

NOTAS CIENTÍFICAS

Identificação e quantificação de fungos micorrízicos arbusculares autóctones em municípios produtores de citros no Rio Grande do Sul⁽¹⁾

Paulo Vítor Dutra de Souza⁽²⁾, José Antônio Kroeff Schmitz⁽³⁾,
Ronaldo Santos de Freitas⁽⁴⁾, Edgar Carniel⁽⁴⁾ e Rosilaine Carrenho⁽⁵⁾

Resumo – O objetivo deste trabalho foi identificar e quantificar os esporos de FMA presentes em viveiros e pomares de citros no Rio Grande do Sul. Foram coletadas amostras de solo e de raízes de dez viveiros e doze pomares de oito municípios produtores de citros, nas quais avaliaram-se conteúdo nutricional, número de esporos por 100 g de solo seco e colonização das radículas, e determinaram-se as espécies autóctones. As espécies, em ordem decrescente de ocorrência, foram: *Glomus macrocarpum* > *Scutellospora heterogama* > *Acaulospora scrobiculata* = *Acaulospora birreticulata* > *Glomus invermaium* = *Glomus occultum* = *Entrophospora colombiana* > *Glomus claroideum* = *Glomus constrictum* > *Scutellospora persica*.

Termos para indexação: *Glomus*, *Scutellospora*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, colonização.

Identification and quantification of native arbuscular mycorrhizae fungi of citrus in the State of Rio Grande do Sul, Brazil

Abstract – The objective of this work was to identify and quantify AMF spores present in citrus nurseries and orchards in Rio Grande do Sul, Brazil. Soil and root samples were collected at ten nurseries and twelve citrus orchards. Mineral composition of the soil samples was determined as well as the number of spores in 100 g of dry soil, root colonization and native species taxonomic identification. AMF species, in decreasing order of occurrence were: *Glomus macrocarpum* > *Scutellospora heterogama* > *Acaulospora scrobiculata* = *Acaulospora birreticulata* > *Glomus invermaium* = *Glomus occultum* = *Entrophospora colombiana* > *Glomus claroideum* = *Glomus constrictum* > *Scutellospora persica*.

Index terms: *Glomus*, *Scutellospora*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, colonization.

⁽¹⁾ Aceito para publicação em 18 de maio de 2001.

⁽²⁾ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Fac. de Agronomia, Dep. de Horticultura e Silvicultura, Caixa Postal 776, CEP 91501-970 Porto Alegre, RS. E-mail: pvdsouza@vortex.ufrgs.br

⁽³⁾ UFRGS, Fac. de Agronomia. Bolsista da Capes. E-mail: joseschmitz@hotmail.com

⁽⁴⁾ UFRGS, Fac. de Agronomia, Dep. de Horticultura e Silvicultura. Bolsista de Iniciação Científica do CNPq. E-mail: edgar.car@bol.com.br

⁽⁵⁾ Instituto de Botânica, Caixa Postal 4005, CEP 01061-970 São Paulo, SP. E-mail: rcarrenho@uem.br

No Rio Grande do Sul, a produção de mudas é tradicionalmente feita no campo. No entanto, problemas fitossanitários têm exigido mudanças no processo produtivo, havendo necessidade de produzi-las em cultivo protegido. Nestas condições, há necessidade do emprego de substratos desinfestados, visando à eliminação de patógenos; porém a desinfestação também elimina microrganismos benéficos, como os fungos micorrízicos arbusculares (FMA). A simbiose entre as plantas e FMA resulta em melhorias nutricionais, redução de perdas por estresses (Newsham et al., 1995; Chu et al., 1997; Pinochet et al., 1998) e conseqüente crescimento mais rápido, com economia de insumos e redução da contaminação ambiental (Colozzi-Filho & Balota, 1994). Os citros são altamente dependentes dos FMA (Menge et al., 1975), tendo estes sido encontrados e identificados na maioria das regiões citrícolas do mundo (Tzean & Huang, 1980; Nemeč et al., 1981; Camprubí, 1994), inclusive em alguns estados brasileiros, como Sergipe, Bahia e Minas Gerais (Oliveira et al., 1986; Siqueira et al., 1989; Weber & Oliveira, 1994; Oliveira & Coelho, 1995). Porém, o grau de dependência é variável segundo a espécie de FMA e as condições edafoclimáticas locais (Daniels & Trappe, 1980; Siqueira, 1994). Em função destes fatores, faz-se necessário o conhecimento das espécies de FMA autóctones, por estarem mais adaptadas àquelas condições, portanto com um maior potencial de utilização comercial na produção de mudas.

O objetivo deste estudo foi identificar e quantificar os esporos de FMA presentes em viveiros e pomares da região citrícola do Rio Grande do Sul.

