

JOANA ANGÉLICA CAVALCANTI BRANDÃO

SIMBIOSE MICORRÍZICA ARBUSCULAR DE GRAVIOLEIRAS (*Annona muricata*) EM SOLO INFESTADO POR *Pratylenchus coffeae*

RECIFE

FEVEREIRO/2003

JOANA ANGÉLICA CAVALCANTI BRANDÃO

SIMBIOSE MICORRÍZICA ARBUSCULAR DE GRAVIOLEIRAS (*Annona muricata*) EM SOLO INFESTADO POR *Pratylenchus coffeae*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre.

Comissão de Orientação:

Dra. Leonor Costa Maia
Orientadora

Dra. Uided Maaze C. Tiburcio
Co-orientadora

Dra. Elvira Maria Regis Pedrosa
Conselheira

RECIFE

FEVEREIRO/2003

SIMBIOSE MICORRÍZICA ARBUSCULAR DE GRAVIOLEIRAS (*Annona muricata*) EM SOLO INFESTADO POR *Pratylenchus coffeae*

Dissertação defendida e aprovada pela banca examinadora em 21/02/2003

Orientadora:

Dra Leonor Costa Maia
(Departamento de Micologia/UFPE)

Examinadores:

Dra Sandra Farto Botelho Trufem
(Universidade de São Marcos/São Paulo)

Dra Elvira Maria Regis Pedrosa
(Departamento de Agronomia/UFRPE)

Dra Uided Maaze Tiburcio Cavalcante
(Departamento de Biologia/UFRPE)

RECIFE
FEVEREIRO/2003

À minha família, especialmente a meus pais, Joana e Luiz, a meus irmãos Luiz, Lucas e Yumi, aos queridos tios e aos amigos, com amor, **Dedico.**

Um Manual de Sobrevivência

Depois de algum tempo, você aprende que amar não significa apoiar-se, e que companhia nem sempre significa segurança.

Depois de algum tempo, você aprende que não importa o quanto você se importe, algumas pessoas simplesmente não se importam. E aceita que não importa quão boa seja uma pessoa, ela vai feri-lo de vez em quando e você precisa perdoá-lo por isso. Descobre que se leva um certo tempo para construir confiança e apenas segundos para destruí-la. E que você pode fazer coisas em um instante, das quais se arrependerá pelo resto da vida.

Aprende que verdadeiras amizades continuam a crescer mesmo a longas distâncias. E o que importa não é o que você tem na vida, mas quem você tem na vida. E que bons amigos são a família que nos permitiram escolher.

Aprende que não temos que mudar de amigos se compreendermos que os amigos mudam, percebe que seu melhor amigo e você podem fazer qualquer coisa, ou nada, e têm bons momentos juntos.

Descobre que as pessoas com quem você mais se importa na vida são tomadas de você muito depressa. Por isso, sempre devemos deixar as pessoas que amamos com palavras amorosas, pois pode ser a última vez que as vejamos.

Começa a aprender que não se deve comparar com os outros, mas com o melhor que pode ser.

Aprende que paciência requer muita prática.

Aprende que maturidade tem mais a ver com os tipos de experiências que se teve e o que você aprendeu com elas, do que quantos aniversários você celebrou.

Aprende que há mais coisas de seus pais em você do que você supunha.

Aprende que nunca se deve dizer a uma criança que sonhos são bobagens.

Aprende que quando está com raiva, tem o direito de estar com raiva, mas isso não te dá o direito de ser Cruel.

Aprende que não importa em quantos pedaços seu coração foi partido, o mundo não pára para que você o conserte.

Aprende que o tempo não é algo que você possa voltar para trás; portanto, plante o seu jardim e decore sua alma, ao invés de esperar que alguém lhe traga flores.

E você aprende realmente que pode suportar que realmente é forte, e que pode ir muito longe... Depois de pensar que não se pode mais. E que realmente a vida tem valor e que você tem valor diante da vida.

William Shakespeare

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar presente em minha vida, por me guiar e dar provas diárias de como é grande o seu amor, principalmente nos momentos mais difíceis.

À minha mãe, pelo apoio, compreensão, paciência e incentivo.

A meu pai, pelo apoio, incentivo e confiança.

Aos meus irmãos Lucas André e Luiz Augusto, pela colaboração e apoio.

À Dra. Leonor Costa Maia, pela excepcional orientação, paciência e compreensão durante todo o curso.

À Dra. Uided Maaze Tiburcio Cavalcante, pelo divertido convívio, pelas palavras de amizade, ensinamentos e excepcional co-orientação em todos os momentos.

À Dra. Elvira Maria Régis Pedrosa, pela orientação nos momentos de dúvida, paciência e concessão do Laboratório de Fitossanidade.

À Dra. Adriana Mayumi-Yano Melo, pela realização das análises estatísticas e apoio.

Ao Professor Everardo V de Sá Barreto Sampaio, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq), pela bolsa de estudos concedida.

Aos professores da Pós-Graduação em Biologia de Fungos, pelos ensinamentos.

A Fábio Sérgio, pelo companheirismo e amizade durante o curso, constante incentivo e colaboração em várias etapas da dissertação.

À Maryluce Albuquerque, pela ajuda nos experimentos, pela alegria, amizade e incentivo.

A Nicácio, Érika e Aline, pela grande colaboração.

À Dra. Sandra Farto Botelho Trufem e a Bruno Tomio Goto pela identificação das espécies de FMA.

À Kércia Maria, pela colaboração, amizade e apoio.

À Jeane Emile, Adriano Costa e Daniela Salgues, pelo auxílio durante as avaliações e colheita do segundo experimento.

À amiga Cristiane Castro pela revisão gramatical.

A Manoel Bandeira, pela colaboração e apoio.

Aos meus amigos, pelas palavras de incentivo, compreensão e apoio.

Enfim, a todos que contribuíram com ações, palavras ou gestos, os quais me estimularam a realizar esse trabalho, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO	Pág.
AGRADECIMENTOS	v
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMO	9
INTRODUÇÃO	10
REVISÃO DE LITERATURA	
1. Gravioleira	12
2. Aspectos gerais da associação micorrízica	15
3. Dependência micorrízica	17
4 Nematóides parasitos de plantas	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
ARTIGO 1:	31
Dependência micorrízica de mudas de gravioleiras (<i>Annona muricata</i> L.)	
Abstract	33
Resumo	33
Introdução	34
Material e Métodos	36
Resultados	39
Discussão	43
Referências Bibliográficas	46
ARTIGO 2:	50
Efeito da associação de fungos micorrízicos arbusculares e gravioleiras (<i>Annona muricata</i>) em solo infestado por <i>Pratylenchus coffeae</i>	
Resumo	51
Summary	53
Introdução	54
Material e Métodos	56
Resultados	59
Discussão	59
Literatura Citada	62
CONCLUSÕES GERAIS	71

LISTA DE TABELAS

	Páginas
REVISÃO DE LITERATURA	13
1. Composição do fruto de graviola e valor nutritivo em 100 g de polpa	
2. Principais pragas e doenças da gravioleira	15
3. Tipos de interações entre fitonematóides e FMA	21
4. Influência de interações entre nematóides do gênero <i>Pratylenchus</i> e FMA sobre o crescimento de frutíferas.	22
ARTIGO 1	
1. Altura de gravioleiras associadas ou não a FMA, após 135 dias, em casa - de - vegetação.	38
2. Massa da matéria seca aérea (g) de gravioleiras adubadas com P (1, 5, 10 e 20 mg.dm ⁻³) e associadas ou não a FMA, após 135 dias, em casa - de - vegetação.	40
3. Área foliar de gravioleiras adubadas com P (1, 5, 10 e 20 mg.dm ⁻³) e associadas ou não a FMA, após 135 dias, em casa - de - vegetação.	40
4. Dependência micorrízica de gravioleiras em solos com níveis crescentes de P, 135 dias após a inoculação com FMA	41
ARTIGO 2	
1. Número de nematóides(100 cc ³ .solo ⁻¹) e esporulação de FMA em mudas de gravioleiras, aos 60 dias, em solo infestado com <i>Pratylenchus coffeae</i>	59

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
ARTIGO 2	
1. Massa fresca das raízes e massa fresca e seca da parte aérea de mudas de gravioleiras associadas a FMA, aos 60 dias, em solo infestado por <i>Pratylenchus coffeae</i>	58
2. Altura de mudas de gravioleiras associadas a FMA, aos 60 dias, em solo infestado com <i>Pratylenchus coffeae</i>	58
3. Colonização micorrízica de mudas de gravioleiras, aos 60 dias, em solo infestado com <i>Pratylenchus coffeae</i>	59

RESUMO

Avaliou-se (1) a dependência micorrízica e (2) o efeito da inoculação com FMA sobre o crescimento de gravioleiras (*Annona muricata* var. Morada) em solos infestados com nematóides. O primeiro experimento foi conduzido em casa-de-vegetação por 135 dias, sendo avaliadas: altura, área foliar, massa da matéria seca da parte aérea e das raízes. O delineamento foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial de 5 x 4, sendo (controle, inoculado com 200 esporos de *Glomus etunicatum*, *Acaulospora longula*, *Gigaspora albida* e FMA nativos na rizosfera de gravioleiras), 4 doses de P (1, 5, 10 e 20 mg.dm⁻³ de fósforo no solo) e 5 repetições. No segundo experimento, mudas foram ou não inoculadas com cerca de 200 esporos dos mesmos FMA, sendo infestadas com 3200 indivíduos de *P. coffeae*, 90 dias após inoculação com FMA. Avaliaram-se altura, massa da matéria fresca e seca aérea, massa da matéria fresca radicular, colonização micorrízica, produção de esporos de FMA e número de nematóides na raiz e no solo. O delineamento foi inteiramente casualizado, com cinco repetições para cada combinação FMA, nematóide e controle. As mudas responderam à inoculação com FMA e à fertilização com fósforo. A gravioleira var. Morada foi considerada micotrófica obrigatória respondendo à inoculação em todos os níveis de P. As plantas associadas a fungos nativos e *A. longula* apresentaram incremento significativo em altura, massa seca da parte aérea e área foliar, quando comparadas à testemunha. No entanto, não houve resposta de crescimento nas plantas inoculadas com *G. albida*. No segundo experimento, a infestação do solo com *P. coffeae* não influenciou significativamente o crescimento das mudas. Entretanto, quando inoculadas com FMA, estas apresentaram aumento na altura e na massa seca aérea e massa da matéria fresca radicular, independentemente da presença do patógeno. A micorrização não interferiu na reprodução de *P. coffeae*. Por outro lado, a colonização micorrízica e a esporulação dos FMA foram afetadas pelos nematóides, sendo em alguns casos incrementadas na presença do patógeno. De maneira geral, a inoculação com FMA nativos propiciou melhores respostas tanto no crescimento quanto na tolerância das mudas aos nematóides.

INTRODUÇÃO

A gravioleira (*Annona muricata* L.) é considerada a mais tropical das Annonaceae. Nos últimos anos, o cultivo desta frutífera tem recebido destaque na região semi-árida nordestina, devido à qualidade dos frutos, que constituem importante fonte alimentícia para o homem (Pinto & Silva, 1994). A polpa é consumida ao natural ou usada no preparo de refrescos, tortas e conservas, assim como na fabricação de sucos concentrados, sorvetes e néctar. Além disso, folhas, frutos, sementes e raízes apresentam propriedades medicinais (Epstein, 1999).

Recentemente, o Brasil e a Venezuela têm recebido destaque na produção de gravioleira, possuindo área de cultivo superior a 1000 ha (Oliveira et al., 2001). No entanto, a planta apresenta desenvolvimento lento, necessitando de elevada adubação para garantir boa produtividade (Oliveira et al., 2001). Em adição, problemas fitossanitários e de manejo acarretam baixa produtividade nas áreas cultivadas (<http://www.cpac.embrapa.br>, 1999).

Moura et al. (1999) relataram que o cultivo de graviola em Pernambuco está sendo acometido por uma nova doença, a morte súbita, causada pelo nematóide endoparasita migrador *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev & Stekhoven, 1941. Oliveira et al. (2001) destacaram a importância desta nova doença, uma vez que causa inúmeros danos à cultura da gravioleira na Região Nordeste.

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são conhecidos por tornarem seus hospedeiros mais tolerantes a estresses de natureza abiótica (seca e salinidade) e biótica (pragas e doenças). Apresentam ampla distribuição geográfica, com predominância nos trópicos, ocorrendo em ecossistemas naturais e em diversas culturas agrícolas, tais como mamoeiro (*Carica papaya* L.) (Trindade et al., 2000), abacateiro (*Persia* sp.) (Silveira et al., 2002), açaizeiro (*Euterpia oleracea* Mart.) (Chu, 1999) e gravioleira (*Annona muricata* L.) (Chu et al., 2001).

A inoculação prévia com FMA pode conferir às plantas maior proteção contra nematóides causadores de lesões no sistema radicular, especialmente os do gênero *Pratylenchus*, pela melhoria no estado nutricional e supressão na reprodução do patógeno (Calvet et al., 1995; Borowicz, 2001).

As plantas diferem em relação à necessidade de formar micorrizas. Gerdermann (1975) sugeriu a existência de dependência de certas plantas à micorrização e definiu o termo "Dependência micorrízica" (DM) como "o grau no qual espécies de plantas dependem da condição micotrófica para atingir máximo crescimento ou produtividade em dado nível de fertilidade do solo", sendo controlada por fatores genéticos inerentes ao fungo e ao hospedeiro. Assim, é importante conhecer a DM da espécie de interesse, pois a resposta à associação com FMA está fortemente relacionada ao micotrofismo da planta (Habte & Manjunath, 1991).

