

## Interação entre porta-enxertos de citros e fungos micorrízicos arbusculares

Marina Martinello Back<sup>1</sup>, Sandra Reith<sup>2</sup>, Julio Cesar Giuliani<sup>3</sup> & Paulo Vitor Dutra de Souza<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Horticultura e Silvicultura. Av. Bento Gonçalves 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil. backmarina@gmail.com

<sup>2</sup>Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado do Rio Grande do Sul e Associação de Crédito e Assistência Técnica. R. Jorge Fett, 84, CEP 95870-000, Bom Retiro do Sul, RS, Brasil. sandrarieth@hotmail.com

<sup>3</sup>Instituto Federal do Rio Grande do Sul, Campus de Bento Gonçalves. Av. Osvaldo Aranha 540, CEP 95700-000, Bento Gonçalves, RS, Brasil. juliocgiuliani@yahoo.com.br

<sup>4</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Horticultura e Silvicultura. Av. Bento Gonçalves 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil. pvdsouza@ufrgs.br

Recebido em 17.II.2016

Aceito em 07.VIII.2017

DOI 10.21826/2446-8231201772214

**RESUMO** – Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) promovem maior desenvolvimento de plantas, entretanto, a simbiose depende das espécies de ambos os simbiontes. Objetivou-se avaliar a interação entre porta-enxertos cítricos inoculados com espécies de fungos micorrízicos arbusculares. Testou-se três porta-enxertos citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. x *Citrus sinensis* (L.) Osbeck.], cunquateiro ‘Hong-Kong’ (*Fortunella hindsii* Swingle) e ‘Trifoliata’ (*Poncirus trifoliata*) inoculados com duas espécies de FMA (*Glomus etunicatum* W.N. Becker & Gerd. e *Acaulospora* sp.) e um tratamento não inoculado. Avaliou-se a altura (cm), o diâmetro do caule (mm), a área foliar (cm<sup>2</sup>/planta), o número de folhas, a massa fresca e seca da raiz e da parte aérea (g), o teor de reservas nos tecidos e a colonização dos FMA nas raízes. As espécies *G. etunicatum* e *Acaulospora* sp. colonizaram as raízes dos porta-enxertos, mas somente foram eficientes para o ‘Fepagro C37 Reck’. *Poncirus trifoliata* apresentou maior vigor em ausência de FMA.

**Palavras-chave:** endomicorrizas, produção de mudas, simbiose

**ABSTRACT - Interaction between rootstocks citrus and arbuscular mycorrhizal fungi.** Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) support plant development, however, symbiosis depends on species of both symbionts. This study aimed to evaluate the interaction between rootstock citrus inoculated with species of arbuscular mycorrhizal fungi. Three rootstocks citrange ‘Fepagro C37 Reck’ [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. x *Citrus sinensis* (L.) Osbeck.], ‘Hong-Kong’ kumquat (*Fortunella hindsii* Swingle) and ‘Trifoliata’ (*Poncirus trifoliata*) were tested, inoculated with two species of AMF (*Glomus etunicatum* W.N. Becker & Gerd. and *Acaulospora* sp.) and a treatment not inoculated. We evaluated the height (cm), stem diameter (mm), leaf area (cm<sup>2</sup> / plant), leaf number, fresh and dry root and shoot weight (g), the level of reserves in tissues and the colonization of AMF in the roots. The species *G. etunicatum* and *Acaulospora* sp. colonized the roots of rootstocks, but they were only effective for ‘Fepagro C37 Reck’. *Poncirus trifoliata* had the highest vigor in the absence of AMF.

**Keywords:** endomicorrhizae, seedling production, symbiosis

### INTRODUÇÃO

A citricultura brasileira apresenta grande importância no agronegócio, abrangendo o mercado interno e externo do país com a produção e a comercialização de frutas *in natura* e de seus derivados industrializados (Koller 2013). Contudo, em alguns estados brasileiros, como o Rio Grande do Sul, o setor de produção de mudas apresenta inúmeras limitações. Uma delas é a falta de diversificação de variedades porta-enxertos, o que torna a citricultura vulnerável às novas enfermidades (Oliveira & Scivittaro 2003). Estima-se que 74% das propriedades cítricas riograndenses apresentam um único porta-enxerto, o ‘Trifoliata’ (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) (Sulzbach 2016). Esse porta-enxerto é muito utilizado devido as suas características desejáveis à produção do sul do país, principalmente por apresentar tolerância à geadas (Koller 2013). No entanto, seu desenvolvimento vegetativo em fase de viveiro é muito lento. Outra limitação é a má

qualidade das mudas produzidas, pois o setor não garante características genéticas e sanitárias para o citricultor (Koller 2013, Oliveira & Scivittaro 2003).

