológico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *herbemontis***. 2004. 73 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

CARVALHO, P.C.L. de; SOARES FILHO, W. dos SANTOS; RITZINGER, R.; CARVALHO, J.A.B.S. Conservação de germoplasma de fruteiras tropicais com a participação do agricultor. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.24, n.1, p.277-281, 2002.

CASAGRANDE Jr., J.G.; DUTRA, L.F.; TONIETTO, A.; NACHTIGAL, J.C.; STRELOW, E. Efeito do estiolamento de ramos e do AIB no enraizamento de estacas herbáceas de jabuticabeira. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.6, n.1, p.24-26, 2000.

CIPOLLINI, M. L.; STILES, E. W. Fruit rot, antifungal defense, and palatability of fleshy fruits for frugivorous birds. **Ecology**, Washington, D.C., v.74, n.3, p. 751-762, 1993.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO – RS E SC. **Recomendações de adubação e de calagem para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 3. ed. Passo Fundo: SBCS – Núcleo Regional Sul, 1995. 244p.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 10. ed. Porto Alegre: SBCS, 2004. 400p.

CORDEIRO, M.A.S.; CARNEIRO, M.A.C.; PAULINO, H.B.; SAGGIN JÚNIOR, O.J. Colonização e densidade de esporos de fungos micorrízicos em dois solos do Cerrado sob diferentes sistemas de manejo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.35, n.3, p.147-153, 2005.

COUTINHO, E.F.; MIELKE, M.S.; ROCHA, M.S.; DUARTE, O.R. Enraizamento de estacas semi-lenhosas de fruteiras nativas da família Myrtaceae com o uso do ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.13, n.1, p.167-171, 1991.

CRIPPS, C. Endotrophic mycorrhiza. In: Maloy, O.C. MURRAY, T.D. **Encyclopedia of Plant Pathology**. Nova York: John Wiley & Sons, 2001. p.405-407.

DAL VESCO, L. L. e GUERRA, M. P. Organogênese e micropropagação da goiabeira serrana (*Feijoa sellowiana* Berg), **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 1, p.60-64, 1999.

DANTAS, A.P.; PEDROSA, A.C.; LEDERMAN, I.E.; BEZERRA, J.E.F.; MELO NETO, M.L. de. Técnicas de enxertia na propagação da pinheira (*Annona squamosa* L.) em viveiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.15, n.1, p.235-238, 1993.

DECLERCK, S.; STRULLU, D.G.; PLENCHETTE, C. Monoxenic culture of intraradical forms of *Glomus* sp. isolated from a tropical ecosystem: a proposed methodology for germplasm collection. **Mycologia**, Nova York, v.90, n.4, p.579-585, 1998.

DEGENHARDT, J.; FRANZON, R.C.; COSTA, R.R. **Cerejeira-do-mato (*Eugenia involucreta*)**. Pelotas: EMBRAPA CLIMA TEMPERADO, dez. 2007. 22p. (EMBRAPA-CPACT. Série Documentos, 211).

DIOP, T.A. *In vitro* culture of arbuscular mycorrhizal fungi: advances and future prospects. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.2, n.12, p.692-697, 2003.

DONADIO, L.C. Study of some Brazilian Myrtaceae in Jaboticabal-SP. **Acta Horticultura**, Curitiba, n.452, p.181-183, 1997.

DONADIO, L.C.; MÔRO, F.V.; SERVIDONE, A.A. **Frutas brasileiras**. Jaboticabal: Ed. Novos Talentos, 2002. 288p.

DONER, L.W.; BÉCARD, G. Solubilization of gellan gels by chelation of cations. **Biotechnology Techniques**, Kew, v.5, p.25-28, 1991.

DOUDS, Jr.D.; MILLNER, P.D. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v.74, p.77-93, 1999.

DUCROQUET, J.P.H.J.; HICKEL, E.R. Fenologia da goiabeira serrana (*Feijoa sellowiana*, Berg.) no alto do vale do Rio do Peixe, Santa Catarina. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.13, n.3, p.313-320, 1991.