Não há relatos sobre a dependência micorrízica da gravioleira, mas estudos comprovaram que *Annona cherimola* Mill. planta do mesmo gênero desta frutífera, é micotrófica. Do mesmo modo, a associação com FMA favoreceu aclimatação de mudas de *A. cherimola* Mill, que apresentaram incremento significativo na ramificação de raízes laterais primárias e na produção de biomassa (Azcón-Aguilar et al., 1994 a, b, 1996). Chu et al. (2001) mencionaram que inoculação de mudas de gravioleiras com FMA eficientes pode aumentar crescimento e absorção de nutrientes, sendo importante estudar FMA nativos, uma vez que a capacidade de a gravioleira crescer em solos ácidos, com baixa fertilidade, pode estar associada ao estabelecimento da associação micorrízica em ambiente natural.

Os objetivos deste trabalho foram avaliar a dependência micorrízica e verificar o efeito da associação com FMA sobre o crescimento de gravioleiras, em solos infestados ou não com *P. coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev & Stekhoven, 1941.

REVISÃO DE LITERATURA

1. *Gravioleira*

A gravioleira é originária das terras baixas da América Tropical, mais especificamente da América Central e dos Vales peruanos, tendo sido introduzida no Brasil pelos portugueses, no século XVI (Braga, 1985).

A gravioleira (*Annona muricata* L.) é considerada a mais tropical das Annonaceae (Magnoliales). Segundo Joly (1998), apenas os gêneros *Annona*, *Rollinia*, *Uvaria* e *Asimina* produzem frutos comestíveis, como a pinha ou fruta-do-conde (*A. squamosa* L.) e a cherimóia (*A. querimoia* Mill.).

A planta tem hábito de crescimento ereto, podendo atingir de 4 a 8 m de altura quando adulta; possui sistema radicular abundante, caule único e ramificação assimétrica. As folhas têm pecíolo curto, são oblongo-lanceoladas ou elípticas, com nervuras pouco evidentes. As flores são perfeitas, hermafroditas, verde-escuras a verde-claras. Geralmente são encontradas em pedúnculos curtos ou diretamente no tronco. O fruto, também chamado coração-de-boi, coração-de-rainha, condessa, jaca-de-pobre, jaca-de-Pará ou araticum manso, é uma baga composta (sincarpo) com peso variando de 0,4 a 10 kg. A casca possui espículas rígidas e coloração verde-escura quando o fruto está imaturo. No período de colheita as espículas ficam carnosas e moles e a casca verde-clara. A polpa é branca sucosa e subácida. A semente tem de 1 a 2 cm, peso aproximadamente 0,60 g, é preta quando retirada do fruto passando a marrom após alguns dias fora dele. Em geral, são encontradas mais de 100 sementes por fruto (Epstein, 1999).

A graviola é importante fonte alimentícia para o homem (Tabela 1); a polpa é consumida ao natural ou usada no preparo de refrescos, tortas e conservas, assim como na fabricação de sucos concentrados, polpas congeladas, néctar, geléias cremes e bebidas (Pinto & Silva, 1994). Além disso, folhas, frutos, sementes e raízes apresentam propriedades medicinais, sendo utilizadas contra nevralgias e reumatismo. A casca do tronco, folhas e sementes contêm alcalóides (anonina e muricana) usados na produção de inseticidas (Oliveira et al., 2001).

Tabela 1. Composição do fruto de graviola e valor nutritivo em 100 g de polpa

Determinações	Valores
Peso médio (Kg)	0,5-10,2
Casca (pericarpo %)	12,5-24,0
Polpa (% comestível)	66,0-84,0
Sementes (%)	3,1-10,0
Sementes (n.º)	81,0-227,0
Água (%)	78,0-85,3
Proteínas (g)	0,9-1,7
Lipídios (g)	0,7
Glicídios (g)	11,5-18,2
Acidez (%)	08-3,0
Açúcar total (%)	10,1-16,1
pH	4,2
Taninos (g)	0,225
Calorias	60,0
Cinza (%)	0,53-0,8
Extrato etéreo	0,20-0,7
Fibra (g)	1,10-2,4
Cálcio (mg)	22,0-41,6
Fósforo (mg)	28,0-78,4
Ferro (mg)	0,6-0,5
Vitamina A (U.I.)	20,0
Vitamina B 1 (mg)	0,4-1,0
Vitamina B 2 (mg)	0,05-0,07
Niacina (mg)	0,9
Vitamina C (mg)	10,5-57,0

Fonte: Oliveira, et al., 2001

Os principais países produtores de graviola em escala comercial são: Venezuela, Colômbia, Porto Rico, Costa Rica, México, Panamá, Jamaica, Cuba, Espanha, Índia, Honduras, Guiana Suriname, Brasil, Peru, Senegal e Cingapura (Oliveira et al., 2001).

O Brasil e a Venezuela vêm se destacando na produção de graviolas, possuindo área de cultivo superior a 1000 ha. No entanto, apesar de ser frutífera promissora, ainda não existe o devido incentivo para ampliação das áreas de cultivo, com problemas fitossanitários e de manejo acarretando baixa produtividade (<http://www.cpac.embrapa.br>, 1999). O desenvolvimento da planta é lento, permanecendo em viveiro em torno de oito meses. Além disso, necessita de elevada adubação para garantir boa produtividade (Oliveira et al., 2001).

Várias pragas atacam folhas, partes do caule, frutos e sementes da gravioleira podendo prejudicar o desenvolvimento e a produção. As principais pragas são a broca-do-fruto, a broca-da-semente e a broca-do-tronco (Tabela 2); as doenças que mais acometem a gravioleira são antracnose ou podridão-negra do fruto, podridão-seca, podridão-parda, podridão-das-raízes, cancro-depressivo ou canrose, mancha-zonada, podridão-de-raízes e de frutos e o declínio-da-gravioleira (<http://www.ceplac.gov.br/graviola.htm>, 2000).

O cultivo de gravioleira em Pernambuco está sendo afetado por uma nova doença, a morte súbita, causada por *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev & Stekhoven, 1941, um nematóide endoparasita migrador, que penetra no hospedeiro por ação mecânica ou enzimática causando aberturas nas raízes lesionadas (Moura et al., 1999). Após a primeira frutificação, a mortalidade dos pomares atacados varia de 30 a 50%. Oliveira et al. (2001) destacaram a importância desta nova doença, que vem causando inúmeros danos à cultura da gravioleira na Região Nordeste.

Tabela 2. Principais pragas e doenças da gravioleira

Pragas	Sintomas
Broca-do-fruto (<i>Cerconata anonella</i>)	Larvas de mariposa atacam frutos perfurando a casca e penetrando na polpa. As larvas destroem a casca e sementes. Os frutos ficam escuros na parte atacada.
Broca-da-semente (<i>Bephratelloides maculicolis</i>)	Larvas de vespa penetram na polpa até atingir as sementes, onde se alojam e completam o desenvolvimento. O adulto percorre o caminho de saída até a casca do fruto, onde faz um orifício de aproximadamente 2 mm de diâmetro. Como consequência a polpa fica completamente danificada reduzindo o valor comercial do fruto. O maior prejuízo ocorre com a queda de frutos jovens perfurados pelo inseto.
Broca-do-tronco (<i>Cratosomus</i> spp.)	A coelobroca deposita ovos em orifícios existentes no tronco. As larvas penetram no interior do tronco, fazendo galerias, afetando o sistema vascular da planta, reduzindo seu crescimento, podendo causar morte. O tronco apresenta exsudação pegajosa escura.
.....	
Doenças	Sintomas
Antracnose ou podridão-negra do fruto (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>)	O fungo infecta folhas, flores e frutos. As folhas apresentam lesões pardas que escurecem. Ocorre elevada queda das folhas, os frutos ficam escurecidos, apresentando rachaduras.
Podridão-seca (<i>Lasiodiplodia theobromae</i>)	Ocorre seca descendente dos ramos mais jovens provocando amarelecimento das folhas que secam e caem.
Podridão-parda (<i>Rhizopus stolonifer</i>)	O fungo ataca os frutos na fase de colheita e pós-colheita. Provoca podridão da polpa e do fruto.

Fonte: Filho et al., (1998)

2. Aspectos Gerais da Associação Micorrízica Arbuscular

Micorrizas são associações mutualistas entre fungos do solo e raízes da maioria das plantas. Nesta associação, o fungo, através da rede hifálica, capta e transfere à planta

hospedeira nutrientes essenciais ao crescimento, enquanto a planta fornece substâncias provenientes da fotossíntese (Smith & Read, 1997).

Considerando a morfoanatomia das raízes colonizadas, as micorrizas são classificadas em ectomicorrizas, ectendomicorrizas e endomicorrizas. As endomicorrizas são divididas em orquidóides, ericóides e arbusculares. Dentre estas, a do tipo arbuscular é a mais comum, ocorrendo vastamente em ecossistemas naturais e agrícolas. Os fungos que constituem essa associação são denominados fungos micorrízicos arbusculares (FMA).

Morton & Benny (1990) agruparam todos os FMA na ordem Glomales (Zygomycotina), constituída por duas subordens (Glomineae e Gigasporinae), três famílias (Glomaceae, Acaulosporaceae e Gigasporaceae) e seis gêneros (*Glomus*, *Sclerocystis*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora* e *Scutellospora*) com aproximadamente 150 espécies. Recentemente, Schußler et al. (2001) propuseram nova classificação para os FMA, colocando-os num filo próprio, Glomeromycota, com uma classe (Glomeromycetes), 4 ordens (Archaeosporales, Paraglomerales, Diversisporales e Glomerales) e sete gêneros (*Glomus*, *Acaulospora*, *Archaeospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora* e *Paraglomus*), que englobam cerca de 160 espécies.

Harley & Smith (1983) relataram que mais de 80% das plantas estabelecem relação com os FMA, incluindo 83% das dicotiledôneas, 74% das monocotiledôneas e a maior parte das gimnospermas. Entretanto, alguns representantes pertencentes às famílias Chenopodiaceae, Amaranthaceae, Caryophyllaceae, Polygonaceae, Brassicaceae, Scrophulariaceae, Commelinaceae, Juncaceae e Cyperaceae usualmente não formam micorrizas (Brundett et al., 1991).

Os FMA não apresentam especificidade hospedeira, mas a capacidade de colonizar e de promover benefícios às plantas diferem de acordo com a combinação endófito-hospedeiro. Existe elevada integração entre os simbioss, com esta inter-relação sendo controlada pelos genomas da planta e do fungo, e modulada pelo ambiente (Siqueira, 1996).

A associação micorrízica promove vários benefícios às plantas, como aumento no crescimento e na produção de matéria seca, maior tolerância a estresses de natureza biótica (pragas e doenças) e abiótica (seca, salinidade, etc.). Além disso, a micorrização acarreta alterações fisiológicas, aumentando a produção de exudados radiculares, e de

compostos secundários, assim como as taxas de respiração, transpiração e fotossíntese (Collozzi-Filho & Balota, 1994).

A principal vantagem da micorrização resulta na melhoria do estado nutricional da planta. Os fungo micorrízicos, pela rede de hifas externas, exploram amplo volume de solo captando nutrientes com baixa mobilidade no solo (Bolan, 1991), principalmente o fósforo (P). Conseqüentemente, o emprego deste fungo na agricultura é importante, pois mudas micorrizadas apresentam maior aporte nutricional e crescimento, com maiores possibilidades de suportar estresses ambientais (Saggin-Junior & Lovato, 1999).

É amplamente reconhecido o efeito positivo da associação micorrízica sobre o crescimento e a produção de biomassa de culturas de interesse agrônômico, como constatado em várias fruteiras, entre as quais: mamoeiros (Trindade et al., 2000), abacateiros (Silveira et al., 2002), macieiras (Locatelli & Lovato, 2002), maracujazeiros (Cavalcante et al., 2001), bananeiras (Yano-Melo et al., 1999), aceroleiras (Costa et al., 2001) e gravioleiras (Chu et al., 2001).

Outros aspectos positivos da micorrização incluem aumento da tolerância dos vegetais em ambientes com metais pesados, elevada salinidade (Trufem, 1999) e patógenos de raiz (Forge et al., 2001). Por trazerem benefícios, os FMA vêm sendo utilizados na recuperação de áreas degradadas (Siqueira, 1996).

3. Dependência Micorrízica

A dependência micorrízica (DM) foi definida por Gerdemann (1975) como "o grau no qual espécies de plantas dependem da condição micotrófica para atingir máximo crescimento ou produtividade em dado nível de fertilidade do solo". O autor ressalta também que a condição micotrófica constitui regra na natureza e não exceção, uma vez que a maioria das plantas vivem associadas a fungos micorrízicos.

A DM é controlada por fatores genéticos inerentes à planta e ao fungo podendo ser afetada pelo ambiente, especialmente pela disponibilidade de fósforo no solo (Declerck et al., 1995).

Segundo Janos (1980), as plantas podem ser agrupadas, de acordo com o grau de micotrofismo, em: 1) **micotróficas obrigatórias** - aquelas que, em seu ambiente natural, não sobrevivem sem micorriza até a maturidade reprodutiva; 2) **micotróficas**

facultativas - aquelas que são beneficiadas pela micorrização, se em condições de baixa fertilidade do solo; porém, quando não micorrizadas, conseguem atingir a maturidade reprodutiva em seu ambiente natural e 3) **não micotróficas** - sobrevivem sem a formação da micorriza até a maturidade reprodutiva. Estas possuem sistema radicular desenvolvido, com ramificações e abundantes pêlos radiculares, além de dispor de mecanismos para facilitar a captação de fósforo (P), como por exemplo, a liberação de ácidos orgânicos.

Menge et al. (1978) sugeriram que a DM pode ser calculada pela relação entre a massa da matéria seca de plantas micorrizadas e não micorrizadas expressa em % ($DM = \frac{\text{massa seca da planta micorrizada}}{\text{massa seca da planta não micorrizada}} \times 100$). Entretanto, esta equação resultou em percentagens bastante altas, como 923% para limoeiro e 723% para laranjeira. A avaliação da DM, segundo os mesmos autores, não pode ser explicada apenas pela concentração de P no solo ou no tecido da planta, mas também deve considerar fatores como presença ou ausência de pêlos radiculares, geometria das raízes, taxa de crescimento da planta, transporte e utilização de P e de outros nutrientes.

