

Notas Científicas

Colonização micorrízica natural de porta-enxertos de citros em campo

Maiara de Souza Nunes⁽¹⁾, Ana Cristina Fermino Soares⁽¹⁾, Walter dos Santos Soares Filho⁽²⁾
e Carlos Alberto da Silva Lêdo⁽²⁾

⁽¹⁾Universidade Federal da Bahia, Escola de Agronomia, Dep. de Fitotecnia, CEP 44380-000 Cruz das Almas, BA. E-mail: maynunes@yahoo.com.br, acsoares@ufba.br ⁽²⁾Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Caixa Postal 007, CEP 44380-000 Cruz das Almas, BA. E-mail: wsoares@cnpmf.embrapa.br, led@cnpmf.embrapa.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar, em campo, a colonização micorrízica de porta-enxertos tradicionais e híbridos de citros, do Programa de Melhoramento Genético de Citros, da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, selecionados como tolerantes à seca. Raízes finas de citros e amostras de solo foram coletadas em duas épocas do ano. A colonização micorrízica foi elevada nos dois pomares amostrados, com variação entre os genótipos e as épocas de avaliação. Todos os porta-enxertos apresentaram porcentagens elevadas de colonização micorrízica, de 42 a 83%, mesmo em condições de alto teor de fósforo no solo.

Termos para indexação: híbridos, fósforo, micorrizas nativas.

Natural mycorrhizal colonization of citrus rootstocks under field conditions

Abstract – The objective of this work was to evaluate the mycorrhizal colonization of citrus rootstocks (traditional and hybrid), in the field, selected as tolerant to water deficit by the Citrus Breeding Program of Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Fine roots and soil samples were collected in two seasons of the year. The mycorrhizal colonization was high in both citrus orchards sampled, and varied among the genotypes and the seasons of the year. All citrus rootstocks presented high percentages of root colonization, varying from 42 to 83%, even in high soil phosphorous conditions.

Index terms: hybrids, phosphorous, native mycorrhiza.

A associação simbiótica entre citros e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) tem sido amplamente estudada em campo e em casa de vegetação (Graham et al., 1997; Melloni & Cardoso, 1999). A cultura de citros é altamente dependente da associação micorrízica, podendo ocorrer a paralisação do crescimento das plantas, quando cultivadas em solo esterilizado, com baixa fertilidade (Menge et al., 1978; Ortas et al., 2002). A dependência micorrízica varia entre os genótipos de citros, espécies fúngicas e em função da fertilidade do solo, principalmente da disponibilidade de fósforo (Peng et al., 1993; Graham & Eissenstat, 1998; Melloni & Cardoso, 1999). Em solo com baixo teor de fósforo, a associação micorrízica favorece o crescimento e a nutrição das plantas. Em solos ricos em fósforo, a simbiose deixa de ser mutualística e torna-se parasítica, em razão do elevado custo de carbono para a manutenção

do fungo na raiz, e o baixo benefício, em termos de absorção de nutrientes. Os citros apresentam taxas altas de colonização micorrízica, mesmo em solos com alto teor de fósforo e, nesse caso, tem sido observado decréscimo no desenvolvimento das plantas, principalmente em genótipos com crescimento lento e baixa dependência micorrízica (Graham & Eissenstat, 1998).

Nos Estados da Bahia e de Sergipe, os pomares de citros apresentam baixa longevidade e se concentram em solos de Tabuleiros Costeiros, que apresentam fatores limitantes à produção agrícola, como baixa disponibilidade de nutrientes, elevada acidez, alta saturação por alumínio e impedimento físico ao crescimento radicular nos horizontes coesos (Rezende, 2000). De modo geral, plantas cultivadas em solos ácidos, distróficos, com níveis tóxicos de Al^{3+} , necessitam de fungos micorrízicos para tolerar tais condições (Lambais & Cardoso, 1988).