EPSTEIN, L. **Pitanga, gostosa e perfumada!** Disponível em: [http://www.seagri.ba.gov.br/RevBaAgr/rev\\_031998/pitanga.htm](http://www.seagri.ba.gov.br/RevBaAgr/rev_031998/pitanga.htm). Acesso em: 10 de dezembro de 2008.

ESCUADERO V.G.; MENDOZA R.E. Seasonal variation of arbuscular mycorrhizal fungi in temperate grasslands along a wide hydrologic gradient. **Mycorrhiza**, Adelaide, v.15, p.291-299, 2005.

ESTRADA-LUNA, A.A.; DAVIES, F.T.; EGILLA, J.N. Mycorrhizal fungi enhancement of growth and gas exchange of micropropagated guava plantlets (*Psidium gualava* L.) during *ex vitro* acclimatization and plant establishment. **Mycorrhiza**, Adelaide, v.10, p.1-8, 2000.

FACHINELLO, J.C.; NACHTIGAL, J.C. Propagação da goiabeira serrana *Feijoa sellowiana* Berg através de mergulhia de cepa. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.49, n.1, p.37-39, 1992.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E.; FORTES, G.R.L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2ª ed. Pelotas: UFPEL, 1995. 178p.

FETT-NETO, A.G.; FETT, J.P.; GOULART, L.W.V.; PASQUALI, G.; TERMIGNONI, R.; FERREIRA, A.G. Distinct effect of auxin and light on adventitious root development in *Eucalyptus saligna* and *Eucalyptus globules*. **Tree Physiology**, Victoria, v.21, p.457-464, 2001.

FOCCHI, S.S.; SOGLIO, F.K. Dal.; CARRENHO, R.; SOUZA, P.V.D. de; LOVATO, P.E. Fungos micorrízicos arbusculares em cultivo de citros sob manejo convencional e orgânico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.5, p.469-476, 2004.

FOELKEL, C. As plantações de florestas no Brasil. In: BORÉM, A. (Ed.) **Biotechnology Florestal**. Viçosa: UFV, 2007, p.13-24.

FRANZON, R. Frutíferas nativas do Sul do Brasil. In: **Simpósio Nacional do Morango: Palestras do II Simpósio Nacional do Morango; I encontro de Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul**, Pelotas: EMBRAPA CLIMA TEMPERADO, 2004. 296p.

FRANZON, R.C.; ANTUNES, L.E.C.; RASEIRA, M.C.B. Efeito do aib e de diferentes tipos de estacas na propagação vegetativa da goiabeira-serrana (*Acca sellowiana* Berg.). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.10, n.4, p. 512-518, 2004.

FRANZON, R.C.; GONÇALVES, R.S.; ANTUNES, L.E.C.; RASEIRA, M.C.B.; TREVISAN, R. Propagação da pitangueira através da enxertia de garfagem. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.2, p.488-491, 2008.

GEDERMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogene extracted from soil by wet sieving and decating. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v.46, p.235-244, 1963.

GEMMA, J.K.; KOSKE, R.E. Seasonal variation in spore abundance and dormancy of *Gigaspora gigantea* and in mycorrhizal inoculum potential of a dune soil. **Mycologia**, New York, v.80, p.211-216, 1988.

GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; TROUVELOT, A. Potentialities and produces for the use of endomycorrhizas with special emphasis on high value crops. In: WHIPPS, J.M. and LUMSDEN, B. (Eds.) **Biotechnology of fungi for improving plant growth**. Cambridge: Cambridge University Press, 1990a. p.41-54.

GIANINAZZI, S.; TROUVELOT, A.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Role and use of mycorrhizas in horticultural crop production. In: INTERNATIONAL HORTICULTURAL CONGRESS, 23., 1990b, Florença. **Anais...** Florença: [S.n.], 1990b. p.25-30.

GIANINAZZI, S.; VOSÁTKA, M. Inoculum of arbuscular mycorrhizal fungi for production systems: science meets business. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.82, p.1264-1271, 2004.

GIANINAZZI-PEARSON, V.; TROUVELOT, A.; MORANDI, D.; MAROCKE, R., Ecological variations in endomycorrhizas associated with wild raspberry populations in the Vosges region. **Acta Oecologica/Oecologia Plantarum**, Paris, v.1, p.111-119, 1980.