Avaliou-se a ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em dez viveiros e doze pomares de oito municípios do Rio Grande do Sul (Tabela 1). Os pomares amostrados tinham de seis a doze anos de idade, sendo todos enxertados sobre *Poncirus trifoliata* L. Raf. As mudas nos viveiros apresentavam de um a dois anos de idade, tendo sido coletadas amostras aleatórias de diferentes porta-enxertos. As subamostras de solo rizosférico e radículas foram coletadas em fevereiro de 1997, na projeção da copa das plantas a uma profundidade de 0 a 20 cm, em dez pontos distintos, escolhidos ao acaso, para formação das amostras compostas. As subamostras foram coletadas nos quatro quadrantes de uma mesma planta.

As radículas, medindo aproximadamente 10 cm de comprimento e coletadas em número de dez por planta, foram lavadas com água destilada e, em seguida, conservadas em FAA (Honrubia et al., 1993). As raízes foram cortadas em segmentos de um centímetro de comprimento, separando-se, ao acaso, 50 segmentos por pomar ou viveiro, sendo estes clarificados e tingidos (Phillips & Hayman, 1970) e, em seguida, examinados em microscópio para avaliação da presença e intensidade de hifas, vesículas e arbúsculos (Nemeč, 1992). A porcentagem de raízes colonizadas foi obtida através da relação: número de segmentos infectados/total analisado.

As amostras de solo foram secas à sombra, ao ar livre e à temperatura ambiente. A seguir, foram determinados os teores de matéria orgânica, pH, e macronutrientes, e quantificada a presença de esporos de FMA, mediante centrifugação em gradiente de sacarose (Jenkins, 1964), contando-se, a seguir, o número de esporos viáveis por 100 g de solo seco em estereomicroscópio. Os esporos coletados foram classificados por espécie, segundo Schenck & Perez (1988).

De modo geral, as porcentagens de colonização radicular com FMA foram elevadas (Tabela 1). Nos viveiros, a porcentagem de raízes colonizadas va-

riou de 62% a 86%. Nos pomares, com exceção de Pareci Novo I e II e de Capela de Santana II, as demais amostras apresentaram porcentagens de colonização superiores a 60%. No entanto, a intensidade de colonização, quantificada pela presença de estruturas, foi considerada baixa a moderada em relação às hifas, e baixa quanto às vesículas e arbúsculos nos segmentos de raízes analisados. Estes resultados podem ser explicados pelos elevados teores de P verificados em praticamente todas as amostras analisadas, os quais podem inibir o desenvolvimento de FMA no interior das raízes (Graham et al., 1981).

Foram isoladas dez espécies de FMA nas amostras coletadas em viveiros e pomares, com *Glomus macrocarpum* aparecendo em 21 das 22 amostras (95%), *Scutellospora heterogama* em 19 (86%), *Acaulospora birreticulata* e *A. scrobiculata* em nove (41%), *Entrophospora colombiana*, *Glomus invermaium* e *G. occultum* em seis (27%), *G. claroideum* e *G. constrictum* em cinco (23%), e *Scutellospora persica* em quatro (18%). *Glomus invermaium* apresentou o maior número médio de esporos por amostra (105,3), seguido de *G. macrocarpum* (88,3) e *G. claroideum* (82,2). *G. macrocarpum* destaca-se, no entanto, por apresentar ambos os índices (número médio de esporos por amostra e ocorrência relativa) elevados, enquanto as duas outras espécies anteriormente citadas apresentaram baixa ocorrência relativa de esporos (Tabela 2).

Tabela 1. Colonização radicular com fungos micorrízicos arbusculares a partir de amostras coletadas em viveiros e pomares da região citrícola do Rio Grande do Sul.

| Município | Local | Raízes colonizadas (%) | Presença de estruturas de FMA | | |
|-------------------|-------|------------------------|-------------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | | | Hifas ⁽¹⁾ | Vesículas ⁽²⁾ | Arbúsculos ⁽²⁾ |
| Viveiros | | | | | |
| Butiá | I | 78 | 0,90 | 0,30 | 0,70 |
| Capela de Santana | I | 86 | 1,94 | 0,92 | 1,51 |
| | II | 80 | 1,30 | 0,54 | 1,00 |
| Montenegro | I | 85 | 1,12 | 0,77 | 0,64 |
| | II | 62 | 0,89 | 0,48 | 0,78 |
| Pareci Novo | I | 63 | 0,77 | 0,30 | 0,30 |
| | II | 82 | 1,54 | 1,34 | 1,58 |
| S. S. do Caí | I | 75 | 1,27 | 1,00 | 1,06 |
| | II | 69 | 0,78 | 0,45 | 0,57 |
| Taquari | I | 82 | 1,70 | 0,80 | 1,00 |
| Média | | 76 | 1,22 | 0,69 | 0,91 |
| Pomares | | | | | |
| Butiá | I | 77 | 1,40 | 0,40 | 0,60 |
| Capela de Santana | I | 93 | 1,91 | 0,59 | 1,37 |
| | II | 59 | 0,69 | 0,24 | 0,50 |
| Eldorado do Sul | I | 83 | 1,40 | 0,70 | 1,00 |
| Montenegro | I | 61 | 0,84 | 0,57 | 0,88 |
| | II | 82 | 1,08 | 0,60 | 0,58 |
| Pareci Novo | I | 56 | 0,85 | 0,54 | 0,54 |
| | II | 22 | 0,22 | 0,11 | 0,08 |
| S.S. do Caí | I | 71 | 0,85 | 0,46 | 0,61 |
| | II | 80 | 1,82 | 0,63 | 1,12 |
| Taquari | I | 83 | 1,60 | 1,30 | 1,20 |
| Viamão | I | 76 | 1,00 | 0,80 | 0,90 |
| Média | | 70 | 1,05 | 0,58 | 0,78 |