Tais dificuldades nos viveiros estão refletindo negativamente na citricultura como um todo, que tenta suprir o baixo potencial produtivo do pomar, devido à má qualidade da muda, com maior aplicação de agrotóxicos e adubos químicos (Oliveira & Scivittaro 2003). Para evitar isso, os viveiros precisam adotar práticas mais sustentáveis para melhorar sua cadeia de produção e, conseqüentemente, a qualidade da muda.

O gênero *Fortunella* Swingle é empregado no paisagismo pela beleza de sua copa, ausência de espinhos, floração e frutificação abundantes e pelo seu baixo vigor (Mazzini & Pio 2010). Em virtude dessa última característica, a espécie tem potencial para ser estudada como alternativa na diversificação de porta-enxertos em citros, pois poderá proporcionar copas com porte menor,

permitindo a formação de pomares mais adensados e com maior produção por m<sup>3</sup>. Outro porta-enxerto com grande potencial, já empregado em alguns pomares do Rio Grande do Sul, é o citrangeiro ‘Fepagro C37’ [*P. trifoliata* (L.) Raf. x *C. sinensis* (L.) Osbeck.], um híbrido do ‘Trifoliata’, que apresenta as características desejáveis deste, além de ter um crescimento rápido em viveiro (Oliveira *et al.* 2010, Koller 2013).

A utilização de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) é uma ferramenta importante para acelerar a produção de mudas de citros e o desenvolvimento inicial no pomar, pois auxilia na absorção de nutrientes, especialmente o fósforo, aumenta o volume de solo explorado e melhora a tolerância a estresses bióticos e abióticos (Jayme & Quigley 2014, Wu *et al.* 2011). Segundo Ortas (2012), as plantas cítricas são, normalmente, altamente responsivas aos fungos micorrízicos arbusculares (FMA), por terem o sistema radicular carente de pelos absorventes. Entretanto, deve-se salientar que a simbiose entre planta e FMA é influenciada tanto pela espécie/cultivar de porta-enxerto de citros, como pela espécie de FMA (Smith & Smith 2011).

Dessa forma, objetivou-se avaliar a eficiência da inoculação de espécies de fungos micorrízicos arbusculares sobre o desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos cítricos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido inicialmente (fase de semeadura e inoculação em bandejas de polietileno) em casa de vegetação do Departamento de Horticultura e Silvicultura (DHS), localizado no Campus da Faculdade de Agronomia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), em Porto Alegre, RS (30°29’S e 51°06’W). Posteriormente, após a repicagem, foi desenvolvido na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EEA/UFRGS; 30°05’22’’S, 51°39’08’’W), localizada no município de Eldorado do Sul, RS (Km 146, BR 290). Avaliou-se o desenvolvimento vegetativo de três porta-enxertos: cunquateiro ‘Hong-Kong’ [*Fortunella hindsii* (Swing.)], citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ [*P. trifoliata* (L.) Raf. x *C. sinensis* (L.) Osbeck.], e ‘Trifoliata’ [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.], inoculados com duas espécies de FMA: *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp., além de um tratamento testemunha (não inoculado).

As sementes dos porta-enxertos foram extraídas de frutos maduros colhidos de plantas matrizes cultivadas na coleção de citros da Estação Experimental Agronômica da UFRGS, através da metodologia descrita por Souza e Schäfer (2006). As sementes foram submetidas à termoterapia (imersão por 10 minutos em água destilada à temperatura de 52°C).

As espécies de FMA escolhidas foram selecionadas a partir de um estudo inicial realizado por Focchi *et al.* (2004) que realizaram um levantamento das espécies de fungos micorrízicos arbusculares que ocorrem naturalmente em pomares de citros no Rio Grande do Sul.

Os inóculos utilizados das quatro espécies de FMA foram reproduzidos no Laboratório do DHS da seguinte forma: foram utilizados 2 recipientes de 5L, em cada um foi preenchido com areia esterilizada e misturado na camada superior de 4cm da areia o inóculo inicial obtido do Banco de Inóculos do DHS de uma espécie FMA. Após a inoculação, foi semeado 20 sementes de milho (*Zea mays* L.) por recipiente. Os recipientes permaneceram no laboratório recebendo iluminação artificial e irrigados manualmente no período de dois meses. Após esse período, homogeneizou a areia juntamente com os restos de raízes do milho e, a partir dessa mistura, originou-se o novo inóculo. Por fim, os inóculos foram armazenados em geladeira para melhor conservação.