GLASS, V. Pitangueira. **Globo Rural**, São Paulo, v.12, n.143, p.63

GONÇALVES, E.D.; CORRÊA, E.R.; TREVISAN, R. **Colheita, pós-colheita, manuseio, armazenamento e conservação de frutas nativas**. Pelotas: EMBRAPA CLIMA TEMPERADO, out. 2004. 124p. (EMBRAPA-CPACT. Série Documentos, 129).

GONÇALVES, J.L.M.; KAGEYAMA, P.Y.; FREIXÊDAS, F.; GONÇALVES, J.C.; GERES, W.L.A. Capacidade de absorção e eficiência nutricional de algumas espécies arbóreas tropicais. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2, 1992, Campos do Jordão. **Anais...** Campos do Jordão, 1992. p.463-469.

GONZAGA NETO, L.; ANDERSEN, O.; PINHEIRO, R.V.R.; SILVA, F.C.C. da; CONDE, A.R. Estudos de métodos de produção de porta-enxertos da goiabeira. III – Análises de crescimento em porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.4, n. único, p.59-66, 1982.

GOVINDARAJULU, M.; PFEFFER, P.E.; JIN, H.; ABUBAKER, J.; DOUDS, D.D.; ALLEN, J.W.; BÜCKING, H.; LAMMERS, P.J.; SHACHAR-HILL; Y. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Nature**, Londres, v.435, p.819-823, 2005.

GRESSLER, E.; PIZO, M.A.; MORELLATO, L.P.C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.29, n.4, p.509-530, 2006.

GUERRA, D.; DAHMER, N.; BARROS, I.B.I.; FRANKE, L.B.; SOUZA, P.V.D. de; SCHWARZ, S.F. Propagação de goiabeira-serrana por estaquia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 20, 2008, Vitória. **Resumos...** Vitória: INCAPER, 2008

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E. **Plant Propagation**. 4<sup>th</sup> ed. New Jersey: Prentice-Hall, Inc., 1983. 727p.

HAYMAN, D. S. Mycorrhizal populations of sown pastures and native vegetation in Otago, New Zealand. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, v.21, p.271-276, 1978.

HONRUBIA, M.; TORRES, P.; DIAZ, G.; MORTE, A. **Biotecnología forestal: micorrización y micropropagación**. Murcia: Universidad de Murcia, 1993. 92p.

HUNG, L.L.L.; SYLVIA, D.M. Production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus inoculum in aeroponic culture. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.54, n.2, p.353-357, 1988.

INVAM. International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi. Disponível: < <http://invam.caf.wvu.edu/>>. Acesso em: 23 de março de 2008.

JEFFRIES, P.; SPYROPOULOS, T.; VARDAVARKIS, E. Vesicular arbuscular mycorrhizal status of various crops in different agricultural soils of northern Greece. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.5: p.333-337, 1988.

JENKIS, W.R. A rapid, centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, Washington, v.48, p.692, 1964.

JONES, M.D.; SMITH, S.E. Exploring functional definitions of mycorrhizas: are mycorrhizas always mutualisms? **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.82, p.1089-1109, 2004.

KLUGE, R.A.; NACHTIGAL, J.C.; FACHINELLO, J.C.; BILHALVA, A.B. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado**. 2. ed. Campinas: Livraria e Editora Rural, 2002. 214p.

KOHAMA, S.; MALUF, A.M.; BILIA, D.S.C; BARBEDO, C.J. Secagem e armazenamento de *Eugenia brasiliensis* LAM. (Grumixameira). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n.1, p.72-78, 2006.

LATTUADA, D.S.; SOUZA, P.V.D. de; GONZATTO, M.P.; SCHWARZ, S.F. Enxertia Herbácea em Myrtaceae nativas do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 20, 2008, Vitória. **Anais...** Vitória: DCM/Incaper, 2008.

LEAL, P.L.; MARTINS, M.A.; RODRIGUES, L.A.; SCHIAVO, J.A. Crescimento de mudas micropropagadas de bananeira micorrizadas em diferentes recipientes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.27, n.1, p.84-87, 2005.