Posteriormente, Plenchette et al. (1983) propuseram o termo "dependência micorrízica relativa (DMR)", sendo esta calculada pela diferença entre a massa da matéria seca de plantas micorrizadas e não micorrizadas em relação à massa da matéria seca de plantas micorrizadas ($DMR = \frac{\text{massa da matéria seca das plantas micorrizadas} - \text{massa da matéria seca das plantas não micorrizadas}}{\text{massa da matéria seca das plantas micorrizadas}} \times 100$). Neste cálculo, a DMR pode variar de 0 a 100%, sendo 100% quando a planta é extremamente dependente da condição micotrófica e nula (0%) quando não depende do fungo em determinada condição de fertilidade do solo.

Habte & Manjunath (1991) consideraram que a DM é mais claramente compreendida e pode ser categorizada quando é estabelecido um gradiente de concentração de P no solo. Com base no cálculo da DMR proposto por Plenchette et al. (1983), os autores distinguiram categorias de DM em solo com três concentrações de P (concentração natural: $0,002 \text{ mg.L}^{-1}$, concentração demonstrada como ótima para FMA: $0,02 \text{ mg.L}^{-1}$ e concentração ideal para produzir 95% da máxima produtividade de muitas culturas: $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$). Assim, de acordo com esses gradientes de P, as plantas foram distribuídas em 5 categorias de dependência: 1) **extremamente dependentes** -

espécie com $DM \geq 75\%$ na concentração de $0,02 \text{ mg.L}^{-1}$ e $DM > 0$ na concentração de $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$; 2) **altamente dependentes** - espécies com DM variando de 50% a 75% na concentração de $0,02 \text{ mg.L}^{-1}$ e $DM = 0\%$ na concentração de $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$; 3) **moderadamente dependentes** - espécies com DM variando de 25 a 50% na concentração de $0,02 \text{ mg.L}^{-1}$ e $DM = 0\%$ na concentração de $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$; 4) **marginalmente dependentes** - espécies com $DM < 25\%$ na concentração de $0,02 \text{ mg.L}^{-1}$ e $DM = 0\%$ na concentração de $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ e 5) **plantas independentes** - espécies que não são colonizadas por FMA ou que não respondem à inoculação.

Baylis (1975) havia considerado que a DM é fortemente correlacionada à morfologia do sistema radicular dos vegetais. Plantas com sistema radicular pouco desenvolvido, com raízes grossas e poucos pêlos absorventes seriam mais dependentes do que aquelas com sistema radicular ramificado, apresentando muitos pêlos absorventes. Considerando esta hipótese, Declerk et al. (1995) avaliaram a DM de sete cultivares de bananeiras, assim como a possível relação entre o sistema radicular dos diferentes cultivares e a DM. A morfologia do sistema radicular dos cultivares foi correlacionada com a DM, sendo maior nas plantas com sistema radicular pouco desenvolvido e com poucos pêlos absorventes. No entanto, recentemente, Siqueira & Saggin-Júnior (2001) obtiveram resultados diferenciados; não foi estabelecida correlação positiva entre a DM e o sistema radicular de espécies arbóreas de mata nativa do Brasil. Os autores determinaram que a utilização do índice T' (nível de fósforo acima do qual não há resposta à micorrização), proposto por Janos (1988), é o mais indicado para determinar a dependência micorrízica das plantas em relação às demais propostas, considerando ainda que, através deste índice, pode-se fazer a distinção entre resposta à inoculação com FMA e dependência micorrízica.

O grau de dependência micorrízica de mudas de maracujazeiro amarelo foi influenciado pelo nível de P no solo e pela espécie de FMA associada às plantas, que foram consideradas excessivamente dependentes em solo natural, esterilizado, contendo 4 mg.dm^{-3} , sendo categorizada como dependente facultativa, uma vez que em solo suplementado com P alcançaram bom crescimento na ausência de FMA (Cavalcante et al., 2001).

4. *Nematóides Parasitos de Plantas*

Os nematóides, também conhecidos como vermes redondos, são asquelmintos que vivem em diversos ambientes, sendo encontrados desde os trópicos até as regiões polares, representados por cerca de 15.000 espécies. A maior parte é de vida livre, mas existem muitas formas parasitas de plantas e de animais, incluindo o homem (Ruppert & Barnes, 1996).

Os nematóides parasitos de plantas infectam raízes ou parte aérea, incluindo caule, folhas, flores, frutos e sementes. Dentre estes, os parasitos de raízes são considerados importantes pragas de culturas agrícolas como cafeeiro, mamoeiro, meloeiro, goiabeira e tomateiro (Lordello, 1992).

Os fitonematóides endoparasitos migradores, pertencentes ao gênero *Pratylenchus*, são comumente chamados de "root lesion nematodes" ou nematóides das lesões nas raízes, e junto com os do gênero *Meloidogyne* são considerados os mais importantes em culturas de interesse agrônômico (Agrios, 1988).

Ocorrendo em todo o mundo, parasitam hortícolas, frutíferas, ornamentais e florestais. O principal dano causado pelas espécies de *Pratylenchus* é a formação de lesões na região de crescimento das raízes, que se tornam pouco desenvolvidas, (<http://mgd.nacse.org/hyperSQL/squiggles/nematodes>, 2001). Os principais sintomas observados nas pratilencoses são plantas com sistema radicular reduzido, com manchas escuras, clorose e murcha da parte aérea, assim como desuniformidade entre plantas, desenvolvimento lento e baixa produtividade.

No Brasil, as principais espécies são *Pratylenchus zae* (Graham, 1951), *P. brachyurus* (Godfrey, 1929) e *P. coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev & Stekhoven, 1941. Dentre estas, *P. brachyurus* ataca diversas plantas, incluindo olerícolas, frutíferas, ornamentais e florestais; *P. zae* ocorre freqüentemente em gramíneas, enquanto *P. coffeae* afeta principalmente o cafeeiro, além de bananeiras, citrus, gravioleiras e ornamentais (Agrios, 1988).

O ciclo de vida de *P. coffeae* se completa de 45 a 65 dias, ocorrendo da seguinte forma: ao encontrar um hospedeiro as fêmeas depositam ovos no solo ou no interior de raízes susceptíveis. Dos ovos, eclodem juvenis do segundo estágio (J₂) que, juntamente com os demais estádios (J₃, J₄ e adultos), são considerados infectivos. Tais formas

invadem o sistema radicular por pressão mecânica e enzimática. Enzimas salivares são liberadas pelo estilete e atuam na degradação da parede celular das células do córtex radicular, auxiliando na alimentação do nematóide. Uma vez dentro do hospedeiro, o parasito se locomove no córtex, onde se reproduz e se alimenta. Geralmente se locomove para nova porção sadia e inicia novo processo de infecção, assim como pode migrar para o solo, quando as condições dentro da raiz se tornam desfavoráveis (Agrios, 1988). Como consequência, ocorre necrose do tecido cortical que apresenta manchas escuras, geralmente marrons, e aberturas que servem de porta de entrada para microrganismos patogênicos, principalmente bactérias e fungos.

Hussey & Roncadori (1982) destacaram a importância da interação FMA-nematóide, uma vez que ambos habitam raízes de plantas, embora promovam efeitos diferenciados. Os FMA atuam positivamente, favorecendo o crescimento das plantas, enquanto os nematóides, parasitos obrigatórios, são maléficos e prejudicam o crescimento dos hospedeiros. A interação pode ser avaliada quantificando-se a colonização micorrízica ou esporulação de FMA, bem como o desenvolvimento e a reprodução do nematóide, podendo existir três tipos de interação entre fitonematóides e FMA (Tabela 3).

Tabela 3. Tipos de interações entre fitonematóides e FMA

Tipos de interação	Organismos	Efeito dos organismos
Neutra	FMA	% colonização ou esporulação não sofre alterações; desenvolvimento do nematóide não é afetado.
Positiva	nematóide	Atração, penetração e reprodução não são afetadas.
	FMA	Aumento na % de colonização e na esporulação; Supressão da população de nematóides.
Negativa	nematóide	Atração, penetração desenvolvimento e reprodução são afetados negativamente.
	FMA	Supressão da colonização micorrízica e da esporulação; Redução do benefício da associação micorrízica.
	nematóide	Aumento da atração, penetração, desenvolvimento e reprodução do nematóide.

Fonte: Hussey & Roncadori (1982).

Já foram mencionadas possíveis interações entre nematóides do gênero *Pratylenchus* e FMA. Em trabalho de revisão, Pinochet et al. (1996) observaram que os

resultados obtidos em relação à interação FMA x nematóide são contraditórios, uma vez que, dependendo da combinação FMA x nematóide x hospedeiro, a inoculação com FMA pode conferir ou não tolerância à planta, assim como interferir na reprodução do nematóide e vice-versa.

Alguns resultados em relação ao efeito benéfico da associação micorrízica promovendo maior tolerância a diversas culturas pela supressão da população de nematóides tanto na raiz, quanto no solo, foram divulgados (Tabela 4). Esse efeito pode estar relacionado à melhoria do estado nutricional da planta. Do mesmo modo, o FMA pode promover alterações fisiológicas no hospedeiro, induzindo mudanças hormonais que impedem a penetração do nematóide na raiz. Outros mecanismos de defesa seriam a competição por fotossintatos e a formação de barreiras físicas, consistindo na ocupação de espaços no córtex radicular, impedindo a penetração e o posterior desenvolvimento do nematóide (Hussey & Roncadori, 1982; Franci, 1993; Guillermin et al., 1994; Forge, 2001).

Tabela 4. Influência de interações entre nematóides do gênero *Pratylenchus* e FMA sobre o crescimento de frutíferas

Cultura	FMA	Nematóide	Efeito do FMA sobre o nematóide	Efeito do nematóide sobre o FMA	Efeito da interação sobre o hospedeiro	Referência
Caféiro	<i>Glomus clarum</i>	<i>P. coffeae</i>	+	Nenhum	T	Vaast et al., 1998
	<i>Acaulospora mellea</i>					
Pêra	<i>Glomus mosseae</i>	<i>P. vulnus</i>	+	Nenhum	T	Lopez et al., 1997
	<i>Glomus intraradices</i>					
Ameixa	<i>Glomus mosseae</i> ;	<i>P. coffeae</i>	nenhum	-	T	Pinochet et al., 1998
	<i>Glomus intraradices</i>					
Abacaxizeiro	<i>Glomus</i> sp.	<i>P. brachyurus</i>	+	Nenhum	T	Guillermin et al., 1994
Ameixa	<i>Glomus mosseae</i>	<i>P. vulnus</i>	nenhum	-	T	Camprubi et al., 1993
Cerejeira	<i>Glomus intraradices</i>	<i>P. vulnus</i>	nenhum	-	T	Pinochet et al., 1995
Bananeira	<i>Glomus mosseae</i> ;	<i>P. goodeyi</i>	+	Nenhum	T	Jaizme-Vega & Pinochet, 1998
	<i>Glomus agregatum</i>					
Marmelo	<i>Glomus intraradices</i>	<i>P. vulnus</i>	nenhum	-	T	Calvet et al., 1995
Macieira	<i>Glomus mosseae</i>	<i>P. penetrans</i>	+	-	T	Forge et al., 2001

+ = supressão da reprodução do patógeno; - = redução da colonização micorrízica; ou da esporulação; T= a inoculação com FMA promoveu maior tolerância ao hospedeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 3 Ed. San Diego, California: Academic Press. 1988. 803p.

AZCÓN-AGUILAR, C.; ENCINA, C.L.; AZCON, R.; BAREA, J.M. Effect of arbuscular mycorrhiza on the growth and development of micropropagated *Annona querimola* plants. **Agricultural Science in Finland**, Jokioine, v.3, p.281-287, 1994 (a).

AZCÓN-AGUILAR, C.; ENCINA, C.L.; AZCÓN, R.; BAREA, J.M. Mycotrophy of *Annona-cherimola* and the morphology of its mycorrhizae. **Mycorrhiza**, Berlin, v.4, n.4, p.161-168, 1994 (b).

AZCÓN-AGUILAR, C.; PADILLA, I.G.; ENCINA, C.L.; AZCÓN, R.; BAREA, J.M. Arbuscular mycorrhizal inoculation enhances plant growth and changes root system morphology in micropropagated *Annona querimola* Mill. **Agronomie**, Paris, v.16, p.647-652, 1996.

BAYLIS, G.T.S. **The Magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it**. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B. Endomycorrhizas. London: Academic Press, 1975. p.373-389.

BOLAN, N.S. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. **Plant and Soil**, Dordrecht v.134, p.189-207, 1991.

BOROWICZ, V.A. Do arbuscular mycorrhizal fungi alter plant-pathogen relations? **Ecology**, Illinois, v.82, n.11, p.3057-3068, 2001.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 4 ed. Natal. Editora Universitária da UFRN, 1985. 540p.

BRUNDRETT, M. Mycorrhizas in natural ecosystems. **Advances on Ecological Research**, London, v.21, p.171-313, 1991.

CALVET, C.; PINOCHET, J.; CAMPRUBÍ, A.; FERNADEZ, C. Increased tolerance to the root-lesion nematode *Pratylenchus-vunus* in mycorrhizal micropropagated BA-29 quince rootstock. **Mycorrhiza**, Berlin, v.5, p.253-258, 1995.

CAMPRUBÍ, A.; PINOCHET, J.; CALVET,C.; ESTAUN, V. Effects of the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* and the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on the growth of three plum rootstocks. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.153, p.223-229, 1993.

CAVALCANTE, U.M.T.; MAIA, L.C.; COSTA, C.M.C.; SANTOS V.F. Mycorrhizal dependency of Passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Fruits**, Paris, v.56, n.5, p.317-324, 2001.

CHU, E.Y.; The effect of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on *Euterpia oleraceae* Mart. seedlings. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, p.1019-1924, 1999.

CHU, E.Y.; MÖLLER, M.R.F.; CARVALHO, J.G. Efeito da inoculação micorrízica em mudas de gravioleiras em solos fumigado e não fumigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, p.671-680, 2001.