A importância das associações micorrízicas no crescimento, na nutrição e na tolerância a estresses bióticos e abióticos dos citros tem sido relatada por diversos autores.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a colonização micorrízica de diferentes porta-enxertos de citros, gerados e selecionados pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros, da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, como potenciais porta-enxertos tolerantes à seca, plantados em campo como pés-francos e enxertados com laranja 'Pera' (*Citrus sinensis* (L.) Osb.).

O trabalho foi conduzido na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, no Município de Cruz das Almas, BA, em áreas do campo experimental do Programa de Melhoramento Genético de Citros, à altitude de 200 m, a 12°40'19"S e 39°6'22"W. O clima da região é do tipo subúmido, na classificação de Thornthwaite, com umidade relativa do ar de 80%, temperatura média anual de 24,2°C e precipitação pluvial média anual de 1.206 mm, com variações entre 1.000 e 1.300 mm.

Raízes finas de citros foram coletadas na projeção da copa das plantas, em pontos escolhidos ao acaso, à profundidade de 0–20 cm, em uma amostra constituída de três subamostras, em novembro de 2002 (período de verão seco) e julho de 2003 (período de inverno chuvoso). A adubação nessas áreas foi realizada em junho de 2002, com superfosfato simples.

As plantas da área experimental 1 tinham aproximadamente dois anos e foram enxertadas com copa de laranja 'Pera' (*Citrus sinensis* (L.) Osb.) e os seguintes porta-enxertos: limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck) (LCR), limoeiro 'Volkameriano' (*Citrus volkameriana* Ten. et Pasq.) (LVK), tangerineira 'Cleópatra' (*Citrus reshni* Hort. ex Tan.) (CLEO), os híbridos LVK x LCR-038, HTR-051 e HTR-127. Cada combinação laranja 'Pera'/porta-enxerto apresentava dez plantas distribuídas ao acaso, no espaçamento de 5x3 m. As plantas da área experimental 2 não fo-

ram enxertadas (pés-francos); tinham aproximadamente um ano, e se constituíam de limoeiro 'Cravo', limoeiro 'Volkameriano', tangerineira 'Sunki Maravilha' (clone nucelar mutante de 'Sunki') e dos híbridos LVK x LCR-010, HTR-010, HTR-051 e HTR-127, distribuídas ao acaso, no espaçamento de 6x4 m, com três plantas de cada porta-enxerto. Os porta-enxertos com abreviação HTR são híbridos trifoliolados, obtidos de cruzamentos de tangerineira 'Cleópatra', limoeiro 'Cravo' e laranja 'Pera', como parentais femininos, e *Poncirus trifoliata*, como parental masculino.

As amostras de raízes foram lavadas e conservadas em álcool etílico diluído a 50% em água destilada. Para avaliação da intensidade de colonização micorrízica, as raízes foram lavadas com água corrente e submetidas ao clareamento por imersão, em solução de 10% KOH a 90°C, por 20 minutos, em banho-maria, seguido de imersão em solução H₂O₂ alcalina (3 mL de NH₄OH a 20%, em 30 mL de H₂O₂ a 3%) por 10 minutos, à temperatura ambiente, e submetidas à posterior coloração com azul de metila a 0,05%, em glicerol ácido (700 mL de glicerol + 250 mL de água destilada + 50 mL de 1% HCl), a 90°C, por 20 minutos. Depois da coloração, as raízes foram preservadas em glicerol ácido. Para cada tratamento, foram preparadas dez lâminas, com dez segmentos de raízes de aproximadamente 1 cm de comprimento, visualizados em microscópio ótico com a objetiva 10X, para observação das estruturas dos FMA. A porcentagem de colonização micorrízica foi calculada com base no número de segmentos de raízes com a presença de estruturas do fungo.

Foram coletadas, adicionalmente, nas áreas 1 e 2, 10 amostras simples de solo para formar uma amostra composta, na profundidade de 0–20 cm, nas duas épocas de coleta, para análise química, conforme metodologia descrita por Silva (1999). As características do solo podem ser observadas na Tabela 1. Os dados de colonização micorrízica foram submetidos à análise

Tabela 1. Características químicas de um Latossolo Amarelo, na profundidade de 0–20 cm, em pomar de citros com plantas enxertadas com laranja 'Pera' (*Citrus sinensis* (L.) Osb.) (área experimental 1) e em pés francos (área experimental 2).