⁽¹⁾Índice de presença de hifas de FMA, segundo Nemeç (1992): 0: ausência de estruturas; 1: presença fraca; 2: presença moderada; 3: presença intensa de estruturas. ⁽²⁾Índice de presença de vesículas ou arbúsculos de FMA, segundo Nemeç (1992): 0: ausência de estruturas; 1: 1 a 50 estruturas; 2: 51 a 100 estruturas; 3: mais de 100 estruturas por centímetro de radícula.

Em viveiros, 54,2% dos esporos coletados pertenciam à espécie *G. macrocarpum*, demonstrando sua supremacia sobre as demais (Tabela 2). Além desta espécie, *G. claroideum* (16,7%) e *G. invermaium* (7,7%) destacaram-se por sua presença na forma de esporos nos solos de viveiros. As demais espécies perfizeram os restantes 21,4% dos esporos encontrados nas amostras destes solos. Nos pomares, além dos 42,3% relativos a esporos de *G. macrocarpum*, as demais espécies também variaram significativamente quanto ao número total de esporos isolados. Nestas amostras também destacaram-se as espécies *G. invermaium* (24,1%) e *Scutellospora heterogama* (7,6%), ficando as demais espécies distribuídas nos 24% dos esporos encontrados nas amostras restantes.

À semelhança de estudos realizados em outras regiões citrícolas, como Flórida (Menge et al, 1975), Taiwan (Tzean & Huang, 1980), Califórnia (Nemec et al., 1981), e na Bahia (Oliveira et al., 1986, 1999), no presente estudo também houve supremacia das espécies pertencentes ao gênero *Glomus*. Porém, em outros levantamentos brasileiros (Caldeira et al., 1983; Siqueira et al., 1989; Weber & Oliveira, 1994), houve supremacia do gênero *Acaulospora*, sendo a mesma atribuída às condições químicas do solo.

As espécies de FMA encontradas nas amostras de solo recolhidas em viveiros e pomares em ordem decrescente de ocorrência, foram: *Glomus macrocarpum* > *Scutellospora heterogama* > *Acaulospora scrobiculata* = *Acaulospora birreticulata* > *Glomus invermaium* = *Glomus occultum* = *Entrophospora colombiana* > *Glomus claroideum* = *Glomus constrictum* > *Scutellospora persica*. A espécie *Glomus macrocarpum* está amplamente distribuída na região citrícola do Rio Grande do Sul, além de apresentar grande número de esporos. Outras espécies de FMA, como *Scutellospora heterogama*, *Acaulospora birreticulata* e *A. scrobiculata*, apesar de esta-

Tabela 2. Ocorrência relativa, número médio de esporos e frequência relativa (%) de esporos por espécie de FMA encontrada em solos de viveiros e pomares da região citrícola do Rio Grande do Sul.

| Espécie de FMA | Ocorrência relativa ⁽¹⁾ | Nº médio esporos/100 g solo seco | Frequência relativa em viveiros ⁽²⁾ | Frequência relativa em pomares |
|----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|--|--------------------------------|
| <i>Acaulospora birreticulata</i> | 9/22 | 12,4 | 2,0 | 3,8 |
| <i>Acaulospora scrobiculata</i> | 9/22 | 20,3 | 4,2 | 5,2 |
| <i>Entrophospora colombiana</i> | 6/22 | 15,7 | 1,3 | 3,5 |
| <i>Glomus claroideum</i> | 5/22 | 82,2 | 16,7 | 5,2 |
| <i>Glomus constrictum</i> | 5/22 | 24,2 | 0,4 | 5,6 |
| <i>Glomus invermaium</i> | 6/22 | 105,3 | 7,7 | 24,1 |
| <i>Glomus macrocarpum</i> | 21/22 | 88,3 | 54,2 | 42,3 |
| <i>Glomus occultum</i> | 6/22 | 17,7 | 4,4 | 1,3 |
| <i>Scutellospora heterogama</i> | 19/22 | 21,9 | 6,9 | 7,6 |
| <i>Scutellospora persica</i> | 4/22 | 17,0 | 2,2 | 1,4 |

⁽¹⁾Número de amostras em que foi encontrado/total de amostras. ⁽²⁾Número total de esporos da espécie/número total de esporos encontrados.

rem presentes em pequeno número de propágulos, apresentam boa distribuição, demonstrando sua adaptação às condições da região.