O substrato utilizado na fase de semeadura foi o comercial Carolina Soil® (composto por turfa de sphagnum, casca de arroz carbonizada e vermiculita) o qual foi previamente autoclavado durante uma hora, repetindo-se três vezes o processo, em intervalos de 24 horas.

O experimento iniciou-se em fevereiro de 2013 com a semeadura dos porta-enxertos e a inoculação dos FMA da seguinte maneira: cada tratamento dos FMA e da testemunha foi posto individualmente em bandejas plásticas de dimensões de 60cm de comprimento, 40cm de largura e 10cm de altura. As bandejas, onde seria feita a inoculação, foram preenchidas até a metade da altura com o substrato, depois foi disposta uma camada de 400g de inóculo (camada de aproximadamente 2 mm) e, por último, foi preenchido o restante com o substrato. Já a bandeja da testemunha foi preenchida somente com substrato. Após esse processo, cada bandeja foi dividida em três partes e realizada a semeadura dos porta-enxertos com 50 sementes cada.

As bandejas foram dispostas sobre uma bancada de concreto em ambiente protegido, que foi previamente desinfestada com hipoclorito de sódio e, já com as bandejas, foi coberta por uma tela antiáfida, a fim de evitar a livre circulação de insetos que pudessem contaminar o experimento. A irrigação foi feita com regador manual, usando-se 1L por bandeja a cada dois dias.

Em junho de 2013, quando as plântulas atingiram 10cm de altura, essas foram levadas para casa de vegetação da Estação Experimental Agronômica da UFRGS, onde instalou-se o experimento propriamente dito. Para tal, elas foram repicadas para sacos pretos de polietileno (5L) preenchidos com substrato comercial Vida®, composto por casca de eucalipto, desinfestado previamente com solução de formaldeído a 7%. As mudas foram dispostas em bancadas de madeira de 80 cm de altura, recebendo irrigação por gotejamento duas vezes por dia, durante 5 minutos cada.

O delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados em parcelas subdivididas no esquema fatorial 3<sup>2</sup> (3 porta-enxertos x 2 FMA e um tratamento testemunha), sendo 3 repetições com 10 plantas por parcela. O fator FMA constituiu a parcela principal.

Após 240 dias em fase de viveiro, mediu-se a altura final (cm), do colo até o ápice da planta; o diâmetro do caule (mm), ao nível do colo, com um paquímetro digital

e o número de folhas por planta. Também quantificou-se a área foliar (cm<sup>2</sup>) por planta, através do uso de um medidor de área foliar marca LI-Meter. Foi determinada a massa fresca da raiz e da parte aérea (g) e, após a manutenção das amostras em estufa de secagem com temperatura de 65°C até atingir massa constante, mediu-se a massa seca da raiz e da parte aérea (g).

Após a secagem da parte aérea e das raízes, procedeu-se à moagem desses tecidos em moinho, misturando-se as 10 plantas por tratamento e repetição, de onde coletou-se uma amostra composta de 1 g, visando avaliar o teor de substâncias de reservas presentes nestes segundo adaptações ao método descrito por Priestley (1965). Cada amostra foi acondicionada em um tecido especial, para filtragem de alimentos, formando-se trouxinhas. Essas foram pesadas antes e após serem submetidas ao processo de digestão durante oito horas submersas em solução aquosa com 5% de ácido tricloroacético e 35% de metanol, visando à extração de todos os componentes do tecido vegetal (carboidratos, gorduras, etc.), que não fossem fibras (celulose, hemicelulose e lignina). A diferença de massa, antes e após o processo de digestão, indica o percentual de reservas presentes. Para cada tratamento, empregou-se 3 repetições.

No mesmo período, coletou-se dois segmentos de raízes secundárias por planta das 10 de cada tratamento para avaliação da colonização dos FMA. As raízes foram lavadas com água destilada, fracionadas com 1 cm de comprimento e armazenadas em FAA (formaldeído, álcool e acetona na proporção de 1:1:1) para fixação. Posteriormente, foram coletados, ao acaso, 15 segmentos de raízes por repetição, totalizando 45 segmentos por tratamento, e realizado o processo de tingimento destes com corante azul

de tripano, a fim de observar no microscópio a colonização e as estruturas dos FMA nas raízes. Após o processo de tingimento, os segmentos de raízes foram montados em lâminas de vidro e examinados em microscópio para avaliar a presença e intensidade de hifas, arbúsculos e vesículas. A porcentagem de raízes colonizadas foi obtida do número de segmentos infectados em relação ao total analisado. Para determinar a densidade de hifas, atribuiu-se o valor 0, para ausência de estruturas; 1, para baixa presença; 2, para média presença; e 3, para alta presença. A densidade de vesículas e arbúsculos também foi relacionada com uma escala de 0 a 3, onde se considerou como 0 a ausência de estruturas; 1, de 1 a 50 estruturas; 2, de 51 a 100; e 3, mais de 100, segundo metodologia descrita por Nemeč (1992). Todo o processo foi repetido três vezes por tratamento e realizado por avaliadores treinados.