LEDERMAN, I.E.; SILVA, M.F.F. da; BEZERRA, J.E.F.; SANTOS, V.F. dos. Influência da idade do porta-enxerto e do tipo de enxertia na propagação de graviola. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.6, p.613-615, 1997.

LELES, P.S.S.; CARNEIRO, J.G. de A.; BARROSO, D.Q.; MORGADO, I.F. Qualidade de mudas de *Eucalyptus* spp. produzidas em blocos prensados e em tubetes. **Revista Árvore**, Viçosa, v.24, p.13-20, 2000.

LIMA, V.L.A.G. de; MÉLO, E. de A.; LIMA, L. dos S.; NASCIMENTO, P.P. do. Caracterização física-química e sensorial de pitanga roxa. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.22, n.3, p.382-385, 2000.

LIN, M.T. Mycorrhizae: applications in agriculture, horticulture, silviculture and land reclamation. In: XXXVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 30, 2005, Brasília. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília. 2005. p.511-514.

LLOYD, G. McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings International Plant Propagators Society**, Seattle, v.30, p.421-427, 1980.

LOPES, P.Z. **Cultivo *in vitro* de raízes de tomateiro, menta e videira para produção de inoculo de fungos micorrízicos arbusculares**. 2003. 68 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002, v.1, 368 p.

LOURENÇO, J.C.; PAULINO, R.D.; LIMA, K.A. de; FERRAZ, E.V. **A evolução do agronegócio brasileiro no cenário atual**. Disponível em: <[http://www.administradores.com.br/artigos/a\\_evolucao\\_do\\_agronegocio\\_brasileiro\\_no\\_cenario\\_atual/24824/](http://www.administradores.com.br/artigos/a_evolucao_do_agronegocio_brasileiro_no_cenario_atual/24824/)>. Acesso em: 03 de dezembro de 2008.

LOVATO, P.E.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; TROUVELOT, A.; GIANINAZZI, S. Micorrização de plantas micropropagadas. In: SIQUEIRA, J. O. (Ed.). **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras/DCS e DFC, 1996, p.195-201.

LOVATO, P.E.; GUILLEMIN, J.P.; GIANINAZZI, S. Application of commercial arbuscular mycorrhizal fungal inoculants to the establishment of micropropagated grapevine rootstock and pineapple plants. **Agronomie**, Paris, v.12, p.873-880, 1992.

LOVATO, P.E.; HAMMATT, N.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Mycorrhization of micropropagated mature wild cherry (*Punus avium* L.) and common ash (*Fraxinus excelsior* L.). **Agricultural Science in Finland**, Jokioinen, v.3, p. 297-302, 1994.

MANICA, I. **Frutas nativas, silvestres e exóticas 2: técnicas de produção e mercado, feijoa, figo-da-índia, fruta-pão, jaca, lichia, mangaba**. Porto alegre: Cinco Continentes, 2002. 541p.

MENGE, J.; GERDERMANN, J.W. LEMBRIGHT, H.W. Mycorrhizal fungi and citrus beneficial effects. **Citrus Industry Magazine**, Bartow, v.56, p.16-18, 1975.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Ed. UFLA, 2002, 523p.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Ed. UFLA, 2006, 729p.

MORTON, J.B.; BENNY, G.L. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. **Mycotaxon**, Ithaca, v.37, p.471-491, 1990.

MOSSE, B.; BOWEN, G.D. The distribution of *Endogone* spores in some Australian and New Zealand soils, and in an experimental field at Rothamsted. **Trans. Br. Mycol. Soc**, London, v.51, p.485-492, 1968.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Berne, v.15, p.473-498, 1962.

MUTHUKUMAR, T.; UDAIYAN, K. Seasonality of vesicular-arbuscular mycorrhizae in sedges in a semi-arid tropical grassland. **Acta Oecologica**, Paris, v.23, p.337-347, 2002.

NAGY, S. Vitamin C contents of citrus fruit and their products: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, n.187, p.530-534, 1980.

