

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM PLANTAS
MICROPROPAGADAS DE ABACAXIZEIRO
[*Ananas comosus* (L.) MERR.], BANANEIRA
(*Musa* sp.) E BATATA INGLESA
(*Solanum tuberosum* L.).

ROSA MARIA BARBOSA MATOS

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO

PROFESSORES: ELIANE MARIA RIBEIRO DA SILVA
KAZUMITSU MATSUMOTO
ANA CRISTINA PORTUGAL P.DE CARVALHO

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau *Magister
Scientiae* em Agronomia, Área de
Concentração em Ciência do Solo.

ITAGUAÍ - RIO DE JANEIRO
MARÇO DE 1995

631-46
M434f

TÍTULO DA TESE

FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM PLANTAS
MICROPROPAGADAS DE ABACAXIZEIRO
[*Ananas comosus* (L.) MERR.], BANANEIRA
(*Musa* sp.) E BATATA INGLESA
(*Solanum tuberosum* L.).

AUTORA

ROSA MARIA BARBOSA MATOS

APROVADO EM 28/03/95.

ELIANE MARIA RIBEIRO DA SILVA
KAZUMITSU MATSUMOTO
DEJAIR LOPES DE ALMEIDA

Elianepsilhe

Kazumitsu
Deair P. L. L.

Ao Gil, meu marido, e à Alice, minha tia, cujo apoio e
compreensão foram fundamentais;

a Ana Gabriela, Carolina e Bernardo, meus filhos, razão
principal da minha existência,

dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (CNPAB/EMBRAPA) pela possibilidade de realização desse trabalho.

A Dra. Eliane Maria Ribeiro da Silva e Dr. Kazumitsu Matsumoto, meus orientadores e amigos, pela iniciação e desenvolvimento nas áreas de biologia de solos e biotecnologia vegetal.

A Ana Cristina Portugal P. de Carvalho, pesquisadora da PESAGRO-RIO/EEI, pela orientação e amizade.

Ao Dr. Marílio Ricardo de Oliveira Cardoso, diretor da Sociedade Brasileira de Sementes, pela amizade e incentivo.

A Itamar Garcia Ignácio pelo apoio nas várias etapas desse trabalho.

Ao colega Jean Luiz Simões de Araújo pelo companheirismo e ajuda na realização dos gráficos.

Ao pesquisador Marco Antonio Almeida Leal, da PESAGRO-RIO/EEI, pelas sugestões e apoio nas análises estatísticas.

A Dorimar dos Santos Félix, Margarida Maria Ambrósio e José Ferreira da Costa pelo auxílio na consecução de trabalhos e normalização bibliográfica.

As pesquisadoras Vera Lúcia Divan Baldani e Verônica Massena Reis pelo fornecimento das bactérias diazotróficas e pela orientação em sua avaliação.

Aos professores do Departamento de Solos da UFRRJ com os quais tanto aprendi no decorrer desse curso.

A Angélica Portugal de Carvalho Gomes pela versão dos resumos.

Aos amigos pelo incentivo e estímulo nos momentos mais dificeis.

A Deus por ter me possibilitado atingir esse objetivo.

Finalmente, o meu maior apreço a todas as pessoas que ajudaram a transformar uma grande massa de informações em uma narrativa coerente, tornando a pesquisa uma realidade que avança a nossa compreensão coletiva da vida que nos cerca.

BIOGRAFIA DA AUTORA

ROSA MARIA BARBOSA MATOS, filha de Daniel Rodrigues Barbosa e de Nydia Carneiro Barbosa, nasceu na Cidade do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro, em 20 de outubro de 1949.

Concluiu o curso normal (2º grau) no Instituto de Educação do Rio de Janeiro em 1968. Concluiu o Bacharelado em Ciências Biológicas na Universidade do Estado do Rio de Janeiro em 1981.

Trabalhou como bióloga na Sociedade Brasileira de Sementes (SBS), no período de 1983 a 1994, onde desenvolveu os estudos de viabilidade técnica e econômica para implantação do Laboratório de Biotecnologia Vegetal: detalhamento da tecnologia e o planejamento para operação. Como gerente, coordenou os trabalhos de produção em escala comercial de diferentes espécies de plantas.

Em março de 1992, iniciou o curso de Mestrado em Agronomia, área de Ciência do Solo, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

SUMÁRIO

	Página
Resumo Geral	xv
General Abstract	xviii
Introdução Geral	xxi
Referências Bibliográficas	xxiv
CAPÍTULO I - Fungos micorrízicos arbusculares em plantas micropro-	
pagadas de abacaxizeiro [<i>Ananas comosus</i> (L.)	
Merr.], cultivar Pérola.....	1
Resumo	2
Abstract	3
Introdução	4
Material e Métodos	10
Resultados e Discussão	14
Conclusões	18
Referências Bibliográficas	24

CAPÍTULO II - Fungos micorrízicos arbusculares em plantas micro-propagadas de bananeira (<i>Musa sp.</i> L.), cultivar Mysore	29
Resumo	30
Abstract.....	31
Introdução	32
Material e Métodos	38
Resultados e Discussão	42
Conclusões	47
Referências Bibliográficas	53
 CAPÍTULO III - Fungos micorrízicos arbusculares em plantas micro-propagadas de batata inglesa (<i>Solanum tuberosum</i> (L.), cultivar Achat	58
Resumo	59
Abstract.....	61
Introdução	63
Material e Métodos	68
a) Experimento 1	68
b) Experimento 2	71
c) Experimento 3	73
Resultados e Discussão	75
a) Experimento 1	75
b) Experimento 2	78
c) Experimento 3	81
Conclusões	84
Referências Bibliográficas	96

LISTA DE TABELAS

	Página
Capítulo I	
Tabela 1: Matéria seca, fósforo e potássio acumulados em folhas “D” de abacaxizeiros aos 12 meses após transplante para o campo	21
Capítulo III	
Tabela 1: Peso de parte aérea e raízes secas, área foliar e colonização micorrízica de plantas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 60 dias após o transplante	85
Tabela 2: Número, peso total e peso médio de tubérculos secos de plantas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 60 dias após transplante	86
Tabela 3: Peso de parte aérea e raízes secas e colonização micorrízica em plantas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 64 dias em casa de vegetação	90

Tabela 4: Número, peso total e peso médio de tubérculos secos de plantas de batata, cultivar Achat, aos 64 dias em casa de vegetação	91
Tabela 5: Total de nitrogênio, fósforo e potássio acumulado na parte aérea e raízes mais tubérculos de plantas de batata, cultivar Achat, aos 64 dias em casa de vegetação	92
Tabela 6: Peso de parte aérea e raízes secas e colonização micorrízica em plantas micropropagadas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 89 dias em viveiro	93
Tabela 7: Número e peso total de tubérculos secos de plantas micropropagadas de batata inglesa , cultivar Achat, aos 89 dias em viveiro	94
Tabela 8: Nitrogênio, fósforo e potássio total acumulados em parte aérea, raízes e tubérculos de plantas micropropagadas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 89 dias em viveiro	95

LISTA DE FIGURAS

	Página
Capítulo I	
Figura 1: Altura de abacaxizeiros aos seis meses após o transplante para o campo	19
Figura 2: Altura de abacaxizeiros aos doze meses após o transplante para o campo	20
Figura 3: Número de rebentões em abacaxizeiros aos doze meses após o transplante para o campo	22
Figura 4: Número de filhotes em abacaxizeiros aos dezoito meses após o transplante para o campo	23
Capítulo II	
Figura 1: Altura de bananeiras com e sem inóculo de <i>Glomus clarum</i> , em diferentes épocas, sob condições de casa de vegetação	48

Figura 2: Diâmetro à altura do colo de bananeiras com e sem inóculo de <i>Glomus clarum</i> , em diferentes épocas, sob condições de casa de vegetação.....	49
Figura 3: Altura de bananeiras com e sem inóculo de <i>Glomus clarum</i> , em diferentes épocas, sob condições de campo	50
Figura 4: Diâmetro à altura do colo de bananeiras com e sem inóculo de <i>Glomus clarum</i> , em diferentes épocas, sob condições de campo	51
Figura 5: Número de perfilhamento de bananeiras com e sem inóculo de <i>Glomus clarum</i> , em diferentes épocas, sob condições de campo	52
Capítulo III	
Figura 1: Fósforo total em plantas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 60 dias após transplante	87
Figura 2: Nitrogênio total em plantas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 60 dias após transplante	88
Figura 3: Potássio total em plantas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 60 dias após transplante	89

LISTA DE ANEXO

	Página
Anexo 1: Comercialização de abacaxi no Estado do Rio de Janeiro. Período de 1990 a 1993	102
Anexo 2: Análise de variância (valores F e CV) da altura dos abacaxizeiros aos 6 e 12 meses, número de rebentões aos 12 meses e número de filhotes aos 18 meses após o transplante para o campo (Capítulo I)	102
Anexo 3: Análise de variância (valores F e CV) de matéria seca e total acumulado de P e K em folhas “D” de abacaxizeiros aos 12 meses após o transplante para o campo (Capítulo I).....	103
Anexo 4: Análise de variância (valores F e CV) da altura, diâmetro à altura do colo e do número de perfilhamentos de bananeiras, em casa de vegetação e no campo, avaliadas em diferentes épocas (Capítulo II)	103

Anexo 5: Análise de variância (valor F) dos termos de regressão (Capítulo II)	104
Anexo 6: Análise de variância (valor F e CV) de peso de parte aérea e raízes secas, área foliar, colonização micorrízica, número, peso total e peso médio de tubérculos secos dos dados do experimento 1 (Capítulo III)	104
Anexo 7: Análise de variância (valores F e CV) do total acumulado de nitrogênio, fósforo e potássio em parte aérea e raízes mais tubérculos dos dados do experimento 1 (Capítulo III)	105
Anexo 8: Análise de variância (valores F e CV) de peso de parte aérea e raízes secas, número e peso total de tubérculos secos e colonização micorrízica dos dados do experimento 2 (Capítulo III)	105
Anexo 9: Análise de variância (valores F e CV) do total acumulado de nitrogênio, fósforo e potássio em parte aérea e raízes + tubér- culos dos dados do experimento 2 (Capítulo III)	106
Anexo 10: Análise de variância (valores F e CV) de peso de parte aérea e raízes secas, colonização micorrízica, número e peso total de tubérculos secos dos dados do experimento 3 (Capítulo III)	106
Anexo 11: Análise de variância (valores F e CV) do total acumulado de nitrogênio, fósforo e potássio em parte aérea, raízes e tubér- culos dos dados do experimento 3 (Capítulo III)	107

RESUMO GERAL

A disponibilidade de mudas sadias, principalmente em espécies propagadas vegetativamente, como abacaxizeiro e bananeira, ou via tubérculo, no caso de batata inglesa, é de suma importância para a condução de trabalhos de pesquisa e de fomento a produção agrícola. O desenvolvimento de técnicas de propagação *in vitro* possibilitou a obtenção de uma grande quantidade de mudas sadias, em curto espaço de tempo. Objetivando otimizar o potencial de plantas advindas desse processo, desenvolveu-se estudos para avaliar os efeitos de simbiontes, como os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), no desenvolvimento e produção dessas plantas.

Conduziu-se, inicialmente, experimentos com mudas micropropagadas de abacaxizeiro (*Ananas comosus* L.), cultivar Pérola, em casa de vegetação e no campo, visando avaliar a eficiência e efetividade dos fungos *Glomus clarum*, *Gigaspora margarita* e *Acaulospora* sp. Verificou-se após o transplante para o campo, um efeito positivo da inoculação com FMA no desenvolvimento e nutrição das plantas, assim como na produção de mudas.

Experimentos similares com mudas micropropagadas de bananeiras (*Musa* sp L.), cultivar Mysore, foram desenvolvidos objetivando-se estudar os efeitos do inóculo misto com *G. clarum*, em casa de vegetação e no campo. Observou-se, em casa de vegetação, que as mudas inoculadas foram superiores ao controle

em altura e diâmetro. Mostrou-se significativa as épocas de avaliação e a interação época e tratamento. Após o transplante para o campo, essas diferenças não foram observadas.

Avaliou-se a eficiência da inoculação de quatro espécies de fungos micorrízicos (*G. clarum*, *Glomus etunicatum*, *Glomus manihot*, *G. margarita*) e duas espécies de bactérias diazotróficas (*Azospirillum brasiliense*, *Acetobacter diazotrophicus*), isoladamente e em conjunto, em plantas micropropagadas de batata inglesa (*Solanum tuberosum L.*), cultivar Achat. Verificou-se, de maneira geral, efeitos positivos da inoculação com *G. manihot* e *G. clarum* no desenvolvimento e nutrição das plantas. Observou-se, entretanto, que o fungo *G. margarita* apresentou-se ineficiente, igualando-se ao controle sem inóculo. Não foram encontrados efeitos positivos adicionais pela inoculação conjunta de bactérias diazotróficas e FMA.

A partir desse experimento desenvolveu-se dois outros com a mesma cultivar, sendo um com tubérculos e outro com plantas micropropagadas, utilizando-se inóculo misto com *G. clarum*.

No experimento com tubérculos visou-se avaliar a forma mais eficiente de inoculação, empregando-se tratamentos com o inóculo misto e controle, aplicado em camada ou envolvendo os tubérculos, sendo que um dos controles não levou qualquer tipo de inóculo. Verificou-se diferenças significativas entre os tratamentos com inóculo e os controles, em relação ao fósforo total acumulado na planta. Os resultados não evidenciaram uma forma mais eficiente de inoculação dos tubérculos.

No experimento com plantas micropropagadas utilizou-se como tratamentos dois níveis de adubação (1 e 2). No nível 1 utilizou-se metade da dose recomendada pela análise do solo, empregando-se tratamentos com e sem inóculo. Enquanto que no nível 2 usou-se 4000 kg de NPK por ha, na formulação 4:14:8, usando-se

plantas não inoculadas com FMA. Observou-se no tratamento com inóculo uma baixa porcentagem de colonização micorrízica. Constatou-se em plantas com nível 1 de adubação em relação ao 2, um aumento significativo da matéria seca das raízes, assim como um maior acúmulo de nitrogênio em raízes e tubérculos. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos com e sem inóculo.

Esses resultados mostram a importância de estudos mais detalhados nessa área, para a utilização plena do potencial desse simbionte.

GENERAL ABSTRACT

The availability of healthy plant cuttings, especially in species vegetatively propagated, such as pineapple and banana, or via tuber (in the case of the potato) is extremely important to conduct researches and stimulate agricultural production. The development of techniques *in vitro* propagation made it possible to obtain a great number of variety of healthy plants in a short time. With the aim of optimizing the potential of the plants produced from this process, studies were developed to evaluate the effects of symbiosis, with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), during the development and production of those plants. At the beginning, experiments were made with micropropagated plants of pineapple (*Ananas comosus* L.), cultivar Pérola, in greenhouse and at the field, to evaluate the efficiency and effectiveness of the fungi *Glomus clarum* (Schenck & Nicolson), *Gigaspora margarita* (Becker & Hall) and *Acaulospora* sp. After the transplant to the field, it was observed a positive effect of the inoculation with AMF in the development and nutrition of the plants, as well as in the plants production.

Similar experiments with micropropagated plants of banana (*Musa* sp L.), cultivar Mysore, were developed to study the effects of mixed inoculum with *G. clarum*, in the greenhouse and at the field. It was observed in the greenhouse that the inoculated plants presented results extremely significant as to the parameters of height and steam diameter on the soil surface. It was also significant the periods

of evaluation and interaction between treatment and periods. After the transplant to the field, those differences were not observed.

It was evaluated the efficiency of inoculation of four species of mycorrhizal fungi (*G. clarum*, *Glomus etunicatum*, *Glomus manihot* and *G. margarita*) and two species of diazotrophic bacteria (*Azospirillum brasiliense*, *Acetobacter diazotrophicus*), isolated and in association, in micropropagated plants of potato (*Solanum tuberosum L.*), cultivar Achat. In general it was noticed positive effects of inoculation with *G. clarum* and *G. manihot* in the development and nutrition of plants. However it was observed that the fungi *G. margarita* was inefficient, being equal to the control without inoculum. It was not found positive additional effects in the association diazotrophic bacteria and AMF inoculation.

Based on these results, two other experiments were developed with the same cultivar, one with tubers and another with micropropagated plants, using mixed inoculum with *G. clarum*.

In the experiment with tubers the objective was to evaluate the most efficient form of inoculation, using treatments with mixed inoculum involving the tubercles and controls, one with autoclaved inoculum and another with no type of inoculum. Significant differences were observed between the treatments with and without inoculum and the control in relation the total phosphorus (P) accumulated in the plant. The results did not show an effective form of inoculating the tubers.

In the experiment with micropropagated plants two levels of fertilization (1 and 2) were used. In level 1, it was used half of the dose recommended by the soil analyse, using treatment with and without inoculum. In level 2, it was used 4.000 kg of NPK per ha, in the formulation 4:14:8, in plants that were not inoculated with AMF. In the treatment with inoculum, it was observed a low percentage of mycorrhizal colonization. It was noticed a significant increase in the dry material of roots, as well as a high accumulation of nitrogen in roots and tubers of the

treatment in level 1 in relation to level 2. There were no important differences in the treatment with and without inoculum.

These results show the importance of detailed studies in this area, for the use at full potencial of symbiosis.

INTRODUÇÃO GERAL

A biotecnologia vegetal reúne várias técnicas de cultura de tecidos e biologia molecular na busca de plantas de melhor qualidade. A cultura de meristemas, a micropropagação, a cultura de micrósporos, a fusão de protoplastos e a engenharia ou transformação genética de plantas são algumas das técnicas frequentemente citadas.

A propagação de plantas *in vitro* tem atraído a atenção de pesquisadores desde o início do século. Entretanto, progressos nessa área só foram possíveis a partir da década de 30.

Após quase meio século de pesquisas, esta tecnologia conquistou destacada posição na propagação comercial e industrial de plantas, no melhoramento genético, no manejo, intercâmbio e conservação de germoplasma e em outras aplicações, como as pesquisas em fisiologia vegetal e produção industrial *in vitro* de compostos secundários (GIACOMETTI, 1990).

No Brasil, a fruticultura já tem sido beneficiada pelo uso da cultura de meristema e micropropagação (CALDAS & GRATTAPAGLIA, 1986).

A disponibilidade de plantas livres de patógenos, principalmente em espécies propagadas vegetativamente, como o abacaxizeiro e a bananeira, ou via turbérculo, no caso da batata inglesa, é de suma importância para a condução de trabalhos de pesquisa e de fomento a produção agrícola. A escolha da técnica de biotecnologia

a ser utilizada num projeto de pesquisa ou produção comercial dependerá dos objetivos a serem alcançados e das características da espécie.

A primeira aplicação comercial da micropopulação foi feita por MOREL (1960), citado por GRATTAPAGLIA & MACHADO (1990), ao multiplicar orquídeas através da cultura de ápices caulinares e regeneração de protocormos. Atualmente, a atividade comercial de micropopulação concentra-se na limpeza clonal e multiplicação de espécies ornamentais herbáceas e arbustivas. Alguns casos clássicos como a batata e o morango, nos quais a micropopulação vem sendo feita a mais tempo, hoje prosseguem com menor interesse (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1990). Isto se deve, basicamente, à qualidade dos materiais micropopagados que permitem a multiplicação por tempo indeterminado.

FIORINO & LORETTI (1987) ressaltaram o valor dessa técnica na multiplicação de pés-francos de maçã e pêssego, que são as frutíferas de maior importância econômica na Itália, assim como no kiwifruti que é, praticamente, a única cultivar enxertada propagada dessa forma.

As técnicas de propagação *in vitro* apresentam relevância nos programas de certificação de mudas de citrus, maçã, videira e morango, nas quais a sanidade é exigência fundamental. Enquadra-se nesse mesmo programa a batata- semente, que é classificada de acordo com o nível de sanidade (GIACOMETTI, 1990).

Vários trabalhos têm sido desenvolvidos mostrando os efeitos benéficos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na fase de aclimatação de plantas micropopagadas (PAULA *et al.*, 1989; RIZZARDI, 1990; SILVA *et al.*, 1991; NIEMI & VESTBERG, 1992; MEDEIROS *et al.*, 1994). Esses fungos são simbiontes endofíticos, biotróficos e mutualistas presentes na maioria das plantas vasculares nativas e cultivadas (SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

Segundo MOSSE (1973), os efeitos positivos observados nas plantas micorrizadas devem-se, basicamente, ao aumento da absorção de fósforo, que é um fator limitante na maioria dos solos tropicais.

A potencialidade da utilização do FMA foi constatada em diferentes culturas, observando-se um aumento do crescimento e desenvolvimento das plantas.

Segundo MILLNER (1988) o sucesso da exploração dessa simbiose depende da efetividade do isolado, do nível de fósforo do solo e da planta e do sistema de produção do hospedeiro. Entretanto, a relação planta-solo-fungo é muito mais complexa, necessitando de estudos mais aprofundados.

Pelo presente trabalho objetivou-se avaliar os efeitos da inoculação com FMA em plantas micropropagadas de abacaxizeiro (*Ananas comosus* L.), bananeira (*Musa* sp L.) e batata inglesa (*Solanum tuberosum* L.).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALDAS, L.S.; GRATTAPAGLIA, D. Aplicações de biotecnologia na fruticultura. Presente e Futuro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.8, p.7-17, 1986.
- FIORINO, P.; LORETTI, F. Propagation of fruit trees by tissue culture in Italy. **HortScience**, Alexandria, v.22, n.3, p.353-358, 1987.
- GIACOMETTI, D.C. Impacto atual da cultura de tecidos de plantas. In: **Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos de Plantas**, Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPH, 1990. p.17-25.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: **Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos de Plantas**, Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPH, 1990. p.99-169.
- MEDEIROS, C.A.B.; AUGUSTIN, E.; FORTES, G.R.L. Efeito de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares (MVA) sobre o desenvolvimento e nutrição mineral de mudas micropropagadas de aspargo (*Asparagus officinalis* L.) durante o período de aclimatação. In: **REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS**, 5., Florianópolis, 1994. **Resumos...** Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 1994. p.110.

- MILLNER, P.D.A. A minireview of biotechnology as applied to vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Journal of Industrial Microbiology*, Amsterdam, v.29, n.3, p.149-158, 1988.
- MOSSE, B. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IV. In soil given additional phosphate. *The New Phytologist*, Oxford, v.72, p.127-136, 1973.
- NIEMI, M.; VESTBERG, M. Inoculation of commercially grown strawberry with VA micorrhizal fungi. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.144, p.133-142, 1992.
- PAULA, M.A. de; DÖBEREINER, J.; SIQUEIRA, J.O. Nutrição e produção de batata-doce micropropagada e inoculada com fungo micorrízico VA e bactérias diazotróficas. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 3., Piracicaba, 1989. Resumos... Piracicaba: Universidade de São Paulo, 1989. p.26.
- RIZZARDI, V. Effects of inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micropropagated *Musa acuminata* cultivar "Grand Nain". *Rivista di Agricoltura Subtropicale e Tropicale*, Firenze, n.3, p.473-484, 1990.
- SILVA, L.R.C.; ARELLO, E.F.; SILVA, M.A. Efeitos de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares sobre o desenvolvimento de mudas micropropagadas de *Gerbera jamensonii*. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 4., Mendes, 1991. Resumos... Mendes: EMBRAPA-CNPBS/UFRRJ, 1991. p.163.
- SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. **Biotecnologia do Solo:** fundamentos e perspectiva. Brasília: MEC/ABEAS, Lavras: ESAL/FAEPE, 1988. 235p.

CAPÍTULO I

FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM PLANTAS
MICROPROPAGADAS DE ABACAXIZEIRO

[*Ananas comosus* (L.) Merr.],
CULTIVAR PÉROLA.

RESUMO

Com o objetivo de avaliar a eficiência e a efetividade de fungos micorrízicos arbusculares (*Glomus clarum*, *Gigaspora margarita*, *Acaulospora* sp) no desenvolvimento de mudas micropropagadas de abacaxizeiro (*Ananas comosus* L.), cultivar Pérola, conduziu-se experimentos em casa de vegetação e no campo. Na aclimatação, em casa de vegetação, não observou-se diferenças entre os tratamentos com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e o controle sem fungo. No campo, seis meses após o transplantio, verificou-se que as plantas dos tratamentos com FMA mostravam altura superior às plantas do controle. Aos 12 meses, os abacaxizeiros pré-inoculados com FMA apresentavam maior altura, maior número de mudas e acumulavam mais fósforo (P) e potássio (K) nas folhas D do que o controle. Constatou-se uma correlação altamente significativa do número de "filhotes" com a altura ($R=0,74$), com a matéria seca ($R=0,73$) e com o conteúdo total de P ($R=0,68$) e K ($R=0,77$) das folhas D.

ABSTRACT

With the purpose of evaluating the efficiency and the effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus clarum*, *Gigaspora margarita* and *Acalospora* sp) in the development of micropropagated plants of pineapple (*Ananas comosus*), cultivar Pérola, experiments were made in the greenhouse and in the field. During the acclimation in the greenhouse, no difference was noticed between the treatment with and without arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). In the field, six months after transplanting, it was noticed that the plants inoculated with AMF were higher than those without AMF. After twelve months of experiments, the pineapple plants pre-inoculated with AMF were higher, had greater number of seedlings and accumulated more P (phosphorus) and K (potassium) in the leaves D than those treated without AMF. A highly significative correlation between the number of seedlings and the height ($R=0,74$), and dry material ($R=0,73$) and the total content of P ($R=0,68$) and K ($R=0,77$) of the leaves D was observed.