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo as médias diferenciadas estatisticamente pelo teste de Tukey a 1% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os FMA somente foram eficientes, independentemente da espécie, quando inoculadas em citrangeiro 'Fepagro C37 Reck', não alterando o desenvolvimento vegetativo dos outros dois porta-enxertos. Inclusive, a presença dos FMA permitiu que as plantas de citrangeiro 'Fepagro C37 Reck' se igualassem em altura às plantas de *P. trifoliata* (Tab. 1). Quando ao diâmetro e à área foliar (Tab. 1), e às massas fresca e seca de raiz e de parte aérea (Tab. 2), o efeito dos FMA foi mais acentuado, pois o citrangeiro 'Fepagro C37 Reck' superou o *P. trifoliata*.

**Tabela 1.** Altura (cm), diâmetro do caule (mm), área foliar (cm<sup>2</sup>/planta) e número de folhas por planta de três porta-enxertos submetidos à inoculação de duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.).

Porta-enxerto	FMA		
	Testemunha	<i>Glomus etunicatum</i>	<i>Acaulospora</i> sp.
		Altura das plantas (cm)	
Citrangreiro 'Fepagro C37 Reck'	17,56 ± 1,8 bC	47,52 ± 2,3 aA	35,92 ± 1,6 aB
Cunquateiro 'Hong-Kong'	16,54 ± 0,5 bA	18,08 ± 0,4 bA	18,75 ± 0,4 bA
Trifoliata	38,30 ± 2,1 aA	40,62 ± 1,9 aA	33,69 ± 1,7 aA
CV (%)		13,39	
		Diâmetro do caule (mm)	
Citrangreiro 'Fepagro C37 Reck'	2,50 ± 0,2 bB	4,83 ± 0,3 aA	4,57 ± 0,2 aA
Cunquateiro 'Hong-Kong'	2,58 ± 0,2 bA	2,79 ± 0,2 cA	2,92 ± 0,1 bA
Trifoliata	3,52 ± 0,3 aA	3,54 ± 0,4 bA	3,46 ± 0,3 bA
CV (%)		8,39	
		Área Foliar (cm <sup>2</sup> /planta)	
Citrangreiro 'Fepagro C37 Reck'	60,53 ± 2,3 abB	180,98 ± 2,4 aA	151,74 ± 2,2 aA
Cunquateiro 'Hong-Kong'	38,30 ± 1,1 bA	39,05 ± 1,6 bA	39,50 ± 1,4 bA
Trifoliata	80,80 ± 2,4 aA	76,33 ± 1,9 bA	64,87 ± 2,0 bA
CV (%)		16,25	
		Número de Folhas por planta	
Citrangreiro 'Fepagro C37 Reck'	14,08 ± 2,2 bB	25,47 ± 2,3 abA	24,02 ± 2,4 aA
Cunquateiro 'Hong-Kong'	19,10 ± 1,7 bA	19,38 ± 1,5 bA	19,13 ± 1,5 aA
Trifoliata	29,26 ± 1,9 aA	29,09 ± 1,7 aA	25,55 ± 1,7 aA
CV (%)		13,09	

Letras minúsculas diferentes nas colunas e maiúsculas diferentes nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (p < 0,01). ± erro padrão.

O desenvolvimento vegetativo do cunquateiro ‘Hong-Kong’ foi, em geral, inferior aos demais porta-enxertos avaliados, o que era esperado, pois trata-se de um genótipo de baixo vigor.

Nas plantas não inoculadas com FMA verificou-se que o desenvolvimento vegetativo do *Poncirus trifoliata* foi superior ao do citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’ e do cunquateiro ‘Hong-Kong’ (Tabs. 1 e 2). Esses últimos apresentaram desenvolvimentos vegetativos semelhantes entre si.