NASCIMENTO, A.C.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R.C.; PORTO, J.M.; NOGUEIRA, G.; SOARES, F.P. AIB e BAP no cultivo *in vitro* de *Eugenia pyriformis* Cambess. **Revista Acadêmica. Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v.6, n.2, p.223-228, 2008.

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

NEWSHAM, K.K.; FITTER, A.H.; WATKINSON, A.R. Multi-functionality and biodiversity in arbuscular mycorrhizas. **Trends in Ecology and Evolution**, Oxford, v.10, n.10, 407-411, 1995.

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

OLIVEIRA, A.L. de; BRUNINI, M.A.; SALANDINI, C.A.R.; BAZZO, F.R. Caracterização tecnológica de jaboticabas ‘Sabará’ provenientes de diferentes



regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.3, p.397-400, 2003.

OLIVEIRA, F.M.N.; FIGUEIRÊDO, R.M.F.; QUEIROZ, A.J.M. Análise comparativa de polpas de pitanga integral, formulada e em pó. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.8, n.1, p.25-33, 2006.

OLIVIER, J.J. Initiation of the surinam cherry (*Eugenia uniflorum*) in tissue culture. Nelspruit, South Africa: Instituut vir Tropiese en Subtropiese Gewasse, 1997. p.5-6. (Inligtingsbulletin, 295).

OLTRAMARI, A.C.; PEDROTTI, E.L.; NODARI, R.O. Protocolo de micropropagação da Goiabeira Serrana; **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.1, p.61-68, 2000.

OUIMET, R.; CAMIRÉ, C.; FURLAN, V. Effect of soil K, Ca and Mg saturation and endomycorrhization on growth and nutrient uptake of sugar maple seedlings. **Plant and Soil**, Hague, v.179, p.207-216, 1996.

PAROUL, N.; MOSSI, A.; CANSIAN, R.L.; EMMERICH, D.J.; MALVESTI, A.L.; BOSCHETTO, D.L.; RIGO, J. Avaliação química e antimicrobiana do óleo essencial de Pitanga (*Eugenia uniflora* L.). In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 30., 2007, Águas de Lindóia. **Resumos...** Águas de Lindóia: SBQ, 2007.

PAROUL, N.; ZANIN, E.L.; BERARDIN, R.; PIOVESAN, E.; MOSSI, A.; CANSIAN, R.L.; EMMERICH, D.J. **Avaliação da composição química do óleo volátil de Cerejeira (*Eugenia involucrata* DC)**. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 30., 2007, Águas de Lindóia. **Resumos...** Águas de Lindóia: SBQ, 2007.

PERES, L.E.P. Bases fisiológicas e genéticas da regeneração de plantas *in vitro*. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n.25, p.44-48, 2002.

PÉREZ-TORNERO, O.; BURGOS, L. Different media requirements for micropropagation of apricot cultivars, **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.63, p.133-141, 2000.

PETERSON, T.A.; COHEN, J.D.; BUTA, J.G.; KRIZEK, D.T. Influence of root restriction on tomato: changes in leaf cell expansion, abscisic acid and indole-3-acetic acid. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.96, p.78, 1991a. Supplement.

PETERSON, T.A.; REINSEL, M.D.; KRIZEK, D.T. Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill., cv. 'Better Bush') plant response to root restriction. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.42, p.1233-1240, 1991b.

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

PILLAR, V.D. **MULTIV: Software para análise multivariada, auto-reamostragem bootstrap e testes de aleatorização**. Porto Alegre, Departamento de Ecologia, UFRGS. (versões para Macintosh e Windows). 2001.

PIO, R.; GONTIJO, T.C.A.; RAMOS, J.D.; CHALFUN, N.N.J. Características físico-químicas de frutos de pitangueira em função da altura de inserção na planta. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.11, n.1, p.105-107, 2005.

PORTER, W.M.; ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. Effect of rate of application of superphosphate on populations of vesicular arbuscular endophytes. **Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry**, Melbourne. V.18, p.573–578, 1978.

PORTER, W.M.; ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. Field survey of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in relation to pH. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v.24, p.659–662, 1987.