Época	pH (H ₂ O)	P (mg dm ⁻³)	K	Ca	Mg	Ca+Mg	Al				S	CTC	V (%)	MO (g kg ⁻¹)
							(cmol _c dm ⁻³)							
Área experimental 1														
Novembro/2002	5,6	90	0,25	2,0	0,9	2,9	0,1	0,03	2,75	3,18	5,93	54	8,66	
Julho/2003	5,5	12	0,18	2,3	1,2	3,5	0,1	0,05	2,86	3,73	6,59	57	10,10	
Área experimental 2														
Novembro/2002	5,7	100	0,22	3,4	0,9	4,3	0,1	0,07	2,64	4,59	7,23	63	7,32	
Julho/2003	6,5	5	0,22	2,9	0,9	3,8	0,0	0,03	1,43	4,05	5,48	74	9,14	

de variância. Considerando-se o modelo estatístico do delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos para a área 1 e sete tratamentos para a área 2, com dez repetições, foi feita a comparação de médias pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, com o programa SISVAR.

Os porta-enxertos de citros da área 1 apresentaram elevada porcentagem de raízes colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares, com variação de 42 a 83%, em novembro, e de 58 a 83%, em julho (Tabela 2). Na época do verão seco (novembro), o solo apresentou 90 mg kg⁻¹ de P e no inverno chuvoso, 12 mg kg⁻¹ de P (Tabela 1). Na área 2, a colonização micorrízica variou de 34 a 82%, em novembro, em solo com teores altos de fósforo (100 mg kg⁻¹ de P), e de 55 a 77% em julho, época em que o teor de fósforo do solo foi baixo (5 mg kg⁻¹ de P) (Tabela 2). Taxas altas de colonização micorrízica têm sido observadas em pomares de

citros nos Estados da Bahia e de Sergipe, com variação de 60 a 80% (Weber & Oliveira, 1994); na Itália, acima de 80% (Schubert et al., 1993) e na Flórida, de 55 a 90% (Graham & Eissenstat, 1998). Na Figura 1, estão ilustradas as estruturas de fungos micorrízicos nativos, observadas nas raízes do limoeiro 'Volkameriano' e do híbrido HTR-127, em campo.

As taxas de colonização variaram entre os genótipos, com interação entre porta-enxertos e épocas, nas plantas enxertadas com laranjeira 'Pêra' (Tabela 2). De modo geral, a colonização micorrízica foi maior no mês de julho, época em que o solo apresentou baixo teor de fósforo. Os porta-enxertos LVK x LCR-038 e HTR-051 apresentaram redução na colonização, em condições de taxa alta de fósforo no solo, o que não ocorreu com os outros porta-enxertos. No plantio de pés-francos (área 2), a variação na taxa de colonização micorrízica foi significativa apenas com relação aos genótipos, tendo sido mais elevada no limoeiro 'Cravo', limoeiro 'Volkameriano', LVK x LCR-010 e HTR-051 (Tabela 2). A combinação da copa de laranjeira 'Pêra', nas plantas da área 1, pode ter alterado o balanço de carbono na planta e, conseqüentemente, a colonização micorrízica e o benefício dessa associação. A dependência micorrízica varia entre os genótipos de citros (Graham & Eissenstat, 1998; Melloni & Cardoso, 1999), o que pode explicar a variação na colonização micorrízica observada neste estudo, entre os genótipos avaliados no campo.

Plantas de citros apresentam taxas elevadas de colonização, mesmo em solos com altos teores de fósforo. Estudos em que foi utilizado o benomyl, para inibir a colonização micorrízica em plantas de citros, no campo, mostraram que, nessas condições de fertilidade, a associação micorrízica pode se tornar parasítica e como conseqüência, causar um decréscimo no crescimento das plantas (Graham & Eissenstat, 1998). Rocha et al. (1994) não detectaram diferenças expressivas na colonização micorrízica por *Glomus clarum*, *Acaulospora morrowae* e *Glomus etunicatum*, em tangerineira 'Cleópatra', com o aumento da adubação fosfatada.