O vigor em porta-enxertos apresenta pontos positivos e negativos. Na fase de viveiro, o desenvolvimento acelerado dos mesmos é almejada pelos viveiristas, pois propicia uma redução no intervalo de tempo necessário para atingir o ponto de enxertia e, portanto, diminui custos fornecendo uma muda mais rápida para o mercado. Além disso, permite produzir a muda dentro do período de 18 a 22 meses, prazo exigido pela Instrução Normativa n. 48 de 24 de setembro de 2013 (Brasil 2013). Essa exigência, às vezes, não tem sido possível de atender no sul do Brasil, devido à redução na velocidade de desenvolvimento das plantas pelas baixas temperaturas ocorridas no outono/inverno. Por outro lado, porta-enxertos menos vigorosos, ou seja, mais lentos em seu desenvolvimento, podem gerar uma planta de menor porte no pomar, que permite aumentar a densidade e, conseqüentemente, a produtividade; qualidade buscada atualmente pelos citricultores, visando reduzir custos de mão de obra. Assim, com relação ao vigor não se deve descartar nenhum porta-enxerto, devendo-se preferir a diversificação.

Quanto aos teores de substâncias de reserva nos tecidos, não houve efeito a inoculação de FMA e não

houve diferença entre os três porta-enxertos testados. O valor médio para a parte aérea foi de 19,92% e para as raízes foi de 21,22%. O efeito dos FMA sobre o teor de reservas das plantas é variável, havendo relatos de efeitos positivos (Nunes *et al.* 2008a, Nunes *et al.* 2013), nulos (Nunes *et al.* 2008b) e, inclusive, de efeitos negativos (Souza *et al.* 2005), atribuídos à diluição dos carboidratos nas células como consequência do maior vigor e desenvolvimento proporcionado pelos FMA. Uma vez mais, observa-se que a resposta depende da espécie da planta estudada e das espécies de FMA avaliadas.

Os FMA colonizaram as raízes dos três porta-enxertos avaliados (Tab. 3). Porém, a intensidade de colonização, bem como a presença de estruturas dos FMA, variaram em função do porta-enxerto, relacionando-se diretamente com o desenvolvimento vegetativo, pois tanto a presença de hifas quanto de arbúsculos foi maior nas raízes de citrangeiro ‘Fepagro C37 Reck’, em relação ao *P. trifoliata* e cunquateiro. Essas respostas confirmam que a eficiência da simbiose é estreitamente dependente da planta e da espécie de FMA envolvidas. O percentual de colonização de ambas as espécies de FMA foi inferior nas raízes de *P. trifoliata*, bem como a intensidade de hifas de *Glomus etunicatum*, confirmando a fraca dependência desta espécie vegetal aos FMA, atribuída à maior presença de pelos radiculares desse (Cao *et al.* 2013).

Observou-se uma pequena contaminação nas plantas testemunhas dos três porta-enxertos testados. Isso ocorreu, provavelmente, devido à circulação de insetos no experimento, como formigas, que podem ter levado esporos para estas plantas (Tab. 3). Entretanto, essas contaminações já foram relatadas em outros estudos (Back

**Tabela 2.** Massa fresca e seca da raiz e da parte aérea (g/planta) de três porta-enxertos submetidos à inoculação de duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.).

Porta-enxerto	FMA		
	Testemunha	<i>Glomus etunicatum</i>	<i>Acaulospora</i> sp.
		Massa fresca da raiz (g/planta)	
Citrangreiro ‘Fepagro C37’	2,39 ± 0,32 bB	8,37 ± 0,23 aA	7,43 ± 0,25 aA
Cunquateiro ‘Hong-Kong’	1,88 ± 0,15 bA	1,76 ± 0,28 cA	1,89 ± 0,14 bA
Trifoliata	5,08 ± 0,22 aA	4,29 ± 0,30 bA	5,09 ± 0,24 aA
CV (%)		19,91	
		Massa fresca da parte aérea (g/planta)	
Citrangreiro ‘Fepagro C37’	2,57 ± 0,31 abB	8,55 ± 0,32 aA	7,51 ± 0,24 aA
Cunquateiro ‘Hong-Kong’	1,49 ± 0,12 bA	1,45 ± 0,12 cA	1,86 ± 0,20 cA
Trifoliata	4,48 ± 0,16 aA	4,23 ± 0,22 bA	5,14 ± 0,21 bA
CV (%)		10,42	
		Massa seca da raiz (g/planta)	
Citrangreiro ‘Fepagro C37’	0,84 ± 0,1 bB	3,45 ± 0,22 aA	3,01 ± 0,2 aA
Cunquateiro ‘Hong-Kong’	0,58 ± 0,07 bA	0,60 ± 0,02 cA	0,66 ± 0,02 cA
Trifoliata	2,94 ± 0,08 aA	2,01 ± 0,05 bA	2,03 ± 0,03 bA
CV (%)		9,31	
		Massa seca da parte aérea	
Citrangreiro ‘Fepagro C37’	0,77 ± 0,09 bB	3,34 ± 0,09 aA	2,88 ± 0,22 aA
Cunquateiro ‘Hong-Kong’	0,50 ± 0,03 bA	0,52 ± 0,02 cA	0,53 ± 0,02 cA
Trifoliata	1,97 ± 0,05 aA	1,51 ± 0,04 bA	1,94 ± 0,05 bA
CV (%)		9,84	

Letras minúsculas diferentes nas colunas e maiúsculas diferentes nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0,01$ ). ± erro padrão.