INTRODUÇÃO

Os primeiros estudos botânicos com o abacaxizeiro (*Ananas comosus* L.) tiveram início há mais de quatro séculos com a vinda dos primeiros naturalistas ao Brasil. Esta espécie é uma monocotiledônea perene, com propagação predominantemente assexuada e pouco conhecida sob o ponto de vista genético. Pertence a divisão terrestre da família Bromeliaceae, ordem Bromeliales, apresentando como característica principal a capacidade de estocar água em suas folhas (COLLINS, 1960).

O abacaxizeiro é originário das Américas do Sul e Central. Acredita-se que o seu centro de origem esteja na área compreendida pela região centro-sul do Brasil, norte da Argentina e Paraguai, espalhando-se para outras regiões tropicais e subtropicais do mundo (CABRAL, 1984; COLLINS, 1960).

As cultivares comerciais de abacaxi são diplóides e apresentam como características a presença de frutos partenocápicos, auto-incompatibilidade e sementes escassas ou muito raras (CABRAL, 1984).

No Brasil as cultivares mais plantadas são: Pérola, Amarelo e Smooth Cayenne. A cultivar Pérola empregada neste trabalho caracteriza-se por apresentar porte delgado, pedúnculo frutífero longo, folhas longas e providas de espinhos finos e produção de um grande número de filhotes. Apesar das boas características organolépticas do fruto é menos adequado para a industrialização e exportação

in natura do que a cultivar S. Cayenne (GIACOMELLI & PY, 1981). Em trabalho desenvolvido por GADELHA (1979) observou-se uma acentuada taxa de variação morfológica e especialmente pomológica em plantas desta cultivar, acarretando uma elevada produção de frutos com características inadequadas à comercialização.

A importância da abacaxicultura baseia-se nas opções comerciais que oferece, sobretudo devido a possibilidade do controle das épocas de produção, exequibilidade de plantio em diferentes épocas e regiões, tempo relativamente curto para obtenção do fruto e o fato do abacaxi se prestar tanto para o consumo in natura como para a industrialização (GIACOMELLI & PY, 1981). Em termos mundiais, o abacaxi ocupa o segundo lugar entre os frutos industrializados.

O Brasil está classificado como quarto produtor mundial de abacaxi superado apenas pela Tailândia, Filipinas e China (FAO, 1993). Em termos nacionais, as regiões Nordeste e Sudeste são as maiores produtoras, destacando-se os estados da Paraíba e Minas Gerais responsáveis em 1993, por 65,20% da produção brasileira (IBGE, 1994).

Os dados do Setor de Economia da CEASA-RJ (comunicação pessoal, 1994) mostram um incremento em 114% da oferta de abacaxi pelo Estado do Rio de Janeiro, de 1992 para 1993, contribuindo com 38,7% do total comercializado deste produto.

Sob o ponto de vista nutricional, o fruto maduro apresenta como componentes principais: água, fibras, vitaminas, fósforo, potássio, sódio e carboidratos (DULL, 1971).

O abacaxizeiro é uma cultura exigente em termos nutricionais. No Brasil, os solos abacaxícolas são, geralmente, ácidos e de baixa fertilidade (GIACOMELLI & PY, 1981).

O nitrogênio (N) e o potássio (K) constituem os elementos mais requeridos para altas produções e boa qualidade dos frutos, sendo controvérsido

o papel dos fertilizantes fosfáticos nesta cultura (ALVARENGA, 1981). SAMUELS *et al.* (1956) e ALVARENGA & COUTO (prelo), citado por ALVARENGA (1981) obtiveram uma menor produção de abacaxi com a aplicação de doses crescentes de P₂O₅. Estes pesquisadores ressaltaram, contudo, a importância da adubação fosfática no aumento do comprimento das folhas e no número de mudas do tipo filhote, relacionando sua deficiência com a diminuição da vitalidade da planta e no número de rebentões.

Dentre os problemas fitossanitários desta cultura destacam-se: gomose ou fusariose, a broca, a colchonilha e os nematóides. Por vezes também ocorrem sérios danos pós-colheita, devido à podridão negra ou mole do abacaxi, causada pelo fungo *Thielaviopsis paradoxa* (De Setner) Von Hoechnel (GIACOMELLI & PY, 1981). Entretanto, a baixa taxa de propagação e a alta incidência de fusariose são os principais fatores limitantes à expansão da abacaxicultura no Brasil.

A fusariose causada pelo fungo *Fusarium moniliforme* Sheld, var. *subglutinans*, é considerada a doença mais séria do abacaxizeiro no Brasil, sendo responsável por perdas de 30 a 40% (GOES *et al.*, 1981), na maioria das regiões produtoras (REINHARDT & CUNHA, 1993).

A disponibilidade de mudas sadias em espécies propagadas vegetativamente, como o abacaxizeiro, se torna de grande importância devido, principalmente, a disseminação de doenças, constituindo-se um fator limitante a expansão e produtividade da cultura. O seccionamento do caule e a micropopulação de gemas axilares *in vitro* apresentam-se como alternativas eficientes, que permitem uma rápida e elevada taxa de propagação de mudas de abacaxizeiro, com alto grau de sanidade (CABRAL *et al.*, 1983).

O seccionamento do caule, método desenvolvido no Havaí com a finalidade de multiplicação acelerada de novas variedades, foi adaptado para a

produção de mudas sadias, através de estudos conduzidos no Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura (CNPMF/EMBRAPA), a partir de 1977. Este método permite uma rigorosa seleção visual, quanto à presença ou não de doenças, que não é possível quando se examina as mudas inteiras (CHALFOUN, 1981).

A propagação *in vitro* de abacaxizeiro foi primeiro realizada por AGHION & BEAUCHESNE, 1960, citado por FITCHET (1990), mas só a partir da década de 70 é que esta forma de propagação foi considerada como uma alternativa eficiente para a produção de mudas em larga escala. Sabe-se, que tanto o meristema como a gema, pode ser usado como explante no cultivo *in vitro* do abacaxizeiro, o que possibilita um grande aumento da sua taxa de multiplicação. Entretanto, nos últimos anos, têm-se dado ênfase a utilização de gemas nos trabalhos de propagação dessa espécie (FITCHET, 1990). Estima-se a produção por esta técnica de um milhão de plântulas uniformes, a partir de uma gema, em dois anos (PANNETIER & LANAUD, 1976).

A cultura de tecido se apresenta, também, como parte integrante de trabalhos de melhoramento (WAKASA *et al.*, 1978), que no caso desta espécie se fazem necessários devido, principalmente, a baixa resistência às doenças de solo e a degeneração de características das cultivares plantadas (GADELHA, 1979). De acordo com SITA *et al.* (1974), o abacaxizeiro apresenta altas taxas de mutações espontâneas sendo um material ideal para este tipo de trabalho. Os programas de melhoramento genético em curso, tanto no Brasil como no exterior, vêm buscando a ampliação da variabilidade deste material, com a utilização de tipos primitivos cultivados de *Ananas comosus* assim como de espécies silvestres e colonizadoras afins.

Apesar do custo elevado da muda obtida via cultura de tecidos, este poderia ser compensado pela propagação de genótipos selecionados, cujo

rendimento é, aproximadamente, 30% superior. A micropropagação comercial de abacaxi no Brasil foi iniciada pela Maguary, no Nordeste, em maio de 1987. Por esta técnica, o viveiro tem possibilidades de fornecer, em um ano, cerca de dois milhões de mudas altamente qualificadas para plantio comercial (TORRES & CALDAS, 1990).

Segundo GIANINAZZI-PEARSON (1986) a maioria das espécies vegetais desenvolvem naturalmente associações com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) que influenciam, particularmente, a absorção de fosfato pelas plantas, possibilitando uma maior eficiência do fertilizante aplicado. Sabe-se, contudo, que esta associação é complexa estando envolvidos fatores da planta e do fungo, assim como morfologia das raízes, fertilidade do solo e condições ecológicas (PLENCHETTE *et al.*, 1983; SIQUEIRA & FRANCO, 1988).

Em 1981, MOURICHON realizou as primeiras observações da presença de FMA em raízes de abacaxi, identificando as estruturas como pertencentes ao gênero *Glomus*. Em Kerala, África, GIRIJA & NAIT (1985) constataram a incidência significativamente alta (80,7%) de colonização por FMA nesta cultura.

Em trabalho desenvolvido com mudas de *S. Cayenne* e inóculo misto com *Glomus aggregatum*, AZIZ *et al.* (1990) verificaram que o aumento nos níveis de P do solo diminuiu significativamente a colonização das raízes, desaparecendo as diferenças entre mudas inoculadas e não inoculadas. Observaram, também, que o estímulo do fungo ao crescimento das mudas só foi possível em níveis muito baixos de P do solo.

JAIZME VEGA & AZCON (1991) em experimento conduzido com plântulas micropropagadas de *S. Cayenne* e três espécies de FMA constataram a eficiência destes fungos na sobrevivência, nutrição e desenvolvimento das plântulas. De acordo com LOVATO *et al.* (1994) o abacaxizeiro micropropagado revelou-se dependente do FMA na fase de aclimatação, evidenciando-se, também,

um efeito bioprotetor das micorrizas, caracterizado pela diminuição dos danos causados pela infestação com *Phytophtora cinnamomi* e pelo ataque do nematóide *Pratylenchus brachyurus*.

Com base em trabalhos desenvolvidos com diferentes espécies (aspargo, banana, batata-doce, mandioca, morango, videira) constatou-se o grande potencial que a interação das técnicas de micropromoção e inoculação com FMA oferecem na fase de aclimatação, possibilitando a obtenção de mudas com maior vigor e capacidade de adaptação no transplantio.

O objetivo principal deste trabalho foi verificar o FMA mais eficiente na aclimatação de plântulas micropagadas de abacaxizeiro, cultivar Pérola, sob condições de casa de vegetação. Complementarmente, fez-se um acompanhamento a nível de campo, avaliando-se a efetividade destes fungos no desenvolvimento das plantas e produção de mudas.

MATERIAL E MÉTODOS

- CULTURA *IN VITRO* DE GEMAS AXILARES

Esta primeira etapa foi desenvolvida no Laboratório de Cultura de Tecidos da Sociedade Brasileira de Sementes (SBS), a partir de mudas do tipo rebentão, obtidas de matrizes selecionadas da cultivar Pérola, enviadas pelo Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura (CNPMF/EMBRAPA).

Iniciou-se o processo com a retirada das folhas, seguindo-se o seccionamento do caule, de forma que cada seção contivesse em torno de quatro gemas. Em capela de fluxo laminar procedeu-se a desinfestação das seções, utilizando-se álcool a 70%, por um ou dois minutos e, em seguida, água sanitária (cloro ativo mínimo 2,0 p/p) a 20% com uma gota de Tween 20 por 100 ml, durante vinte minutos. Finalizando a assepsia fez-se três enxagues em água destilada esterilizada, com a duração de três minutos cada um.

Procedeu-se, então, a extração das gemas axilares (0,3 cm), colocando-as em vidros de 250 ml contendo 20 ml de meio básico de MURASHIGE & SKOOG (MS), 1962, adicionado de sacarose (30 g.l^{-1}), agar ($5,5\text{ g.l}^{-1}$) e pH ajustado em 5,7. Os reguladores de crescimento utilizados na fase de estabelecimento e desenvolvimento das gemas, assim como proliferação das plântulas foram o ácido

MATERIAL E MÉTODOS

- CULTURA *IN VITRO* DE GEMAS AXILARES

Esta primeira etapa foi desenvolvida no Laboratório de Cultura de Tecidos da Sociedade Brasileira de Sementes (SBS), a partir de mudas do tipo rebentão, obtidas de matrizes selecionadas da cultivar Pérola, enviadas pelo Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura (CNPMF/EMBRAPA).

Iniciou-se o processo com a retirada das folhas, seguindo-se o seccionamento do caule, de forma que cada seção contivesse em torno de quatro gemas. Em capela de fluxo laminar procedeu-se a desinfestação das seções, utilizando-se álcool a 70%, por um ou dois minutos e, em seguida, água sanitária (cloro ativo mínimo 2,0 p/p) a 20% com uma gota de Tween 20 por 100 ml, durante vinte minutos. Finalizando a assepsia fez-se três enxagues em água destilada esterilizada, com a duração de três minutos cada um.

Procedeu-se, então, a extração das gemas axilares (0,3 cm), colocando-as em vidros de 250 ml contendo 20 ml de meio básico de MURASHIGE & SKOOG (MS), 1962, adicionado de sacarose (30 g.l^{-1}), agar ($5,5\text{ g.l}^{-1}$) e pH ajustado em 5,7. Os reguladores de crescimento utilizados na fase de estabelecimento e desenvolvimento das gemas, assim como proliferação das plântulas foram o ácido

naftalenoacético (ANA-0,1 mg.l⁻¹) e 6-benzilaminopurina (BAP-2 mg.l⁻¹), enquanto que na fase de enraizamento usou-se ANA (0,2 mg.l⁻¹) e o ácido indolbutírico (AIB-0,4 mg.l⁻¹). Estas etapas foram desenvolvidas em condições controladas com temperaturas entre 24 e 28°C, intensidade luminosa de 1.600 lux e fotoperíodo de 16 horas.

- ACLIMATAÇÃO

Esta etapa foi conduzida sob condições de casa de vegetação, no Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (CNPAB/EMBRAPA), Itaguaí-RJ.

Empregou-se 24 plântulas micropagadas, com 3 cm de altura, que foram inicialmente aclimatadas em bandeja de isopor, constituída de 72 células com capacidade de 100 ml por célula. O substrato utilizado foi vermicomposto autoclavado, proveniente de esterco bovino.

Os tratamentos empregados foram: testemunha, *Glomus clarum* (Nicolson & Schenk), *Gigaspora margarita* (Becker & Hall) e *Acaulospora sp*, utilizando-se nos tratamentos com FMA sessenta esporos por plântula. Estes esporos foram obtidos de vasos de cultivo com *Brachiaria decumbens* através da técnica de peneiramento e decantação de GERDEMANN & NICOLSON (1963).

Cada tratamento consistiu de seis repetições, sendo a parcela experimental constituída por uma planta. Os tratamentos foram arranjados separadamente para prevenir possíveis contaminações. Esta etapa durou 135 dias.

Após este tempo, fez-se o transplante das plantas para sacos de polietileno, com capacidade de 5 kg, utilizando-se uma mistura autoclavada de amostra de terra de um solo Podzólico Vermelho-Amarelo (PVA) e vermiculita, na proporção de 3:1 (v:v). Adicionou-se a esta mistura 1,67 g de fosfato de Patos

de Minas (24% de P₂O₅ total e 5% de P₂O₅ solúvel em ácido cítrico 2%) por kg de substrato.

O solo utilizado apresentava as seguintes características: pH = 4,9; P = 1,7 µg.cm⁻³; K = 117 µg.cm⁻³; Ca = 0,6 meq.100 cm⁻³ e Al = 1,0 meq.100cm⁻³ de solo. Essas determinações foram feitas segundo metodologias da EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (1979).

Esta segunda etapa durou 141 dias, sendo o delineamento experimental inteiramente casualizado. Ao final desse tempo as mudas se apresentavam em torno de 30 a 40 cm, procedendo-se, então, a transferência para o campo.

- CAMPO

As mudas assim produzidas foram transplantadas para uma área recém-desmatada na Fazenda Massangana, Município de Silva Jardim, no Estado do Rio de Janeiro. O solo do local de plantio apresentava as mesmas características acima mencionadas.

O espaçamento utilizado foi de 0,40 x 0,40 m em fila dupla, sendo a adubação feita por cova, constituindo-se de: 0,8 g de superfosfato simples, 2,5 g de fosfato de Patos de Minas, 0,8 g de cloreto de potássio e 1 litro de esterco bovino curtido. O delineamento experimental foi o mesmo da fase de aclimatação.

Cabe salientar, que não foi feita a indução floral, processo normalmente utilizado nos plantios comerciais, nem qualquer tipo de controle fitossanitário.

Esta etapa foi acompanhada de junho de 1990 a janeiro de 1992.

- AVALIAÇÕES

Para verificação da colonização micorrízica foram feitas amostragens das raízes, procedendo-se o clareamento e coloração, com base na técnica de PHILLIPS & HAYMAN (1970).

A avaliação de esporos de FMA, em amostras de solo, baseou-se na técnica de peneiramento e decantação, segundo GERDEMANN & NICOLSON (1963).

Os parâmetros avaliados foram: altura das plantas (6 e 12 meses), número de rebentões (12 meses), número de filhotes (18 meses), peso de parte aérea e conteúdo de fósforo (P) e potássio (K). Os três últimos parâmetros foram avaliados em material seco e moído de folhas "D", que são as folhas de abacaxizeiro que se apresentam em final de crescimento. A análise de P e K foi realizada de acordo com BATAGLIA *et al.* (1983), sendo determinados por colorimetria e fotometria de chama.

A análise estatística foi feita com base nos dados de quatro repetições por tratamento, pelo Anova 1, do programa MSTAT, sendo as médias comparadas pelo teste de DUNCAN ($P<0,05$). Nos parâmetros, número de rebentões e filhotes, a análise foi realizada com os dados transformados em raiz quadrada de $\sqrt{x+1}$. Para uma avaliação das relações entre os diferentes parâmetros, realizou-se, complementarmente, uma análise de correlação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que o vermicomposto foi inadequado ao preparo das mudas, não possibilitando uma boa agregação das partículas, mesmo com o desenvolvimento das raízes, dificultando desta forma a produção no sistema de bandejas.

Na segunda fase de aclimatação, na qual utilizou-se solo e vermiculita, ocorreu um melhor desenvolvimento das mudas. Não foram observadas diferenças entre os tratamentos com FMA e o controle, apresentando-se as plantas com altura e vigor idênticos. Resposta semelhante foi verificada por AZIZ *et al.* (1990) em mudas de *S. Cayenne*, provenientes de coroa, apontando como possível causa o lento crescimento das mudas, o que implicaria numa menor demanda de P pela planta. NIEMI & VESTBERG (1992) em trabalho com mudas micropropagadas de morango não constataram, também, diferenças entre as mudas do tratamento com FMA e as do controle, verificando, ainda, um baixo nível de infecção.

Na ocasião do transplante para o campo verificou-se que as mudas do controle não se apresentavam colonizadas. Na avaliação da população nativa encontrou-se uma média de 50 esporos por 50 ml de solo, com o predomínio de *Glomus macrocarpum* e *Acaulospora* sp.

No campo, a avaliação da altura, aos 6 e 12 meses, mostrou que as mudas micorrizadas foram superiores as do controle, com exceção do tratamento com *G. margarita*, que não diferiu, aos 6 meses, do controle e dos demais tratamentos com FMA (Figuras 1 e 2). GUILLEMIN *et al.* (1991) trabalharam com abacaxizeiros micropropagados da cultivar *S. cayenne*, em solos ácidos e alcalinos. Constataram que as plantas inoculadas com *Glomus sp.*, em solos ácidos, desenvolveram-se mais rapidamente do que aquelas com *G. intraradices*, em solos alcalinos. Verificaram, ainda, que a aplicação da solução de Hoagland reduziu o efeito do FMA nos solos ácidos e o anulou totalmente em solos alcalinos.

A resposta positiva à inoculação encontrada no campo, pode ser explicada pelo aumento do metabolismo da planta, que levou a uma maior demanda de nutrientes, fazendo com que a simbiose funcionasse efetivamente. Segundo SIQUEIRA & FRANCO (1988) a intensidade da infecção micorrízica, bem como seu funcionamento e resposta do hospedeiro, são determinados pelo fungo e pela planta, condicionados pelo meio ambiente.

Aos seis meses verificou-se que a rizosfera de todas as plantas apresentavam esporos de fungos nativos (30 esporos por 50 ml de solo).

Na avaliação da matéria seca de folha "D", aos 12 meses, verificou-se que as plantas micorrizadas foram superiores as do controle (Tabela 1), obtendo-se uma correlação altamente significativa entre esse parâmetro e a altura da planta ($R=0,73^{**}$). Observou-se, também, que os tratamentos com FMA apresentavam um maior conteúdo total de P e K, em relação ao controle, sem inoculação (Tabela 1). Estes dados indicaram que as plantas micorrizadas apresentavam um maior vigor e melhor estado nutricional do que as não micorrizadas.

Em experimentos desenvolvidos com mudas micropropagadas de abacaxizeiro, sob condições de casa de vegetação, JAIZME VEGA & AZCON (1991) e LOVATO *et al.* (1994), constataram uma maior taxa de sobrevivência e

desenvolvimento, assim como um maior conteúdo de N, P e K nas plantas micorrizadas em relação ao controle sem inoculação. Estes pesquisadores verificaram uma dependência das mudas de abacaxizeiro pelo FMA, na fase de aclimatação. Constataram, também, que o aumento em tamanho das mudas micorrizadas persistiu até a idade de 10 meses, em sistemas normais de produção, com solo não desinfestado.

O maior desenvolvimento e peso da parte aérea de plantas micorrizadas têm sido reportado por vários pesquisadores, que relacionaram estes efeitos, basicamente, a maior absorção de nutrientes (ABBOTT & ROBSON, 1984; GIANINAZZI-PEARSON, 1986; SCHUBERT *et al.* 1990). O melhor nível nutricional da planta micorrizada deve-se, basicamente, a uma maior eficiência de absorção de fosfato (COOPER, 1984; RIZZARDI, 1990), que é considerado um elemento pouco disponível na maioria dos solos tropicais, devido aos fenômenos de fixação com oxi-hidróxidos de ferro e alumínio.

Em trabalho posterior a este, GARCIA (comunicação pessoal, 1992) não observou, no campo, diferenças em altura e peso de parte aérea de mudas micropropagadas de S. Cayenne e Pérola, pré-inoculadas com FMA. Na avaliação de P total, entretanto, os tratamentos com FMA mostraram-se superiores ao controle. Verificou, também, que os frutos apresentavam-se duros e deformados, principalmente no ápice.

Segundo COOPER (1984) a resposta das plantas a infecção micorrízica varia, consideravelmente, refletindo a eficiência do endófito, assim como a habilidade de adaptação a diferentes condições ambientais, nutricionais e físicas do solo. MOSSE (1973) assinalou que a efetividade do FMA depende mais da sua interação com um solo, considerado em toda sua amplitude, do que com um hospedeiro em particular.

Pelas Figuras 3 e 4 pode-se observar que o número de mudas (rebentões e filhotes) foi maior nos tratamentos com FMA do que no controle, sem inoculação. Constatou-se que o número de mudas do tipo filhote apresentou uma correlação altamente significativa com a altura ($R=0,74^{**}$), a matéria seca ($R=0,73^{**}$) e o conteúdo total de P ($R=0,68^{**}$) e K ($R=0,77^{**}$).

ALVARENGA & COUTO (prelo), citado por ALVARENGA (1981) salientaram em seu trabalho com abacaxizeiro, o papel da adequada nutrição de P, na altura e no número de mudas do tipo filhote, enquanto que CABRAL (1984) considera o número de mudas como uma característica genética, influenciada pelo ambiente e pelo desenvolvimento vegetativo da planta.

Os frutos obtidos aos 12 meses apresentavam-se com aspecto normal, embora de pequeno tamanho.

O emprego da técnica de cultura *in vitro* de gemas axilares mostrou-se satisfatório na produção de mudas, observando-se a manutenção das características fenotípicas da cultivar Pérola, em todas as fases do experimento. Torna-se, contudo, importante determinar-se o número de multiplicações a serem realizadas *in vitro*, a partir de um mesmo explante, de forma que se mantenha as características genéticas desejáveis da espécie. Este trabalho é de especial importância em abacaxizeiro devido a alta degeneração que este material apresenta, mesmo sob condições naturais.

CONCLUSÕES

Os abacaxizeiros da cultivar Pérola responderam positivamente, sob condições de campo, às três espécies de fungos pré-inoculados.

Os resultados sugerem que o maior vigor e desenvolvimento das plantas micorrizadas constituiu-se um fator preponderante para o incremento na produção de mudas em relação à testemunha sem inoculação.