O híbrido LVK x LCR-010 apresentou taxas elevadas de colonização micorrízica (acima de 60%), semelhante ao LCR e LVK, possivelmente por características herdadas pelo cruzamento (Tabela 2). Essa interação do híbrido LVK x LCR-010 com FMA pode ser importante para a adaptação da planta às condições de estresses bióticos e abióticos.

Tabela 2. Intensidade de colonização (%) de FMA, em raízes de citros enxertados com laranjeira 'Pêra' (*Citrus sinensis* (L.) Osb.), em duas épocas do ano⁽¹⁾.

Porta-enxerto ⁽²⁾	Novembro/2002	Julho/2003
Área experimental 1		
Limoeiro 'Cravo' (<i>C. limonia</i> Osbeck)	83,33a	65,22b
Limoeiro 'Volkameriano' (<i>C. volkameriana</i> Ten. et Pasq.)	59,60b	57,60b
Tangerineira 'Cleópatra' (<i>C. reshni</i> Hort. ex Tan.)	53,56b	60,56b
LVK x LCR-038	42,40b	83,20a
HTR-051	50,25b	83,25a
HTR-127	48,71b	69,14b
Total	56,51B	69,62A
Área experimental 2		
Limoeiro 'Cravo' (<i>C. limonia</i> Osbeck)	58,67a	67,67a
Limoeiro 'Volkameriano' (<i>C. volkameriana</i> Ten. et Pasq.)	81,67a	70,33a
Tang. 'Sunki Maravilha' (clone nucelar mutante 'Sunki')	34,33b	60,67a
LVK x LCR-010	68,67a	61,33a
HTR-010	42,67b	64,67a
HTR-051	71,67a	77,33a
HTR-127	51,33b	55,33a
Total	58,43A	65,33A

⁽¹⁾Médias seguidas pela mesma letra minúscula, nas colunas, para cada área experimental, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade; médias seguidas pela mesma letra maiúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade. ⁽²⁾LVK: Limoeiro 'Volkameriano'; LCR: Limoeiro 'Cravo'; HTR: híbridos trifoliados obtidos de cruzamentos com tangerineira 'Cleópatra', limoeiro 'Cravo' e laranjeira 'Pêra', como parentais femininos, e *Poncirus trifoliata*, como parental masculino.