**Tabela 3.** Colonização (%), densidade de hifas e quantificação de arbúsculos e de vesículas em segmentos de raízes de três porta-enxertos submetidos à inoculação de duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp.).

Porta-enxerto	FMA		
	Testemunha	<i>Glomus etunicatum</i>	<i>Acaulospora</i> sp.
		Colonização (%)	
Citrangreiro 'Fepagro C37 Reck'	9,92 ± 0,3 aB	100,00 ± 0,0 aA	100,00 ± 0,0 aA
Cunquateiro 'Hong-Kong'	8,22 ± 0,2 aB	100,00 ± 0,0 aA	100,00 ± 0,0 aA
Trifoliata	9,17 ± 0,3 aB	85,42 ± 0,3 bA	89,65 ± 0,2 bA
CV (%)		4,19	
		Hifas	
Citrangreiro 'Fepagro C37 Reck'	0,31 ± 0,06 aB	2,22 ± 0,26 aA	2,17 ± 0,32 aA
Cunquateiro 'Hong-Kong'	0,31 ± 0,05 aB	1,29 ± 0,34 bA	1,02 ± 0,24 bA
Trifoliata	0,29 ± 0,05 aC	0,92 ± 0,32 cB	1,33 ± 0,27 bA
CV (%)		15,09	
		Arbúsculos	
Citrangreiro 'Fepagro C37 Reck'	0,27 ± 0,02 aC	1,96 ± 0,37 aA	1,46 ± 0,21 aB
Cunquateiro 'Hong-Kong'	0,25 ± 0,03 aB	1,25 ± 0,22 bA	1,14 ± 0,26 bA
Trifoliata	0,27 ± 0,02 aB	0,98 ± 0,28 bA	1,16 ± 0,35 abA
CV (%)		13,24	
		Vesículas	
Citrangreiro 'Fepagro C37 Reck'	0,12 ± 0,02 aB	0,58 ± 0,21 aA	0,17 ± 0,10 aB
Cunquateiro 'Hong-Kong'	0,00 ± 0,00 aA	0,10 ± 0,06 bA	0,06 ± 0,02 aA
Trifoliata	0,04 ± 0,02 aA	0,10 ± 0,05 bA	0,19 ± 0,08 aA
CV (%)		30,06	

Letras minúsculas diferentes nas colunas e maiúsculas diferentes nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0,01$ ). ± erro padrão.

*et al.* 2016, Nunes *et al.* 2008b, Silveira *et al.* 2006) e não interferiram nos resultados, pois são consideradas muito baixas e aceitáveis.

Na tabela 3, observa-se que ocorreu baixa presença de vesículas nas raízes dos três porta-enxertos testados, independente da espécie de FMA. As vesículas são estruturas globosas contendo grânulos de estruturas de reservas, como glicogênio e lipídios. Essas estruturas são formadas em períodos de baixa temperatura, onde ocorre baixa atividade do fungo e da planta hospedeira (Smith & Smith 2011). Como a coleta das raízes ocorreu em março, no final do verão, provavelmente os FMA ainda não estavam necessitando acumular reservas. Normalmente, nas condições do sul do Brasil, essas estruturas são formadas em maior quantidade a partir de abril/ maio (meses de outono, com redução da temperatura e fotoperíodo) para fornecer reservas para os FMA durante o período do inverno. Resultados semelhantes a esse experimento foram observados em trabalhos de Nunes *et al.* (2008b) e Nunes *et al.* (2013).

No caso do cunquateiro 'Hong-Kong', apesar de ter havido 100% de colonização, a presença de estruturas foi de média a baixa (Tab. 3), justificando a ineficiência da simbiose, e indicando uma baixa dependência desta espécie aos FMA.