COLLOZI-FILHO, A.; BALOTA, E.L. Micorrizas arbusculares. In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R.S. (Ed.). **Manual de métodos empregados em estudo de microbiologia agrícola**. Embrapa, Brasília. 1994. p.383-418.

COSTA, C.M.C.; MAIA, L.C.; CAVALCANTE, U.M.T.; NOGUEIRA, R.J.M.C. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de dois genótipos de aceloreira (*Malpighia emarginata* D. C.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.6, p.893-901, 2001.

DECLERCK, S.; PLENCHETTE, C.; STRULLU, D.G. Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.176, p.183-187, 1995.

EPSTEIN, L. Graviola: Aspectos Gerais e Agronômicos. **Bahia Agrícola**, v.3, n.3, p.17-19, 1999.

FILHO, G.C.A.; ANDRADE, O.M.S.; CASTRO, F.A.;SÁ, F.T. **Instruções técnicas para o cultivo da gravioleira**. CNPAT, Fortaleza, Boletim Técnico.n.2, p.1-10, 1998.

FORGE, T.; MUEHLCHEN, A.; HACKENBERG, C.; NEILSEN, G.; VRAIN, T. Effect of preplant inoculation of apple (*Malus domestica* Borkh) with arbuscular mycorrhizal fungi on population growth of the root-lesion nematode, *Pratylenchus penetrans*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.236, p.185-196, 2001.

FRANCI, L.J. Interaction of nematodes with mycorrhizae and mycorrhizal fungi. In: KHAN, M.W. (Ed.). **Nematode Interactions**. London. 1993. p. 203-216.

GERDERMANN, J.W. Vesicular-arbuscular mycorrhizae. In: TORREY, J.G.; CLARKSON, D.T. (Ed.) **The development and function of roots**. Academic Press, London, 1975. p.571-591.

GUILLERMIN, J.P.; GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; MARCHAL, J. **Agricultural Science in Finland**, Jokioinen, v.3: 253-262. 1994.

HABTE, M.; MANJUNATH, A. Categories of vesicular-arbuscular mycorrhizal dependency of host species. **Mycorrhiza**, Berlin, v.1, p.3-12, 1991.

HARLEY, J.L.; SMITH, S.E. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, London. 1983. 605p.

<http://www.cpac.embrapa.br>, 1999. Consultado em agosto 2002.

<http://www.ceplac.gov.br/graviola.htm>, 2000. Consultado em julho 2002.

<http://mgd.nacse.org/hyperSQL/squiggles/nematodes>, 2001. Consultado em setembro 2001.

HUSSEY, R.S.; RONCADORI, R.W. Vesicular-arbuscular mycorrhizae may limit nematode activity and improve plant growth. **Plant Disease**, Georgia, v.66, n.1, p.9-14, 1982.

JAIZME-VEGA, M.C.; PINOCHET, J. Growth response of banana to three mycorrhizal fungi in *Pratylenchus goodeyi* infested soil. **Nematropica**, v.27, n.1, p.69-76, 1998.

JANOS, D.P. Mycorrhiza applications in tropical forestry: are temperate-zone approaches appropriate? In: NG, F.S.P. **Trees and mycorrhiza**. Kuala Lumpur: Forest Research Institute, 1988. p.133-188.

JANOS, D.P. Mycorrhizae influence tropical succession. **Biotropica**, Washington, v.12, n.1, p.56-64, 1980.

JOLY, A.B. **Botânica. Introdução à Taxonomia Vegetal**. 12 Ed. São Paulo: editora, 1998. 803p.

LOCATELLI, L.M.; LOVATO, P.E. Inoculação micorrízica e aclimação de dois porta-enxertos de macieira micropropagados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.37, n.2, p.177-184, 2002.

LOPEZ, A.; PINOCHET, J.; FERNANDEZ, C.; CALVET, C.; CAMPRUBI, A. Growth response of OHF-333 pear rootstock to arbuscular mycorrhizal fungi, phosphorus nutrition and *Pratylenchus vulnus* infection. **Fundamental and Applied Nematology**, Paris, v.20, n.1, p.87-93, 1997.

LORDELLO, L.G.E. **Nematóides das plantas cultivadas**. 8 ed. São Paulo: Gráfica Ltda, 1992.

MENGE, J.A.; JOHNSON, L.V.; PLATT, R.G. Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes. **New Phytologist**, Oxford, v.81, p.553-559, 1978.

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

MOURA, R.M.; GUIMARÃES, L.M.; PEDROSA, E.M.R; ASANO, S. Estudos sobre a origem da morte súbita da gravioleira. **Nematologia Brasileira**, Brasília v.23, p.62-68, 1999.

OLIVEIRA, M.A.S.; PINTO, A.C.Q.; RODRIGUES, A.A.; SILVA, E.M.; ANDRADE, G.A.; ICUMA, I.M.; AGUIAR, J.L.P.; JUNQUEIRA, N.T.V.; ALVES, R.T.; RAMOS, V.H.V. 2001. **Graviola Produção - Aspectos Técnicos**. Brasília: Embrapa 2001, 77p.

PINOCHET, J., CAMPUBRI, A.; CALVET, C.; FERNADEZ, C.; KABANA, R.R. Inducing tolerance to the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* by early mycorrhizal inoculation of micropropagated Myrobalan 29 C plum roostock. **Journal of the American Society Horticultural Science**, v.123, p.342-347, 1998.

PINOCHET, J.; CALVET, C.; CAMPUBRÍ, A.; FERNÁNDEZ C. Interactions between the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* and the mycorrhizal association of *Glomus intraradices* and Santa Lucia 64 cherry roostock. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.170, p.323-329, 1995.

PINOCHET, J.; CALVET, C.; CAMPRUBÍ, A.; FERNÁNDEZ, C. Interactions between migratory endoparasitic nematodes and arbuscular mycorrhizal fungi in perennial crops. A review. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.185, p.183-190, 1996.

PINTO, A.C.Q.; SILVA, E.M. Graviola para exportação: aspectos técnicos da produção. Embrapa, Brasília, 1994, p.11-41.

PLENCHETTE, C.; FORTIN, J.A.; FURLAN, V. Responses of moderate P - fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.70, p.199-209, 1983.

RUPPERT, E.E.; BARNES, R.D.; **Zoologia dos Invertebrados**. 6 ed. São Paulo: Ed. Roca, 1996. 1029p.

SAGGIN-JÚNIOR, O.J.; LOVATO, P.E. Aplicação de micorrizas arbusculares na produção de mudas e plantas micropropagadas In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. (Ed.). **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Lavras. 1999. p.725-773.

SCHUBLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycological Research**, Cambridge, v.195, p.1413-1421, 2001.

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

SIQUEIRA, J.O. Micorrizas e micorrizologia. In: SIQUEIRA, J.O. (Ed.). **Microrganismos de importância agrícola**. Lavras. 1996. p.1-4.

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

SMITH, S.E.; READ, D.J. **Mycorrhizal Symbiosis**. 2 ed. London: Academic Press. 1997. 605p.

TRINDADE, A.V.; SIQUEIRA, J.O.; ALMEIDA, F.P. Eficiência simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares em solo não fumigado, para mamoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, Campinas, v.24, p.505-513, 2000.

TRUFEM, S.F.B. Utilização de zigomicetes em processos biotecnológicos. In: BONONI, V.L.R.; GRANDI, R.A.P. (Ed.). **Zigomicetes, Basidiomicetes e Deuteromicetes. Noções básicas de taxonomia e aplicação biotecnologia**. São Paulo: Instituto de Botânica, Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 1999. p.51-66.

VAAST, P.; CASWELL-CHEN, E.P.; ZASOSKI, R.J. Influences of a root-lesion nematode, *Pratylenchus coffeae* and two arbuscular mycorrhizal fungi, *Acaulospora mellea* and *Glomus clarum* on coffee (*Coffea arabica* L.). **Biology and Fertility of Soils**, New York, v.26, p.130-135, 1998.

YANO-MELO, A.M.; SAGGIN-JÚNIOR, O.J.; LIMA-FILHO, J.M.; MELO, N.F.; MAIA, L.C. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the acclimatization of micropropagated banana plantlets. **Mycorrhiza**, Berlin, v.9, p.119-123, 1999.

ARTIGO 1

DEPENDÊNCIA MICORRÍZICA DE MUDAS DE GRAVIOLEIRAS
(Annona muricata)

Enviado para: Revista Brasileira de Botânica

DEPENDÊNCIA MICORRÍZICA DE MUDAS DE GRAVIOLEIRAS

*(Annona muricata)*¹

JOANA ANGÉLICA CAVALCANTI BRANDÃO²; UIDED MAAZE TIBURCIO
CAVALCANTE³, ADRIANA MAYUMI-YANO MELO⁴, LEONOR COSTA MAIA⁵

¹Parte de Dissertação de Mestrado da 1ª autora. ²Bióloga, mestrado em Biologia de Fungos, Bolsista CNPq. Depto. de Micologia, CCB-Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife-PE. gelibrandão@hotmail.com

³Bióloga, Dra. em Ciências Biológicas. Depto. de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife-PE. umaaze@hotmail.com

⁴Bióloga, Dra. em Ciências Biológicas, Bolsista Recém-Doutor, CNPq, Embrapa Semi-Árido, Petrolina – PE, 56300-970. amymelo17@hotmail.com

⁵Bióloga, PhD em Fitopatologia, Bolsista Pesquisa CNPq. Depto. de Micologia, CCB-UFPE, 50670-420, Recife-PE. leonorcmaia@hotmail.com

MYCORRHIZAL DEPENDENCY OF SOURSOP SEEDLINGS

(Annona muricata)

ABSTRACT- The mycorrhizal dependency of soursop seedlings (*Annona muricata* var. Morada) was evaluated using an experimental design completely at random, in a factorial arrangement of 4 levels of P (1, 5, 10, 20 mg. dm⁻³ in soil) x 5 inoculation treatments (control and inoculated with 200 spores of *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann, *Gigaspora albida* (Schenck & Smith) Becker & Hall, *Acaulospora longula* Spain & Schenck and native AMF from the rhizosphere of soursop), with five replicates. The soil was desinfested and supplemented with superphosphate 15 days before planting. The height of seedlings was evaluated every 30 days and 135 days after inoculation, plants were harvested for analyses of: mass of fresh and dry shoots and roots, leaf area, mycorrhizal colonization and AMF sporulation. In general, increase on P level decreased the mycorrhizal dependency; however, seedlings associated to native AMF were highly dependent of the association, responding to inoculation at all levels of P in the soil. The association with native AMF and *A. longula* promoted significant increase on height, leaf area and production of dry matter of shoots. Conversely, *G. albida* did not promote plant growth.

RESUMO- Avaliou-se a dependência micorrízica de mudas de gravioleiras (*Annona muricata* var. Morada) em experimento com delineamento do tipo inteiramente casualizado em arranjo fatorial de 4 níveis de fósforo no solo (1, 5, 10 e 20 mg. dm⁻³) x 5 tratamentos de inoculação (200 esporos de *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann, *Acaulospora longula* Spain & Schenck, *Gigaspora albida* (Schenck & Smith) Becker & Hall e FMA nativos da rizosfera de gravioleiras e controle sem inoculação), com cinco repetições. O solo foi desinfestado e adubado com superfosfato 15 dias antes do plantio. A cada 30 dias foi avaliada a altura das mudas. Cento e trinta e cinco dias após a inoculação, as plantas foram colhidas, sendo analisadas: massa da matéria fresca e seca da parte aérea e das raízes, área foliar, colonização micorrízica e produção de esporos de FMA. Em geral, o aumento nas doses de P no solo reduziu a dependência à micorrização; no entanto, as mudas foram altamente dependentes, respondendo à inoculação em todos os níveis de P no solo. A associação com fungos nativos e *Acaulospora longula*

promoveu aumento significativo na altura, área foliar e produção de massa da matéria seca da parte aérea das mudas. Por outro lado, *Gigaspora albida* não propiciou respostas de crescimento.

Key words: AMF, phosphorus, plant growth

Introdução

A gravioleira (*Annona muricata* L.), planta da família Annonaceae, é originária da América tropical, tendo sido introduzida no Brasil no século XVI (Braga 1985).

Nos últimos anos, a produção desta frutífera tem recebido destaque na região semi-árida nordestina, devido à qualidade dos frutos, ricos em vitaminas e sais minerais, e usados no preparo de sucos, sorvetes, geléias; além disso, as folhas, frutos, sementes e raízes apresentam propriedades medicinais (Epstein 1999).

A planta é de fácil adaptação às condições do semi-árido, tendo sido introduzida em áreas de irrigação controlada (Pinto & Silva 1994). O Brasil e a Venezuela vêm se destacando na produção de graviolas, com área de cultivo superior a 1000 ha. No entanto, apesar de ser frutífera promissora, ainda não existe o devido incentivo para ampliação das áreas de cultivo. Adicionalmente, a planta apresenta desenvolvimento lento (8 meses em viveiro), necessitando de adubação elevada, em comparação com outras culturas, para garantir boa produtividade (Oliveira *et al.* 2001).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são conhecidos por tornarem os hospedeiros mais tolerantes a estresses de natureza abiótica (seca, salinidade, etc.) e biótica (pragas e doenças). Apresentam ampla distribuição geográfica, com predominância nos trópicos, ocorrendo em ecossistemas naturais e agrícolas. Entre as culturas beneficiadas pela micorrização encontram-se, entre outras: mamoeiro (*Carica papaya* L.) (Trindade *et al.* 2000) abacateiro (*Persia* sp.) (Silveira *et al.* 2002), açaizeiro

(*Euterpe oleracea* Mart.) (Chu 1999) e gravioleira (*Annona muricata* L.) (Chu *et al.* 2001).

A principal contribuição da associação micorrízica resulta na melhoria do estado nutricional do vegetal pelo aumento na absorção de nutrientes com baixa mobilidade no solo, especialmente o fósforo (P). Diversos trabalhos relatam o efeito benéfico da associação micorrízica na absorção de P e na produção de biomassa (Clarck & Zeto 2000, Fries *et al.* 1998, Guissou *et al.* 1998).