Referências

- CALDEIRA, S. F.; CHAVES, G. M.; ZAMBOLIM, L. Observações de micorriza vesicular-arbuscular em diferentes espécies de plantas. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 30, p. 19-24, 1983.
- CAMPRUBÍ, A. **Micorrizas en viveros de cítricos**: caracterización, selección de hongos y aplicación de esta biotecnología en un sistema de producción en campo. 1994. 267 f. Tesis (Doctoral) - Facultad de Biología, Barcelona. 1994.
- CHU, E. Y.; ENDO, T.; STEIN, R. L. B.; ALBUQUERQUE, F. C. Avaliação da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares sobre a incidência de fusariose da pimenta-do-reino. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 205-208, jun. 1997.
- COLOZZI-FILHO, A.; BALOTA, E. L. Micorrizas arbusculares. In.: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. (Ed.). **Manual de métodos empregados em microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa, 1994. p. 383-418.
- DANIELS, B. A.; TRAPPE, J. M. Factors affecting spore germination of the VAM fungus *Glomus epigeus*. **Mycologia**, New York, v. 72, n. 3, p. 457-471, May/June 1980.
- GRAHAM, J. H.; LEONARD, R. T.; MENGE, J. A. Membrane-mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. **Plant Physiology**, Rockville, v. 68, p. 548-552, 1981.
- HONRUBIA, M.; TORRES, P.; DIAZ, G.; MORTE, A. **Biotecnología forestal**: micorrización y micropropagación. Murcia: Universidad de Murcia, 1993. 92 p.
- JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v. 48, p. 692, 1964.
- MENGE, J.; GERDERMANN, J. W.; LEMBRIGHT, H. W. Mycorrhizal fungi and citrus beneficial effects. **Citrus Industry Magazine**, Bartow, v. 56, p. 16-18, 1975.
- NEMEC, S. *Glomus intraradix* effects on citrus rootstock seedling growth in various potting media. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, Inglaterra, v. 118, p. 315-323, June 1992.
- NEMEC, B.; MENGE, J. A.; PLATT, R. G.; JOHNSON, E. L. V. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with citrus in Florida and California and notes on their distribution and ecology. **Mycologia**, New York, v. 73, p. 113-127, 1981.
- NEWSHAM, K. K.; FITTER, A. H.; WATKINSON, A. R. Arbuscular micorrhiza protect an annual grass from pathogenic fungi in the field. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 83, n. 6, p. 991-1000, Dec. 1995.
- OLIVEIRA, A. A. R.; COELHO, Y. da S. Infecção micorrízica em pomares de citros no Estado de Sergipe. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 17, n. 3, p. 77-84, 1995.
- OLIVEIRA, A. A. R.; COELHO, Y. da S.; COUTO, R. C. S. Relação entre fungos micorrízicos arbusculares e incidência de declínio em lima ácida "Tahiti". **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 3, p. 342-345, dez. 1999.
- OLIVEIRA, A. A. R.; COELHO, Y. da S.; MATTOS, C. R. R. Infecção micorrízica em pomares de citros no Estado da Bahia. In.: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 8., 1986, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1986. p. 195-198.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v. 55, p. 158-161, Aug. 1970.

PINOCHET, J.; CAMPRUBÍ, A.; CALVET, C.; FERNANDEZ, C.; RODRÍGUEZ CABANA, R. Inducing tolerance to the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* by early mycorrhizal inoculation of micropropagated Myrabolan 29C plum rootstock. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 123, n. 3, p. 342-347, May 1998.

SCHENCK, N. C.; PEREZ, Y. **Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi**. Gainesville: University of Florida, 1988. 241 p.

SIQUEIRA, J. O. Micorrizas arbusculares. In.: ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa, 1994. p. 151-194. (Documentos, 44).

SIQUEIRA, J. O.; COLOZZI-FILHO, A.; OLIVEIRA, E. Ocorrência de micorrizas vesicular-arbusculares em agroecossistemas do Estado de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 12, p. 1499-1506, dez. 1989.

TZEAN, S. S.; HUANG, Y. S. The occurrence and formation of vesicular-arbuscular mycorrhizal of citrus and maize. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v. 21, p. 119-134, 1980.

WEBER, O. B.; OLIVEIRA, E. de. Ocorrência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em citros nos Estados da Bahia e Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 12, p. 1905-1914, dez. 1994.