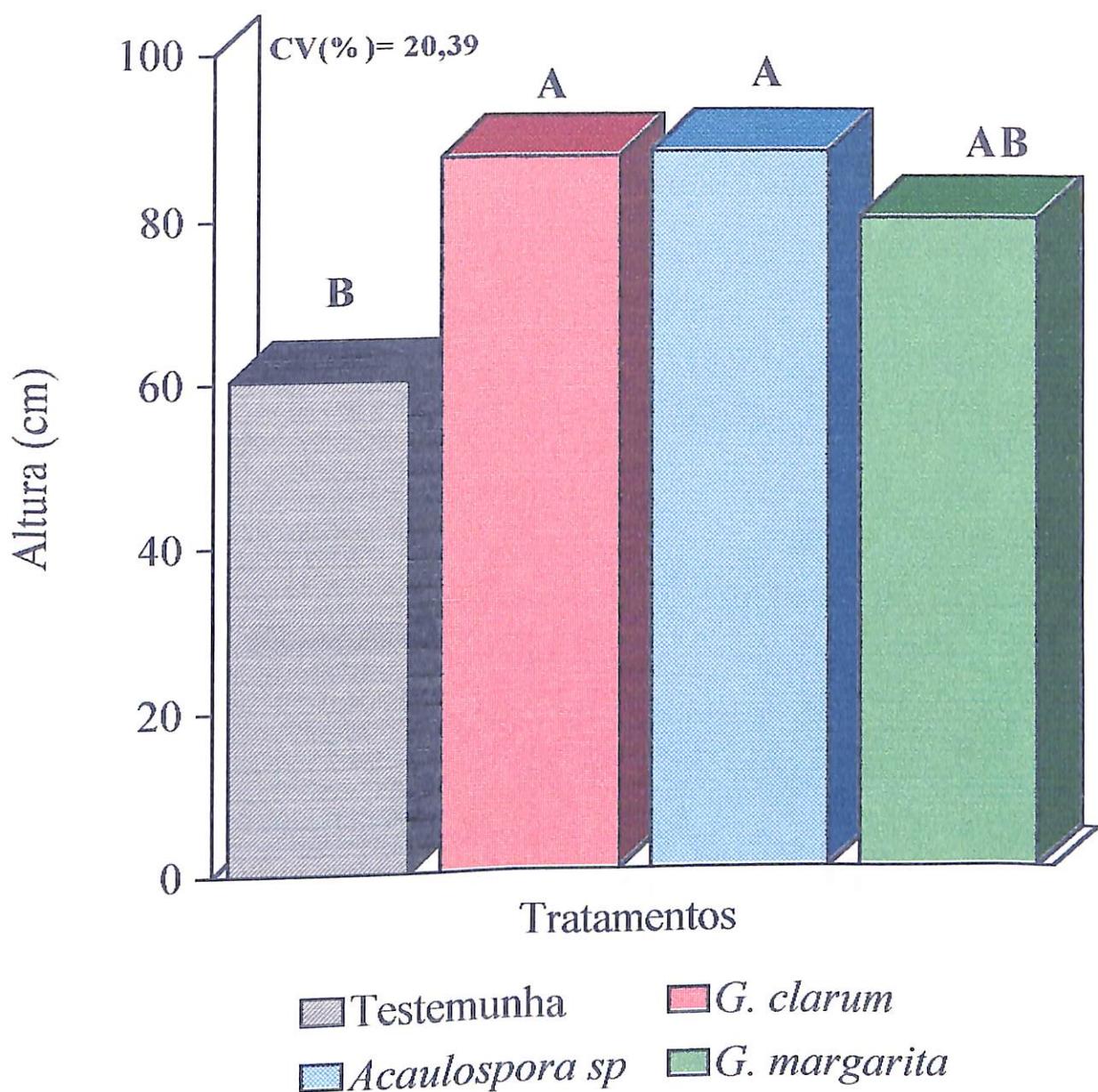


Figura 1. Altura dos abacaxizeiros aos seis meses após o transplante para o campo. Média de quatro repetições. Valores seguidos de mesma letra não diferem pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

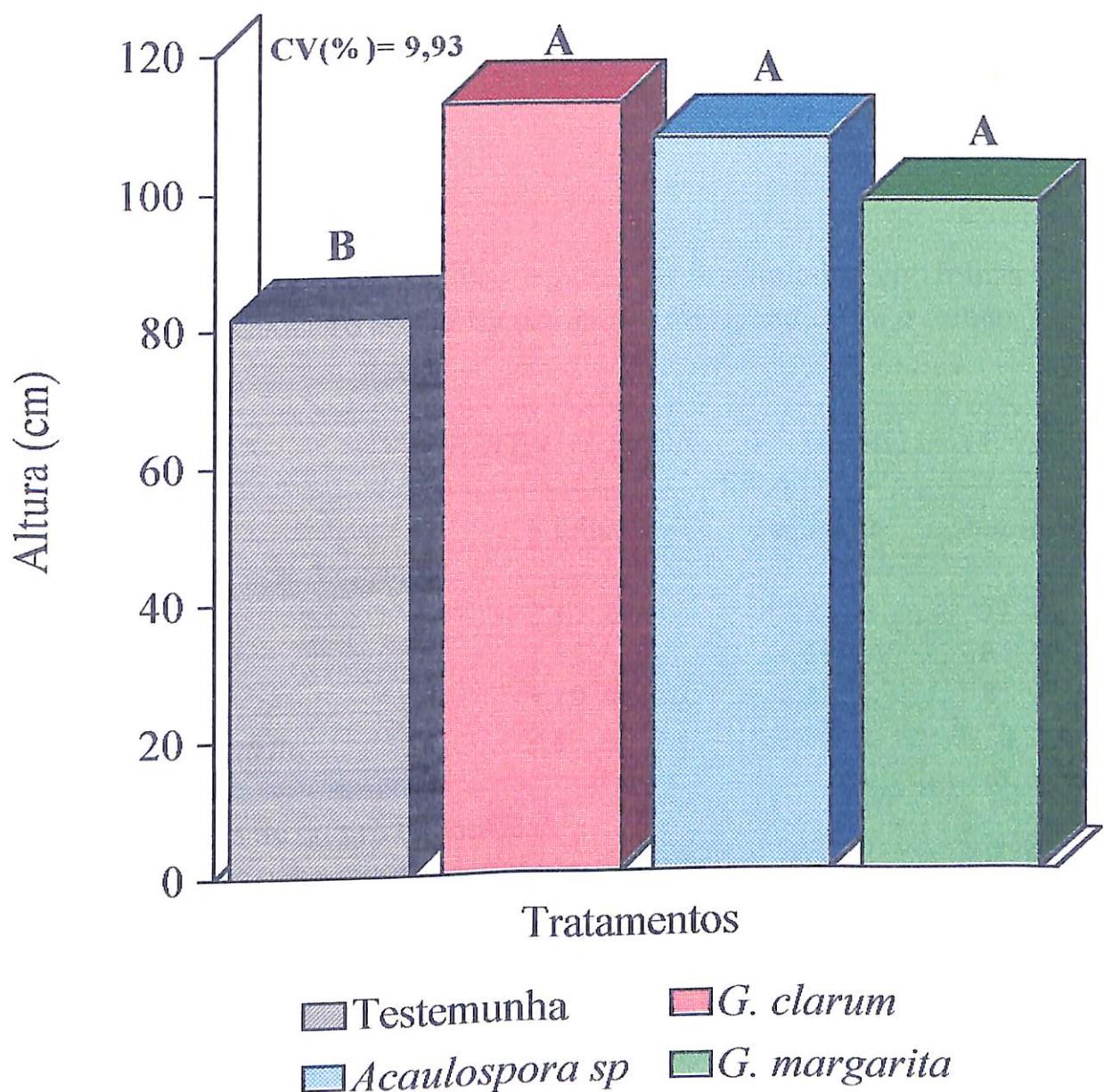


Figura 2. Altura dos abacaxizeiros aos doze meses após o transplante para o campo. Média de quatro repetições. Valores seguidos de mesma letra não diferem pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

TABELA 1: Matéria seca, fósforo e potássio acumulados em folhas "D" de abacaxizeiro aos 12 meses após o transplante para o campo.¹

TRATAMENTO ²	MATERIA SECA	FÓSFORO	POTÁSSIO
	g.folha ⁻¹	mg.folha ⁻¹	mg.folha ⁻¹
Testemunha	2,15 B	2,91 B	51,38 B
<i>Glomus clarum</i>	3,15 A	4,11 A	81,20 A
<i>Acaulospora</i> sp.	3,19 A	4,39 A	81,50 A
<i>Gigaspora margarita</i>	2,83 A	3,88 A	73,20 A

¹ Valores médios de quatro repetições.

² Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

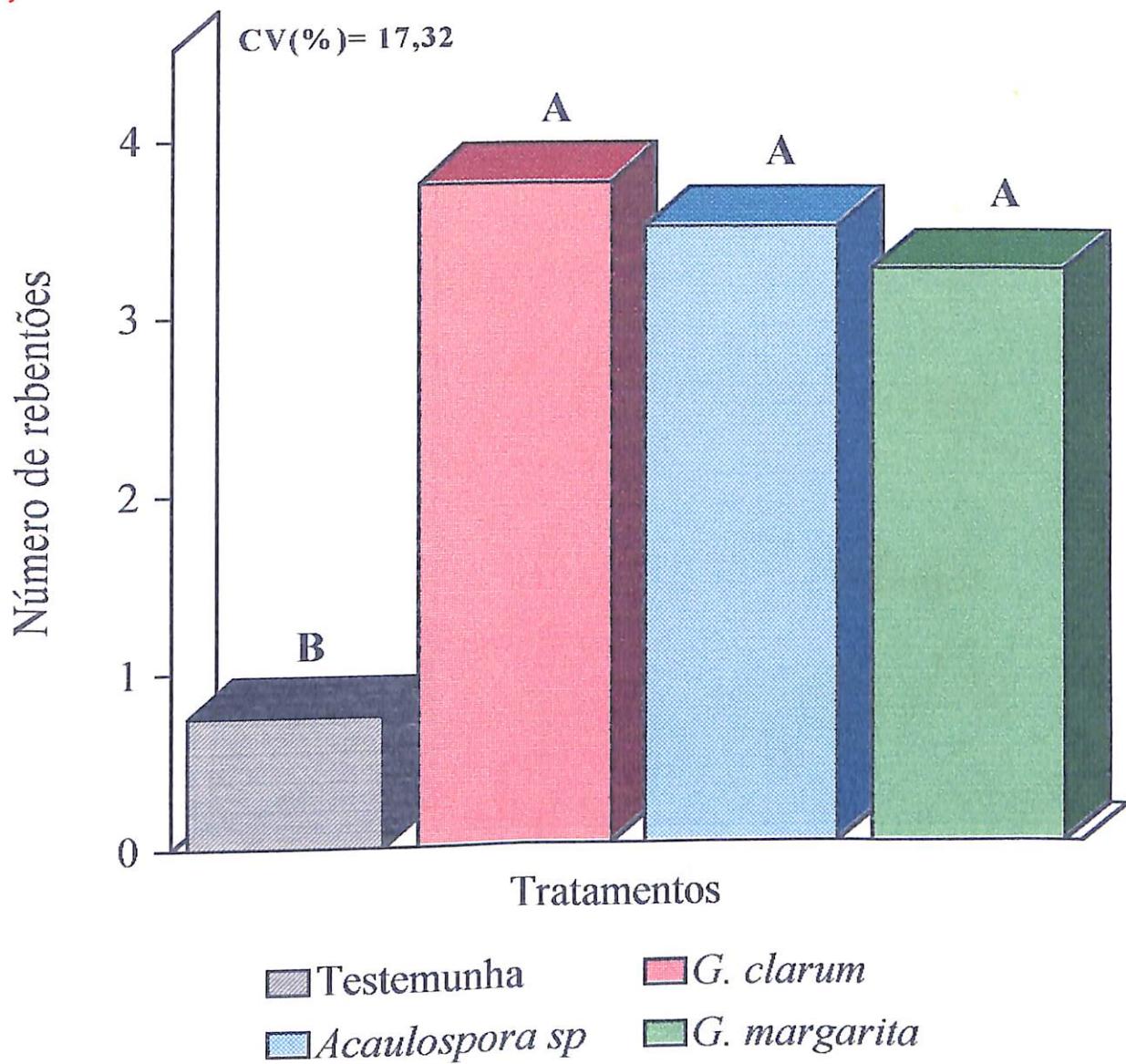


Figura 3. Número de rebentões em abacaxizeiros aos doze meses após o transplante para o campo. Média de quatro repetições. Valores seguidos de mesma letra não diferem pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

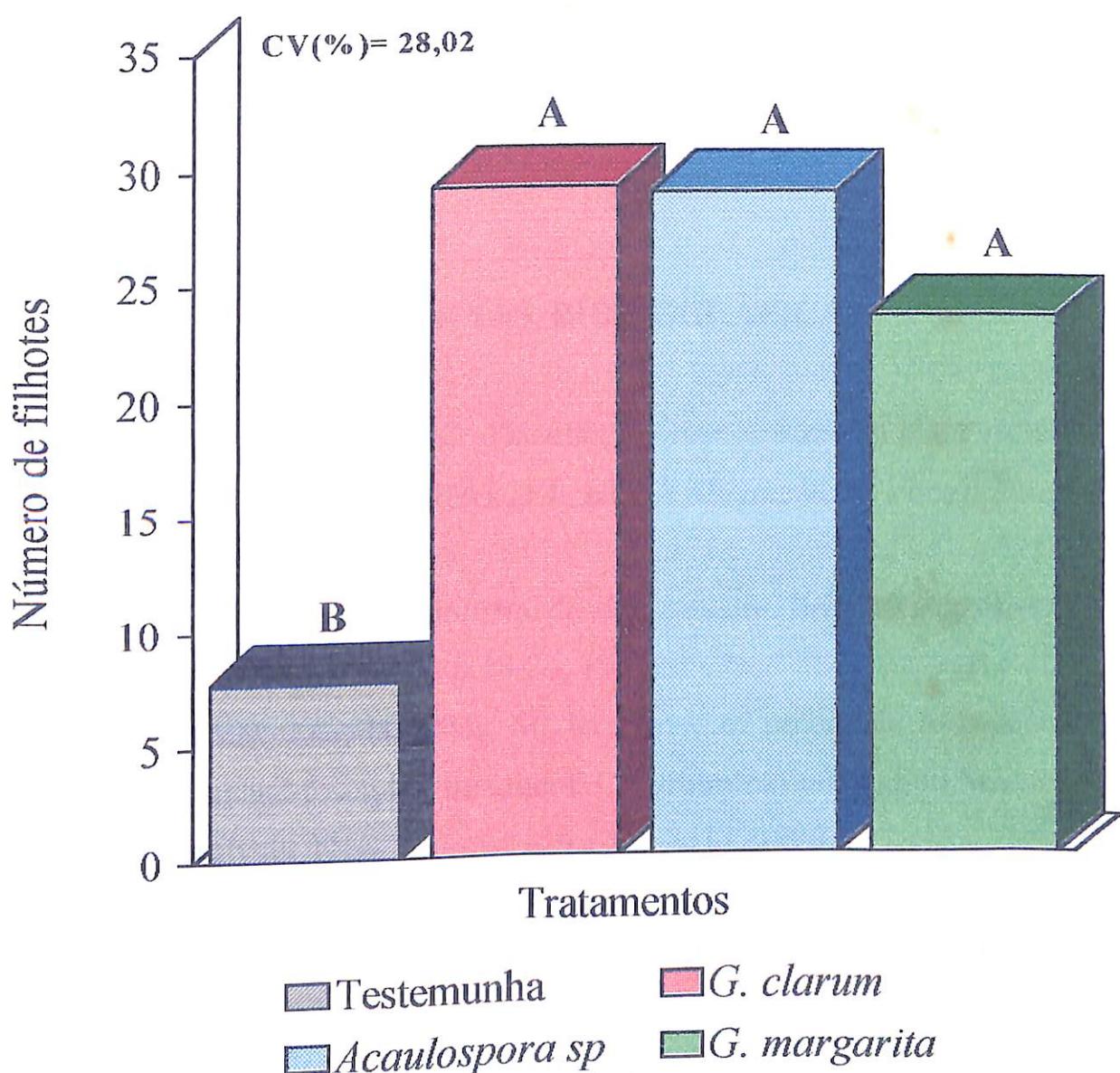


Figura 4. Número de filhotes aos dezoito meses após o transplante para o campo. Média de quatro repetições. Valores seguidos de mesma letra não diferem pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. The effect of mycorrhizas on plant growth. In: POWELL, C.L.; BAGYARAJ, D.J., ed. **VA Mycorrhizal**. Boca Raton: CRC Press, 1984. p.113-130.
- ALVARENGA, L.R. Nutrição mineral do abacaxizeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.7, n.74, p.18-24, 1981.
- AZIZ, T.; YUEN, J.E.; HABTE, M. Response of pineapple to mycorrhizal inoculation and fosetyl-al treatment. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.21, p.2309-2317, 1990.
- BATAGLIA, O.C.; FURLANI, A.M.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; GALLO, J.R. Métodos de análise química de plantas. **Boletim Técnico do Instituto Agronômico**, Campinas, v.78, p.1-46, 1983.
- CABRAL, J.R.S. Fitomelhoramento do abacaxizeiro: espécies, variedades; aspectos de resistência à fusariose. In: **CURSO INTENSIVO NACIONAL DE FRUTICULTURA**, 2., Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMF, 1984. p.1-11.
- CABRAL, J.R.S.; CUNHA, G.A.P.; RODRIGUES, E.M. Propagação do abacaxi *in vitro*. Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMF, 1983. 2p. (EMBRAPA/CNPMF. Pesquisa em Andamento, 12).

- CHALFOUN, S.M. Obtenção e manejo de mudas de abacaxizeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte. v.7, n.74, p.15-18, 1981.
- COLLINS, J.L. **The pineapple; botany, cultivation, and utilization**. London: Leonard Hill, 1960. 294p.
- COOPER, K.M. Physiology of VA mycorrhizal associations. In: POWELL, C. LI; BAGYARAJ, D.J., eds. **VA Mycorrhizal**. Boca Raton: CRC Press, 1984. p.155-186.
- DULL, G.G. The pineapple: general. In: HULME, A.C., ed. **The biochemistry of fruits and their products**. London: Academic Press, 1971. p.303-316.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. Rio de Janeiro, RJ. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro, 1979. n.p.
- FAO, Yearbook. **Production**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1993, v.46.
- FITCHET, M. Clonal propagation of Queen and Smooth Cayenne pineapples. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.275, p.261-267, 1990.
- GADELHA, R.S. de S. **Avaliação de híbridos de abacaxi comparados com a cultivar Pérola**. Macaé: PESAGRO-RIO, 1979. 2p. (PESAGRO-RIO. Comunicado Técnico, 35).
- GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transaction of the British Mycological Society**, London, v.46, p.235-246, 1963.
- GIACOMELLI, E.J.; PY, C. **O abacaxi no Brasil**. Campinas: Fundação Cargill, 1981. 101p.
- GIANINAZZI-PEARSON, V. Mycorrhizae: a potential for better use of phosphate fertilizer. **Fertilizers and Agriculture**, Dijon, v.92, p.3-12, 1986.

- GIRIJA, V.K.; NAIT, S.K. Occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhiza in certain crop plants of Kerala. *Agricultural Research Journal of Kerala*, Kerala, v.23, n.2, p.185-188, 1985.
- GOES, A. de; VIEIRA, A.; GADÊLHA, R.S. de S.; SANTOS, A.C. dos. **Incidência de fusariose e broca em frutos de abacaxi relacionada com época de colheita no Estado do Rio de Janeiro.** Macaé: PESAGRO-RIO, 1981. 3p. (PESAGRO-RIO. Comunicado Técnico, 86).
- GUILLEMIN, J.P.; GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V. L'endomycorhization de vitroplants d' *Ananas comosus*: mise en évidence d'un effet mycorhizien. *Fruits*, Paris, 1991. (In press).
- IBGE. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**; pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. Rio de Janeiro, 1994.
- JAIZME VEGA, M.C.; AZCON, R. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on pineapple [*Ananas comosus* (L.) Merr.] in the Canary Islands. *Fruits*, Paris, v.46, n.1, p.47-50, 1991.
- LOVATO, P.E.; GUILLEMIN, J.P.; TROUVELOT, A.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Micorrização de plantas micropropagadas. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 5., Florianópolis, 1994. Resumos... Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 1994. p.97.
- MOSSE, B. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IV. In soil given additional phosphate. *The New Phytologist*, Oxford, v.72, p.127-136, 1973.
- MOURICHON, X. Mise en evidence d'une association endomycorhizogene chez l'ananas em Côte d'Ivoire. *Fruits*, Paris, v.36, p.745-749, 1981.

- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium of rapid growth and bio-assay with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- NIEMI, M.; VESTBERG, M. Inoculation of commercially grown strawberry with VA micorrhizal fungi. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.144, p.133-142, 1992.
- PANNETIER, C.; LANAUD, C. Divers aspects de l'utilisation possible des cultures *in vitro* pour la multiplication végétative de l'Ananas comosus L. MERR, variété "Cayenne lisse". *Fruits*, Paris, v.31, p.739-750, 1976.
- 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 of the British Mycological Society*, London, v.55, p.158-161, 1970.
- PLENCHETTE, C.; FORTIN, J.A.; FURLAN, V. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.70, p.199-209, 1983.
- REINHARDT, D.H.R.C.; CUNHA, G.A.P. *Método de produção de mudas sadias de abacaxi*. Cruz das Almas: EMBRAPA/CNPMPF, 1993. 20p. (EMBRAPA-CNPMPF. Circular Técnica, 2).
- RIZZARDI, V. Effects of inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micropropagated *Musa acuminata* cultivar "Grand Nain". *Rivista di Agricoltura Subtropicale e Tropicale*, Firenze, n.3, p.473-484, 1990.
- SAMUELS, G.; LANDRAU, Jr.P.; ALERS, S.A. Influence of Phosphate Fertilizers on Pineapple Yields. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, Porto Rico, v.4, p.218-223, 1956.

- SCHUBERT, A.; MAZZITELLI, M.; ARIUSSO, O.; EYNARD, I. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on micropropagated grapevines: Influence of endophyte strain P fertilization and growth medium. *Vitis*, Frankfurt, v.29, p.5-13, 1990.
- SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. *Biotecnologia do Solo: fundamentos e perspectiva*. Brasília: MEC/ABEAS, Lavras: ESAL/FAEPE, 1988. 235p.
- SITA, G.L.R.; SINGH, R.; IYER, C.P.A. Plantlets through shoot tip culture in pineapple. *Current Science*, Middletown, v.43, p.724-725, 1974.
- TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. Histórico da cultura de tecidos de plantas. In: *Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas*. Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPH, 1990. p.15-18.
- WAKASA, K.; KOGA, Y.; KUDO, M. Differentiation from *in vitro* culture of *Ananas comosus*. *Japanese Journal of Breeding*, Tokyo, v.28, n.2, p.113-121, 1978.

CAPÍTULO II

FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM PLANTAS
MICROPROPAGADAS DE BANANEIRA (*Musa sp. L.*),
CULTIVAR MYSORE.

RESUMO

Conduziu-se experimentos, em casa de vegetação e no campo, objetivando verificar os efeitos do inóculo misto com *Glomus clarum*, no desenvolvimento de mudas micropropagadas de bananeira (*Musa sp. L.*), cultivar Mysore. Aos 59 dias de aclimatação, as mudas de bananeiras encontravam-se em condições de transplantio para o campo. Em casa de vegetação verificou-se em relação à altura e ao diâmetro à altura do colo um efeito positivo altamente significativo do tratamento com inóculo de *G. clarum*, assim como da interação tratamento e época. Esse efeito foi constatado a partir da primeira aos 36 dias, com a maior altura e diâmetro das plântulas inoculadas. No campo, em relação a esses parâmetros, não houve diferenças entre os tratamentos. As épocas de avaliação, contudo, foram significativas, observando-se que os dados de altura e diâmetro, inicialmente diferentes entre os dois tratamentos, tornaram-se cada vez mais próximos com o decorrer do tempo, apesar da interação tratamento e época não ser significativa. Mais estudos são necessários visando um maior conhecimento do comportamento dos fungos nativos em relação ao manejo, nas áreas experimentais.

ABSTRACT

Experiments were made to verify the effects of the mixed inoculum with *Glomus clarum* in the development of micropropagated plants of banana (*Musa sp L.*), cultivar Mysore, in the geenhouse and in the field. On the fifty-ninth day of acclimation the seedlings of the banana plants were ready to be transplanted into the field. In the greenhouse, it was noticed an extremely significants effects in the relation to the heigh and the steam diameter on the soil surface of the plant with inoculum of *G. clarum*, as well as the inter-relation between treatment and period. This effect was first observed on the thirty-sixty day. In the field, the plants showed no significant differences between the tretments but the period the evaluation was significant, even though there was a difference in relation to height and the steam diameter in the beginning of the experiment. As time went by, the two treatments got very close results, despite the insignificant inter-relation between the treatment and the period. Further study is necessary in order more information regarding the native population of AMF in the experimental areas.

INTRODUÇÃO

A bananeira (*Musa sp.* L.), cultivada em todas as regiões do Brasil, assume importante papel na formação de divisas, na alimentação da população e na fixação do homem à terra evitando, muitas vezes, o problema da migração (GOES *et al.*, 1985). Cultivada há milhares de anos, seus primeiros registros escritos datam de 500 A.C., na Índia (PALMER, 1971).

O sudeste da Ásia é considerado o centro de origem dessa cultura, sendo a África o seu centro de domesticação. Considera-se o século XVI, como o período da sua ampla disseminação nos trópicos. De acordo com SIMMONDS (1979) poucos clones foram deslocados do centro de origem ocorrendo, em consequência, um declínio da diversidade deste material, na sequência Ásia-África-América.

A produção mundial de banana atingiu em 1992, 49.630.000 toneladas, sendo a Ásia o seu maior produtor. O segundo lugar é ocupado pela América do Sul com 13.305.000 toneladas, tendo o Brasil uma posição de destaque com 5.650.000 toneladas, correspondendo a 42,50% da quantidade produzida por este continente (FAO, 1993).