Saggin-Junior & Lovato (1999) consideraram que a utilização de FMA na produção de mudas de interesse agrônômico é importante, pois, quando micorrizadas, as mudas apresentam maior aporte nutricional, desenvolvendo-se precocemente, com maiores possibilidades de suportar transplântio para o campo. Para esses autores, a avaliação da dependência micorrízica (DM) é a primeira etapa para decidir sobre a produção de mudas micorrizadas.

A dependência micorrízica (DM) foi definida por Gerdemann (1975) como "o grau no qual espécies de plantas dependem da condição micotrófica para atingir máximo crescimento ou produtividade em dado nível de fertilidade do solo". A DM é controlada por fatores genéticos inerentes ao fungo e ao hospedeiro, sendo afetada pelo ambiente, principalmente pela quantidade de P no solo.

Plenchette *et al.* (1983) propuseram um cálculo para avaliação da DM que é baseado na produção de massa seca de plantas inoculadas e não inoculadas. Apesar de não existirem relatos sobre a dependência micorrízica da gravioleira, Azcón-Aguilar *et al.* (1994) comprovaram que *Annona cherimola* Mill., planta do mesmo gênero, é micotrófica. A inoculação com FMA favoreceu a aclimação de mudas dessa planta em

casa-de-vegetação, promovendo incremento significativo na ramificação de raízes laterais primárias e na produção de biomassa (Azcón-Aguilar *et al.* 1994, 1996).

A associação de gravioleiras com FMA eficientes pode promover incremento no crescimento e na absorção de nutrientes, sendo importante estudar os FMA nativos, uma vez que a capacidade de a gravioleira crescer em solos ácidos, com baixa fertilidade, pode estar associada ao estabelecimento da associação micorrízica em ambiente natural (Chu *et al.* 2001).

Este trabalho teve como objetivos avaliar a dependência micorrízica de gravioleiras e o nível de P ideal para estabelecimento da simbiose, e definir FMA eficientes em promover melhor resposta de crescimento.

Material e Métodos

Substrato

Solo franco-argilo-arenoso proveniente de Aldeia, município de Camaragibe PE, desinfestado com Bromex (98% de brometo de metila e 2% de cloropicrina), foi utilizado 15 dias após a aplicação do biocida. O solo, analisado no Laboratório de Análises Agronômicas (Agrolab), apresentou as seguintes características: pH 4,4, 1 mg.dm⁻³ de P, 0,82; 0,51; 0,06; 0,045 e 0,40 Cmolc.dm⁻³ de Ca²⁺, Mg⁺², Na⁺, K⁺ e Al³⁺, respectivamente. Parte do solo foi adubado com superfosfato simples (SS) nas concentrações de 5, 10 e 20 mg de P.dm⁻³ de solo seco, considerando níveis acima e abaixo do recomendado para a cultura, que é 10 mg. dm⁻³ de P no solo (Pinto & Silva 1994).

Material vegetal

Sementes de graviola (*Annona muricata* var. Morada), provenientes de frutos maduros (cedidas pelo pomar comercial Acerolândia, Paudalho/PE), foram embebidas em água destilada autoclavada, por 24 horas, e semeadas em bandejas com 120 células, contendo como substrato vermiculita esterilizada. Regas diárias foram efetuadas após a semeadura.

FMA

Foram utilizados isolados de: *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann (UFPE 06), *Gigaspora albida* Schenck & Smith Becker & Hall (UFPE 02) e *Acaulospora longula* Spain & Schenck (UFPE 21), obtidos a partir de vasos de cultura com solo, tendo painço (*Panicum miliacium* L.) como hospedeiro. Também foram testados fungos nativos da rizosfera de gravioleiras (na forma de solo-inóculo ou suspensão de esporos), entre os quais se encontravam como predominantes as espécies: *Acaulospora scrobiculata*, *A. tuberculata*, *Glomus mosseae*, *G. clarum* e *Scutellospora aurigloba*.

Inoculação

Os vasos foram inoculados com aproximadamente 200 esporos de FMA, após o surgimento das duas primeiras folhas verdadeiras, quando se transplantou as plântulas para recipientes contendo 100g de solo. Após 15 dias, foi realizado novo transplante, desta vez para sacos plásticos contendo 2 Kg de solo, adubado ou não com fósforo.

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi do tipo inteiramente casualizado, em arranjo fatorial de 6×4 , sendo 6 tratamentos de inoculação (não inoculado, inoculado com *G. etunicatum*, *A. longula*, *Gigaspora albida* e FMA nativos como solo-inóculo ou suspensão) e 4 níveis de P (1, 5, 10 e 20 mg.dm⁻³), com cinco repetições, totalizando 120 unidades experimentais.

Avaliação do experimento

A cada trinta dias foi avaliada a altura das mudas e 135 dias após a inoculação as plantas foram colhidas, sendo analisadas massa da matéria fresca e seca da parte aérea, área foliar, colonização micorrízica e produção de esporos de FMA.

A massa da matéria seca foi calculada após secagem das plantas em estufa a 60°C até atingirem peso constante. A área foliar foi avaliada pela metodologia proposta por de Benincasa (1988). A dependência micorrízica em cada nível de P foi calculada pela fórmula: $DM = \text{massa da matéria seca das plantas micorrizadas} - \text{massa da matéria seca das plantas não micorrizadas} / \text{massa da matéria seca das plantas micorrizadas}$, expressa em percentagem (Plenchette *et al.* 1983). Depois de estabelecida a dependência, as plantas foram separadas em categorias, adaptadas de Habte & Manjunath (1991), com base nos níveis de P aqui utilizados: plantas excessivamente dependentes (espécies com $DM > 75\%$), altamente dependentes (50-75%), moderadamente dependentes (25-50%), marginalmente dependentes ($< 25\%$) ou independentes (aquelas que não respondem à micorrização).

As raízes foram diafanizadas pelo método de Koske & Gemma (1989) modificado, que consistiu na diafanização com KOH (10%) por três dias e, em seguida,

com H₂O₂ (10%) por ≅ duas horas; posteriormente foram lavadas em água corrente, mergulhadas em HCl (1%) por três minutos e coradas com azul de Trypan (0,05%) durante a noite. A colonização micorrízica foi estimada pelo método de McGonigle *et al.* (1990), sendo observados no mínimo 200 campos de raízes por repetição. Os esporos foram extraídos do solo por peneiramento em via úmida (Gerdermann & Nicolson 1963) e centrifugação em água e sacarose (40%) (Jenkins 1964), sendo quantificados em estereomicroscópio (40x).

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa Statistica 5.0.

Resultados

A melhor resposta das plantas, em relação à altura, foi obtida pelas que receberam solo-inóculo de FMA nativos; estas plantas começaram, a partir dos 60 dias a diferir significativamente daquelas nos demais tratamentos. *Glomus etunicatum* e *Acaulospora longula* promoveram incremento na altura que diferiu do obtido nos tratamentos com *Gigaspora albida* e controle, que não diferiram entre si 90 dias após a inoculação (Tabela 1).

Tabela 1. Altura de mudas de gravioleiras associadas ou não a FMA, após 135 dias em casa-de-vegetação

Tratamentos	Altura das plantas (cm)					
	Tempo (dias)					
	0	30	60	90	120	135
Não inoculado	9,02a	11,62ab	16,26cd	19,05d	23,08c	24,78c
FMA nativos (solo inóculo)	8,09c	11,66ab	20,89a	29,64a	41,4a	43,58a
FMA nativos (suspensão)	8,91ab	12,12a	18,99b	24,33b	31,57b	32,75b
<i>Glomus etunicatum</i>	8,99a	11,82ab	16,72c	20,86c	30,02b	31,72b
<i>Gigaspora albida</i>	8,88ab	11,08b	15,47d	18,36d	21,91c	23,31c
<i>Acaulospora longula</i>	8,23bc	11,14b	16,52cd	23,83b	30,95b	33,78b

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A adição de doses crescentes de P no solo propiciou aumento na produção de massa seca das mudas de gravioleiras não associadas a FMA; no entanto, não alcançaram o mesmo crescimento das micorrizadas, em alguns tratamentos, sobretudo naquelas com FMA nativos e *A. longula*.

No solo natural sem suplementação de P, a inoculação com FMA nativos promoveu incremento na massa seca das plantas em cerca de 1567,0% (solo-inóculo) e 506,0% (suspensão). No solo com 5 mg.dm⁻³ este aumento na produção de biomassa foi de 881,7%, 854,2% e 824,6% respectivamente, nos tratamentos recebendo FMA nativos em solo-inóculo, em suspensão ou esporos de *A. longula* (Tabela 2).

O aumento nas doses de P no solo não interferiu na massa seca das mudas que receberam solo-inóculo de FMA nativos; estas alcançaram valores similares em todos os níveis, o que sugere que este inoculante pode reduzir a necessidade de adubação com P. A inoculação com *A. longula*, assim como a suplementação com P interferiram positivamente na produção de biomassa das mudas. Entretanto, a associação com *G.*

etunicatum ou *G. albida* não proporcionou aumento significativo em relação ao controle, sendo verificado efeito apenas do P. (Tabela 2). Resultados similares foram obtidos em relação à área foliar, sendo as melhores respostas observadas nas mudas associadas com FMA nativos (solo-inóculo e suspensão) e *Acaulospora longula*. O aumento na área foliar das mudas associadas a *Glomus etunicatum* e a *Gigaspora albida* foi proporcionado pela adição de P no solo, não diferindo do controle sem FMA (Tabela 3).

Tabela 2 – Massa da matéria seca aérea (g) de gravioleiras adubadas com P (1, 5, 10 e 20 mg.dm⁻³), e associadas ou não a FMA, após 135 dias em casa -de -vegetação

Tratamentos	Massa da matéria seca aérea			
	Níveis de P (mg. dm ⁻³)			
	1	5	10	20
Não inoculado	0,428dC	0,756cB	1,696bB	3,438aC
FMA nativos (solo-inóculo)	6,710aA	6,666aA	5,604aA	8,124aA
FMA nativos (suspensão)	2,166bB	6,458aA	3,496abAB	5,930aB
<i>Glomus etunicatum</i>	0,496cC	2,274bcB	4,676aAB	3,798abC
<i>Gigaspora albida</i>	0,438cC	0,966bcB	1,600bB	3,166aC
<i>Acaulospora longula</i>	1,590bBC	6,234aA	6,256aA	6,352aB

Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3 – Área foliar de gravioleiras adubadas com P (1, 5, 10 e 20 mg.dm⁻³), e associadas ou não com FMA, após 135 dias em casa- de- vegetação

Tratamentos	Área foliar (cm ²)			
	Níveis de P (mg. dm ⁻³)			
	1	5	10	20
Não inoculado	25,798 cC	46,402cB	172,14bC	429,91aB
FMA nativos (solo-inóculo)	747,214 aA	751,346aA	604,654aA	733,424aA
FMA nativos (suspensão)	259,724 bB	737,264aA	242,056bBC	631,71aAB
<i>Glomus etunicatum</i>	61,508cBC	202,618bcB	542,222aAB	459,52abB
<i>Gigaspora albida</i>	26,510bC	65,696bB	136,046bC	434,632aB
<i>Acaulospora longula</i>	158,446bBC	659,27aA	640,426aA	705,944aA

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O grau de dependência das plantas variou, com algumas se mostrando altamente dependentes e outras independentes da micorrização para pleno crescimento. Mesmo no nível mais elevado de P, as plantas recebendo solo-inóculo de FMA nativos foram consideradas altamente dependentes da micorrização. No entanto, as que receberam inóculo de FMA nativos ou na forma de suspensão ou esporos de *A. longula* foram mais sensíveis à adição de P no solo, com o grau de dependência diminuindo à medida que os níveis de adubação aumentaram. As mudas associadas a *G. albida* mostraram-se apenas ligeiramente dependentes da micorrização, sendo que no solo com 10 e 20 mg.dm⁻³ não apresentaram dependência. Por outro lado, as mudas associadas a *A. longula* foram altamente dependentes da micorrização até o nível de 10 mg.dm⁻³ no solo.

Tabela 4. Dependência micorrízica de gravioleiras em solos com níveis crescentes de P, 135 dias após a inoculação com FMA

FMA	Dependência micorrízica (%)			
	doses de P (mg.dm ⁻³)			
	1	5	10	20
Nativos (solo-inóculo)	93,62 (E)	88,65 (E)	69,73 (A)	57,68 (A)
Nativos (suspensão)	80,24 (E)	88,29 (E)	52,83 (A)	42,02 (M)
<i>Glomus etunicatum</i>	13,70 (L)	66,75 (A)	63,72 (A)	9,47 (L)
<i>Gigaspora albida</i>	2,28 (L)	21,73 (L)	-6,00 (I)	-8,59 (I)
<i>Alcaulospora longula</i>	73,08 (A)	87,87 (A)	72,89 (A)	45,87 (M)

Grau de dependência: E = Excessivamente; A = Altamente; M = Moderadamente; L = Ligeiramente; I = Independente da micorrização

Em geral, o aumento das doses de P no solo influenciou a produção de esporos de FMA, ocorrendo redução na esporulação de *A. longula*, *G. etunicatum* e FMA nativos, nos tratamentos com 15 e 20 mg .dm⁻³ de P no solo.

Discussão

A dependência micorrízica das mudas de gravioleiras foi influenciada pelas concentrações de P no solo e pelas espécies de FMA associadas. Apesar de ter havido redução no grau de dependência com o aumento nas doses de P no solo, as mudas associadas aos FMA nativos foram consideradas altamente dependentes, mesmo na dose mais elevada de P no solo, indicando a obrigatoriedade do desenvolvimento da simbiose nessa variedade. Por outro lado, as mudas associadas a *G. albida* apresentaram dependência micorrízica nula, não respondendo à inoculação com este isolado de FMA (Tabela 4). Respostas similares foram obtidas por Azcón-Aguilar *et al.* (1994), os quais demonstraram que *A. cherimoia*, espécie do mesmo gênero da gravioleira, é micotrófica obrigatória, sendo verificadas respostas diferenciadas em relação aos isolados testados. Cavalcante *et al.* (2001) comprovaram que o grau de dependência de mudas de

maracujazeiro amarelo é influenciado pelo nível de P no solo e pela espécie de FMA associada às plantas, que se apresentaram como excessivamente dependentes em solo natural, esterilizado, com 4 mg.dm^{-3} de P.