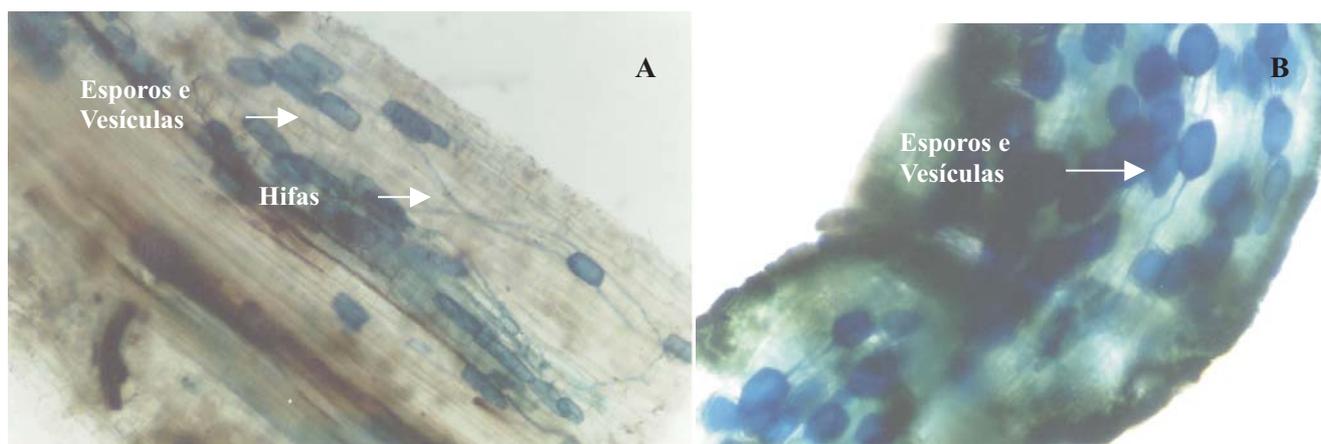


Figura 1. Raiz de citros, híbrido HTR 127 (A) e Limão 'Volkameriano' (B), colonizada por espécies nativas de fungos micorrízicos arbusculares, em pomar de pés-francos oriundos de mudas sem inoculação. Fotomicrografia da raiz, com aumento de 400X, após coloração com azul de metila.

A colonização micorrízica natural de porta-enxertos de citros, no campo, é elevada e varia entre genótipos e épocas de avaliação, mesmo em áreas sob influência da adubação com dosagens altas de fósforo.

Agradecimentos

À Fapesb, pela bolsa de mestrado concedida à primeira autora.

Referências

- GRAHAM, J.H.; DUNCAN, L.W.; EISSENSTAT, D.M. Carbohydrate allocation patterns in citrus genotypes as affected by phosphorus nutrition, mycorrhizal colonization and mycorrhizal dependency. *New Phytologist*, v.135, p.335-343, 1997.
- GRAHAM, J.H.; EISSENSTAT, D.M. Field evidence for carbon cost of citrus mycorrhizas. *New Phytologist*, v.140, p.103-110, 1998.
- LAMBAIS, M.R.; CARDOSO, E.J.B.N. Avaliação da germinação de esporos de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares e da colonização micorrízica de *Stylosanthes guianensis* em solo ácido e distrófico. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.12, p.249-255, 1988.
- MELLONI, R.; CARDOSO, E.J.B.N. Quantificação de micélio extraradicular de fungos micorrízicos arbusculares de plantas cítricas. II. Comparação entre diferentes espécies cítricas e endófitos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.23, p.59-67, 1999.
- MENGE, J.A.; JOHNSON, E.L.V.; PLATT, R.G. Mycorrhizal dependence of several citrus cultivars under three nutrient regimes. *New Phytologist*, v.81, p.553-559, 1978.
- ORTAS, I.; ORTAKCI, D.; KAYA, Z.; CINAR, A.; ONELGE, N. Mycorrhizal dependency of sour orange in relation to phosphorus and zinc nutrition. *Journal of Plant Nutrition*, v.25, p.1263-1279, 2002.
- PENG, S.; EISSENSTAT, D.M.; GRAHAM, J.H.; WILLIAMS, K.; HODGE, N.C. Growth depression in mycorrhizal citrus at high-phosphorus supply (analysis of carbon costs). *Plant Physiology*, v.101, p.1063-1071, 1993.
- REZENDE, J. de O. **Solos coesos dos Tabuleiros Costeiros:** limitações agrícolas e manejo. Salvador: Seagri/SPA, 2000. 117p. (Série estudos agrícolas, 1)
- ROCHA, M.R. da; OLIVEIRA, E. de; CORRÊA, G. de C. Efeitos de doses de fósforo e fungos MVA no crescimento e nutrição mineral da tangerineira 'Cleópatra' (*Citrus reshni* HORT. ex TAN.) em sementeira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.29, p.725-731, 1994.
- SCHUBERT, A.; AIASSA, A.; PALAZZO, D.; VANADIA, S. Occurrence of mycorrhiza in citrus orchards in the metaponto area of basilicata (Italy). *Acta Horticulturae*, v.324, p.61-66, 1993.
- SILVA, F.C. da (Org.). **Manual de análises químicas de solo, plantas e fertilizantes.** Rio de Janeiro: Embrapa-CNPS; Campinas, SP: Embrapa-CNPTIA, 1999. 370p.
- WEBER, O.B.; OLIVEIRA, E. de. Ocorrência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em citros nos Estados da Bahia e Sergipe. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.29, p.1905-1914, 1994.

Recebido em 18 de outubro de 2004 e aprovado em 6 de maio de 2005