QUOIRIN, M.; LEPOIVRE, P.; BOXUS, P. Un premier bilan de 10 années de recherches sur les cultures de méristèmes et la multiplication *in vitro* de fruitiers ligneux. **Comptes Rendus des Recherches Agronomiques**, Gembloux, p.93-117, 1977.

RADMANN, E.B.; FACHINELLO, J.C.; PETERS, J.A. Efeito de auxinas e condições de cultivo no enraizamento *in vitro* de porta-enxertos de macieira 'M-9'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.3, p.624-628, 2002.

RAI, M.K. Current advances in mycorrhization in micropropagation. **In vitro Cellular Development Biology-Plant**, Wallingford, v.37, n.2, p.158-167, 2001.

RIVERO, R.M., RUIZ, J.M., ROMERO, L. Role of grafting in horticultural plants under stress conditions. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, Helsinke, v.1, n.1, p.70-74, 2003.

ROGERS, J.B.; CHRISTIE, P.; LAIDLAW, A.S. Some evidence of host specificity in arbuscular mycorrhizas. **Pedosphere**, Beijing, v.4, p.377-381, 1994.

SALLES, J.F.; SOUZA, F.A. de. **Revisões em micorriza I: técnicas moleculares aplicadas ao estudo dos fungos micorrízicos arbusculares**. Seropédica: EMBRAPA AGROBIOLOGIA, nov. 1998. 24p. (EMBRAPA-CNPAB. Série Documentos, 68).

SANCHOTENE, M.C.C. **Frutíferas nativas úteis à fauna na arborização urbana**. 2. ed. Porto Alegre: Ed. SAGRA, 1989, 306p.

SANDERS, I.R.; ALT, M.; GROPE, K.; BOLLER, T.; WIEMKEN, A. Identification of ribosomal DNA polymorphisms among and within spores of the Glomales – application to studies on the denetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungal communities. **New Phytologist**, Cambridge, v.133, p.123-134, 1995.

SANDERS, I.R.; CLAPP, J.P. WIEMKEN, A. The genetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in natural ecosystems – A key to understanding the ecology and functioning of mycorrhizal symbiosis, **New Phytologist.**, Cambridge, v.133:123-134, 1995.

SANDERS, I.R. Intraspecific genetic variation in arbuscular mycorrhizal fungi and its consequences for molecular biology, ecology, and development of inoculum. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.82, p.1057-1062, 2004.

SANTARÉM, E. R.; ASTARITA, L.V. Biotecnologia Vegetal: Cultura de tecidos vegetais, **Revista Científica UNICRUZ**, Cruz Alta, v.1, n.1, p.18-26, 1999.

SANTOS, A.F.; SILVA, S.M.; MENDONÇA, R.M.N.; SILVA, M.S.; ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H.A.C. Alterações fisiológicas durante a maturação de pitanga (*Eugenia uniflora* L.). **Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, Miami, v.46, p.52-54, 2002.

SANTOS, C.M.R.; FERREIRA, A.G.; ÁQUILA, M.F.A. Característica de Frutos e Germinação de Sementes de Seis Espécies de Myrtaceae Nativas do Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.14, n.2, p.13-20, 2004.

SAS. Institute Statistical Analysis System. **User's guide**: version 8.2 ed. Cary: SAS Institute, 2001.

SCHIAVO, J.A.; MARTINS, M.A. Produção de mudas de goiabeira (*Psidium guajava* L.), inoculadas com o fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum*, em substrato agroindustrial. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.2, p.519-523, 2002.

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

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

SILVA, C.V.; BILIA, D.A.C.; MALUF, A.M.; BARBEDO, C.J. Fracionamento e germinação de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambesss. – Myrtaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.26, n.2, p.231-221, 2003,

SILVA, C.V.; BILIA, D.A.C.; BARBEDO, C.J. Fracionamento e germinação de sementes de *Eugenia*. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.27, n.1, p.86-92, 2005.

SILVA, R.P.; SOUZA, P.V.D. de; AMARAL, A.L. do; KUHN, G.B.; SILVA, C.M. da. Influência de fungos micorrízicos arbusculares na aclimação do porta-enxerto de videira 101-14 micropropagado. In CONGRESSO BRASILEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 9, 1999, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: EMBRAPA-CNPV, 1999. p.137.