Esses achados reforçam o conceito de que a associação micorrízica é controlada por fatores genéticos inerentes ao fungo e ao hospedeiro, sendo modulada pelas condições ambientais; neste caso a fertilidade do solo, expressa pelos níveis de P (Declerck *et al.* 1995). Contudo, Trindade *et al.* (2000) consideram que a interação FMA x hospedeiro é mais dependente do genótipo da planta, sendo o estado nutricional o principal controlador da simbiose. Assim, a dependência micorrízica pode variar até mesmo entre variedades de uma mesma espécie.

Respostas diferenciadas em relação às espécies de FMA testadas indicam que apesar de não haver especificidade hospedeira, existe certa preferência dos FMA por determinadas espécies vegetais, resultando maior compatibilidade entre os simbioss. Também deve ser considerada a utilização de solo com pH ácido (4,4), condição mais propícia para ação de *A. longula*, que é amplamente distribuída em solos ácidos (Clarck 1997). Isso poderia justificar a maior efetividade deste isolado de FMA, entre os demais exóticos testados, devido à sua capacidade adaptativa em solo com baixo pH.

Avaliando a eficiência simbiótica de FMA sobre mudas de gravioleiras, Chu *et al.* (2001) observaram que esta anonácea é responsiva à inoculação. Os autores verificaram que plantas micorrizadas apresentaram aumento no crescimento e na absorção de nutrientes, principalmente quando associadas à *G. margarita*. Esses resultados contrastam com os obtidos no presente trabalho, visto que mudas inoculadas com *G. albida* apresentaram crescimento similar ao controle sem FMA (Tabelas 1, 2 e 3).

As melhores respostas de crescimento das mudas de *A. muricata* foram obtidas quando o inóculo foi constituído por fungos nativos da rizosfera de gravioleira (Tabelas 1, 2 e 3). Resultados similares foram obtidos por Trindade *et al.* (2000) e Cuenca *et al.* (1990) para as culturas do mamoeiro (*Carica papaya* L.) e do cacau, respectivamente. As plantas com FMA nativos apresentaram maior crescimento e vigor quando comparadas às associadas com isolados exóticos. Esses achados sugerem que os fungos nativos são mais adaptados às condições edáficas locais, facilitando a compatibilidade funcional com o hospedeiro, o que é traduzido por maior incremento no crescimento vegetal.

Apesar dos baixos índices de colonização micorrízica e de não ter havido diferenças entre os tratamentos de inoculação (dados não apresentados), as respostas de crescimento foram diferenciadas. Isso confirma que em algumas combinações FMA-hospedeiro a colonização micorrízica não está correlacionada com o crescimento do vegetal (Bâ *et al.* 2000, Chu *et al.* 2001) e que os benefícios da micorrização podem estar relacionados à maior quantidade de micélio extraradicular.

Resultados mostrando que a densidade de esporos de FMA pode ser influenciada pelas doses de P no solo foram obtidos também por outros pesquisadores, sendo verificado que o P no solo pode interferir na germinação, no desenvolvimento micelial e conseqüentemente na simbiose micorrízica arbuscular (Furlan & Bernier-Cardou 1989, Sylvia & Schenck 1983).

Concluindo, foi observado que dependendo da espécie de FMA e do nível de P no solo, a gravioleira var. Morada é micotrófica obrigatória. Assim, os resultados deste trabalho demonstram que a associação com FMA eficientes pode beneficiar o crescimento, diminuindo o tempo para produção de gravioleiras em solo com baixa

fertilidade. O manejo adequado de FMA nativos na rizosfera desta fruteira pode constituir alternativa viável para a redução de insumos, pela diminuição da necessidade de adubação fosfatada. Por outro lado, a aplicação de determinados isolados exóticos de FMA também pode atuar eficientemente na promoção do crescimento da gravioleira.

Referências

- AZCÓN-AGUILAR, C.; ENCINA, C.L.; AZCON, R.; BAREA, J.M. 1994. Effect of arbuscular mycorrhiza on the growth and development of micropropagated *Annona cherimola* plants. *Agricultural Science in Finland* 3: 281-287.
- AZCÓN-AGUILAR, C.; ENCINA, C.L.; AZCÓN, R.; BAREA, J.M. 1994. Mycotrophy of *Annona-cherimola* and the morphology of its mycorrhizae. *Mycorrhiza* 4:161-168
- AZCÓN-AGUILAR, C.; PADILLA, I.G.; ENCINA, C.L.; AZCON, R.; BAREA, J.M. Arbuscular mycorrhizal inoculation enhances plant growth and changes root system morphology in micropropagated *Annona cherimola* Mill. 1996. *Agronomie* 16: 647-652.
- BÂ, A.M.; PLENCHETTE, C.; DAN THU, P.; DUPONNOIS, R.; GUISSOU, T. 2000. Functional compatibility of two arbuscular mycorrhizae with thirteen fruit trees in Senegal. *Agroforestry Systems* 50: 95-105.
- BENINCASA, M.M.P. 1988. Análise de crescimento de plantas. Funesp: Jaboticabal.
- BRAGA, R. Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. 4 ed. Natal: Editora Universitária da UFRN, 1985. 540p.

- CAMPRUBÍ, A.; PINOCHET, J.; CALVET, C.; ESTAUN, V. 1993. Effects of the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* and the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on the growth of three plum rootstocks. *Plant and Soil* 153: 223-229.
- CAVALCANTE, U.M.T.; MAIA, L.C.; COSTA, C.M.C.; SANTOS V.F. 2001. Mycorrhizal dependency of Passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *Fruits* 56: 317-324.
- CHU, E.Y. 1999. The effect of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on *Euterpia oleraceae* Mart. Seedlings. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 34: 1019-1024.
- CHU, E.Y.; MÖLLER, M.R.F.; CARVALHO, J.G. 2001. Efeito da inoculação micorrízica em mudas de gravioleiras em solos fumigado e não fumigado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 36: 671-680.
- CLARK, R.B. 1997. Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization, and host plant growth and mineral acquisition at low pH. *Plant and Soil* 192: 15-22.
- CLARK, R.B.; ZETO, S.K. 2000. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *Journal of Plant Nutrition* 23: 867-902.
- CUENCA, G.; HERREIRA, R.; MENESES, E. 1990. Effect of VA micorrhiza on the growth of cacao seedlings under nurse conditions in Venezuela. *Plant and Soil* 126: 71-78.
- DECLERCK, S.; PLENCHETTE, C.; STRULLU, D.G. 1995. Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. *Plant and Soil* 176: 183-187.
- EPSTEIN, L. 1999. Graviola: Aspectos Gerais e Agrônômicos. *Bahia Agrícola* 3: 17-19.

- FRIES, L.L.M.; PACOVSKY, R.S.; SAFIR, G.R.; KAMINSKI, J. 1998. Phosphorus effect on phosphatase activity in endomycorrhizal maize. *Physiologia Plantarum* 103:162-171.
- FURLAN, V.; BERNIER-CARDOU, M. 1989. Effect of N, P and K in formation of vesicular-arbuscular mycorrhizae, growth and mineral content of onion. *Plant and Soil* 113: 167-174.
- GERDERMANN, J.W. 1975. Vesicular-arbuscular mycorrhizae. In: *The development and function of roots*. TORREY, J.G.; CLARKSON, D.T. (Ed.). Academic Press, London, p.571-591.
- GERDERMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46: 235-244.
- GUISSOU, T.; BA, A.M.; GUINKO, S.; DUPONNOIS, R.; PLENCHETTE, C. 1998. Rock phosphate and vesicular-arbuscular mycorrhiza effects on growth and mineral nutrition of *Zizyphus mauritiana* Lam. in alkaline soil. *Annales des Sciences Forestieres* 55: 925-931.
- HABTE, M.; MANJUNATH, A. 1991. Categories of vesicular-arbuscular mycorrhizal dependency of host species. *Mycorrhiza* 1: 3-12.
- JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Report* 48: 692.
- KOSKE, R.E.; GEMMA, J.N. 1989. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research* 92: 486-488.

- MCGONIGLE, T.P.; MILLER, M.H.; EVANS, D.G. 1990. A new method wich gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 115: 495-501.
- OLIVEIRA, M.A.S.; PINTO, A.C.Q.; RODRIGUES, A.A.; SILVA, E.M.; ANDRADE, G.A.; ICUMA, I.M.; AGUIAR, J.L.P.; JUNQUEIRA, N.T.V.; ALVES, R.T.; RAMOS, V.H.V. 2001. *Graviola Produção - Aspectos Técnicos*. 1 Ed. Brasília: Embrapa, 2001, 77p.
- PINTO, A.C.Q.; SILVA, E.M. 1994. *Graviola para exportação: aspectos técnicos da produção*. Embrapa, Brasília, 1994, p.11-41.
- PLENCHETTE, C.; FORTIN, J.A.; FURLAN, V. 1983. Responses of moderate P fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. *Plant and Soil* 70: 199-209.
- SAGGIN JÚNIOR, O.J.; LOVATO, P.E. 1999. Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. (Ed.). *Aplicação de micorrizas arbusculares na produção de mudas e plantas micropropagadas*. Lavras. p.725-773.
- SILVEIRA, S.V.; SOUZA, P.V.D.; KOLLER, O.C. 2002. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos de abacateiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37: 303-309.
- SYLVIA, D.M.; SCHENCK, N.C. 1983. Application of superphosphate to mycorrhizal plants stimulates sporulation of phosphorus tolerant vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 95: 655-661.
- TRINDADE, A.V.; SIQUEIRA, J.O.; ALMEIDA, F.P. 2000. Eficiência simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares em solo não fumigado, para mamoeiro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 24: 505-513.

ARTIGO 2

EFEITO DA ASSOCIAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZCOS ARBUSCULARES E GRAVIOLEIRAS (*Annona muricata*) EM SOLO INFESTADO POR *Pratylenchus Coffeae*

Enviado para: Nematologia Brasileira

Efeito da Associação de Fungos Micorrízicos Arbusculares e Gravioleira (*Annona muricata*) em Solo Infestado por *Pratylenchus coffeae**

JOANA ANGÉLICA CAVALCANTI BRANDÃO^{1,4}, UIED MAAZE TIBURCIO
CAVALCANTE²; ELVIRA MARIA RÉGIS PEDROSA³
& LEONOR COSTA MAIA^{1,4}

*Parte da dissertação do primeiro autor, Mestrado em Biologia de Fungos – UFPE
Recife, PE.

¹Departamento de Micologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife-PE. E-mail: angelicabrandao@terra.com.br;
lcm@ufpe.br

²Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Dois Irmãos, 52171-900, Recife-PE. E-mail: umaaze@hotmail.com

³Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife-PE. E-mail: epedrosa@ufrpe.br

⁴Bolsistas CNPq (Pesquisa) e CNPq (Mestrado)

Recebido para publicação em . Aceito em

Resumo - Brandão, J.A.C.; U.M.T. Cavalcante; E.M.R. Pedrosa & L.C. Maia, 2003. Efeito da associação de fungos micorrízicos arbusculares e gravioleira (*Annona muricata*) em solo infestado por *Pratylenchus coffeae*.

Avaliou-se, em casa-de-vegetação, o crescimento de mudas de gravioleira (*Annona muricata*) var. Morada associadas a fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em solo infestado com *Pratylenchus coffeae*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial de 4 (controle não inoculado e inoculação com 200 esporos/ vaso de *Glomus etunicatum*, *Acaulospora longula* e FMA nativos da rizosfera de gravioleira) × 2 (inoculado ou não com *P. coffeae*) e cinco repetições. Noventa dias após a inoculação com FMA, procedeu-se a infestação do solo com aproximadamente 3200 nematóides/vaso de 2 kg; após 60 dias as mudas foram colhidas, sendo analisadas: massa fresca e seca da parte aérea, massa fresca das raízes, colonização micorrízica, produção de esporos de FMA e população de nematóides no solo e raízes. O crescimento das mudas não foi prejudicado pela infestação do solo com *P. coffeae*. De modo geral, em solo sem nematóides mudas com FMA apresentaram aumento significativo na altura e produção de massa vegetal. Em presença dos nematóides, os FMA nativos destacaram-se pelo incremento nas respostas de crescimento das mudas, quando comparadas ao controle. Do mesmo modo, a colonização micorrízica não foi afetada pelos nematóides e a produção de esporos de FMA foi, em alguns casos, incrementada na presença do patógeno. A micorrização não suprimiu a reprodução do patógeno no solo e nas raízes.

Palavras chave: *Acaulospora longula*, Annonaceae, fitonematóides, FMA nativos, *Glomus etunicatum*, micorrizas, nematóide das lesões.

Summary - Brandão, J.A.C.; U.M.T. Cavalcante; E.M.R. Pedrosa & L.C. Maia, 2003. Association effects between arbuscular mycorrhizal fungi and soursop (*Annona muricata*) in soil infested with *Pratylenchus coffeae*.

The effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on growth of soursop seedling var. Morada in soil infested with nematodes was evaluated under greenhouse conditions. The experiment was in a completely randomized design with a factorial of 5 inoculation treatments (control without AMF, and inoculation with 200 spores/pot of *Glomus etunicatum*, *Acaulospora longula*, *Gigaspora albida*, and AMF indigenous in the rhizosphere of soursop) × 2 treatments of infestation (infected or not with *Pratylenchus coffeae*), with five replicates. The soil was infested with 3200 nematodes 90 days after inoculation with the AMF. Sixty days after that, plants were harvested for evaluation of: height, fresh mass of root, fresh and dry matter of shoot, root colonization, AMF spores density and number of nematodes in the roots and in the soil. The growth of soursop seedlings was not affected by the presence of nematodes. In general, in the treatments without nematodes, the seedlings associated to AMF presented significant increase on height and root and shoot mass. In presence of the pathogen, the native AMF induced growth increase, when compared to the control. Mycorrhization did not inhibited reproduction of the AMF pathogen, in both soil and roots. In the same way, colonization was not affected by the nematodes and sporulation of AMF was, in some cases, increased by presence of the pathogen.