A eficiência da simbiose entre planta e fungo micorrízico arbuscular depende de diversos fatores. Segundo Smith e Smith (2011), um deles é referente às características genéticas ou anatômicas da planta. Sabe-se que o porta-enxerto *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. possui em suas raízes muitos pelos radiculares (Wu *et al.* 2011). Dessa forma, absorve os nutrientes e a água que necessita, sendo

pouco responsivo aos FMA. Estudo realizado por Cao *et al.* (2013) avaliou-se o porta-enxerto 'trifoliata' em diferentes condições de deficiência nutricional no substrato. Observou-se que o porta-enxerto adapta-se em condições de baixa disponibilidade de fósforo modificando a anatomia do seu sistema radicular formando maior concentração de pelos radiculares que aumentam a eficiência de absorção nutricional da planta. Fazendo uma comparação com o estudo em questão, numa condição de baixa disponibilidade de fósforo os FMA auxiliam em melhorar a eficiência de absorção, no entanto, o próprio *Poncirus trifoliata* (L.) consegue se adaptar a esta condição e, portanto, não responde a inoculação.

No caso do cunquateiro 'Hong-Kong', o fator genético, ou da planta ou do fungo, provavelmente influenciou na ineficiência da simbiose, pois há um estudo atestando eficiência da simbiose entre o cunquateiro (*Fortunella margarita*) e FMA (Li *et al.* 2013), porém, com outra espécie de endomicorriza (*Diversispora spurca*). Já no trabalho de Back *et al.* (2016) as quatro espécies de FMA (*Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum*, *Acaulospora* sp.) colonizaram as raízes de cunquateiro 'Hong-Kong', no entanto, não influenciaram no seu desenvolvimento vegetativo.

Para o citrangeiro 'Fepagro C37 Reck', observou-se que o desenvolvimento vegetativo responde fortemente a inoculação de FMA. Isso pode ser atribuído ao fato de que o citrangeiro 'Fepagro C37 Reck' é descendente de uma Laranjeira doce [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], espécie de citros que possui um sistema radicular com pelos absorventes pouco desenvolvidos, dificultando a absorção de água e nutrientes (Zambrosi *et al.* 2012). Back *et al.*

(2016) avaliou a influência de *Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum*, *Acaulospora* sp. no desenvolvimento vegetativo do citrangeiro 'Fepagro C37 Reck', onde se observou incremento em altura, diâmetro do caule, área foliar, número de folhas, massa fresca e seca da raiz e da parte aérea.

Apesar da ausência de efeito da simbiose entre os FMA testados e *P. trifoliata* e cunquateiro sobre o desenvolvimento vegetativo destes, sabe-se que os FMA têm efeitos benéficos sobre outros fatores, como maior tolerância a estresses abióticos, como déficit hídrico (Wu *et al.* 2011) e bióticos, causados por fungos do solo (Costa *et al.* 2010; Sampaio *et al.* 2012). Estes estudos deverão ser realizados no futuro, pois são recorrentes na citricultura rio-grandense.

Nas condições do experimento, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp. colonizaram as raízes de *Poncirus trifoliata*, de cunquateiro 'Hon-Kong' e de citrangeiro 'Fepagro C37 Reck', porém, em maior intensidade nesse último. As espécies *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp. somente foram eficientes em acelerar o desenvolvimento vegetativo quando inoculadas no citrangeiro 'Fepagro C37 Reck'. Na ausência de fungos micorrízicos arbusculares, o *Poncirus trifoliata* (L.) foi mais vigoroso que o citrangeiro 'Fepagro C37 Reck' e que o cunquateiro 'Hong-Kong'.