Em termos nacionais, a banana é cultivada em quase todos os estados, ocupando a Bahia o primeiro lugar em área colhida e em produção, com um total de 84.907 mil cachos colhidos na safra de 1993, enquanto o Estado do Rio de

Janeiro encontrava-se em oitavo e sétimo lugar, respectivamente, com uma produção de 31.445 mil cachos (IBGE, 1994).

Dados do Setor de Economia da CEASA-RJ (comunicação pessoal, 1994) mostraram que a participação do Estado do Rio de Janeiro na oferta desse produto, no período 1990 a 1993, manteve-se praticamente inalterável.

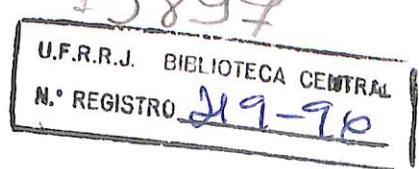
As bananeiras produtoras de frutos comestíveis são plantas monocotiledôneas pertencentes à ordem Scitamineae, família Musaceae, gênero *Musa* e subgênero *Eumusa* (MOREIRA, 1987). SIMMONDS & SHEPHERD (1955), citado por MOREIRA (1987), propuseram uma classificação para o gênero *Musa*, baseada no número de cromossomos, dividindo-o em grupos de dez e onze cromossomos. Classificação esta adotada em todo o mundo, atualmente.

A grande maioria das bananeiras cultivadas originou-se de *Musa acuminata* (AA) e *Musa balbisiana* (BB), em suas formas di, tri e tetraplóides e dos híbridos obtidos entre elas, apresentando número básico de cromossomas igual a onze. As espécies triploides têm se mostrado mais vigorosas, com frutos maiores e crescimento mais rápido do que as diplóides (SIMMONDS, 1979).

A cultivar Mysore utilizada neste trabalho, pertence ao grupo genômico AAB e apresenta como características uma alta tolerância ao mal-do-panamá, alta resistência ao mal-de-sigatoka e alta produtividade ($20\text{ t.ha}^{-1}\text{ciclo}^{-1}$). Seu porte é semelhante ao da banana Maçã (3,5 a 4,0 m), apresentando um cacho compacto, podendo conter mais de 15 pencas e, em torno de 200 frutos (ALVES, 1991).

A banana é um fruto de alto valor alimentício, destacando-se entre seus componentes os seguintes: fósforo, hidratos de carbono, vitaminas, cálcio e potássio (MOREIRA, 1979).

A quase totalidade da banana produzida no Brasil é comercializada *in natura* nos mercados atacadistas e feira-livres. Sua industrialização sob diversas formas é viável, mas as perspectivas no mercado interno são restritas (ALVES, 1991).



A bananicultura brasileira apresenta características peculiares, que a diferenciam das principais regiões produtoras do mundo, tanto em relação à diversidade climática, quanto ao uso de cultivares, forma de comercialização e exigências do mercado consumidor. Os cultivos são geralmente tradicionais, com baixos índices de capitalização e tecnologia (DANTAS *et al.*, 1993).

Segundo MALDONADO & ANDRADE (1983) esta planta encontra as melhores condições de desenvolvimento em regiões de temperaturas médias de 15-26°C, pluviosidade anual de 1.200 mm bem distribuída, solos profundos, permeáveis e de textura intermediária.

Um sistema intensivo de produção retira grandes quantidades de elementos nutritivos, sendo necessárias adubações sistemáticas para a obtenção de boas produções e a manutenção da fertilidade do solo (MARCIANI-BENDEZÚ & GOMES, 1980). No Brasil, a bananeira tem sido cultivada, normalmente, em solos ácidos e pobres em nutrientes.

O baixo potencial de produtividade das cultivares utilizadas (inferior a 16 t.ha⁻¹), o porte elevado, a falta de tolerância à estiagem e a presença de doenças e pragas são os principais problemas que afetam a cultura e que esperam soluções a médio e longo prazo (ALVES, 1986 citado por DANTAS *et al.*, 1993). Um outro problema que merece atenção é a inexistência de viveiros tecnicamente conduzidos, que permitissem a seleção de mudas mais vigorosas e isentas de doenças e pragas (RAMOS, 1989).

Das várias doenças que atacam a bananeira durante seu desenvolvimento destacam-se o mal-de-sigatoka, o mal-do-panamá e o moko da bananeira ou murcha bacteriana que são responsáveis por grandes perdas em muitas áreas cultivadas.

Essa espécie se multiplica, basicamente, por via vegetativa, apresentando por esta forma de propagação baixas taxas de multiplicação.

A partir da implantação de plantios intensivos surgiu a necessidade de um maior número de mudas.

Com base na capacidade de regeneração dos tecidos e visando a produção de mudas sadias desenvolveu-se a técnica de propagação rápida da bananeira, através do ferimento das gemas apicais *in vivo*. Este processo consiste na eliminação da gema apical promovendo o desenvolvimento das gemas laterais (RAMOS, 1989).

Em 1974, BERG & BUSTAMANTE realizaram o primeiro trabalho de cultura de meristema de banana aliada a termoterapia. Verificaram que a união destas duas técnicas possibilitava a obtenção de 75% das plantas livres de viroses. Em trabalho semelhante, GUPTA (1986) constatou a erradicação de patógenos em 100% das plantas regeneradas, sugerindo um potencial de produção de várias centenas de plântulas a partir de um único explante. Não foram observadas variações no fenótipo e na produtividade.

Embora diferentes trabalhos mostrem uma alta taxa de eliminação de fitopatógenos através da técnica de cultura de meristema, CALDAS (1983) ressalta que não há dados que comprovem a eliminação do *Fusarium oxysporum*, responsável pelo mal-do-panamá.

Em trabalho realizado com vinte e duas cultivares de *Musa* sp., entre elas Mysore, WONG (1986) verificou que explantes constituídos de ápices caulinares apresentavam uma taxa mais alta de sobrevivência do que aqueles advindos de meristemas.

BANERJEE & LANGHE (1985) verificaram em oito cultivares triploides de *Musa* sp., que a taxa de propagação *in vitro* variava em função do genótipo e do número de subculturas, obtendo-se uma taxa mais alta de multiplicação entre a terceira e a sexta subculturas, na maioria das cultivares. CRONAUER & KRIKORIAN (1984) observaram que a adição de 5 mg.l⁻¹ de

6-Benzilaminopurina (BAP) ao meio de cultura promoveu uma rápida multiplicação de explantes de banana.

As técnicas de cultura *in vitro* constituem perspectivas particularmente interessantes para os programas de melhoramento, na medida em que as principais cultivares comerciais do gênero *Musa* apresentam esterilidade quase completa. Este fato torna difícil a utilização dos métodos clássicos de seleção por hibridização. Além disso, provêm uma alternativa válida de estocagem e transferência de diferentes fontes de germoplasma, fato importante no estabelecimento de Banco Ativo de Germoplasma (BAG). O estabelecimento do BAG visa atender diferentes objetivos, encontrando-se entre eles satisfazer a demanda de produtores, pesquisadores e técnicos do setor de quarentena (CRONAUER & KRIKORIAN, 1984; BANERJEE & LANGHE, 1985; GUPTA, 1986). No momento, o BAG de banana instalado no Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura/EMBRAPA destaca-se como um dos mais diversificados do mundo, apresentando 345 acessos, sendo 268 procedentes do exterior.

As plantas obtidas pela propagação *in vitro* passam, necessariamente, por um período de aclimatação com a utilização de substrato esterilizado, tornando-se de grande valia a utilização do fungo micorrízico arbuscular (FMA). Em trabalhos desenvolvidos com diferentes culturas verificou-se que a inoculação com FMA nesta fase, propiciou uma maior taxa de crescimento, acúmulo de nutrientes, aumento do peso da matéria seca e produtividade (GIANINAZZI-PEARSON, 1986; RAVOLANIRINA *et al.*, 1989; SCHUBERT *et al.*, 1990; SIQUEIRA *et al.*, 1994).

Em estudos no campo com diferentes cultivares de *Musa paradisiaca* L., GIRIJA & NAIT (1985) constataram que a taxa de infecção micorrízica variava de 23,2 a 98,9%. Em observações semelhantes com *Musa sapientum*, IYER

et al. (1988) verificaram que a infecção por mais de um FMA era comum nessa espécie, ficando a taxa de infecção entre 61 e 68%.

O objetivo desse trabalho foi verificar os efeitos de inóculo com *Glomus clarum* em mudas micropropagadas de bananeira, da cultivar Mysore, na fase de aclimatação e após o transplante para o campo.

MATERIAL E MÉTODOS

- CULTURA *IN VITRO* DE ÁPICES CAULINARES

Neste experimento foram utilizadas mudas de bananeira do tipo chifrinho (20 cm), da cultivar Mysore, cedidas pela Estação Experimental de Macaé (EEM) da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO).

O trabalho iniciou-se com a eliminação das bainhas externas das mudas e redução do rizoma e pseudocaule a um bloco de cerca de 1,5 cm. O material assim preparado foi desinfestado com álcool a 70%, por dois minutos, seguindo-se a imersão em água sanitária (cloro ativo mínimo 2,0 % p/p) a 20%, na qual adicionou-se 1 gota de Tween 20 para cada 100 ml, durante vinte minutos. Em seguida, fez-se três enxagues em água destilada esterilizada, com a duração de três minutos cada um. Em lupa estereoscópica realizou-se o isolamento dos ápices caulinares. Os explantes de cerca de 0,20 cm foram transferidos para recipientes de 250 ml contendo 20 ml de meio de cultura composto dos sais e vitaminas do meio de MURASHIGE & SKOOG (1962) modificado, 30 g.l⁻¹ de sacarose e 3 mg.l⁻¹ de BAP. Solidificou-se o meio com 5,5 g.l⁻¹ de agar, sendo o pH ajustado em 5,7. Este meio foi utilizado para o isolamento, diferenciação e multiplicação

do material. O enraizamento processou-se em meio idêntico, sem adição de reguladores de crescimento.

As etapas de desinfestação, isolamento, multiplicação e enraizamento foram realizadas em capela de fluxo laminar para se evitar contaminações microbianas ambientais. Os materiais assim processados foram colocados em câmara de crescimento, com temperaturas entre 24° e 28°C, intensidade luminosa de 1.600 lux e fotoperíodo de 16 horas.

Esta etapa durou em torno de seis meses e foi realizada no Laboratório de Cultura de Tecidos da Sociedade Brasileira de Sementes (SBS).

- ACLIMATAÇÃO

Quando as plântulas enraizadas apresentavam-se em torno de 5 cm, procedeu-se a aclimatação em casa de vegetação do Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (CNPAB/EMBRAPA), ITAGUAÍ-RJ.

O experimento constou de dois tratamentos: presença e ausência do fungo micorrízico *Glomus clarum*. No tratamento com FMA empregou-se 5 g de inóculo misto (solo + raízes + hifas + esporos) por planta, correspondendo a 88 esporos de *G. clarum*. Este inóculo originou-se da coleção de cultura da Escola Superior de Agricultura de Lavras, tendo sido multiplicado em casa de vegetação do CNPAB, em vasos de cultivo com *Brachiaria decumbens*. A escolha desse fungo baseou-se em resultados positivos obtidos por PAULA (comunicação pessoal) em mudas de bananeira, da cultivar Nanicão.

O delineamento experimental foi blocos ao acaso, com 3 blocos formados por cinco parcelas em cada tratamento, constituindo cinco repetições, sendo a parcela experimental formada por uma planta.

Empregou-se nesta etapa sacos de polietileno com capacidade de 2,5 kg, contendo uma mistura de amostra de solo Podzólico Vermelho Amarelo (PVA) e vermiculita, na proporção de 3:1 (v:v), na qual adicionou-se 1,7 g de fosfato de Patos de Minas por kg de substrato. A desinfestação do substrato foi feita com brometo de metila, de acordo com as instruções do fabricante.

A análise do solo revelou as seguintes características: pH=4,9; P=1,7 $\mu\text{g.cm}^{-3}$; K=117 $\mu\text{g.cm}^{-3}$; Ca=0,6 meq.100 cm^{-3} e Al=1,0 meq.100 cm^{-3} de solo.

Esta etapa durou 59 dias, avaliando-se, semanalmente, a partir do 36º dia, a altura e o diâmetro à altura do colo. A altura foi medida, tomando-se como referência a base da folha cartucho (folha mais nova).

Na ocasião do transplantio para o campo fez-se uma amostragem composta de raízes finas de quatro plantas inoculadas e não inoculadas, para avaliação da ocorrência de contaminação entre os tratamentos. O clareamento e a coloração das raízes foram feitos de acordo com KOSKE & GEMMA (1989).

- CAMPO

Quando as mudas encontravam-se com dois meses foram transplantadas para a Fazenda Massangana, Município de Silva Jardim, no Estado do Rio de Janeiro.

Para verificação da população de fungos nativos realizou-se uma amostra composta, em meados de dezembro, nas profundidades de 0-20 e de 20-50 cm, utilizando-se a técnica de peneiramento e decantação de GERDEMANN & NICOLSON (1963), para extração de esporos.

O delineamento experimental foi o mesmo da fase de aclimatação, usando-se o espaçamento de três metros entre as plantas, parcelas e blocos.

As mudas foram plantadas em covas de 50 x 50 x 50 cm, nas quais se fez a correção da acidez com 363 g de calcário dolomítico (43% PRNT) e a adubação com 53 g de superfosfato simples (34% P₂O₅), 150 g de fosfato de Patos de Minas (24% P₂O₅), 45 g de cloreto de potássio (60% de K₂O) e 10 litros de esterco de gado curtido.

Os parâmetros avaliados foram altura (57 e 106 dias), diâmetro (57, 106, 181 e 260 dias) e número de perfilhamento (106, 181 e 260 dias). É importante salientar que estas avaliações tiveram como data base, o transplante para o campo.

- ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com base no delineamento experimental, o esquema utilizado foi o “split plot” sendo o efeito dos fungos (com e sem) na parcela e o efeito de época na subparcela. Utilizou-se para estas análises o programa MSTAT. As análises de viveiro e de campo foram feitas separadamente.

Para a representação dos dados empregou-se a regressão. Apesar de para alguns parâmetros os termos quadrático e/ou cúbico serem significativos, essas significâncias foram muito baixas quando comparadas à linear. Assim sendo, os termos quadrático e cúbico não foram incluídos na regressão, pois pouco modificariam a reta obtida.

O delineamento experimental foi o mesmo da fase de aclimatação, usando-se o espaçamento de três metros entre as plantas, parcelas e blocos.

As mudas foram plantadas em covas de 50 x 50 x 50 cm, nas quais se fez a correção da acidez com 363 g de calcário dolomítico (43% PRNT) e a adubação com 53 g de superfosfato simples (34% P₂O₅), 150 g de fosfato de Patos de Minas (24% P₂O₅), 45 g de cloreto de potássio (60% de K₂O) e 10 litros de esterco de gado curtido.

Os parâmetros avaliados foram altura (57 e 106 dias), diâmetro (57, 106, 181 e 260 dias) e número de perfilhamento (106, 181 e 260 dias). É importante salientar que estas avaliações tiveram como data base, o transplante para o campo.

- ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com base no delineamento experimental, o esquema utilizado foi o "split plot" sendo o efeito dos fungos (com e sem) na parcela e o efeito de época na subparcela. Utilizou-se para estas análises o programa MSTAT. As análises de viveiro e de campo foram feitas separadamente.

Para a representação dos dados empregou-se a regressão. Apesar de para alguns parâmetros os termos quadrático e/ou cúbico serem significativos, essas significâncias foram muito baixas quando comparadas à linear. Assim sendo, os termos quadrático e cúbico não foram incluídos na regressão, pois pouco modificariam a reta obtida.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As bananeiras micropropagadas apresentaram uma taxa de sobrevivência de 100% na aclimatação, sendo encontrado por BANERJEE & LANGHE (1985) resultados idênticos em plântulas de diferentes cultivares de *Musa*, advindas de cultura de ápices caulinares *in vitro*.

Após uma semana observou-se o surgimento de novas folhas, apresentando as plântulas um bom desenvolvimento.

O substrato mostrou-se satisfatório, não sendo constatados sintomas de deficiência nutricional.

As análises da altura e diâmetro, em casa de vegetação, revelaram um efeito altamente significativo dos tratamentos, das épocas de avaliação, assim como da interação entre esses dois fatores. A comparação dos tratamentos em cada uma das épocas mostrou que o tratamento com o inóculo de *G. clarum* foi superior ao controle sem inóculo, a partir da primeira avaliação aos 36 dias, mantendo-se essa superioridade até o final da aclimatação, aos 59 dias, quando processou-se o transplante para o campo. Pelas figuras 1 e 2 visualiza-se o comportamento dos parâmetros altura e diâmetro, na fase de aclimatação. Com base nesses dados constatou-se para altura um maior incremento (66,56 %) do tratamento com *G. clarum* em relação ao controle, aos 43 dias. Enquanto ao diâmetro, o maior incremento (32,74 %) em relação ao controle deu-se aos 59 dias.

RAVOLANIRINA *et al.* (1989) constataram um efeito positivo da inoculação de FMA em plantas micropropagadas de videira *in vitro* e pós *in vitro*, observando um aumento do crescimento das plantas, maior desenvolvimento da área foliar e do número de gavinhas nas plantas inoculadas com *Glomus fasciculatum*. Verificaram que esse foi o fungo mais eficiente, relacionando este fato a mais alta intensidade de infecção e ao nível de formação de arbúsculo. RIZZARDI (1990) em trabalho desenvolvido com plântulas micropropagadas de *Musa acuminata*, cultivar Grand Naine, verificou efeitos positivos no crescimento e na área foliar, assim como nos níveis de P e N nos tecidos de parte aérea de plântulas aclimatadas com inóculo misto de *Glomus mossae* e *Glomus monosporum*, sendo *G. mossae* o mais efetivo.

Os benefícios do FMA no sistema solo-planta têm sido documentado por vários pesquisadores (GIANINAZZI-PEARSON, 1986; HOWELER *et al.*, 1987; MILLNER, 1988) que apontaram a maior absorção de nutrientes, principalmente fósforo, como o efeito principal dessa associação.

De acordo com ABBOTT & ROBSON (1984) a magnitude do efeito desta associação no crescimento da planta depende em larga escala do nível nutricional do solo e da planta.

Diversos pesquisadores (GIANINAZZI-PEARSON, 1986; SCHUBERT *et al.*, 1990; RAVOLANIRINA *et al.*, 1989) ressaltaram o potencial do FMA para melhorar a produção das plantas, especialmente em solos desinfestados e meio inerte.

Na ocasião do transplante para o campo verificou-se que não houve contaminação do controle pelo FMA.

Pela avaliação dos fungos nativos na área experimental encontrou-se 44 e 32 esporos por 100 ml de solo, nas profundidades de 0-20 e 20-50 cm, respectivamente. Observou-se nesta população a predominância de *Glomus*

macrocarpum e *Acaulospora sp.* Sabe-se que a população de FMA varia, consideravelmente, com o hospedeiro, as práticas culturais e as condições climáticas (HOWELER *et al.*, 1987).

Um dado climático que merece destaque, principalmente em se tratando de mudas de bananeira, foi a estiagem prolongada que ocorreu após o transplantio e que se estendeu por dois meses, acompanhada por temperaturas elevadas, na faixa de 37°C. A conjunção destes dois fatores acarretou um depauperamento das plantas. Contudo, não houve a perda de nenhuma muda.

Segundo MOREIRA (1979) os fatores solo e clima são os principais responsáveis pelo adequado desenvolvimento da bananeira, podendo ocorrer em temperaturas acima de 35°C, desidratações dos tecidos, em especial os das folhas, tornando-as sujeitas a fendilhamentos mais facilmente.

A temperatura e umidade do solo afeta não somente a absorção de nutrientes e crescimento da planta, mas pode também ter um efeito diferencial na efetividade das espécies de FMA.

A relação entre umidade e infecção micorrízica ainda não está bem caracterizada. Observações feitas por SIEVERDING (1979) e ZAMBOLIM (1984), citados por ZAMBOLIM & SIQUEIRA (1985) sugerem que o FMA pode tornar as plantas mais tolerantes a períodos de seca, pelo aumento da absorção de água do solo.

No campo, as avaliações da altura e diâmetro apresentaram resultados diferentes da fase de aclimatação. As análises dos dados revelaram que não houve diferenças significativas entre os tratamentos com e sem inóculo. Contudo, as épocas de avaliação foram altamente significativas, observando-se que os dados de altura e diâmetro que eram diferentes entre os dois tratamentos, na ocasião do transplante para o campo, tornaram-se idênticos na primeira avaliação, aos 57 dias, apresentando essa mesma resposta nas demais avaliações. As Figuras 3 e 4

representam os dados ajustados que permitem uma visualização do comportamento dos dois tratamentos, em relação a altura e diâmetro.

HOWELER *et al.* (1987) explicaram a resposta negativa das plantas à pré-inoculação com FMA ao fato de passarem no campo por período mais longo de permanência, que permite a população nativa, mesmo baixa, desenvolver uma associação efetiva, neutralizando desta forma os efeitos da pré-inoculação.

As diferentes respostas encontradas nos estudos desenvolvidos com micorrizas devem-se, basicamente, as relações planta-solo-fungo.

Não foram observadas diferenças entre os tratamentos, com e sem inóculo, em relação ao número de perfilhamento, nas três épocas avaliadas (Figura 5). Este fato pode ser uma consequência do achatamento dos dados de altura e diâmetro, verificado entre os dois tratamentos, após o transplante para o campo.

RIZZARDI (1990) assinala que a inoculação de FMA em plântulas micropagadas pode ser integrada, com sucesso, em sistemas de produção de mudas. Ressalta, porém, a necessidade de mais pesquisa na área, de forma a se obter maior conhecimento das relações entre espécies de FMA e as diferentes cultivares de *Musa*.

Resultados diferentes dos encontrados nesse experimento foram verificados com abacaxizeiro no capítulo 1, no qual observou-se, no campo, um maior desenvolvimento e produção de mudas em plantas pré-inoculadas com FMA. NIEMI & VESTBERG (1992) desenvolveram experimentos, em casa de vegetação e no campo, com mudas micropagadas de morango e diferentes espécies de *Glomus*. Verificaram, de forma similar, um aumento do peso da matéria seca e do número de estolhos nas mudas com FMA, após o transplante para o campo.

CHU & BOTELHO (1991) constataram que mudas de dendê pré-inoculadas com FMA apresentavam, no campo, duas vezes mais cachos do que nas não inoculadas, sendo o aumento da produtividade de 40 %.

A condução de experimentos semelhantes com essa cultura e outras espécies de FMA, em outras áreas, permitirá a avaliação mais ampla dos resultados encontrados, possibilitando sua aferição.

Deve-se, também, aprofundar o conhecimento e o manejo da população nativa de FMA nas áreas experimentais, possibilitando o melhor aproveitamento das condições naturais, assim como a melhor interpretação e análise dos resultados.

CONCLUSÕES

A utilização do inóculo misto com *G. clarum* propiciou um bom desenvolvimento das mudas micropropagadas de bananeira, cultivar Mysore, na fase de aclimatação, possibilitando a obtenção de mudas mais vigorosas.

A pré-inoculação das mudas não favoreceu o seu desenvolvimento, após o transplante para o campo.

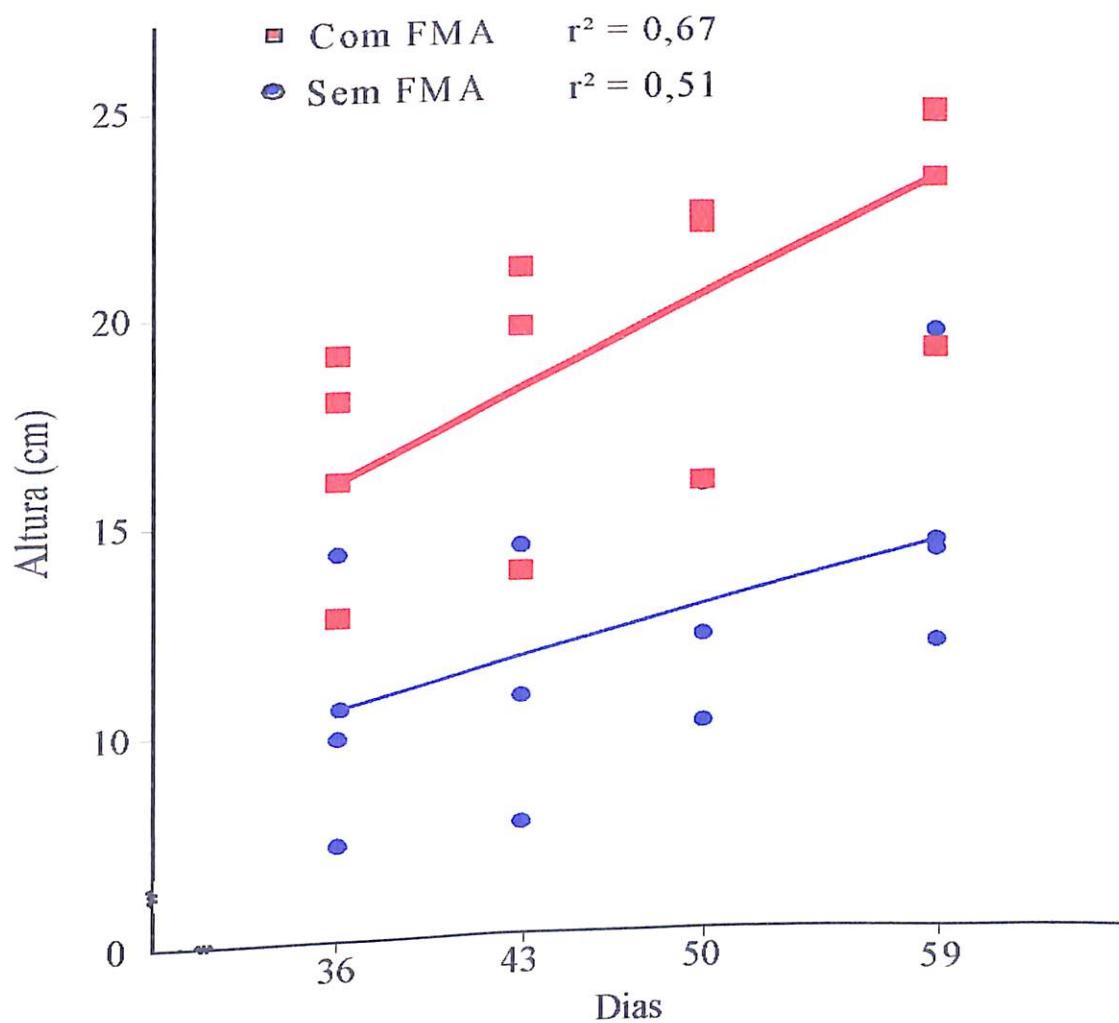


Figura 1. Altura das bananeiras com e sem inóculo de *Glomus clarum*, em diferentes épocas, sob condições de casa de vegetação. Valores médios de três repetições.