Key words: *Acaulospora longula*, AMF indigenous, Annonaceae, *Glomus etunicatum*, lesion nematode, mycorrhiza, plant-parasitic nematoides.

Introdução

Os nematóides endoparasitos migradores, pertencentes ao gênero *Pratylenchus*, são comumente chamados de "root lesion nematodes" ou nematóides das lesões nas raízes, sendo considerados importantes pragas de culturas de interesse (<http://mgd.nacse.org/hyperSQL/squiggles/nematodes>, 2001). O principal dano causado pelas espécies de *Pratylenchus* é a formação de lesões na região de crescimento das raízes, que se tornam pouco desenvolvidas, apresentando manchas escuras características (Agrios, 1988). No Brasil, as principais espécies são *Pratylenchus zeae* (Graham, 1951), *P. brachyurus* (Godfrey, 1929) e *P. coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev & Stekhoven, 1941. Entre as culturas atacadas por *P. coffeae*, estão incluídas as do cafeeiro (*Coffea arabica* L.), bananeira (*Musa* spp.), citros (*Citrus* spp.) e Anonáceas (*Annona* spp.) (Lordello, 1992).

Nos últimos anos, a produção de graviola tem recebido destaque no Brasil, embora a planta apresente desenvolvimento lento, sendo mantida em viveiro por oito meses (Oliveira *et al.*, 2001). Além do longo período para produção de mudas, problemas fitossanitários e de manejo acarretam baixa produção nas áreas cultivadas (<http://www.cpac.embrapa.br>, 1999).

O cultivo de gravioleira em Pernambuco está sendo afetado por uma nova doença, a morte súbita, causada por *P. coffeae*. Após a primeira frutificação, a mortalidade dos pomares atacados varia de 30% a 50% (Moura *et al.*, 1999). Oliveira *et al.* (2001) destacaram a importância desta doença, que vem causando inúmeros danos à cultura da gravioleira na região nordestina.

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são organismos que vivem no solo e se associam a raízes de plantas, formando simbiose do tipo mutualista conhecida como

micorriza. Esta associação proporciona vários benefícios ao vegetal, como favorecimento na absorção de nutrientes com baixa mobilidade no solo (fósforo, zinco, etc.), aumento na produção de biomassa e tolerância a estresses ambientais de natureza biótica e abiótica (Siqueira, 1996).

Os FMA estão amplamente distribuídos na natureza, sendo encontrados em ecossistemas naturais e agrícolas. Gerdemann (1975) destaca que a condição micotrófica constitui regra na natureza e não exceção, uma vez que a maioria das plantas encontram-se associadas com FMA. Esses fungos podem ser empregados como agentes biocontroladores de doenças e pragas (Lindermann, 2000). Em solos com baixos teores de P, a inoculação prévia com FMA pode conferir maior proteção contra nematóides causadores de lesões no sistema radicular das plantas, pela melhoria no estado nutricional e supressão da reprodução do patógeno (Vaast *et al.*, 1998; Habte *et al.*, 1999; Elsen *et al.*, 2001; Calvet *et al.*, 2001).

Tem sido mencionado o efeito benéfico da associação micorrízica sobre o crescimento de mudas de anonáceas. Azcón-Aguilar *et al.* (1994; 1996) verificaram que mudas de *Annona cherimola* Mill. micorrizadas apresentaram incremento significativo na ramificação de raízes laterais primárias e na produção de biomassa. Recentemente, Chu *et al.* (2001) mencionaram que a associação de mudas de gravioleiras com FMA eficientes promoveu aumento no crescimento e na absorção de nutrientes.

É possível que a utilização de FMA possa constituir alternativa para aumentar a tolerância e conseqüentemente a produtividade da gravioleira, assim como reduzir gastos com nematicidas e fertilizantes, no caso do plantio em solos contaminados por nematóides. O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento de mudas de gravioleiras micorrizadas em solo infestado com *P. coffeae*.

Material e Métodos

Substrato

Solo franco-argilo-arenoso proveniente de Aldeia, município de Camaragibe, PE, desinfestado com Bromex (98% de brometo de metila e 2% de cloropicrina), foi utilizado 15 dias após aplicação do biocida. O solo, analisado no Laboratório de Análises Agronômicas (Agrolab), apresentou as seguintes características: pH 4,4, 1 mg.dm⁻³ de P, 0,82; 0,51; 0,06; 0,045 e 0,40 Cmol_c.dm⁻³ de Ca²⁺, Mg⁺², Na⁺, K⁺ e Al³⁺, respectivamente. A adubação com superfosfato simples (SS) na concentração de 10 mg de P.dm⁻³ de solo seco, foi realizada conforme recomendação para a cultura.

Material vegetal

Sementes de gravioleiras var. Morada, provenientes de frutos maduros cedidos pela Acerolândia (pomar comercial, município de Paudalho/PE) foram embebidas em água destilada autoclavada por 24 horas, para quebra de dormência e semeadas em bandejas com células, contendo como substrato vermiculita autoclavada. Regas diárias foram efetuadas após a semeadura.

Obtenção e inoculação com FMA

Foram testados isolados de *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann (UFPE 06) e *Acaulospora longula* Spain & Schenck (UFPE 21), obtidos a partir de vasos de cultura com solo, tendo painço (*Panicum miliacium* L.) como hospedeiro. Além destes, foram usados FMA nativos, encontrados na rizosfera de gravioleiras, entre os quais foram identificados: *Acaulospora scrobiculata* Trappe, *A. tuberculata* Janos & Trappe, *G.*

mosseae (Nicolson & Gerdemann) Gerdemann & Trappe, *G. clarum* Nicolson & Schenck e *Scutellospora auriglobosa* (Hall) Walker & Sanders.

Após o surgimento das duas primeiras folhas verdadeiras, procedeu-se à inoculação com cerca de 200 esporos de FMA isoladamente ou na forma de solo-inóculo, aplicados sobre as raízes de gravioleiras no momento do transplântio para recipientes contendo 100g de solo. Após 15 dias, essas plântulas foram transferidas para sacos plásticos pretos, contendo 2 Kg do solo adubado com SS.

Obtenção e inoculação com Pratylenchus coffeae

O inóculo de *P. coffeae* consistiu de juvenis e adultos obtidos de túberas de inhame adquiridas na Ceagepe, Unidade Ceasa-PE. Os nematóides foram extraídos pela trituração, por 20 segundos, de cascas de inhame, em liquidificador. O material foi processado segundo Jenkins (1964).

O solo foi infestado com *P. coffeae* 90 dias após a inoculação com FMA. Em cada recipiente foram colocados 4 mL da suspensão, contendo aproximadamente 3200 juvenis e adultos, em quatro orifícios localizados a \cong 4cm de distância do caule. As mudas que representavam o controle receberam 4 mL de água destilada.

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi do tipo inteiramente casualizado em arranjo fatorial de 4×2 , sendo: 4 tratamentos de inoculação com FMA (controle não inoculado, inoculado com *G. etunicatum*, *A. longula* e FMA nativos) \times 2 tratamentos de inoculação com nematóides (com ou sem *P. coffeae*), com cinco repetições, totalizando 40 unidades experimentais.

Avaliação do experimento

Sessenta dias após a infestação do solo com nematóides, as mudas foram colhidas, sendo analisadas: massa fresca e seca da parte aérea, massa fresca das raízes, colonização micorrízica, produção de esporos de FMA e população de nematóides no solo e nas raízes.

A massa seca foi calculada após secagem das plantas em estufa a 60 °C. As raízes foram diafanizadas e coradas pelo método de Koske & Gemma (1989), modificado, que consistiu na diafanização com KOH (10%) por três dias e em seguida com H₂O₂ (10%) por \cong 2 horas. Posteriormente as raízes foram lavadas em água corrente, mergulhadas em HCl (1%) por três minutos e coradas com azul de Tripiano em lactoglicerol (0,05%), durante a noite. A colonização micorrízica foi estimada pelo método de interseção dos quadrantes (Giovannetti & Mosse, 1980). Os esporos de FMA foram extraídos do solo por peneiramento em via úmida (Gerdemann & Nicolson, 1963) e centrifugação em água e sacarose (Jenkins, 1964), e quantificados em estereomicroscópio (40 \times). A extração dos nematóides na raiz foi realizada pela técnica da maceração de tecidos em liqüidificador (20 seg.) e posterior centrifugação (Jenkins, 1964).

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan ($P \leq 0.05$), utilizando-se o programa Estat. Para a análise, os dados de esporulação e número de nematóides na raiz e no solo foram transformados em $\log (\times + 1)$, enquanto os valores de percentagem de colonização foram transformados em Arcoseno $\sqrt{\times/100}$.

Resultados

De modo geral as mudas foram beneficiadas pela micorrização, apresentando produção de massa vegetal radicular e aérea superior ao registrado no controle (Figura 1). Melhores respostas foram observadas nas mudas associadas aos FMA nativos, que apresentaram aumento significativo na massa fresca da raiz e parte aérea e massa seca da parte aérea, independentemente da inoculação com *P. coffeae* (Figura 1). Do mesmo modo, a altura das mudas associadas aos FMA nativos e *G. etunicatum* foi significativamente maior em relação aos demais FMA. Nas mudas inoculadas com *P. coffeae*, independentemente da inoculação micorrízica, ocorreu diminuição na altura das mudas (Figura 2).

Houve interação entre a produção de esporos de FMA e a presença de *P. coffeae* (Tabela 1). Os FMA reagiram diferentemente à presença do patógeno (Tabela 2). A esporulação de *A. longula* e de *G. etunicatum* foi estimulada, enquanto a dos FMA nativos diminuiu. (Tabela 2). Por outro lado, a colonização micorrízica não foi influenciada por *P. coffeae*, embora tenha diferido entre os fungos inoculados, sendo maior nas mudas associadas a *A. longula* (Figura 3).

A micorrização também não suprimiu os nematóides na raiz. Por outro lado houve interação entre número de nematóides no solo e FMA (Tabela 1). Na presença dos FMA nativos na rizosfera de gravioleiras ocorreu aumento no número de nematóides no solo (Tabela 2).

Discussão

Estudando a origem da morte súbita em gravioleiras var. Morada, Moura *et al.* (1996, 1998) comprovaram que esta doença surgiu a partir do plantio de mudas em solo

contaminado por *P. coffeae* anteriormente destinado ao cultivo de Inhame da Costa, tubérculo altamente susceptível ao ataque deste patógeno. Na maioria dos casos, a morte súbita ocorreu após a primeira frutificação da gravioleira, ocasionando perdas de 30% a 50% no pomar (Moura *et al.*, 1999). Esses autores mencionaram que em casa-de-vegetação, mudas inoculadas com *P. coffeae* apresentaram redução na altura, número de folhas e produção de massa fresca aérea e radicular, quando comparadas à testemunha, 130 dias após a inoculação com nematóides. No presente trabalho, os nematóides não chegaram a comprometer o crescimento das mudas, pelo menos 60 dias após a infestação (Figura 1). É possível que a população de *P. coffeae* utilizada tivesse baixa capacidade infectiva, considerando que se inoculou elevada quantidade de indivíduos, sendo necessário maior tempo de contato entre o patógeno com a gravioleira para aumento da agressividade.

Embora os FMA não tenham suprimido significativamente a reprodução de *P. coffeae* na rizosfera da gravioleira, quando da colheita do experimento se observou, nos tratamentos com micorriza, menor incidência de lesões corticais radiculares, sintomas típicos de pratilencose (Lordello, 1992).

De acordo com Hussey & Roncadori (1982), a interação FMA × nematóide, representada pela resposta do hospedeiro, pode ser neutra, positiva ou nula. Neste trabalho, apesar de ter havido diminuição na esporulação de FMA nativos e aumento substancial na de *G. etunicatum*, em presença do patógeno, a interação pode ser considerada nula, uma vez que de maneira geral não interferiu no desenvolvimento do hospedeiro, embora tenha interferido na reprodução do nematóide (Tabelas 1 e 2). Resultados similares foram obtidos por outros autores (Camprubí *et al.*, 1993; Calvet *et al.*, 1995; Pinochet *et al.*, 1998), os quais observaram que a interação *Pratylenchus* ×

FMA não afetou o crescimento das plantas estudadas. No entanto, em outras combinações FMA × nematóide × hospedeiro os resultados da interação diferiram (Lopez *et al.*, 1997; Vaast *et al.*, 1998; Forge *et al.*, 2001), ocorrendo supressão na reprodução do patógeno e aumento na tolerância da planta aos efeitos do nematóide.

A esporulação dos FMA nativos e de *G. etunicatum* foi influenciada diferentemente por *P. coffeae*, sendo reduzida no primeiro, e aumentada no segundo caso. (Tabela 1). Possivelmente a ocupação do córtex radicular pelo patógeno interferiu na reprodução dos FMA nativos. Por outro lado, a competição parece ter estimulado a esporulação de *G. etunicatum*, visto que os fungos podem aumentar a produção de esporos sob condições de estresse (Griffin, 1994).

A micorrização não suprimiu o primeiro ciclo de reprodução de *P. coffeae* nas raízes e no solo, como também observado por outros autores (Camprubí *et al.*, 1993; Cavelt *et al.*, 1995; Pinochet *et al.*, 1998). Tem sido verificado que dependendo da combinação FMA, nematóide e hospedeiro, a presença de FMA pode conferir tolerância à planta, assim como interferir na reprodução do nematóide e vice-versa (Pinochet *et al.*, 1996). Assim, experimentações de longo prazo e em condições de campo são necessárias para elucidar melhor a interação de gravioleiras micorrizadas com *Pratylenchus coffeae*.

Agradecimentos

Ao Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro e a Manoel Bandeira Albuquerque (UFRPE), pelas análises estatísticas e ajuda na elaboração dos gráficos.