## REFERÊNCIAS

- Back, M.M., Altmann, T. & Souza, P.V. 2016. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on the vegetative development of citrus rootstocks. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 46(4):407-412.
- Brasil. 2013. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 48 de 24 de setembro de 2013. Normas de Produção e Comercialização de Material de Propagação de Citros. Diário Oficial da União de 25 de setembro de 2013, nº 186, Seção 1, p. 38.
- Cao, X., Chen, C., Zhang, D., Shu, B., Xia, J. & Xia, R. 2013. Influence of nutrient deficiency on root architecture and root hair morphology of trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) seedlings under sand culture. *Scientia Horticulturae* 162(1):100-105.
- Costa, M.D., Lovato, P.E. & Sete, P.B. 2010. Micorrização e indução de quitinases e  $\beta$ -1,3-glucanases e resistência à fusariose em porta-enxerto de videira. *Pesquisa agropecuária brasileira* 45(4):376-383.
- Focchi, S.S., Dal Soglio, F.K., Carrenho, R., de Souza, P.V.D. & Lovato, P.E. 2004. Fungos micorrízicos arbusculares em cultivos de citros sob manejo convencional e orgânico. *Pesquisa agropecuária brasileira* 39(5):469-476.
- Jayme, B. & Quigley, M. 2014. Influence of arbuscular mycorrhiza on growth and reproductive response of plants under water deficit: a meta-analysis. *Mycorrhiza* 24(2):109-119.
- Koller, O.L. 2013. Citricultura catarinense. Epagri, Florianópolis. 319 p.
- Li, Y., Zou, Y.N. & Wu, Q.S. 2013. Effects of *Diversispora spurca* inoculation on growth, root system architecture and chlorophyll contents of four citrus genotypes. *International Journal of Agriculture & Biology* 15(2):342-346.
- Mazzini, R.B. & Pio, R.M. 2010. Caracterização morfológica de seis variedades cítricas com potencial ornamental. *Revista Brasileira de Fruticultura* 32(2):463-470.
- Nemec, S. 1992. *Glomus intraradix* effects on citrus rootstock seedling growth in various potting media. *Journal of Agricultural Science* 118(1):315-323.
- Nunes, J.L.S., Souza, P.V.D., Marodin, G.A.B. & Fachinello, J.C. 2008a. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em porta-enxerto de pessegueiro cv Okinawa. *Revista Brasileira de Fruticultura* 30(4):223-231.
- \_\_\_\_\_. 2008b. Incremento no desenvolvimento vegetativo do porta-enxerto de pessegueiro 'Aldrighi' por fungos micorrízicos arbusculares autóctones. *Ciência e agrotecnologia* 32(6):1787-1793.
- \_\_\_\_\_. 2013. Desenvolvimento de plântulas de pessegueiro 'Okinawa' inoculadas com micorrizas arbusculares isoladas de pomares de pessegueiros e de vinhedos. *Revista Brasileira de Fruticultura* 35(3):845-852.
- Oliveira, R.P. & Scivittaro, W.B. 2003. Normas e padrões para produção de mudas certificadas de citros em parceria com a Embrapa. Embrapa Clima Temperado, Pelotas. 18 p.
- Oliveira, R.P., Soares Filho, W.S., Passos, O.S., Scivittaro, W.B. & Rocha, P.S.G. 2010. Porta-enxertos para citros. In: *Produção Orgânica de Citros no Rio Grande do Sul*. Embrapa Clima Temperado, Pelotas. 295 p.
- Ortas, I. 2012. Mycorrhiza in Citrus: Growth and Nutrition. In *Advances in Citrus Nutrition*. Springer, Netherlands, p. 333-351.
- Priestley, G.A. 1965. A new method for the estimation of the resources of apple trees. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 16:717-721.
- Sampaio, D.B., Filho, P.F.M., Mascena, A.M., Gomes, V.F.F. & Guimarães, F.V.A. 2012. Colonização micorrízica arbuscular e tolerância ao mal-do-Panamá em mudas de banana-maçã. *Revista Ciência Agronômica* 43(3):462-469.
- Silveira, S.V., Lorscheiter, R., Barros, I.B.I., Schwarz, S.F. & Souza, P.V.D. 2006. *Mentha piperita* as a multiplying of arbuscular mycorrhizal fungi. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 8(esp.): 91-97.
- Souza, P.V., Carniel, E., Schmitz, J.A.K. & Silveira, S.V. 2005. Influência de substratos e fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento vegetativo do porta-enxerto flying dragon (*Poncirus trifoliata*, var. montruosa Swing.). *Revista Brasileira de Fruticultura* 27(2):285-287.
- Souza, P.V. & Schäfer, G. 2006. Produção de mudas de laranjeiras. In *Citricultura: 1. Laranja: tecnologia de produção, pós-colheita, industrialização e comercialização* (O.C. Koller, org.). Cinco Continentes, Porto Alegre, p.55-87.
- Smith, S.E. & Smith, F.A. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: New paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annual Review of Plant Biology* 62:227-50.
- Sulzbach, M. 2016. Diagnóstico citrícola e análise de risco frente ao Huanglongbing no Rio Grande do Sul na perspectiva dos citricultores. Dissertação 99 f, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Wu, Q.S., Zou, Y.N. & Heb, X.H. 2011. Differences of hyphal and soil phosphatase activities in drought-stressed mycorrhizal trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata*) seedlings. *Scientia Horticulturae* 129:294-298.
- Zambrosi, F.C.B., Mattos, D., Roberto Furlani, P.R., Quaggio, J.A. & Boaretto, R.M. 2012. Eficiência de absorção e utilização de fósforo em porta-enxertos cítricos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 36(2):485-496.