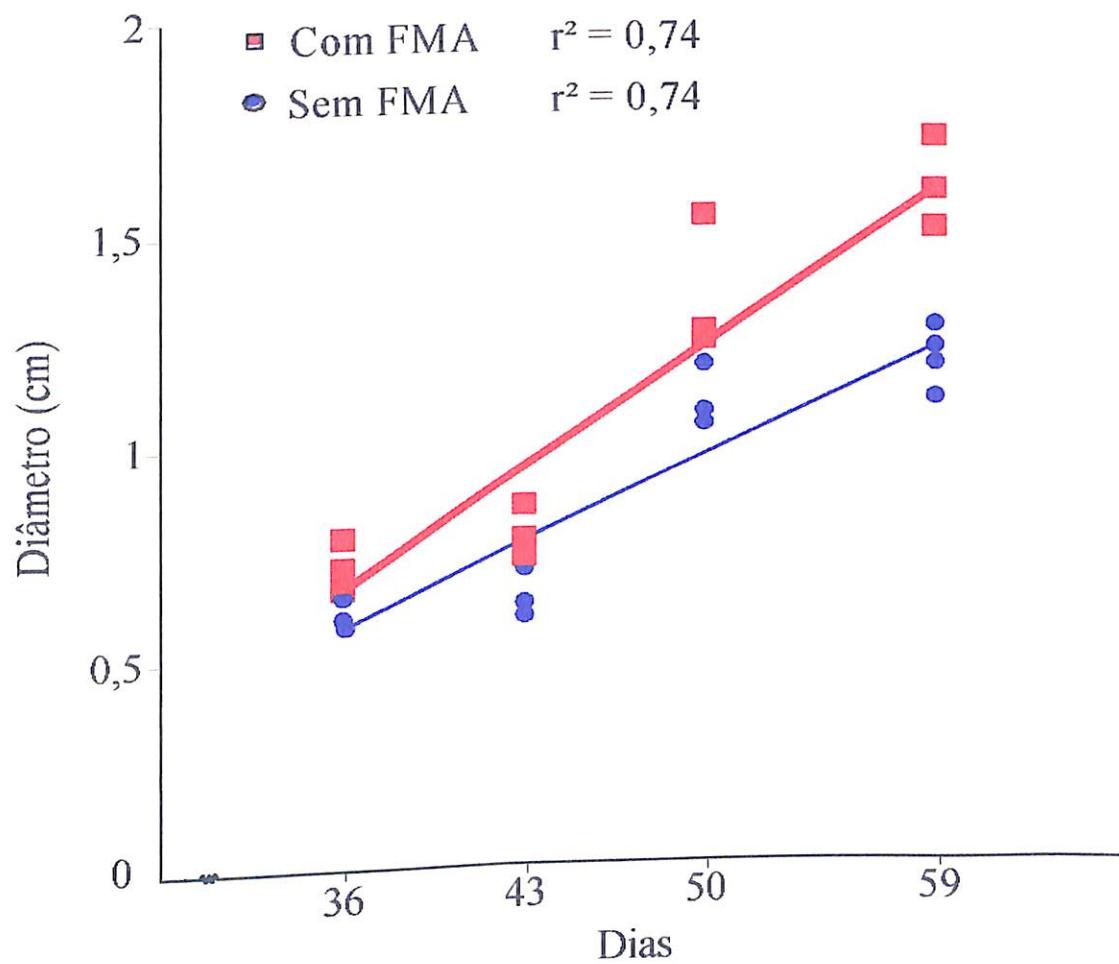


Figura 2. Diâmetro à altura do colo das bananeiras com e sem inóculo de *Glomus clarum*, em diferentes épocas, sob condições de casa de vegetação. Valores médios de três repetições.

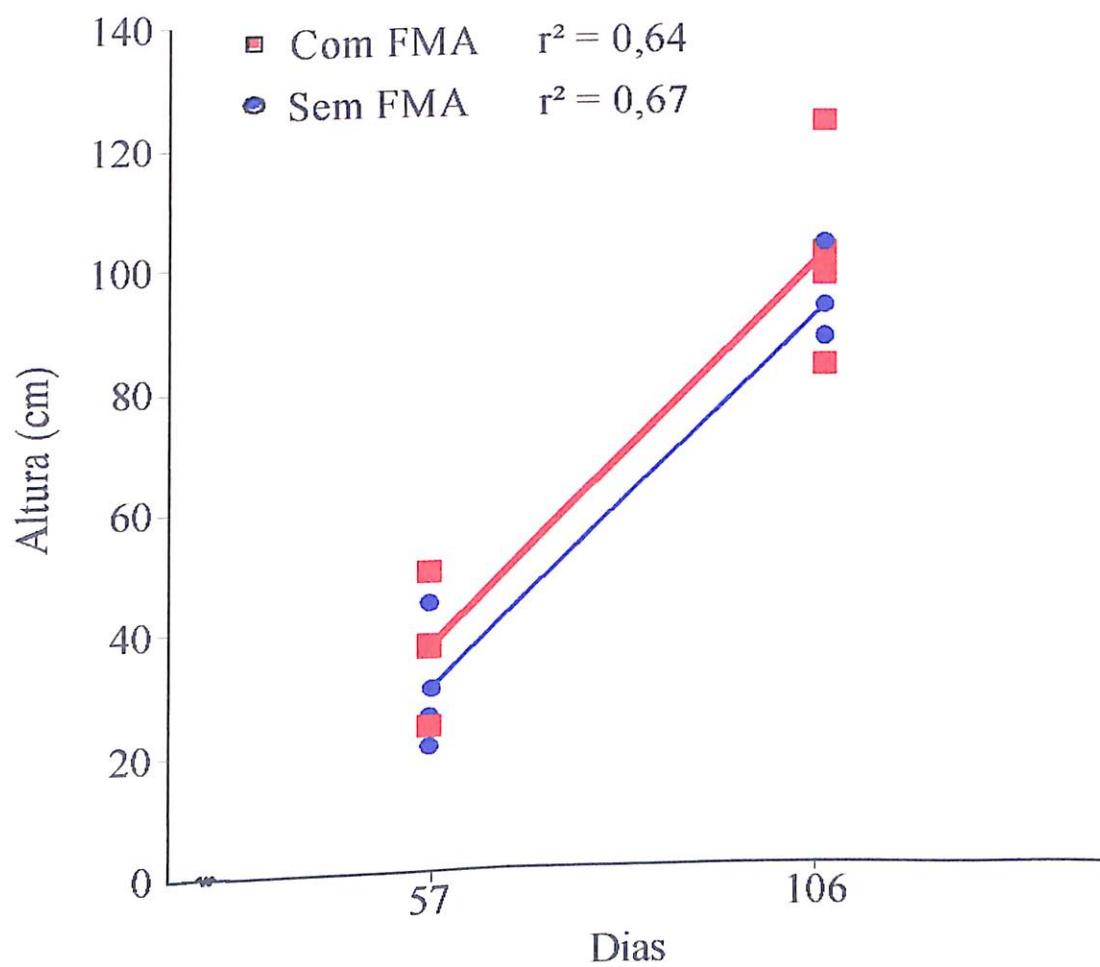


Figura 3. Altura das bananeiras com e sem inóculo de *Glomus clarum*, em diferentes épocas, sob condições de campo. Valores médios de três repetições.

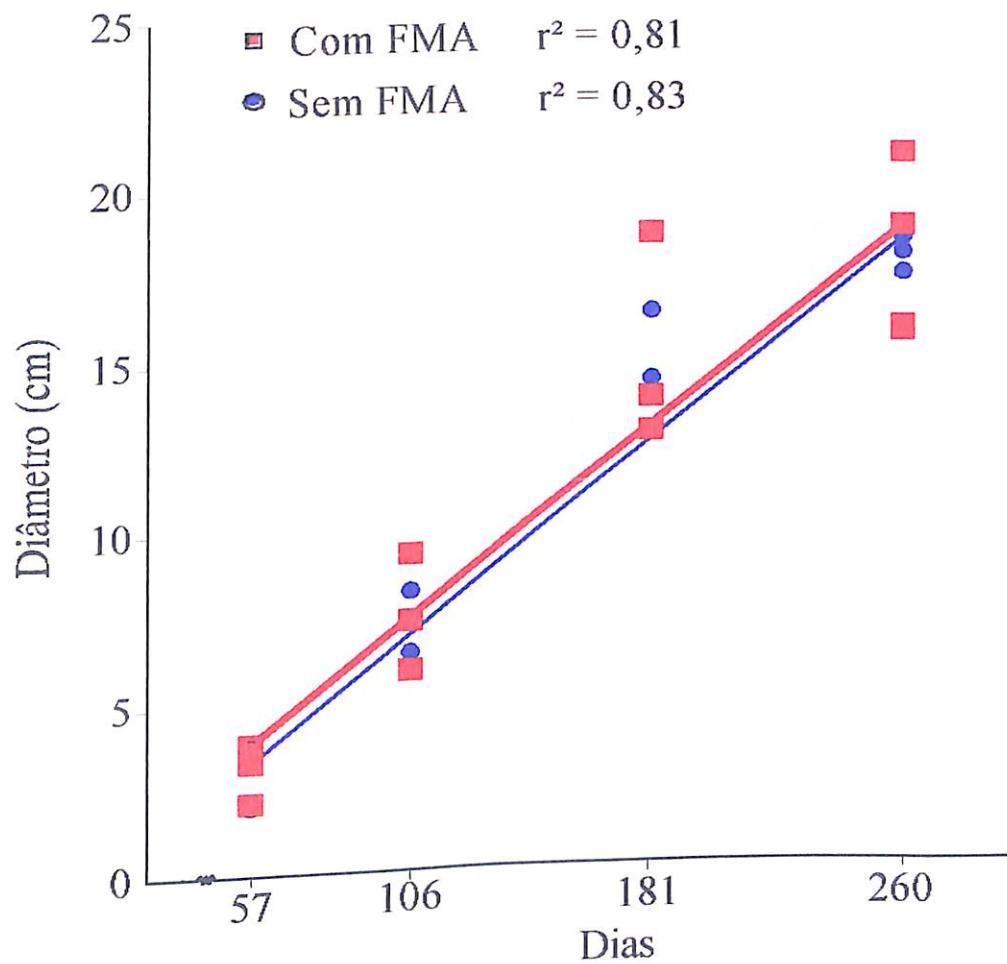


Figura 4. Diâmetro à altura do colo das bananeiras com e sem inóculo de *Glomus clarum*, em diferentes épocas, sob condições de campo. Valores médios de três repetições.

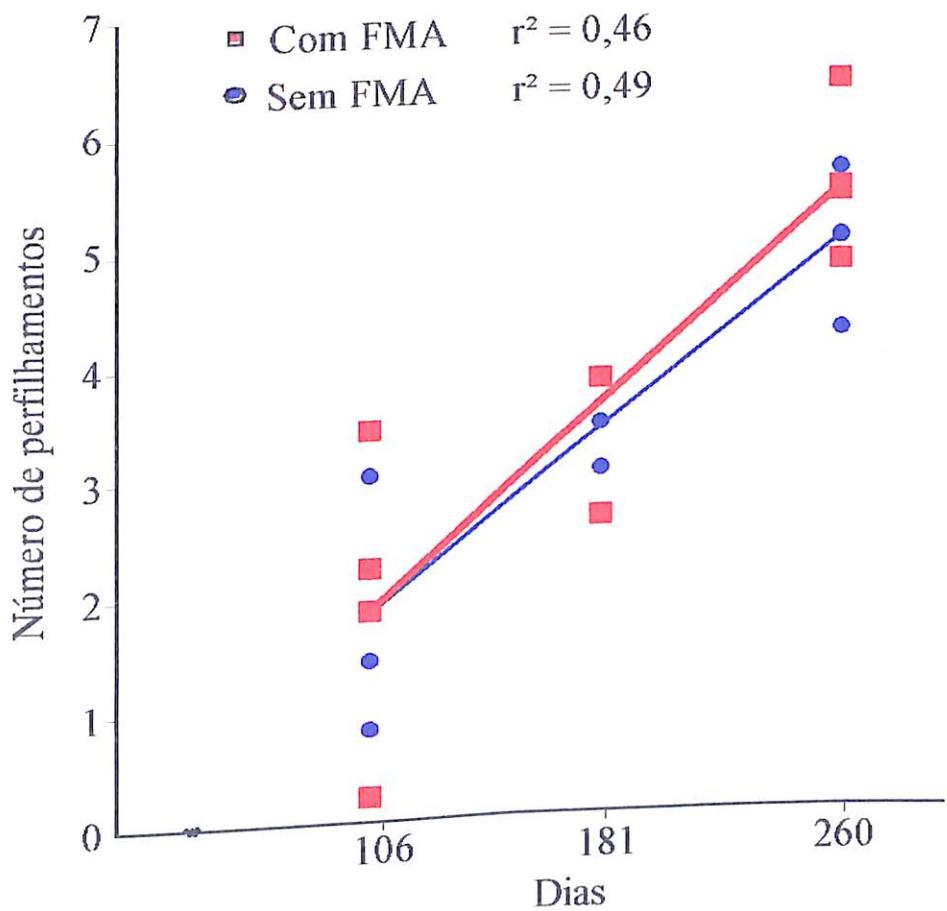


Figura 5. Número de perfilhamentos das bananeiras com e sem inóculo de *Glomus clarum*, em diferentes épocas, sob condições de campo. Valores médios de três repetições.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. The effect of mycorrhizas on plant growth. In: POWELL, C.L.; BAGYARAJ, D.J., ed. VA Mycorrhizal. Boca Raton: CRC Press, 1984. p.113-130.
- ALVES, E.J. A cultura da banana no Brasil e proposições para o seu melhoramento. Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMF, 1991. 40p. (EMBRAPA-CNPMF. Documentos, 32).
- BANERJEE, N.; LANGHE, E. A tissue culture technique for rapid clonal propagation and storage under minimal growth condition of *Musa* (banana and plantain). *Plant Cell Reports*, Berlin, v.4, p.351-354, 1985.
- BERG, L.A.; BUSTAMANTE, M. Heat treatment and meristem culture for the production of virus-free bananas. *Phytopathology*, St. Paul, v.64, p.320-322, 1974.
- CALDAS, L.S. Cultura de tecidos em bananeira. In: SIMPÓSIO SOBRE BANANEIRA PRATA, Cariacica, 1983. Anais... Cariacica: EMCAPA/EMBRAPA, 1983. p.106-112.
- CHU, E.Y.; BOTELHO, S.M. Comportamento de mudas de dendê (*Elaeis guineensis*) inoculadas ou não, em condições de campo. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 4., 1991. Resumos... Mendes: EMBRAPA-CNPBS, 1991. p.146.

- CRONAUER, S.S.; KRIKORIAN, A.D. Rapid multiplication of bananas and plantains by *in vitro* shoot tip culture. *Hortscience*, Alexandria, v.19, n.2, p.234-235, 1984.
- DANTAS, J.L.L.; SHEPHERD, K.L.; SOARES FILHO, W. dos S. *Citogenética e melhoramento genético da bananeira (Musa ssp.)*. Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMF, 1993. 61p. (EMBRAPA-CNPMF. Documentos, 48).
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. Rio de Janeiro, RJ. *Manual de métodos de análises de solo*. Rio de Janeiro, 1979. n.p.
- FAO, Yearbook. Production. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1993. v.46.
- GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transaction of the British Mycological Society*, London, v.46, p.235-246, 1963.
- GIANINAZZI-PEARSON, V. Mycorrhizae: a potential for better use of phosphate fertilizer. *Fertilizers and Agriculture*, Dijon, v.92, p.3-12, 1986.
- GIRIJA, U.K.; NAIT, S.K. Occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhiza in certain crop plants of Kerala. *Agricultural Research Journal of Kerala*, Kerala, v.23, n.2, p.185-188, 1985.
- GOES, A. de; MALDONADO, J.F.M.; ZEM, A.C. *Comportamento de cultivares de bananeiras do Grupo AAB em relação aos nematóides Meloidogyne incognita e Helicotylenchus multicinctus*. Macaé: PESAGRO, 1985. 3p. (PESAGRO-RIO. Comunicado Técnico, 149).
- GUPTA, P.P. Eradication of mosaic disease and rapid clonal multiplication of bananas and plantains through meristem tip culture. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, Dordrecht, v.6, p.33-39, 1986.

- HOWELER, R.H.; SIEVERDING, E.; SAIF, S. Practical aspects of mycorrhizal technology in some tropical crops and pastures. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.100, p.249-283, 1987.
- IBGE. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Levantamento Sistemático da Produção Agrícola*; pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. Rio de Janeiro, 1994.
- IYER, R.; MOOSA, H.; SARTRY R.K. Vesicular-arbuscular mycorrhizal association in banana. *Current Science*, Middletown, v.57, n.3, p.153-155, 1988.
- KOSKE, R.E.; GEMMA, J.N. A modified procedure for staining roots to detect VA Mycorrhizas. *Mycology Research*, Cambridge, v.92, p.488-505, 1989.
- MALDONADO, J.F.M.; ANDRADE, W.E.B. *Avaliação de um sistema de produção de banana para o Município de Santa Maria Madalena, Estado do Rio de Janeiro, 1981-82. - Segunda colheita* - Macaé: PESAGRO-RIO, 1983. 3p. (PESAGRO-RIO, Comunicado Técnico, 136).
- MARCIANI-BENDEZÚ, J.M.; GOMES, W. da R. Solos, calagem e adubação. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.6, n.63, p.18-21, 1980.
- MILLNER, P.D. A minireview of biotechnology as applied to vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Journal of Industrial Microbiology*, v.29, n.3, p.149-158, 1988.
- MOREIRA, R.S. *Cultura da Bananeira*. Belo Horizonte. EMATER-MG: 1979. 68p.
- MOREIRA, R.S. A bananeira: classificação e descrição morfológica. In: *Banana teoria e prática de cultivo*. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.29-82.
- MOSSE, B. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IV. In soil given additional phosphate. *The New Phytologist*, Oxford, v.72, p.127-136, 1973.

- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium of rapid growth and bio-assay with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- NIEMI, M.; VESTBERG, M. Inoculation of commercially grown strawberry with VA micorrhizal fungi. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.144, p.133-142, 1992.
- PALMER, J.K. The banana. In: HULME, A.C., ed. *The biochemistry of fruits and their products*. London: Academic Press, 1971. v.2. p.65-105.
- RAMOS, M.J.M. *Produção de mudas de bananeiras*. Cuiabá: EMPA-MT, 1989. 14p. (EMPA-MT. Circular Técnica, 2).
- RAVOLANIRINA, F.; GIANINAZZI, S.; TROUVELOT, A.; CARRE, M. Production of endomycorrhizal explants of micropropagated grapevine rootstocks. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Amsterdam, v.29, p.323-327, 1989.
- RIZZARDI, V. Effect of inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micropropagated *Musa acuminata* clone "Grand Nain". *Rivista di Agricoltura Subtropicale e Tropicale*, Firenze, n.3, p.473-484, 1990.
- SCHUBERT, A.; MAZZITELLI, M.; ARIUSO, O.; EYNARD, I. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on micropropagated grapevines: Influence of endophyte strain P fertilization and growth medium. *Vitis*, Frankfurt, v.29, p.5-13, 1990.
- SIMMONDS, N.W. Bananas; *Musa* (Musaceae). In: *Evolution of crop plants*. New York: Longman, 1979. p.211-215.
- SIQUEIRA, J.O.; SAGGIN-JUNIOR, O.J.; GUIMARÃES, P.T.G. Inoculação de mudas com fungos micorrízicos arbusculares aumenta a produtividade do cafeeiro. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 5.,

Florianópolis, 1994. Resumos... Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 1994. p.67.

ZAMBOLIM L.; SIQUEIRA, J.O. Importância e potencial das associações micorrízicas para a agricultura. Belo Horizonte: EPAMIG. 1985, 36p. (EPAMIG. Documentos, 26).

WONG, W.C. *In vitro* propagation of banana (*Musa* spp.): initiation, proliferation and development of shoot-tip cultures on defined media. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.6, p.159-166, 1986.

CAPÍTULO III

**FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM PLANTAS
MICROPROPAGADAS DE BATATA INGLESA
(*Solanum tuberosum* L.), CULTIVAR ACHAT.**

RESUMO

Estudou-se a eficiência de fungos micorrízicos arbusculares (*Glomus clarum*, *Glomus etunicatum*, *Glomus manihot* e *Gigaspora margarita*) e bactérias diazotróficas (*Azospirillum brasilense* e *Acetobacter diazotrophicus*) inoculados, isoladamente e em conjunto, em plantas micropagadas de batata inglesa, cultivar Achat. Os resultados mostraram efeitos positivos da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) no desenvolvimento e nutrição das plantas, destacando-se entre eles o *G. manihot* e o *G. clarum*. Observou-se, entretanto, que o fungo *G. margarita* foi ineficiente, igualando-se ao controle. Não foram constatados efeitos sinergísticos pela inoculação conjunta das bactérias diazotróficas e FMA.

Com base nesses resultados desenvolveu-se dois outros experimentos, um com tubérculos e outro com plantas micropagadas de batata, da mesma cultivar, empregando-se inóculo misto de *G. clarum*. No experimento com tubérculos visou-se avaliar a melhor forma de inoculação, empregando-se tratamentos com inóculo misto e controles com inóculo autoclavado, aplicado em camada ou envolvendo os tubérculos, sendo que um dos controles não levou qualquer tipo de inóculo. Com exceção do fósforo total acumulado na planta, não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos com inóculo e os controles. Os resultados obtidos não evidenciaram uma forma mais eficiente de inoculação.

No experimento com plantas micropropagadas empregou-se como tratamentos dois níveis de adubação (1 e 2). No nível 1 de adubação utilizou-se metade da dose recomendada pela análise do solo, empregando-se tratamentos com e sem inóculo de *G. clarum*. Enquanto que no nível 2 usou-se 4000 kg de NPK por ha, na formulação 4:14:8, usando-se plantas não inoculadas com o FMA. É importante salientar que essas adubações foram superiores às usadas nos outros dois experimentos. Observou-se que o nível de adubação foi prejudicial ao desenvolvimento do fungo, encontrando-se uma baixa porcentagem de colonização micorrízica no tratamento com FMA. Constatou-se em plantas com nível 1 de adubação em relação ao 2, um aumento significativo da matéria seca das raízes, assim como um maior acúmulo de nitrogênio em raízes e tubérculos. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos com e sem inóculo.

Mais estudos são necessários para a adequada utilização do FMA em batata inglesa.

ABSTRACT

A study was made on the efficiency of the arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus clarum*, *Glomus etunicatum*, *Glomus manihot* and *Gigaspora margarita*) and diazotrophic bacteria (*Azospirillum brasiliense* and *Acetobacter diazotrophicus*), inoculated, isolated and in association, with micropropagated plants of potato, cultivar Achat. In general it was observed positive effects of inoculation with *G. manihot* and *G. clarum* in the development and nutrition of the plants. However, it was verified that the fungi *G. margarita* was inefficient, being equal to the control without inoculum. It was not noticed any synergistic effect by the inoculation of the diazotrophic bacteria and AMF.

Based on these results, an experiment was developed with tubercles and another with micropropagated plants of potato, of the same cultivar, using mixed inoculum of *G. clarum*. The experiment with tubercles had objective of verifying the best way of inoculation, using treatments with mixed inoculum and controls with autoclaved inoculum, in layer or involving the tubercles, and another with no type of inoculum. Except for the total P accumulated in the plant, it was not observed significant difference between the treatments with inoculum and the controls. The results did not show an efficient form of inoculation of tubercles. In the experiment with micropropagated plants two levels of fertilization (1 and 2) were used. In the level 1, it was used half of the dose recommended by

the soil analyse, using treatment with and without inoculum of *G. clarum*. On the other hand, in level 2, it was used 4.000 kg of the NPK per ha, in the formulation 4:14:8, in plants that were not inoculated with AMF. It is important to emphasize that those two levels of fertilization were superior than the ones used in the other two experiments. It was verified that the fertilization level was harmful to the development of AMF, being found a low percentage of mycorrhizal colonization. It was noticed a significant increase in the dry material of roots, as well as a high accumulation of N in roots and tubers of the treatment in level 1 in relation to level 2. There were no important differences in the treatment with and without inoculum. Further study is necessary for an adequate utilization of AMF in potato.