Literatura Citada

- AGRIOS, G.N. 1988. Plant Pathology. Academic Press, Califórnia,. 803p.
- AZCÓN-AGUILAR, C.; C.L. ENCINA; R. AZCON & J.M. BAREA. 1994. Effect of arbuscular mycorrhiza on the growth and development of micropropagated *Annona cherimola* plants. Agricultural Science in Finland 3(3): 281-287.
- AZCÓN-AGUILAR, C.; I.G. PADILLA; C.L. ENCINA; R. AZCON & J.M. BAREA. 1996. Arbuscular mycorrhizal inoculation enhances plant growth and changes root system morphology in micropropagated *Annona cherimola* Mill. Agronomie 16(10): 647-652.
- CALVET, C.; J. PINOCHET; A. CAMPRUBÍ & C. FERNADEZ. 1995. Increased tolerance to the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* in mycorrhizal micropropagated BA-29 quince rootstock. Mycorrhiza 5: 253-258.
- CALVET, C.; J. PINOCHET; A. HERNANDEZ-DORREGO; V. ESTAUN; A. CAMPRUBÍ. 2001. Field microplot performance of the peach-almond hybrid GF-677 after inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi in a replant soil infested with root-knot nematodes. Mycorrhiza 10(6): 295-300.
- CAMPRUBÍ, C.; J. PINOCHET; C. CALVET; V. ESTAUN. 1993. Effects of the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* and the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on growth of three plum rootstocks. Plant and Soil 153:223-229.
- CHU, E.Y.; M.R.F. MÖLLER & J.G. CARVALHO. 2001. Efeito da inoculação micorrízica em mudas de gravioleiras em solos fumigado e não fumigado. Pesquisa Agropecuária Brasileira 36: 671-680.

- ELSEN, A.; S. DECLERCK & D. DE WAELE. 2001. Effect of *Glomus intraradices* on the reproduction of burrowing nematode (*Radopholus similis*) in diaxenic culture. *Mycorrhiza* 11(1): 49-51.
- FORGE, T.; A. MUEHLCHEN; C. HACKENBERG; G. NEILSEN & T. VRAIN. 2001. Effect of preplant inoculation of apple (*Malus domestica* Borkh.) with arbuscular mycorrhizal fungi on population growth of the root-lesion nematode, *Pratylenchus penetrans*. *Plant and Soil* 236: 185-196.
- GERDEMANN, J.W. 1975. Vesicular-arbuscular mycorrhizae. In: TORREY, J.G. & D.T. CLARKSON (ed.). *The development and function of roots*. Academic Press, London. p.571-591.
- GERDEMANN, J.W. & T.H. NICOLSON. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46: 235-244.
- GIOVANNETTI, M. & B. MOSSE. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection roots. *New Phytologist* 84: 489-500.
- GRIFFIN, D.H. 1994. *Fungal Physiology*. Wiley-Liss, New York, 458p.
- HABTE, M.; Y.C. ZHANG & D.P. SCHMITT. 1999. Effectiveness of *Glomus* species in protecting white clover against nematode damage. *Canadian Journal of Botany*, 77(1): 135-139.
- <http://www.cpac.embrapa.br>, 1999. Consultado em agosto 2002.
- <http://mgd.nacse.org/hyperSQL/squiggles/nematodes>, 2001. Consultado em setembro 2001.
- HUSSEY, R.S. & R.W. RONCADORI. 1982. Vesicular-Arbuscular mycorrhizae may limit nematode activity and improve plant growth. *Plant Disease*:66(1): 9-14.

- JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Report* 48: 692.
- KOSKE, R.E. & J.N. GEMMA. 1989. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research* 92: 486-488.
- LINDERMAN, R.G. 2000. Effect of mycorrhizas on plant tolerance to diseases. In: KAPULNIK, Y. & D.D. DOUDS Jr. (ed). *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function..* Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, p. 345-365.
- LOPEZ, A.; J. PINOCHET; C. FERNANDEZ; C. CALVET & A. CAMPRUBÍ. 1997. Growth response of OHF-333 pear rootstock to arbuscular mycorrhizal fungi, phosphorus nutrition and *Pratylenchus vulnus* infection. *Fundamental and Applied Nematology* 20(1): 87-93.
- LORDELLO, L.G.E. 1992. *Nematóides das plantas cultivadas*. Nobel, São Paulo, 314p.
- MOURA, R.M.; E.M.R. PEDROSA & A.R. MONTEIRO. 1996. Morte súbita, uma nova doença da gravioleira (*Annona muricata*) causada pelo nematóide *Pratylenchus coffeae*. *Fitopatologia Brasileira* 21: 416, Resumo.
- MOURA, R.M.; E.M.R. PEDROSA; R.V. LIRA; M. MENEZES; F.C.O. FREIRE & J.R. CARDOSO. 1998. A etiologia da morte súbita da gravioleira (*Annona muricata*). *Fitopatologia Brasileira* 23: 173-175.
- MOURA, R.M.; L.M. GUIMARÃES; E.M.R. PEDROSA & S. ASANO. 1999. Estudos sobre a origem da morte súbita da gravioleira. *Nematologia Brasileira* 23(2): 62-68.
- OLIVEIRA, M.A.S.; A.C.Q. PINTO; A.A. RODRIGUES; E.M. SILVA; G.A. ANDRADE; I.M. ICUMA; J.L.P. AGUIAR; N.T.V. JUNQUEIRA; R.T. ALVES

& V.H.V. RAMOS. 2001. Graviola Produção - Aspectos Técnicos. 1 Ed. Brasília: Embrapa, 77p.

PINOCHET, J.; C. CALVET; A. CAMPRUBÍ & C. FERNÁNDEZ. 1996. Interactions between migratory endoparasitic nematodes and arbuscular mycorrhizal fungi in perennial crops. A review. *Plant and Soil* 185: 183-190.

PINOCHET, J.; A. CAMPUBRÍ; C. CALVET; C. FERNADEZ & R.R. KABANA. 1998. Inducing tolerance to the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* by early mycorrhizal inoculation of micropropagated Myrobalan 29 C plum roostock. *Journal of the American Society Horticultural Science* 123: 342-347.

SIQUEIRA, J.O. 1996. Micorrizas e micorrizologia. In: SIQUEIRA, J.O. (ed). *Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas*. Universidade Federal de Lavras, Lavras p.1-4.

VAAST, P.; E.P. CASWELL-CHEN & R.J. ZASOSKI. 1998. Influences of a root-lesion nematode, *Pratylenchus coffeae* and two arbuscular mycorrhizal fungi, *Acaulospora mellea* and *Glomus clarum* on coffee (*Coffea arabica* L.). *Biology and Fertility of Soils* 26(2): 130-135.

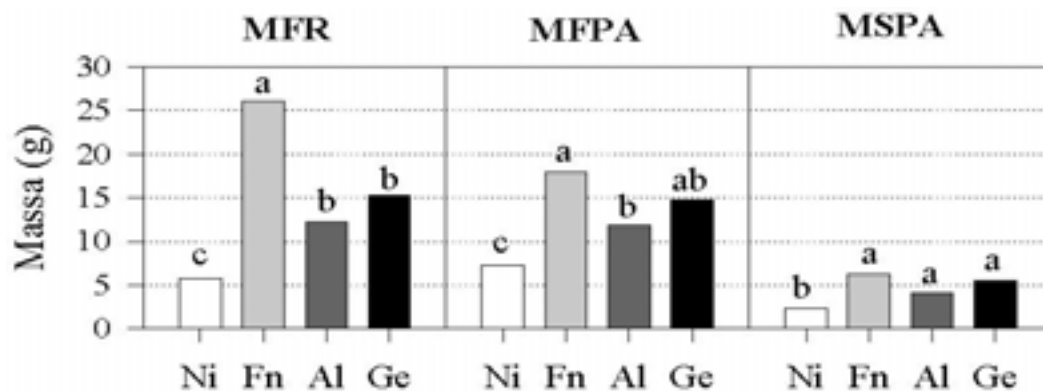


Figura 1. Massa fresca das raízes (MFR) e massa fresca (MFPA) e seca da parte aérea (MSPA) de mudas de gravioleiras associadas ou não a FMA, independentemente da inoculação com *Pratylenchus coffeae*, após 60 dias. Ni= não inoculado; Fn=fungos nativos; Al=*Acaulospora longula*; Ge=*Glomus etunicatum*. Barras com as mesmas letras não diferem pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

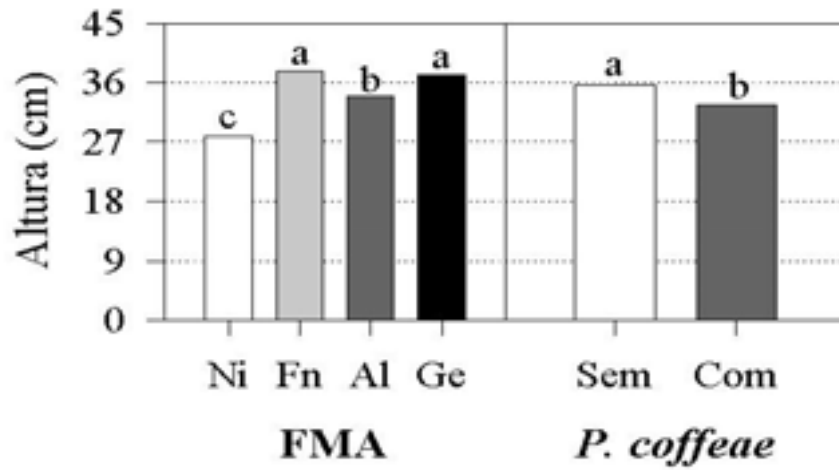


Figura 2. Altura de mudas de gravioleiras associadas ou não a FMA, 60 dias após a inoculação com nematóides. Ni=não inoculado; Fn=fungos nativos; Al=*Acaulospora longula*; Ge=*Glomus etunicatum*. Barras com as mesmas letras não diferem pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

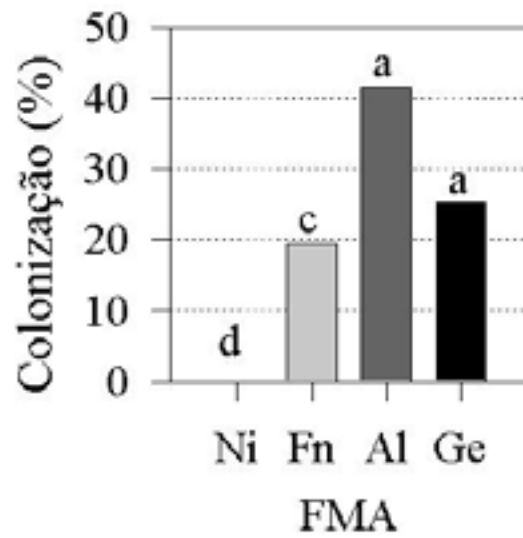


Figura 3. Colonização micorrízica de mudas de gravioleiras, 60 dias após a infestação com *Pratylenchus coffeae*. Ni= não inoculado; Fn=fungos nativos; Al=*Acaulospora longula*; Ge=*Glomus etunicatum*. Barras com as mesmas letras não diferem pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

Tabela 1. Quadro médio da altura, massa fresca das raízes (MFR), massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA), colonização micorrízica (CM), número de esporos de FMA (NE) e número de nematóides no solo (NS) e nas raízes (NR) de gramineleiras

Quadro Médio										
Fonte	Altura	MFR	MFPA	MSPA	CM	NE	NS	NR		
De Variação	(cm)		(g)		(%)	(Nº 100cc ³ solo ⁻¹)			Nº 10g	
Nematóide	48,6**	16,5**	11,0ns	0,1ns	2,4ns	381,00**	557,3**	3257,7**		
FMA	132,5**	328,3**	112,4**	18,4**	2054,5**	5523,3**	50,1**	1,9ns		
Nematóide × FMA	24,62ns	14,6ns	4,1ns	0,1ns	26,9ns	289,0**	50,1**	1,9ns		
Resíduo	9,7	26,3	20,7	2,2	17,9	27,3	4,2	16,6		
Total	23,9	60,5	30,1	4,0	259,0	718,7	52,1	162,6		
CV (%)	9,3	38,7	36,7	34,9	17,2	20,8	32,4	28,4		

* Duncan (P≤0,05)

**Duncan (P≤0,01)

CV (%) = coeficiente de variação

Tabela 2. Número de esporos de FMA e número de nematóides (juvenis e adultos) na rizosfera de gravioleira micorrizada, 60 dias após a infestação com *Pratylenchus coffeae*

Tratamentos de inoculação com FMA	N ⁰ Esporos de FMA (100cc ³ solo ⁻¹)		N ⁰ Nematóides	
	Sem nematóide	Com nematóide	Sem nematóide	Com nematóide
Não inoculado	0,0cA	0,0cA	0aB	45,3bA
FMA nativos	182,0bA	28,5cA	0aB	476,6aA
<i>Acaulospora longula</i>	3083,5aB	5989,0aA	0aB	66,6bA
<i>Glomus etunicatum</i>	279,5bB	1316,0bA	0aB	50,0bA
CV (%)	9,39		20,87	

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula (coluna) e maiúscula (linha) não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$); CV (%) = coeficiente de variação.

CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

Nas condições em que este trabalho foi realizado conclui-se que:

1. Dependendo da espécie de FMA e do nível de P no solo, a gravioleira var. Morada apresenta-se como micotrófica obrigatória.
2. A inoculação com FMA eficientes promove crescimento das mudas em solo ácido, com baixa fertilidade.
4. Dentre os isolados exóticos testados, *Acaulospora longula* é o mais eficiente na promoção do crescimento de gravioleiras.
5. Até 60 dias, a infestação com *Pratylenchus coffeae* não influencia o crescimento de mudas de gravioleiras independentemente da inoculação do solo com FMA.
6. A presença de FMA na rizosfera e em raízes de gravioleiras não suprime a reprodução de *P. coffeae*
7. A infestação do solo com *P. coffeae* influencia a esporulação de FMA.
8. O crescimento de gravioleira é beneficiado pela micorrização, mesmo em solo infestado com *P. coffeae*.