SILVA, R.S.M.; CHAVES, L.J.; NAVES, R.V. Caracterização de frutos e árvores de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) no sudeste do estado de Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.2, p.330-334, 2001.

SILVEIRA, S.V. da; SOUZA, P.V.D. de; KOLLER, O.C. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos de abacateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.3, p.303-309, 2002.

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

SIMÃO, S. **Tratado de Fruticultura**. Piracicaba: FEALQ, 1998. 760p.

SIMARELLI, M. Afinal, o que é biodiversidade? **Revista Frutas e Derivados**. São Paulo, ed. 8, p.33-34, 2007.

SIQUEIRA, J.O.; KLAUBERG FILHO, O. Micorrizas arbusculares: a pesquisa brasileira em perspectiva. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C.E. (Eds.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: SBCS, 2000. v.1, p.235-264.

SIQUEIRA, J.O.; SAGGIN JÚNIOR, O.J. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. **Mycorrhiza**, Adelaide, v.11, n.5, p.245-255, 2001.

SIQUEIRA, J.O.; LAMBAIS, M.R.; STÜRMER, S.L. Fungos micorrízicos arbusculares. **Biociência**. São Paulo: KLB Publicações, 2002. v.25, p.12-21.

SMITH, S.E. Mycorrhizas of autotrophic higher plants. **Biological Review**, London, v.55, p.475-510, 1980.

SMITH, S.E.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Physiological interactions between symbionts in Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal plants. **Annual Review of Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.39, n.1, p.221-244, 1988.

SMITH, S.E.; READ, D.J. **Mycorrhizal symbiosis**. 2<sup>nd</sup> ed. London: Academic Press, 1997. 605p.

SOARES, G.C.; FERRI, J.; SOUZA, J.A.; SILVA, L.C.; SCHUCH, M.W. Multiplicação *in vitro* de feijoa (*Acca sellowiana* (Berg) Burret) e pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). Pelotas, RS, 2005. In: XIV Congresso de Iniciação Científica da UFP, 2005. **Anais...** Pelotas, RS. Disponível em: < [http://www.ufpel.edu.br/xivcic/arquivos/CA\\_00125.rtf](http://www.ufpel.edu.br/xivcic/arquivos/CA_00125.rtf) > Acesso em: 10 de setembro de 2006.

SOBRAL, M. **A família Myrtaceae no Rio Grande do Sul**. São Leopoldo: Ed. UNISINOS, 2003, 215p.

SOUZA, J.A.; SCHUCH, M.W.; SILVA, L.C.; FERRI, J.; SOARES, G.C. Solifificante no meio de cultura e tamanho do explante no estabelecimento da propagação *in vitro* de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.13, n.1, p.115-118, 2007.

SOUZA, J.A.; SCHUCH, M.W.; DONINI, L.P.; RIBEIRO, M.F. Tipos e concentrações de citocinina na multiplicação *in vitro* de pitangueira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p.2046-2048, 2008.

SOUZA, P.V.D. **Optimización de la producción de plantones de cítricos em vivero. Oculación con micorrizas vesiculares-arbusculares**. Valencia, 1995. 201 f. Tese ( Doutorado) – Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, 1995

SOUZA, P.V.D. de; AMARAL, A.L. do; SILVA, R.P. da; KUHN, G.B.; FREITAS, R.S. de. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares na aclimação de porta-enxerto 1103 Palsen micropropagado. In CONGRESSO BRASILEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 9, 1999, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: EMBRAPA-CNPV, 1999. p.135

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

SOUZA, P.V.D. de; SCHMITZ, J.A.K.; FREITAS, R.S. de; CARNIEL, E.; CARRENHO, R. Identificação e quantificação de fungos micorrízicos arbusculares autóctones em municípios produtores de citros no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.4, p.553-558, 2002.

STÜRMER, S.L.; BELLEI, M.M. Composition and seasonal variation of spore populations of arbuscular mycorrhizal fungi in dune soils on the island of Santa Catarina, Brazil. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.72, n.3, p.359-363, 1994.