INTRODUÇÃO

A batata inglesa é considerada a quarta fonte de alimento, ultrapassada apenas pelo trigo, arroz e milho (HORTON, 1988).

Historicamente esta cultura constitui alimentação básica de muitos povos do mundo pelo seu alto conteúdo nutricional. É uma fonte de carboidratos, proteínas, sais minerais e vitaminas, destacando-se entre elas a vitamina C. Segundo HORTON (1988) o alto rendimento do cultivo por unidade de superfície e por tempo é uma característica especialmente valiosa em regiões onde o clima permite obter mais de uma colheita por ano.

Esta planta pertence a classe Dicotiledonae, família Solanaceae, gênero *Solanum*, seção Tuberarium e subseção Hyperbasarthrum. Nos países das Américas Central e do Sul encontram-se seus ancestrais selvagens, sendo o planalto da Bolívia-Peru, na região do lago Titicaca, o seu centro de domesticação (SIMMONDS, 1979). Sob o ponto de vista comercial a espécie tetraplóide ($4n=48$) (*Solanum tuberosum* L. ssp *andigena* e *tuberosum*) é a de maior importância, estando a ssp *andigena* restrita a região andina (FURUMOTO, 1993).

Esta solanácea foi trazida para o Brasil no final do século XIX por imigrantes europeus, sendo as cultivares introduzidas resultantes de trabalhos de melhoramento, que tiveram como meta principal a resistência a doenças. Estudos nesta área continuam a evoluir, principalmente nos Estados Unidos e Europa,

objetivando um aumento da base genética da batata, pelo resgate das características do Grupo Andigena (SIMMONDS, 1969, citado por SIMMONDS, 1979). Estas pesquisas são particularmente importantes na medida que a perda da diversidade genética, segundo HOBBELINK (1990), é uma perigosa possibilidade.

A cultivar Achat utilizada neste trabalho é de origem alemã e apresenta como características principais: precocidade, produtividade muito variável, alto condicionamento à boa fertilização química do solo, resistência contra defeitos internos, sarna, viroses e doenças do caule (CARDOSO & SATURNINO, 1981; WINANDY & VILHORDO, 1987).

Segundo HORTON (1988) o aumento nos rendimentos e da produtividade desta cultura nas últimas décadas devem-se, principalmente, aos avanços recentes na biotecnologia e ao aperfeiçoamento das práticas culturais. Atualmente os países em desenvolvimento são responsáveis por um terço da produção mundial de batata, sendo mais de 98% consumidas internamente. No Brasil, o consumo médio anual é de 15 kg por pessoa.

Em comparação com outras culturas, as exigências da batata em nutrientes de pronta assimilação são bastante altas devido ao reduzido sistema radicular, ciclo curto e elevado volume de produção unitária (DELAZARI *et al.*, 1989). Trabalhos têm demonstrado que a adubação fosfatada é a que proporciona os maiores aumentos de produtividade, sendo seguida pela nitrogenada (FREIRE *et al.*, 1981).

O clima desempenha um papel muito importante na produção desta tuberosa, ocorrendo uma resposta melhor em climas amenos, com temperaturas noturnas baixas, que favorecem a formação adequada de tubérculos (ANTUNES & FORTES, 1981).

A batata devido a sua complexibilidade e variabilidade genética é cultivada em todos os continentes do mundo. A Europa ocupa o primeiro lugar,

sendo responsável por 31% da produção mundial de 268.492.000 toneladas. O continente Sul Americano está colocado em quinto lugar em produção e produtividade, ocupando o Brasil o segundo e quinto lugar, respectivamente (FAO, 1993).

A produção brasileira de batata em 1993, considerando as três safras, foi de 2.359.565 toneladas, sendo previsto um incremento de 2,6% para 1994. Os maiores produtores nacionais são os Estados do Paraná e Minas Gerais (IBGE, 1994).

Os principais problemas que limitam a expansão desta cultura no Brasil são a qualidade, o custo e a disponibilidade de batata-semente. A qualidade do material é um fator que incide fundamentalmente no rendimento da cultura, pois a multiplicação processa-se assexuadamente, através de tubérculos, possibilitando a transmissão de diferentes tipos de doenças, que levam a degeneração gradual do material (CARDOSO, 1981).

No Brasil entre as principais doenças transmitidas por tubérculos temos as viróticas, destacando-se as causadas pelos vírus X, Y e PLRV. A esse último vírus tem sido atribuído grande parte da degenerescência das cultivares. A murchadeira, causada pela *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith, é considerada uma das mais graves doenças bacterianas (LOPES & GIORDANO, 1983). A importância deste patógeno é evidenciada nos campos de certificação de batata-semente, onde a constatação em uma única planta leva a condenação de todo o campo (LOPES, 1981).

A década de 60 trouxe importantes modificações para este cultivo com o desenvolvimento de técnicas de cultura de tecidos, que associadas a termoterapia, permitiram a obtenção de materiais com melhor qualidade fitossanitária. Diferentes pesquisadores (MILLER & LIPSCHUTZ, 1983; WRIGHT, 1988; DODDS, 1988) ressaltaram a importância da termoterapia ou quimioterapia aliada à cultura de

meristema, na erradicação de um ou mais vírus nos programas de produção de batata-semente. Estas técnicas foram primeiramente desenvolvidas na Europa e Estados Unidos sendo, em seguida, disseminadas por todo o mundo.

No Brasil, um programa aliando técnicas de cultura de meristema e indexação de plantas tem sido realizado desde 1981 pelo Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças (CNPH/EMBRAPA), para a produção de lotes sadios de clones provenientes dos programas de melhoramento. A partir de 1983 esse programa incluiu a produção de batata-semente pré-básica (SOUZA & SOUZA, 1986). Este processo é utilizado em larga escala nos países exportadores de batata-semente, como Holanda e Alemanha, constituindo uma atividade de grande importância econômica.

Aliado a estas técnicas, o emprego de microorganismos como os fungos micorrízicos arbusculares que possibilitam uma melhor adaptação das plantas a solos com baixos níveis de P com a otimização da utilização dos nutrientes disponíveis, apresenta-se como um grande potencial, sendo já confirmado os efeitos benéficos num grande número de culturas como mandioca, café, dendê, morango, citrus, soja, videira, entre outras.

Constatou-se em solos inférteis que plantas de batata inoculadas com fungo micorrízico arbuscular (FMA) absorveram oito vezes mais fósforo (P) e cresceram cinco vezes mais que o controle sem micorriza (SWAMINATHAN & VERMA, 1977). Esses pesquisadores observaram que sob condições naturais somente 23% das batateiras apresentavam infecção com FMA.

A maioria dos estudos envolvendo FMA têm mostrado interações entre a planta hospedeira e os níveis de P do solo. Já é um fato estabelecido, que o maior crescimento da planta causado por infecção com FMA deve-se ao aumento da absorção de P, notavelmente em solos de baixa fertilidade (MOSSE, 1973).

Os resultados obtidos por BLAL *et al.* (1990) com dendê ressaltaram a importância do FMA no aumento da eficiência do uso de fertilizantes fosfáticos, em solos ácidos. Em geral os efeitos da micorriza decrescem com o aumento das fontes de fosfato solúvel, sendo as plantas não micorrizadas mais responsivas do que as micorrizadas à aplicação desses fertilizantes (GIANINAZZI-PEARSON, 1986).

De acordo com DIAZ (1988) a batata é um cultivo que pode responder favoravelmente a inoculação com FMA, mostrando resposta variável em função da espécie de fungo, variedade e forma propagativa da planta, assim como características do substrato. Em relação a diversidade de respostas, COOPER (1984) ressaltou a importância do nível de P do solo e da planta no desenvolvimento da infecção micorrízica.

MCARTHUR & KNOWLES (1993) verificaram que baixos níveis de P prejudicaram grandemente a cultura da batata, sendo esta deficiência parcialmente suprida pelo FMA. Observaram, ainda, que o aumento do nível de infecção nas raízes em plantas estressadas por deficiência de P, correlacionou-se positivamente com o aumento da compatibilidade do hospedeiro pelo FMA.

Vários autores têm demonstrado a interação sinérgica de bactérias, especialmente as diazotróficas, em várias fases do estabelecimento da simbiose micorrízica. PAULA (1992) e BALOTA *et al.* (1994) observaram efeitos positivos no desenvolvimento, nutrição e colonização micorrízica em plantas de batata doce e mandioca, com a utilização de bactérias diazotróficas e FMA.

Os experimentos desenvolvidos neste capítulo visaram avaliar a influência de fungos micorrízicos e bactérias diazotróficas na produção de tubérculos, assim como na otimização da utilização de nutrientes, possibilitando a redução da adubação, pelo menos a nível de viveiro. Procurou-se verificar, também, a melhor forma de utilização do inóculo de FMA em tubérculos de batata inglesa, como também o comportamento do FMA frente a um nível mais alto de adubação.

MATERIAL E MÉTODOS

EXPERIMENTO 1

- CULTURA *IN VITRO* DE MERISTEMAS

Esta primeira etapa foi processada no Laboratório de Cultura de Tecidos da Sociedade Brasileira de Sementes (SBS), a partir de matrizes selecionadas da cultivar Achat. A escolha desta cultivar deveu-se a larga aceitação e comercialização no mercado de batata-semente, assim como no de batata consumo.

Iniciou-se o trabalho com a desinfestação das gemas axilares das matrizes com álcool a 70%, por 2 minutos, seguindo-se a imersão em água sanitária a 20% (cloro ativo mínimo 2,0 % p/p) com 1 gota de Tween 20 por 100 ml de solução, por 20 minutos. Fez-se, em seguida, três enxagues em água destilada esterilizada. Procedeu-se, então, a extração do meristema. Os explantes retirados foram inoculados em tubos de ensaio, com 10 ml de meio nutritivo de MURASHIGE & SKOOG (MS), 1962, adicionado-se $0,25 \text{ mg.l}^{-1}$ de cinetina, 30 g.l^{-1} de sacarose e $5,5 \text{ g.l}^{-1}$ de agar. O pH foi ajustado em 5,7. A fase de multiplicação constitui-se de sucessivas subculturas, no mesmo meio, sem ágar, colocando-se o material sobre uma ponte de papel de filtro.

No enraizamento das plântulas utilizou-se vidros de 250 ml com 20 ml de MS sólido, sem qualquer tipo de regulador de crescimento, colocando-se 8 plântulas em cada vidro.

A sala de crescimento apresentava temperatura entre 24 e 28°C, intensidade luminosa de 1.600 lux e fotoperíodo de 16 horas.

A indexação foi realizada para os vírus X, Y e PLRV no início da fase de multiplicação, no CNPH/EMBRAPA.

Este processo durou cerca de 5 meses, sendo a fase de enraizamento a mais rápida (7 dias).

- ACLIMATAÇÃO

A aclimatação das plântulas realizou-se sob condições de casa de vegetação no Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (CNPAB/EMBRAPA). Utilizou-se vasos com capacidade de 3,5 kg contendo uma mistura de amostra de solo (camada de 0-20 cm) e vermiculita, na proporção de 3:1 (v:v), adicionada de 1,67 g de fosfato de Patos de Minas. kg^{-1} de solo. O solo de textura areno-argilosa foi coletado na Fazenda Massangana, Município de Silva Jardim (RJ), apresentando as seguintes características: pH=5,5, P=11 $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$, K=201 $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$, Ca=3,7 meq. 100 cm^{-3} , Mg=0,8 meq. 100 cm^{-3} , Al=0,1 meq. 100 cm^{-3} de solo. Essas determinações foram feitas segundo metodologias da EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (1979). A desinfestação do solo foi feita com brometo de metila (Bromex), de acordo com as recomendações do fabricante.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com quatro repetições, sendo onze os tratamentos: *Glomus clarum*, *Glomus etunicatum*, *Glomus manihot*, *Gigaspora margarita*, *Azospirillum brasiliense*, *Acetobacter*

diazotrophicus, mistura de fungos com e sem *A. brasiliense*, mistura de fungos com e sem *A. diazotrophicus* e controle sem inóculo. Nos tratamentos com FMA empregou-se, como inóculo, 57 esporos por planta obtidos da coleção de cultura do CNPAB/EMBRAPA. Nos tratamentos com bactérias *A. brasiliense* e *A. diazotrophicus* empregou-se 1 ml de cultura contendo $90 \cdot 10^7$ e $45 \cdot 10^6$ células, respectivamente. A escolha destas bactérias baseou-se no fato de serem consideradas produtoras do ácido 3-indolilacético, uma auxina que está envolvida em vários processos de desenvolvimento da planta (CROZIER *et al.*, 1988; FUENTES-RAMIREZ *et al.*, 1993). Essas bactérias foram cedidas pelo Laboratório de Gramíneas do CNPAB/EMBRAPA.

Esta etapa realizou-se no período de 11 de junho a 18 de agosto de 1992.

- AVALIAÇÕES

As avaliações deste experimento basearam-se nos parâmetros: peso de parte aérea e raízes secas, número, peso total e peso médio de tubérculos secos, área foliar, colonização micorrízica e total acumulado de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) na planta.

Para verificação da colonização micorrízica separou-se 0,4 g de raízes finas, conservando-as em álcool etílico a 50%. O clareamento e a coloração foram realizados pelo método de KOSKE & GEMMA (1989), sendo a porcentagem do comprimento de raízes colonizadas avaliadas pelo método da interseção em placas de Petri, modificado por GIOVANETTI & MOSSE (1980), a partir de NEWMAN (1966).

As análises de P e K foram realizadas por digestão nitro-perclórica, em material seco e moído, segundo metodologia de BATAGLIA *et al.* (1983), sendo as determinações feitas em espectofotômetro e fotômetro de chama. As análises de N foram feitas pelo método de arraste de vapor de Kjeldahl.

Para a avaliação da recuperação das bactérias diazotróficas retirou-se, na ocasião da coleta, pedaços de diferentes partes da planta, com cerca de 20 mg, lavando-os em água destilada ou desinfestando-os com cloramina T a 1%, por 5 minutos. Os materiais assim preparados foram colocados em meio de cultura semi-sólido (LGI ou NFB) próprio de cada espécie. Após 10 dias fez-se lâminas e observou-se ao microscópio.

O tratamento estatístico dos dados foi feito pelo programa MSTAT, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P<0,05$). Para a adequada análise estatística, os parâmetros número de tubérculos e colonização micorrízica foram transformados em $\sqrt{x+1}$ e arco-seno $\sqrt{\%}$, respectivamente.

EXPERIMENTO 2

O experimento foi conduzido sob condições de casa de vegetação no CNPAB/EMBRAPA, a partir de batatas-semente básica da cultivar Achat. Os tubérculos encontravam-se germinados na ocasião do plantio.

Empregou-se vasos com capacidade de 3,5 kg com uma mistura de amostra de solo e vermiculita, na proporção de 3:1 (v:v), apresentando o solo as seguintes características: $pH=4,9$, $P=3,5 \mu\text{g.cm}^{-3}$, $K=31 \mu\text{g.cm}^{-3}$, $\text{Ca} + \text{Mg}=2,0 \text{ meq.}100 \text{ cm}^{-3}$, $\text{Al}=0,2 \text{ meq.}100 \text{ cm}^{-3}$. Com base nesta análise fez-se a correção do solo com 400 kg.ha^{-1} de calcário dolomítico e a adubação empregando-se: 10 t.ha^{-1} de composto orgânico, $50 \text{ kg de } \text{P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ha}^{-1}$ na forma de superfosfato

simples, 100 kg de $P_2O_5 \cdot ha^{-1}$ na forma de fosfato de rocha, 50 kg de N.ha⁻¹ na forma de nitrato de amônio e 100 kg de K₂O.ha⁻¹ na forma de sulfato de potássio.

Para verificação dos níveis de nutrientes e o pH, realizou-se uma outra análise 20 dias após o plantio, obtendo-se os seguintes dados: pH=6,4, P=71,5 µg.cm⁻³, K=155 µg.cm⁻³, Ca=4,0 meq.100 cm⁻³, Mg=6,9 meq.100 cm⁻³, Al=0,0 meq.100 cm⁻³.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com quatro repetições. Os tratamentos foram sete: tubérculo umedecido em água e recoberto com inóculo, tubérculo envolvido em papel com inóculo, camada de inóculo na altura do tubérculo, tubérculo recoberto com inóculo autoclavado, tubérculo envolvido em papel com inóculo autoclavado, camada de inóculo autoclavado na altura do tubérculo e tubérculo sem inóculo. O inóculo utilizado nos controles foi autoclavado por 1 hora a 120°C.

Utilizou-se em cada tubérculo 30 cm³ de inóculo misto (solo + raízes + hifas + esporos) com *Glomus clarum*, correspondendo a 2.600 esporos, advindo de vasos de cultivo com *Brachiaria decumbens*, da coleção de cultura do CNPAB/EMBRAPA. A escolha deste FMA baseou-se nos resultados obtidos no primeiro experimento.

As análises de N, P e K foram realizadas de forma idêntica do experimento 1, utilizando-se o mesmo programa para o tratamento estatístico dos dados.

Este experimento realizou-se no período de 30/06/93 a 01/09/93.

EXPERIMENTO 3

Com base nos resultados obtidos no primeiro experimento realizado no Município de Itaguaí, Rio de Janeiro, outro experimento foi realizado no Município de Maria da Fé, Minas Gerais. A escolha desse município baseou-se no fato de ser um tradicional produtor de batata-semente, devido as suas características climáticas adequadas a essa cultura.

Utilizou-se plântulas micropagadas de batata, cultivar Achat, sendo o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições e quinze plantas por parcela.

O substrato foi preparado a partir de uma mistura de amostra de solo (camada de 0-20 cm) e vermiculita, na proporção de 3:1 (v:v). As análises do solo foram feitas segundo metodologias da EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (1979) e revelaram as seguintes características: pH=4,8, P=10,9 µg.cm⁻³, K=19 µg.cm⁻³, Ca + Mg=0,9 meq.100 cm⁻³, Al=1,0 meq.100 cm⁻³.

Utilizou-se como tratamentos dois níveis de adubação, denominadas adubação 1 e 2. No nível de adubação 1 empregou-se metade da dose recomendada pela análise do solo, sendo composta por: 150 kg de N.ha⁻¹ como sulfato de amônio, 200 kg de K₂O.ha⁻¹ como cloreto de potássio, 50 kg de P₂O₅.ha⁻¹ como superfosfato simples, 100 kg de P₂O₅.ha⁻¹ como fosfato de Patos de Minas e 2,5 t.ha⁻¹ de esterco de galinha. Com essa adubação empregou-se tratamentos com e sem inóculo de *G. clarum*. Na adubação 2, que se constituiu na adubação convencional empregada pelos produtores de batata de Maria da Fé (MG), usou-se 4000 kg de NPK por ha, na formulação 4:14:8, sob a forma de sulfato de amônio, superfosfato simples e cloreto de potássio. Nesse tratamento utilizou-se plantas sem inóculo de FMA. No tratamento com *G. clarum* empregou-se 5 g de inóculo misto, advindos de vasos de cultivo do CNPAB/EMBRAPA, recebendo cada plântula o correspondente a 450 esporos.

A correção da acidez do solo foi feita com 2.300 kg.ha⁻¹ de calcário dolomítico (87% PRNT), em todos os tratamentos.

A aclimatação das plantas micropropagadas foi inicialmente realizada em bandejas de isopor com 72 células com capacidade para 100 ml, sob condições controladas de luz e temperatura, durante 25 dias. As plântulas apresentavam, nesta ocasião, uma altura média de 5 cm. Processou-se, após este tempo, o transplante para os canteiros, em viveiro, de acordo com o delineamento e tratamentos acima discriminados.

Devido as chuvas constantes na região fez-se necessário aplicações de inseticida (Tamaron) e fungicida (Curzate), duas vezes por semana, a partir do 40º dia do transplante até a colheita.

Os parâmetros analisados foram os mesmos dos dois outros experimentos, sendo as análises estatísticas realizadas pelo Anova 1, do programa MSTAT.

O experimento iniciou-se em 14/09/1993, com a aclimatação das plântulas em bandejas, sendo o transplante para os canteiros realizado no dia 09/10/93 e a colheita em 05/01/1994.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

EXPERIMENTO 1

As plântulas micropropagadas apresentaram uma taxa de sobrevivência de 100% na aclimatação.

Constatou-se em torno do 15º dia o estiolamento de algumas dessas plantas, que levou ao tombamento das hastes. Foi necessário, então, colocar-se estacas. Acredita-se que isso tenha ocorrido devido a baixa luminosidade e a ocorrência de temperaturas elevadas, que levou ao crescimento inicial rápido do material. Nessa ocasião colocou-se 10 ml de solução de Hoagland sem fósforo (P), em cada planta, para auxiliar no seu desenvolvimento.

As diferenças entre os tratamentos com FMA e o controle sem inóculo já eram visíveis, no 32º dia de aclimatação.

Na colheita, aos 60 dias, verificou-se em relação ao peso da parte aérea seca e área foliar, que o tratamento com *G. manihot* foi superior ao controle e ao com *G. margarita*, não diferindo dos demais (Tabela 1). Nesta mesma tabela verificou-se em peso de raízes secas, que *G. manihot* foi superior ao controle, não diferindo dos demais tratamentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

EXPERIMENTO 1

As plântulas micropagadas apresentaram uma taxa de sobrevivência de 100% na aclimatação.

Constatou-se em torno do 15º dia o estiolamento de algumas dessas plantas, que levou ao tombamento das hastes. Foi necessário, então, colocar-se estacas. Acredita-se que isso tenha ocorrido devido a baixa luminosidade e a ocorrência de temperaturas elevadas, que levou ao crescimento inicial rápido do material. Nessa ocasião colocou-se 10 ml de solução de Hoagland sem fósforo (P), em cada planta, para auxiliar no seu desenvolvimento.

As diferenças entre os tratamentos com FMA e o controle sem inóculo já eram visíveis, no 32º dia de aclimatação.

Na colheita, aos 60 dias, verificou-se em relação ao peso da parte aérea seca e área foliar, que o tratamento com *G. manihot* foi superior ao controle e ao com *G. margarita*, não diferindo dos demais (Tabela 1). Nesta mesma tabela, verificou-se em peso de raízes secas, que *G. manihot* foi superior ao controle, não diferindo dos demais tratamentos.

PLENCHETTE *et al.* (1983) em trabalho com diferentes hortícolas, entre elas a batata inglesa, constataram diferenças significativas entre as plantas crescidas em solos fumigado e não fumigado. Atribuiram o pouco desenvolvimento das plantas no solo fumigado, principalmente, a destruição das bactérias nitrificadoras. Constataram, ainda, que com a adição de 100 kg de N por ha na forma de NH_4NO_3 , ocorreu um crescimento normal dessas plantas.

Em peso total de tubérculos secos o tratamento com *G. clarum* foi superior ao controle, ao tratamento com *G. margarita* e àqueles com bactérias sem FMA (Tabela 2). Entretanto, em relação ao número e peso médio de tubérculos não foram verificadas diferenças entre os tratamentos (Tabela 2).

Constata-se, com base nas Tabelas 1 e 2, que o efeito dos tratamentos com os fungos *G. manihot* e *G. clarum*, em relação ao controle, foi mais expressivo em peso de raízes e tubérculos secos, obtendo-se incrementos médios de 1000 e 454%, respectivamente.

ALVES *et al.* (1989), em experimento conduzido com plantas micropagadas de batata-doce inoculadas com FMA, obtiveram aumentos significativos na produção de matéria seca em parte aérea, raízes e tubérculos. Salientaram, ainda, que as plantas não inoculadas mostraram-se pouco adaptadas às condições de baixa fertilidade do substrato, apresentando um crescimento bastante dificultado. DIAZ (1988) trabalhando com tubérculos de batata inglesa, sob condições de casa de vegetação, observou, de forma similar, diferenças altamente significativas entre plantas inoculadas e não inoculadas, para peso de parte aérea e tubérculos secos.

Em experimento conduzido em solos com baixo nível de nutrientes, MCARTHUR & KNOWLES (1993) verificaram efeitos semelhantes nos tratamentos com FMA e de adubação com P, na alocação de matéria seca e área foliar em plantas de batata, evidenciando o papel do FMA na maior absorção

desse nutriente. SWAMINATHAN & VERMA (1977) ressaltaram a importância do FMA para a batata em solos de baixa fertilidade, indicando como provável causa o ineficiente sistema de extração de P pela planta.

A Tabela 1 mostra na porcentagem de colonização micorrízica, que os tratamentos com mistura de fungos sem *A. brasiliense* e mistura de fungos com e sem *A. diazotrophicus* apresentaram-se superiores aos tratamentos com *G. etunicatum*, controle e àqueles com bactérias, não diferindo dos demais.

No conteúdo de fósforo total (Figura 1), verificou-se que os tratamentos com *G. clarum* e mistura de fungos com *A. diazotrophicus* foram superiores aos tratamentos com *G. etunicatum*, *G. margarita*, controle e bactérias sem FMA. Em relação a nitrogênio total (Figura 2), o tratamento com *G. clarum* foi superior aos tratamentos com *G. margarita*, controle e àqueles com bactérias. Para o potássio total (Figura 3), *G. clarum* foi superior ao tratamento com *G. margarita* e ao controle.

Pelos resultados encontrados observou-se um efeito diferenciado dos microorganismos no desenvolvimento e nutrição das plantas, assim como na produção de tubérculos. Não foram constatados efeitos adicionais pela inoculação conjunta de bactérias diazotróficas e FMA.

GARCIA *et al.* (1994), sob condições de campo, não constataram incrementos no desenvolvimento de plantas de batata-doce micropropagadas, pela associação de bactérias diazotróficas e FMA. Resultados diversos foram encontrados em trabalhos com batata-doce (PAULA *et al.*, 1991; PAULA, 1992) e mandioca (BALOTA *et al.*, 1994) micropropagadas, conduzidos em casa de vegetação, nos quais se observaram aumentos significativos na nutrição e desenvolvimento das plantas, pela utilização conjunta desses microorganismos. PAULA (1992) relacionou o aumento da absorção de nutrientes ao favorecimento da colonização micorrízica pelas bactérias diazotróficas, que possibilitou uma maior eficiência na absorção e translocação de nutrientes.

Em relação a bactéria *A. brasiliense* verificou-se sua recuperação em rama, tubérculo, raízes lavadas e desinfestadas de todas as repetições do tratamento com essa bactéria e em uma das repetições do tratamento com mistura de fungos. No tocante a *A. diazotrophicus* foi recuperada em raízes lavadas, em duas das repetições do tratamento com essa bactéria e em uma das repetições do tratamento com fungos, em rama. PAULA (1992) recuperou em plantas de batata doce, as bactérias diazotróficas inoculadas em raízes lavadas e desinfestadas dos tratamentos com elas e da parte aérea e tubérculos dos tratamentos com FMA. Enquanto GARCIA *et al.* (1994) não recuperou *A. diazotrophicus* em batata doce, no final do ciclo da cultura.

Embora não seja possível generalizar-se os resultados desse trabalho, pode-se afirmar que os fungos *G. manihot* e *G. clarum* foram eficientes para a cultivar Achat, enquanto *G. margarita* mostrou-se ineficiente, igualando-se ao controle. A resposta positiva da batata à inoculação com FMA foi observada por vários pesquisadores (SWAMINATHAN & VERMA, 1977; DIAZ, 1988; MCARTHUR & KNOWLES, 1993) com diferentes cultivares, em solos de baixa fertilidade. Esse fato se constitui um caminho promissor, visando a redução dos altos níveis de adubação utilizados pelos produtores. Entretanto, pesquisas devem ser feitas com outras cultivares e diferentes espécies de fungos, sob diversas condições edafo-climáticas, objetivando um maior conhecimento das relações planta-fungo-solo.

EXPERIMENTO 2

Aos 64 dias procedeu-se a colheita, verificando-se pelas análises que não houve diferenças entre os tratamentos em peso de parte aérea seca, número e peso médio de tubérculos (Tabelas 3 e 4).

A Tabela 3 mostra em peso de raízes secas, que os tratamentos com tubérculos recobertos e enrolados com inóculo foram superiores aos tratamentos com tubérculos recobertos e com camada de inóculo autoclavado, assim como ao tratamento sem inóculo.

No parâmetro peso de tubérculos secos, constatou-se que os tratamentos com tubérculo enrolados e com camada de inóculo apresentaram-se superiores somente ao tratamento sem inóculo, não diferindo dos demais (Tabela 4).

Em relação a colonização micorrízica, os tratamentos com inóculo foram superiores aos controles (Tabela 3).

No N total acumulado em parte aérea não observou-se diferenças significativas entre os tratamentos. Em relação ao conteúdo N em raízes mais tubérculos verificou-se que o tratamento com camada de inóculo foi superior aos tratamentos com tubérculos recobertos e enrolados com inóculo autoclavado, como também ao sem inóculo (Tabela 5).

No P total acumulado em parte aérea e raízes mais tubérculos verificou-se que os tratamentos com inóculo foram superiores aos controles (Tabela 5), sendo de 69,28% o incremento médio na parte aérea e de 62,51% em raízes mais tubérculos.

O K total acumulado em parte aérea variou muito com os tratamentos. Em relação ao K em raízes mais tubérculos, verificou-se que o tratamento com camada de inóculo foi superior ao tubérculo recoberto com inóculo autoclavado e ao sem inóculo (Tabela 5).

Os resultados obtidos nos parâmetros analisados não apontaram para uma melhor forma de inoculação dos tubérculos.

Os dados indicaram que a utilização do inóculo com *G. clarum* propiciou um incremento de P nas plantas. Entretanto, em relação aos outros parâmetros os resultados foram inconsistentes.

SWAMINATHAN & VERMA (1977) verificaram em experimento com batata inglesa, que o método mais eficiente de inoculação do FMA foi através do revestimento do tubérculo com uma mistura pastosa (água, cola e metilcelulose) na qual se introduziu o inóculo. Obtiveram por essa técnica plantas que apresentaram uma maior assimilação de P, assim como uma maior produção de matéria seca.

SIEVERDING (1991) destacou a peletização como o método mais conveniente de incorporação do FMA em sistemas de pastagem. Ressaltou que a utilização de fungos micorrízicos e rizóbio nas sementes possibilitou um aumento da distribuição de microorganismos selecionados e a obtenção de plantas mais vigorosas, destacando que a fonte ou a quantidade de inóculo teve um pequeno papel nessa resposta.

Em experimento com tubérculos de batata inglesa, cultivar Kennebec, FROMMEL *et al.* (1993) obtiveram através da peletização com *Pseudomonas sp.*, uma redução do tempo de tuberização, assim como um aumento da produção de tubérculos de tamanho comercial.

A peletização de sementes com microorganismo já é um método empregado comercialmente em muitas espécies vegetais. No caso da batata, entretanto, não se tem conhecimento da aplicação prática desta técnica, sendo a literatura sobre o assunto escassa.

A utilização do fungo micorrízico em tubérculos de batata é problemática e enfrenta obstáculos, tais como: o alto nível de adubação, disponibilidade de inóculo para utilização em larga escala e viabilidade prática e econômica do processo. Pelos trabalhos realizados nessa área, sabe-se que a batata responde favoravelmente a esse endófito, sendo necessário trabalhos mais detalhados para se estabelecer os limites de sua utilização.

EXPERIMENTO 3

No transplantio das plântulas, das bandejas para os canteiros, observou-se que as raízes estavam pouco desenvolvidas e que as plântulas se apresentavam um pouco estioladas. De modo geral, entretanto, o material se encontrava com um bom vigor. Verificou-se uma perda de 5% nas plântulas inoculadas e de 8 % nas não inoculadas com FMA.

As chuvas que caíram na área após o trigésimo dia de transplantio propiciaram o aparecimento de doenças fúngicas, sendo necessário a utilização de inseticidas e fungicidas.

Pela Tabela 6 observa-se que não houve diferenças entre os tratamentos em peso de parte aérea seca. Em relação ao peso de raízes secas, verificou-se que o tratamento sem inóculo, com o nível 1 de adubação, foi superior àquele com o nível 2.

Verificou-se que os tratamentos sem FMA, não apresentaram colonização micorrízica, enquanto o tratamento com FMA apresentou uma baixa porcentagem de colonização micorrízica (Tabela 6).

A relação entre a colonização micorrízica e a fertilidade do solo já foi reportada por diferentes pesquisadores. Segundo MOSSE (1973), o decréscimo da infecção micorrízica em plantas crescidas em solos com alto nível de P tem sido atribuída mais às concentrações supra-ótimas nos tecidos das plantas do que as do solo. HAYMAN *et al.* (1975) assinala que o tipo, a quantidade e o método de aplicação de P influenciam, grandemente, o número de esporos e a quantidade de FMA no campo. Em geral, o aumento das fontes de fosfato solúvel reduz, severamente, o desenvolvimento do FMA. Nesse caso, as plantas não micorrizadas mostram-se mais responsivas à aplicação dos fertilizantes do que as micorrizadas (GIANINAZZI-PEARSON, 1986).

No número e peso total dos tubérculos secos não houve diferenças entre os tratamentos (Tabela 7).

No nitrogênio total acumulado em parte aérea não houve diferenças entre os tratamentos. Em raízes e tubérculos, no entanto, o tratamento sem inóculo, com o nível 1 de adubação, mostrou-se superior àquele com o nível 2 (Tabela 8).

BAREA *et al.* (1987), em trabalho desenvolvido com leguminosa forrageira, observaram em solo com baixo nível de P, que o FMA estimulou a fixação simbiótica do N₂ e aumentou sua absorção.

Um maior conteúdo total de N foi observado, também, no experimento 1, onde o tratamento com *G. clarum* foi superior aos tratamentos com *G. margarita*, controle e àqueles com bactérias. De forma diversa, no experimento em questão, como o P não foi um fator limitante, esse resultado não foi observado.

Não houve diferenças entre os tratamentos com os níveis 1 e 2 de adubação, em relação ao P total acumulado em parte aérea, raízes e tubérculos (Tabela 8).

Em relação ao K, não houve diferenças entre os tratamentos no total acumulado em parte aérea, raízes e tubérculos (Tabela 8).

Nas condições em que foi conduzido esse experimento, os defensivos podem ter tido um efeito negativo adicional no desenvolvimento do FMA. Os trabalhos encontrados sobre o assunto não são conclusivos.

MENGE (1982) comparando os efeitos dos fumigantes e fungicidas, verificou que os fungicidas são menos danosos a micorriza do que os fumigantes, porque reduzem a infecção, mas raramente a elimina. Há evidências de que a sensibilidade a esses produtos varia entre as espécies de fungo. De forma diversa, KOUGH *et al.* (1987) observaram um decréscimo na atividade metabólica dos arbúsculos (sítio preferencial de troca entre hospedeiro e fungo) pela aplicação de fungicidas, verificando, também, uma redução no crescimento das raízes.

DODD & JEFFRIES (1989), trabalhando com 4 herbicidas, encontraram efeitos variados no FMA.

Verificou-se que o nível de adubação utilizado nesse experimento foi prejudicial ao desenvolvimento do FMA, podendo este fato ter sido agravado pela aplicação de defensivos e condições climáticas desfavoráveis da área. Com base nos parâmetros nutricionais, observou-se uma diferença significativa entre os níveis 1 e 2 de adubação, sendo o nível 2 utilizado em larga escala na região de Maria da Fé. Entretanto, mais estudos são necessários para o melhor entendimento desses fatos e para que se possa chegar a uma adequada utilização do potencial que este microorganismo oferece.

CONCLUSÕES

As plantas micropropagadas de batata inglesa, cultivar Achat, responderam favoravelmente a inoculação com os fungos micorrízicos *Glomus manihot* e *Glomus clarum*, não sendo observados efeitos adicionais pela inoculação conjunta de FMA e bactérias diazotróficas. Verificou-se que o fungo *G. margarita* mostrou-se ineficiente, igualando-se às plantas não inoculadas.

Em tubérculos, não houve diferenças entre as diversas formas de revestimento, não sendo observados efeitos com a utilização de inóculo misto de *G. clarum*.

Os níveis mais altos de adubação mostraram-se inadequados ao desenvolvimento do FMA.

TABELA 1: Peso de parte aérea e raízes secas, área foliar e colonização micorrízica de plantas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 60 dias após o transplante¹.

TRATAMENTOS ²	PARTE AÉREA	RAÍZES	ÁREA FOLIAR	COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA
	(g.planta ⁻¹)	(g.planta ⁻¹)	(cm ² .planta ⁻¹)	(%)
<i>Glomus clarum</i>	1,89 AB	0,10 AB	545,4 AB	37,50 AB
<i>Glomus etunicatum</i>	1,16 AB	0,09 AB	311,1 AB	6,25 CD
<i>Glomus manihot</i>	2,10 A	0,22 A	624,3 A	38,25 AB
<i>Gigaspora margarita</i>	0,87 B	0,05 AB	246,6 B	17,75 ABCD
Mistura de fungos com <i>A. brasiliense</i>	1,54 AB	0,13 AB	501,8 AB	27,50 ABC
Mistura de fungos sem <i>A. brasiliense</i>	1,62 AB	0,10 AB	446,0 AB	38,68 A
Controle	0,74 B	0,02 B	186,0 B	3,75 D
<i>Azospirillum brasiliense</i>	1,17 AB	0,07 AB	311,8 AB	9,50 BCD
Mistura de fungos com <i>A. diazotrophicus</i>	1,80 AB	0,14 AB	527,1 AB	40,00 A
<i>Acetobacter diazotrophicus</i>	1,11 AB	0,10 AB	311,3 AB	8,61 CD
Mistura de fungos sem <i>A. diazotrophicus</i>	1,71 AB	0,17 AB	486,4 AB	40,50 A

¹ Valores médios de 4 repetições.

² Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

² Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

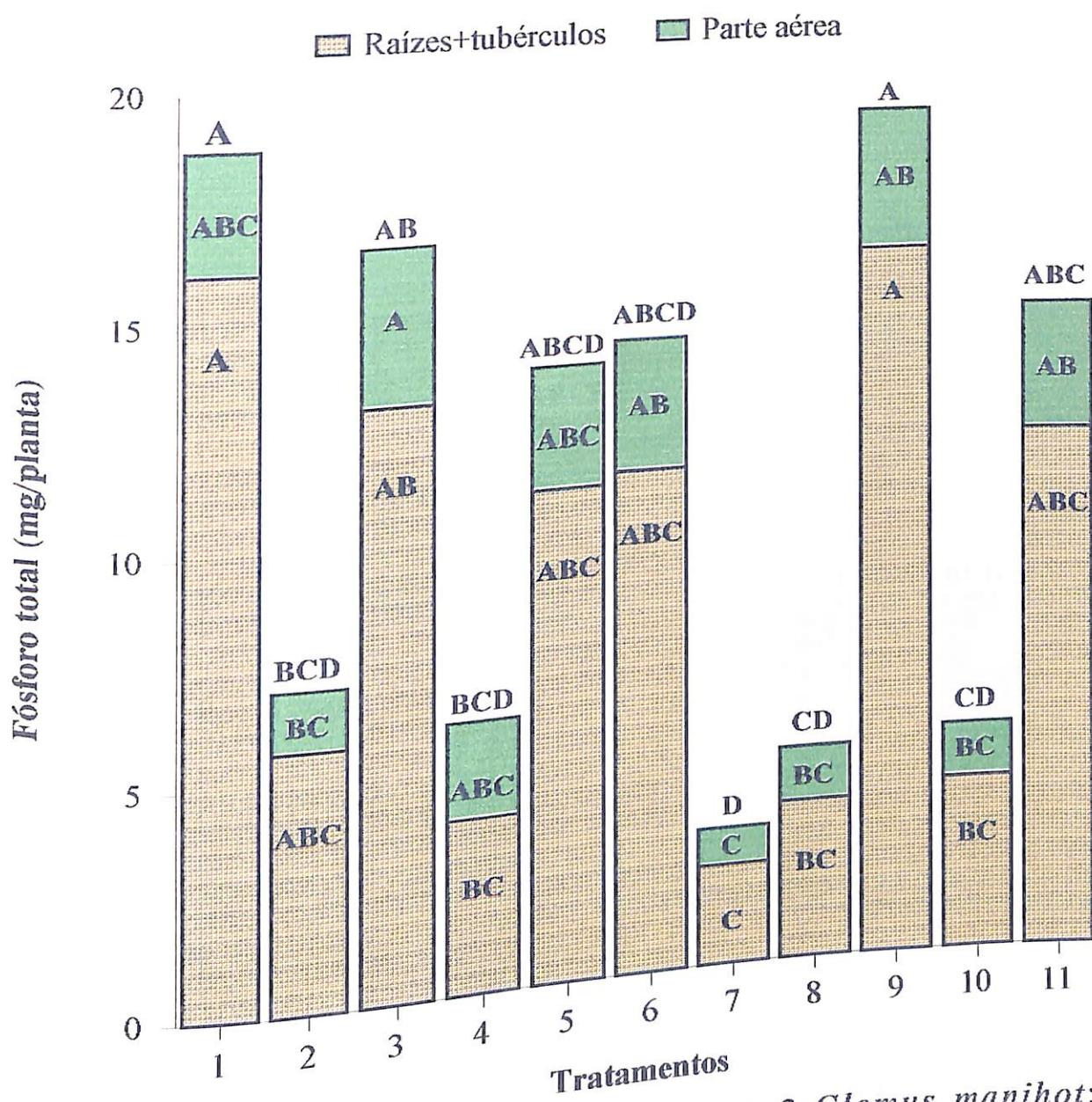
TABELA 2: Número, peso total e peso médio de tubérculos secos de plantas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 60 dias após transplante¹.

TRATAMENTOS ²	NÚMERO DE TUBÉRCULOS (tub.planta ⁻¹)	TUBÉRCULOS SECOS	
		(g.planta ⁻¹)	(g.tub. ⁻¹)
<i>Glomus clarum</i>	5,3 A	8,81 A	2,75 A
<i>Glomus etunicatum</i>	2,5 A	3,67 AB	1,41 A
<i>Glomus manihot</i>	5,0 A	5,54 AB	1,58 A
<i>Gigaspora margarita</i>	3,3 A	1,27 B	0,36 A
Mistura de fungos com <i>A. brasiliense</i>	4,5 A	4,48 AB	1,08 A
Mistura de fungos sem <i>A. brasiliense</i>	3,3 A	5,87 AB	1,74 A
Controle	3,3 A	1,59 B	0,62 A
<i>Azospirillum brasiliense</i>	2,0 A	2,69 B	1,35 A
Mistura de fungos com <i>A. diazotrophicus</i>	4,3 A	6,57 AB	1,53 A
<i>Acetobacter diazotrophicus</i>	4,5 A	2,70 B	0,71 A
Mistura de fungos sem <i>A. diazotrophicus</i>	3,8 A	5,54 AB	1,40 A

¹ Valores médios de 4 repetições.

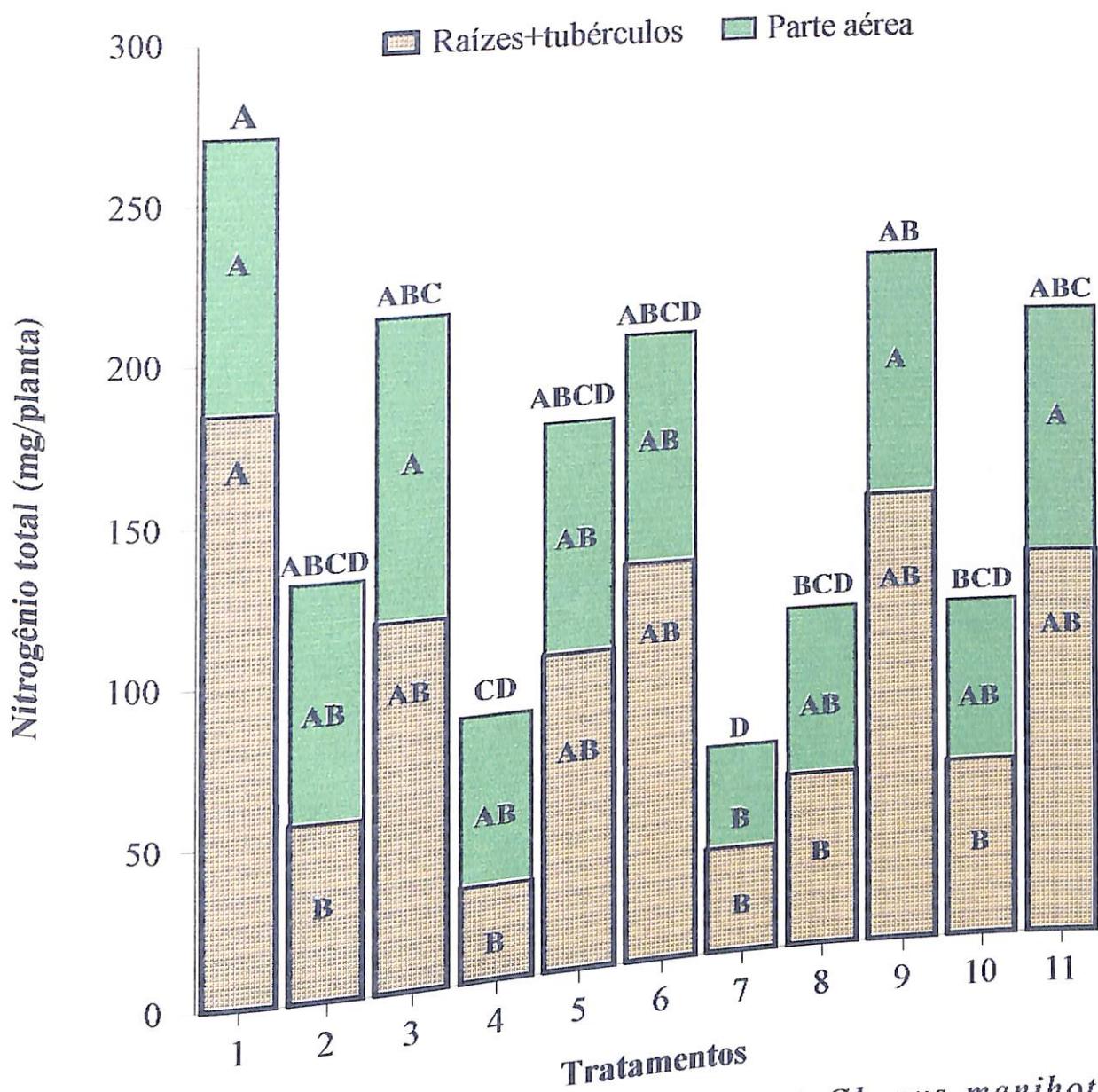
² Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

² Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).



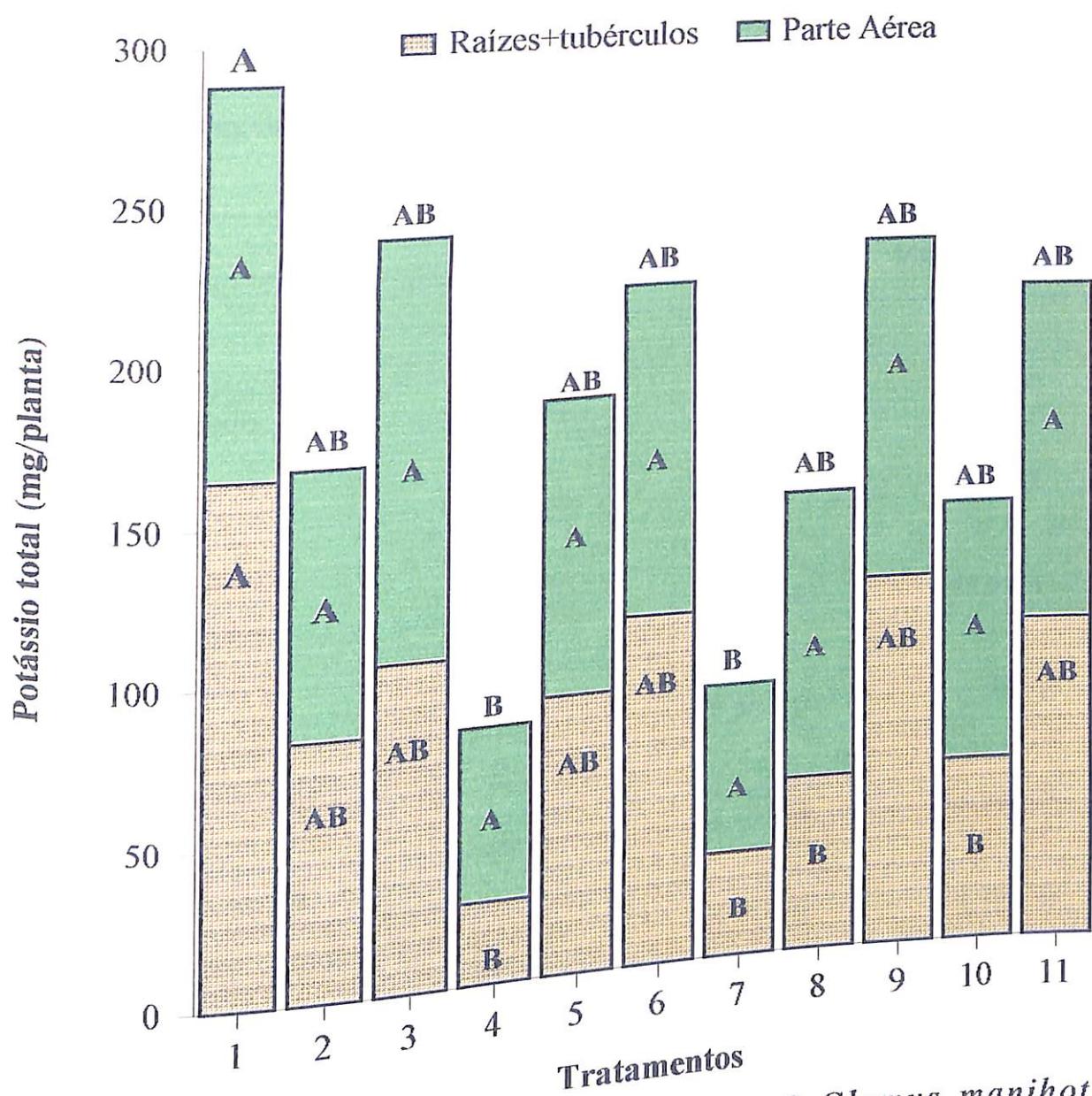
1-*Glomus clarum*; 2-*Glomus etunicatum*; 3-*Glomus manihot*; 4-*Gigaspora margarita*; 5- Mistura de fungos com *A. brasiliense*; 6-Mistura de fungos sem *A. brasiliense*; 7- Controle; 8- *A. brasiliense*; 9-Mistura de fungos com *A. diazotrophicus*; 10- *A. diazotrophicus*; 11- Mistura de fungos sem *A. diazotrophicus*

Figura 1. Fósforo total em plantas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 60 dias após transplante. Média de quatro repetições. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).