SUGUINO, E.; GLÓRIA, B.A.; ARAÚJO, P.S.R.; SIMÃO, S. Propagação vegetativa de camu-camu por meio de enxertia intergenérica na família Myrtaceae. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.12, p.1477-1482, 2003.

SYLVIA, D.M. Spatial and temporal distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Uniola paniculata* in Florida foredunes. **Mycologia**, New York, v.78, p.728-734, 1986.

TEIXEIRA, J.B. Limitações ao processo de cultivo *in vitro* de espécies lenhosas. Embrapa-Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Simpósios, 2001.

TENNANT, D. A test of a modified line intersect method of estimating root length. **The Journal of Ecology**, Oxford, v.63, n.3, p.995-1001, 1975.

TEREDA, M.; WATANABE, Y.; KUNITOMA, M.; HAYASHI, E. Differential rapid analysis of ascorbic acid and ascorbic acid 2-sulfate by dinitrophenylhydrazine method. **Analytical Biochemistry: methods in the biological sciences**, Orlando, v.84, p.604-608, 1978.

THOMSON, B.D.; ROBSON, A.D.; ABBOTT, L.K. Effects of phosphorus on the formation of mycorrhizas by *Gigaspora calospora* and *Glomus fasciculatum* in

relation to root carbohydrates. **New Phytologist**, Cambridge, v.103, 751–765, 1986.

THUM, A.B.; COSTA, E.C. Espécies florestais nativas hospedeiras da mosca-das-frutas *Anastrepha fraterculus* (Wied. 1830) (Diptera: Tephritidae). **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v.5/6, n.1, p.50-56, 1998/1999.

TIWARI, P.; ADHOLEYA, A. *In vitro* co-culture of two AMF isolates *Gigaspora margarita* and *Glomus intraradices* on Ri T-DNA transformed roots. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v.2006, n.1, p.39-43, 2002.

TREVISAN, R. ANTUNES, L.E.C.; GONÇALVES, E.D. **Propagação de plantas frutíferas nativas**. Pelotas: EMBRAPA CLIMA TEMPERADO, out. 2004. 124p. (EMBRAPA-CPACT. Série Documentos, 129).

UEMATSU C.; TSUJIMOTO M.; SUGIMOTO M. *In vitro* Propagation of *Eugenia uniflora* L. **Plant Biotechnology**, Sheffield, v.16, n.21, p.159-162, 1999.

VALLILO, M.I.; GARBELOTTI, M.L.; OLIVEIRA, E.; LAMARDO, L.C.A. Características físicas e químicas dos frutos do cambucizeiro (*Campomanesia phaea*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.27, n. 2, p.241-244, 2005.

VESCO, L.L.D.; GUERRA, M.P. Organogênese e micropropagação da goiabeira serrana (*Feijoa sellowiana*) Berg. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.21, n.1, p.60-64, 1999.

VIDAL, M.T.; AZCÓN-AGUILAR, C.; BAREA, J.M. Mycorrhizal inoculation enhances growth and development of micropropagated plants of avocado. **Hortscience**, Alexandri, v.27, n.7, 1992.

YOUNG, J.L.; DAVIS, E.A.; ROSE, S.L. Endomycorrhizal fungi in breeder wheats and triticale cultivars field-grown on fertile soil. **Agronomy Journal**, Madison, v.77, p.219-224, 1985.

ZANDAVALLI, R.B.; STÜRMER, S.L.; DILLENBURG, L.R. Species richness of arbuscular mycorrhizal fungi in forests with *Araucaria* in Southern Brazil. **Hoehnea**, São Paulo, v.35, p.63-68, 2008.

ZANGARO, W.; NISIZAKI, S.; NAKANO, E.M.; DOMINGOS, J.C.B. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas nativas da bacia do rio Tibagi, Paraná. **Cerne**, Lavras, v.8, n.1, p.77-87, 2002.

ZEZÉ, A.; SULISTYOWATI, E.; OPHEL-KELLER, K.; BARKER, S.; SMITH, S. Intersoral genetic variation of *Gigaspora margarita*, a vesicular arbuscular mycorrhizal fungus, revealed by M13 minisatellite-primed PCR. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.63, n.2, p.676-678, 1997.