1-*Glomus clarum*; 2-*Glomus etunicatum*; 3-*Glomus manihot*; 4-*Gigaspora margarita*; 5- Mistura de fungos com *A. brasilense*; 6-Mistura de fungos sem *A. brasilense*; 7- Controle; 8- *A. brasilense*; 9-Mistura de fungos com *A. diazotrophicus*; 10- *A. diazotrophicus*; 11- Mistura de fungos sem *A. diazotrophicus*

Figura 2. Nitrogênio total em plantas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 60 dias após transplante. Média de quatro repetições. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).



1-*Glomus clarum*; 2-*Glomus etunicatum*; 3-*Glomus manihot*; 4-*Gigaspora margarita*; 5- Mistura de fungos com *A. brasiliense*; 6-Mistura de fungos sem *A. brasiliense*; 7- Controle; 8- *A. brasiliense*; 9-Mistura de fungos com *A. diazotrophicus*; 10- *A. diazotrophicus*; 11- Mistura de fungos sem *A. diazotrophicus*

Figura 3. Potássio total em plantas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 60 dias após transplante. Média de quatro repetições. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

TABELA 3: Peso de parte aérea e raízes secas e colonização micorrízica em plantas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 64 dias em casa de vegetação¹.

TRATAMENTOS ²	PARTE AÉREA (g.planta ⁻¹)	RAÍZES (g.planta ⁻¹)	COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA (%)
Tubérculo recoberto com inóculo	2,57 A	0,67 A	39,80 A
Tubérculo enrolado com inóculo	2,49 A	0,67 A	38,19 A
Camada de inóculo na altura do tubérculo	2,58 A	0,53 AB	38,23 A
Tubérculo recoberto com inóculo autoclavado	2,11 A	0,30 B	0,90 B
Tubérculo enrolado com inóculo autoclavado	2,50 A	0,48 AB	3,50 B
Camada de inóculo autoclavado na altura do tubérculo	2,61 A	0,38 B	1,12 B
Tubérculo sem inóculo	2,44 A	0,37 B	0,72 B

¹ Valores médios de 4 repetições.

² Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

TABELA 4: Número, peso total e peso médio de tubérculos secos de plantas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 64 dias em casa de vegetação¹.

TRATAMENTOS ²	Nº DE TUBÉRCULOS	TUBÉRCULOS SECOS	
	(tub.planta ⁻¹)	(g.planta ⁻¹)	(g.tub. ⁻¹)
Tubérculo recoberto com inóculo	11,50 A	8,38 AB	0,84 A
Tubérculo enrolado com inóculo	9,00 A	9,07 A	1,31 A
Camada de inóculo na altura do tubérculo	7,50 A	9,24 A	1,31 A
Tubérculo recoberto com inóculo autoclavado	9,00 A	7,33 AB	0,86 A
Tubérculo enrolado com inóculo autoclavado	8,00 A	7,49 AB	1,03 A
Camada de inóculo autoclavado na altura do tubérculo	6,75 A	7,81 AB	1,21 A
Tubérculo sem inóculo	9,00 A	6,66 B	1,06 A

¹ Valores médios de 4 repetições.

² Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

TABELA 5: Total de nitrogênio, fósforo e potássio acumulado na parte aérea e raízes + tubérculos de plantas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 64 dias em casa de vegetação¹.

TRATAMENTO ²	NITROGÊNIO TOTAL (mg planta ⁻¹)		FÓSFORO TOTAL (mg.planta ⁻¹)		POTÁSSIO TOTAL (mg.planta ⁻¹)	
	P. AÉREA	RAÍZES + TUBÉRCULOS	P. AÉREA	RAÍZES + TUBÉRCULOS	P. AÉREA	RAÍZES + TUBÉRCULOS
Tubérculo recoberto com inóculo	57,61 A	177,30 AB	3,40 A	19,76 A	169,50 AB	231,20 AB
Tubérculo enrolado com inóculo	49,17 A	181,40 AB	3,06 A	20,04 A	153,60 AB	240,40 AB
Camada de inóculo na altura do tubérculo	54,00 A	196,00 A	3,24 A	20,46 A	183,60 A	265,60 A
Tubérculo recoberto com inóculo autoclavado	50,00 A	158,60 B	1,70 B	11,36 B	121,00 B	187,20 B
Tubérculo enrolado com inóculo autoclavado	53,15 A	155,10 B	1,93 B	14,35 B	203,40 A	219,60 AB
Camada de inóculo autoclavado na altura do tubérculo	58,85 A	172,90 AB	1,97 B	12,04 B	207,90 A	231,40 AB
Tubérculo sem inóculo	64,17 A	155,60 B	2,05 B	11,70 B	198,80 A	198,00 B

¹ Valores médios de 4 repetições.

² Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

² Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

TABELA 6: Peso de parte aérea e raízes secas e colonização micorrízica em plantas micropagadas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 89 dias em viveiro¹.

TRATAMENTO ²	PARTE AÉREA (g.planta ⁻¹)	RAÍZES (g.planta ⁻¹)	COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA (%)
Adubação 1 com <i>G. clarum</i>	2,86 A	0,10 A	7,73 A
Adubação 1 sem <i>G. clarum</i>	5,66 A	0,09 A	0,00 B
Adubação 2	1,84 A	0,04 B	0,00 B

¹ Valores médios de 4 repetições.

² Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

TABELA 7: Número e peso total de tubérculos secos de plantas micropropagadas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 89 dias em viveiro¹.

TRATAMENTOS ²	NÚMERO DE TUBÉRCULOS (tubérculo.planta ⁻¹)	TUBÉRCULOS SECOS (g.planta ⁻¹)
Adubação 1 com <i>G. clarum</i>	4,34 A	14,86 A
Adubação 1 sem <i>G. clarum</i>	4,44 A	19,19 A
Adubação 2	3,53 A	9,65 A

¹ Valores médios de 4 repetições.

² Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

TABELA 8: Nitrogênio, fósforo e potássio total acumulados em parte aérea, raízes e tubérculos de plantas micropropagadas de batata inglesa, cultivar Achat, aos 89 dias em viveiro¹.

TRATAMENTO ²	NITROGÊNIO TOTAL (mg.planta ⁻¹)			FÓSFORO TOTAL (mg.planta ⁻¹)			POTÁSSIO TOTAL (mg.planta ⁻¹)		
				AÉREA	RAÍZES	TUBÉRCULO	AÉREA	RAÍZES	TUBÉRCULO
	AÉREA	RAÍZES	TUBÉRCULO						
Adubação 1 com <i>G. clarum</i>	99,67 A	1,75 A	283,70 AB	6,39 A	0,21 A	30,85 A	106,80 A	1,31 A	315,90 A
Adubação 1 sem <i>G. clarum</i>	191,8 A	1,96 A	393,60 A	12,60 A	0,17 AB	41,83 A	292,50 A	1,27 A	494,80 A
Adubação 2	66,20 A	0,59 B	133,20 B	7,62 A	0,10 B	28,66 A	77,90 A	0,63 A	272,40 A

¹ Valores médios de 4 repetições.

² Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, J.M.C.; PAULA, M.A.; PINTO, J.E.B.P.; PASQUAL, M. Utilização de micorrizas vesículo-arbusculares na aclimatação e crescimento de mudas de batata doce [*Ipomoea batata* (L.) Lam.] micropropagadas *in vitro*. *Ciência e Prática*, Lavras, v.13, n.2, p.214-223, 1989.
- ANTUNES, F.Z.; FORTES, M. Exigências climáticas da cultura da batata. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.7, n.76, p.19-23, 1981.
- BALOTA, E.L.; COLOZZI, A.F.; LOPES, E.S.; HUNGRIA, M.; DÖBEREINER, J. Efeito de fungos MVA e bactérias FBN no desenvolvimento e nutrição de mandioca micropropagada. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 5., Florianópolis, 1994. Resumos... Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 1994. p.99.
- BAREA, J.M.; AZCON-AGUILAR, C.; AZCON, R. Vesicular-arbuscular mycorrhiza improve both symbiotic N₂ fixation and N uptake from soil as assessed with a ¹⁵N technique under field conditions. *The New Phytologist*, London, v.106, p.717-725, 1987.
- BATAGLIA, O.C.; FURLANI, A.M.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; GALLO, J.R. Métodos de análise química de plantas. *Boletim Técnico do Instituto Agronômico*, Campinas, v.78, p.1-46, 1983.

- BLAL, B.; MOREL, C.; GIANINAZZI-PEASON, V.; FARDEAU, J.C.; GIANINAZZI, S. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on phosphate fertilizer efficiency in two tropical acid soils planted with micropropagated oil palm (*Elaeis guineensis* Yacq.). *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, v.9, p.43-48, 1990.
- CARDOSO, M.R.O. Produção de batata-semente no Brasil. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.7, n.76, p.70-72, 1981.
- CARDOSO, M.R.O.; SATURNINO, H.M. Cultivares de batata. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.7, n.76, p.14-17, 1981.
- CROZIER, A.; ARRUDA, P.; JASMIN, J.M.; MONTEIRO, A.M.; SANDBERG, G. Analysis of indole-3-acetic acid and related indoles in culture medium from *Azospirillum brasilense*. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v.54, n.11, p.2833-2837, 1987.
- DELAZARI, P.C.; ZANGRANDE, M.B.; D.FILHO, N. Rendimento econômico de batata em função do nitrogênio, fósforo e potássio em solos do Espírito Santo. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.7, n.1, p.24-27, 1989.
- DIAZ, P.M. Micorrizas MVA en papa (*Solanum tuberosum*) respuesta en el crecimiento y nutrición de plantas inoculadas en invernadero y en campo. *Revista Latinoamericana de La Papa*, Lima, v.1, n.1, p.84-103, 1988.
- DODD, J.C.; JEFFRIES, P. Effects of herbicides on three vesicular-arbuscular fungi associated with winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, v.7, p.113-119, 1989.
- DODDS, J.H. Tissue culture technology: practical application of sophisticated methods. *American Potato Journal*, Fort Collins, v.65, n.4, p.167-180, 1988.

- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. Rio de Janeiro, RJ. Manual de métodos de análises de solo. Rio de Janeiro, 1979. n.p.
- FAO, Yearbook. Production. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1993. v.46.
- FREIRE, F.M.; MARTINS, C.A.S.F.; MONNERAT, P.H. Nutrição mineral e adubação da batata. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.7, n.76, p.24-29, 1981.
- FROMMEL, M.I.; NOWAK, J.; LAZAROVITS, G. Treatment of potato tubers with a growth promoting *Pseudomonas sp.*: plant growth responses and bacterium distribution in the rhizosphere. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.150, p.51-60, 1993.
- FUENTES-RAMIREZ, L.E.; JIMENEZ-SALGADO, T.; ABARCA-OCAMPO, I.R.; CABALLERO-MELLADO, J. *Acetobacter diazotrophicus*, an indoleacetic acid producing bacterium isolated from sugarcane cultivars of México. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.154, n.2, p.145-150, 1993.
- FURUMOTO, O. Utilização de germoplasma andigena na ampliação da base genética da batata. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.11, n.1, p.3-7, 1993.
- GARCIA, J.C.; PAULA, M.A.; SILVA, E.M.R.; ALMEIDA, D.L.; CARVALHO, A.C.P.P. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares (FMVA) e bactérias diazotróficas em plantas micropropagadas de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 5., Florianópolis, 1994. Resumos... Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 1994. p.92.
- GIANINAZZI-PEARSON, V. Mycorhizae: a potential for better use of phosphate fertilizer. *Fertilizers and Agriculture*, Dijon, v.92, p.03-12, 1986.

- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *The New Phytologist*, London, v.84, p.489-500, 1980.
- HAYMAN, D.S.; JOHNSON, A.M.; RUDDLESIN, I. The influence of phosphate and crop species on endogone spores and vesicular-arbuscular mycorrhiza under field conditions. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.43, p.489-495, 1975.
- HOBBELINK, H. Perú, a terra da batata: até quando? In: HOBBELINK, H., ed. *Biotecnologia: muito além da revolução verde*, Porto Alegre, 1990. p.100-104.
- HORTON, D.E. Las papas en los países en desarrollo. *Revista Latinoamericana de la Papa*, Lima, v.1, n.1, p.9-17, 1988.
- IBGE. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1994. *Levantamento Sistemático da Produção Agrícola; pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil*. Rio de Janeiro, 1994.
- KOSKE, R.E.; GEMMA, J.N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research*, Cambridge, v.92, p.408-505, 1989.
- KOUGH, J.L.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Depressed metabolic activity of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi after fungicide applications. *The New Phytologist*, London, v.106, p.707-715, 1987.
- LOPES, C.A. Doenças bacterianas da batata. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.7, n.76, p.40-42, 1981.
- LOPES, C.A.; GIORDANO, L.B. Avaliação da resistência de oito clones e três cultivares de batata (*Solanum tuberosum* L.) à mucha bacteriana causada por *Pseudomonas solanacearum*. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.1, n.1, p.33-35, 1983.

- MCARTHUR, D.A.J.; KNOWLES, N.R. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the response of potato to phosphorus deficiency. *Plant Physiology*, Rockville, v.101, p.147-160, 1993.
- MENGE, J.A. Effect of soil fumigants and fungicides on vesicular-arbuscular fungi. *Phytopathology*, St. Paul, v.72, p.1125-32, 1982.
- MILLER, S.A.; LIPSCHUTZ, L. Root and tuber crops potato. In: AMMIRATO, P.V.; EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; YAMADA, Y., ed. *Handbook of Plant Cell Culture*. New York: Macmillan, 1984. p.291-299.
- MOSSE, B. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IV. In soil given additional phosphate. *The New Phytologist*, Oxford, v.72, p.127-136, 1973.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium of rapid growth and bio-assay with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- PAULA, M.A. *Interação micorrizas vesículo-arbusculares e bactérias diazotróficas em batata-doce (*Ipomoea batatas* (L) Lam)*. Itaguaí: UFRRJ, 1992. 168p. Tese doutoramento.
- PAULA, M.A.; REIS, V.M.; DOBEREINER, J. Interactions of *Glomus clarum* with *Acetobacter diazotrophicus* in infection of sweet potato (*Ipomoea batatas*), sugarcane (*Saccharum* spp), and sweet sorghum (*Sorghum vulgare*). *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, v.11, n.2, p.111-115, 1991.
- PLENCHETTE, C.; FORTIN, J.A.; FURLAN, V. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.70, p.199-209, 1983.
- SIEVERDING, E. Incorporation of the inoculation technology in tropical pastures. In: *Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems*. Germany: Bremer Verlag, 1991. p.279-285.

- SIMMONDS, N.W. Potatoes: *Solanum tuberosum* (Solanaceae). In: **Evolution of crops plants.** New York: Longman, 1979. p.279-283.
- SOUZA, E.L.S.; SOUZA, J.A. Produção de plantas de batata livres de vírus. In: **SIMPÓSIO NACIONAL DE CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS, 1.,** Brasília, 1985. Anais... Brasília: EMBRAPA-CNPH, 1986. p.21-23.
- SWAMINATHAN, K.; VERMA, B.C. Symbiotic effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the phosphate nutrition of potatoes. **Indian Academy of Science, Indian**, v.85B, n.5, p.310-318, 1977.
- WINANDY, A.L.P.; VILHORDO, B.W. Cultivares de batata. **Ipagro Informa, Porto Alegre**, n.29, p.39-43, 1987.
- WRIGHT, N.S. Assembly, quality control and use of a potato cultivar collection rendered virus-free by heat therapy and tissue culture. **American Potato Journal**, Fort Collins, v.65, n.4, p.181-198, 1988.

ANEXO 1: Comercialização de abacaxi no Estado do Rio de Janeiro. Período de 1990 a 1993.

ORIGEM DO PRODUTO	1990		1991		1992		1993	
	(t)	%	(t)	%	(t)	%	(t)	%
Campos - RJ	385	2,03	568	2,90	734	3,88	1,628	7,29
S. J. da Barra - RJ	820	4,33	2,556	13,06	2,221	11,74	5,684	25,45
OUTROS - RJ	536	2,83	1,530	7,82	1,086	5,74	1,332	5,96
Total do Rio de Janeiro	1,741	9,19	4,654	23,78	4,041	21,36	8,644	38,71
Total da Paraíba	12,136	64,07	7,868	40,21	8,683	45,90	4,157	18,61
Total do Espírito Santo	3,636	19,19	6,152	31,44	5,024	26,56	6,420	28,75
Total de outros Estados	1,430	7,55	894	4,57	1,171	6,19	3,111	13,93
Total Geral Comercializado	18,943		19,568		18,919		22,332	

Fonte: Setor de Economia da CEASA-RJ (1994)

ANEXO 2: Análise de variância (valores F e CV) da altura dos abacaxizeiros aos 6 e 12 meses, número de rebentões aos 12 meses e número de filhotes aos 18 meses após o transplante para o campo (Capítulo I).

FONTES DE VARIAÇÃO	ALTURA (cm)		REBENTÕES (nº. planta ⁻¹)		FILHOTES (nº. planta ⁻¹)	
	6 meses	12 meses	12 meses	18 meses	18 meses	
Tratamentos	2,60	7,61**	6,24**			3,68*
CV (%)	20,39	9,93	17,32			28,02

* P<0,05

** P<0,01

ANEXO 3: Análise de variância (valores F e CV) de matéria seca e total acumulado de P e K em folhas “D” de abacaxizeiro aos 12 meses após transplante para o campo (Capítulo I).

FONTES DE VARIAÇÃO	MATERIAL SECA		P	K
	(g. folha ⁻¹)	FOLHA D (mg. folha ⁻¹)	(mg. folha ⁻¹)	(mg. folha ⁻¹)
Tratamentos	6,65**		4,21*	7,55**
CV (%)	13,20		16,42	14,35

* P<0,05

** P<0,01

ANEXO 4: Análise de variância (valores F e CV) da altura, diâmetro à altura do colo e do número de perfilhamento de bananeiras, em casa de vegetação e no campo, medidas em várias épocas (Capítulo II).

FONTES DE VARIAÇÃO	CASA DE VEGETAÇÃO		CAMPO		
	ALTURA (cm)	DIÂMETRO (cm)	ALTURA (cm)	DIÂMETRO (cm)	PERFILHAMENTO (nº. planta ⁻¹)
Tratamentos	19,94**	24,90**	0,88	0,36	0,38
CV (%)	57,27	24,85	49,29	39,57	48,85
Épocas	203,74**	767,60**	397,24**	777,79**	45,06**
Tratamentos x Época	19,27**	22,00**	0,10	0,13	0,53
CV (%)	14,81	7,11	18,91	12,60	39,48

* P<0,05

** P<0,01

ANEXO 5: Análise de variância (valor F) dos termos de regressão (Capítulo II).

REGRESSÃO	CASA DE VEGETAÇÃO		CAMPO		
	ALTURA	DIÂMETRO	ALTURA	DIÂMETRO	PERFILHAMENTO
LINEAR	COM FMA 685,62**	COM FMA 1428,39**	COM FMA 204,92**	COM FMA 1095,05**	COM FMA 50,64**
	SEM FMA 199,40**	SEM FMA 705,35**	SEM FMA 192,42**	SEM FMA 1121,04**	SEM FMA 39,80**
	COM FMA 1,00	COM FMA 1,70	COM FMA -	COM FMA 46,58**	COM FMA 0,43
QUADRÁTICA	SEM FMA 3,51	SEM FMA 1,04	SEM FMA -	SEM FMA 3,36	SEM FMA 0,00
	COM FMA 0,66	COM FMA 124,32**	COM FMA -	COM FMA 9,58**	COM FMA 0,00
CÚBICA	SEM FMA 1,42	SEM FMA 108,04**	SEM FMA -	SEM FMA 34,17**	SEM FMA 0,08

* P<0,05

** P<0,01

ANEXO 6: Análise de variância (valores F e CV) de peso de parte aérea e raízes secas, área foliar, colonização micorrízica, número, peso total e peso médio de tubérculos secos dos dados do experimento 1 (Capítulo III).

FONTES DE VARIAÇÃO	PARTE AÉREA	RAÍZES	ÁREA FOLIAR	COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA	NÚMERO DE TUBÉRCULOS	TUBÉRCULOS SECOS
	(g.planta ⁻¹)	(g.planta ⁻¹)	(cm ² .planta ⁻¹)	(%)	(tubérculo.planta ⁻¹)	(g.planta ⁻¹) (g.tub. ⁻¹)
Tratamentos	3,31**	2,32*	3,47**	7,75**	1,51	4,07** 1,36
CV (%)	34,04	66,38	37,10	31,96	17,69	51,52 83,44

* P<0,05

** P<0,01

ANEXO 7: Análise de variância (valores F e CV) do total acumulado de nitrogênio, fósforo e potássio em parte aérea e raízes + tubérculos dos dados do experimento 1 (Capítulo III).

FONTE DE VARIAÇÃO	NITROGÊNIO TOTAL (mg.planta ⁻¹)		FÓSFORO TOTAL (mg.planta ⁻¹)		POTÁSSIO TOTAL (mg.planta ⁻¹)	
	P. AÉREA	RAÍZES + TUBÉRCULOS	P. AÉREA	RAÍZES + TUBÉRCULOS	P. AÉREA	RAÍZES + TUBÉRCULOS
Tratamentos	3,82**	4,35**	5,38**	5,83**	1,96	3,86**
CV (%)	27,21	51,23	35,87	48,05	37,56	47,82

* P<0,05

** P<0,01

ANEXO 8: Análise de variância (valores F e CV) de peso de parte aérea e raízes secas, número e peso total de tubérculos secos e colonização micorrízica dos dados do experimento 2 (Capítulo III).

FONTE DE VARIAÇÃO	PARTE AÉREA (g.planta ⁻¹)	RAÍZES (g.planta ⁻¹)	COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA (%)	NÚMERO DE TUBÉRCULOS (tubérculo.planta ⁻¹)	TUBÉRCULOS SECOS (g.planta ⁻¹)
Tratamentos	1,06	3,06*	56,61**	0,73	2,27
CV (%)	13,56	34,86	30,24	41,02	15,71

* P<0,05

** P<0,01

ANEXO 9: Análise de variância (valores F e CV) do total acumulado de nitrogênio, fósforo e potássio em parte aérea e raízes + tubérculos dos dados do experimento 2 (Capítulo III).

FONTE DE VARIAÇÃO	NITROGÊNIO TOTAL (mg.planta ⁻¹)		FÓSFORO TOTAL (mg.planta ⁻¹)		POTÁSSIO TOTAL (mg.planta ⁻¹)	
	P. AÉREA	RAÍZES + TUBÉRCULOS	P. AÉREA	RAÍZES + TUBÉRCULOS	P. AÉREA	RAÍZES + TUBÉRCULOS
Tratamentos	1,23	2,48	14,55**	6,61**	2,63	2,00
CV (%)	17,27	11,44	15,27	21,07	21,87	16,54

* P<0,05

** P<0,01

ANEXO 10: Análise de variância (valores F e CV) de peso de parte aérea e raízes secas, colonização micorrízica, número e peso total de tubérculos secos dos dados do experimento 3 (Capítulo III).

FONTE DE VARIAÇÃO	PARTE AÉREA (g.planta ⁻¹)	RAÍZES (g.planta ⁻¹)	COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA (%)	NÚMERO DE TUBÉRCULOS (tubérculo.planta ⁻¹)	TUBÉRCULOS SECOS (g.planta ⁻¹)
Tratamentos	2,04	3,74	84,88**	1,91	2,73
CV (%)	80,20	43,53	37,60	17,70	39,69

* P<0,05

** P<0,01

ANEXO 11: Análise de variância (valores F e CV) do total acumulado de nitrogênio, fósforo e potássio em parte aérea, raízes e tubérculos dos dados do experimento 3 (Capítulo III).

FONTE DE VARIAÇÃO	NITROGÉNIO TOTAL (mg.planta ⁻¹)			FÓSFORO TOTAL (mg.planta ⁻¹)			POTÁSSIO TOTAL (mg.planta ⁻¹)		
	P. AÉREA		RAÍZES	P. AÉREA		RAÍZES	TUBÉRCULOS	P. AÉREA	
Tratamentos	1,80	7,80*	5,20*	0,70	3,99	0,95	1,68	3,16	2,07
CV (%)	81,97	36,94	42,50	88,84	37,82	42,85	113,11	40,21	45,37

* P<0,05

** P<0,01