

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**ACLIMATIZAÇÃO E INOCULAÇÃO MICORRÍZICA EM
PORTA-ENXERTO DE VIDEIRA PAULSEN 1103**

Acadêmico : Murilo Dalla Costa
Orientador: Paulo Emílio Lovato, Dr.,
Depto. De Engenharia Rural - CCA - UFSC.

Florianópolis, setembro de 1999.

SUMÁRIO

I. INTRODUÇÃO.	2
I.1. Objetivos.	5
II. MATERIAL E MÉTODOS.	5
II.1. Produção de inóculo de FMA.	5
II.2. Aclimatização e inoculação micorrízica em porta-enxertos de videira micropropagados.	6
III. RESULTADOS.	7
III.1. Sobrevivência das plantas durante a aclimatização.	7
III.2. Crescimento da parte aérea das videiras.	9
III.3. Acúmulo de matéria seca da parte aérea (MSA) e de raízes (MSR) e biomassa seca total (BST).	12
III.4. Relação entre massas da matéria seca da parte aérea e de raízes (R/PA).	13
III.5. Taxa de micorrização das raízes de videiras em substrato de aclimatização.	14
III.6. Taxa de micorrização das raízes de videiras em solo de viveiro.	16
IV. DISCUSSÃO.	17
V. CONCLUSÕES.	19
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21

I. INTRODUÇÃO.

A videira (*Vitis spp.*) é uma cultura implantada há muitas décadas em Santa Catarina (Losso, 1994), principalmente nas microrregiões do Vale do Rio do Peixe e Carbonífera, responsáveis por 80 a 90% da produção de uva e vinho do Estado (Gallotti & Schuck, 1991). Nessas microrregiões, o cultivo da videira e a produção de vinho geram uma quantidade expressiva de empregos, tornando-se importantes do ponto de vista sócio-econômico (Gallotti, 1991; Losso, 1994). Entretanto, a área de cultivo da videira no Estado de Santa Catarina está em declínio, em parte devido à ocorrência de Fusariose (EMBRAPA, 1986; Gallotti & Schuck, 1991). A medida de controle mais eficiente é o uso de porta-enxertos resistentes. São recomendados as variedades Paulsen 1103 e 140 Ruggieri, pertencentes ao grupo *V. rupestris* x *V. berlandieri* (EPAGRI, 1998; Gallotti, 1991).

Atualmente o Estado de Santa Catarina ocupa espaço no mercado interno de uva *in natura* e de vinho e no mercado externo de suco concentrado. Nosso Estado compete com as frutas e seus derivados produzidos em outros países do Mercosul, principalmente da Argentina (Losso, 1994). Para garantir espaço e ganhar competitividade, principalmente no mercado externo, torna-se necessária a busca de novas tecnologias, visando a obtenção de um bom produto com menor custo de produção, principalmente com o menor uso possível de insumos no cultivo desta frutífera.

O uso de biotecnologias pode contribuir no aumento da produtividade agrícola e a diminuição de seu impacto sobre o meio ambiente. Como técnicas biotecnológicas promissoras destacam-se a micropropagação e o uso de micorrizas. Em nosso Estado, estas biotecnologias oferecem perspectivas de melhora qualitativa na produção de mudas de videira e, conseqüentemente, aumento na produtividade da cultura.

A micropropagação, através de técnicas de cultura de células e tecidos vegetais, possibilita a manutenção de características desejáveis conseguidas através de melhoramento genético e a multiplicação de plantas homogêneas, em curto período de tempo e espaço físico reduzido (Debergh & Zimmerman, 1990).

A micropropagação envolve diversas etapas, sendo as principais: introdução *in vitro* de material selecionado, multiplicação, alongamento dos ramos e indução do enraizamento. Estas etapas são realizadas em condições axênicas, eliminando os organismos do solo, inclusive benéficos, como os fungos micorrízicos arbusculares

(FMA).

Os FMA associam-se obrigatoriamente com raízes de plantas, ocorrendo em 4/5 das espécies de plantas vasculares (Trappe, 1977). Essa associação é chamada de micorriza arbuscular, constituindo a mais durável, íntima e importante simbiose da Terra (Allen, 1996). As hifas dos fungos ampliam o volume explorado do sistema radicular, aumentando a absorção de água e de nutrientes em baixa concentração na solução do solo e transportados por difusão, como P, Zn, Cu, K, N. Os fungos, por sua vez, obtém das plantas carboidratos essenciais (Lopes et al., 1983; Saggin Júnior & Lovato, 1999). A associação micorrízica melhora o estado nutricional das plantas, amplia sua adaptação aos ecossistemas e aumenta a tolerância a fatores estressantes. Isto é refletido pelo aumento da produtividade e sobrevivência das plantas, sejam micropropagadas ou transplantadas a campo (Siqueira & Saggin Júnior, 1995). Diversas espécies micropropagadas apresentaram resultados positivos com a inoculação micorrízica, como cafeeiro (Souza et al., 1987), dendezeiro (Blal & Gianinazzi-Pearson, 1989), videira e abacaxizeiro (Lovato et al., 1992), kiwi (Schubert et al., 1992), morangueiro (Vestberg, 1992) e macieira (Brazanti et al., 1992; Uosukainen & Vestberg, 1994).

O estabelecimento da associação micorrízica só é possível na fase de indução de enraizamento ou em fases *ex vitro*, durante a aclimatização (Saggin Júnior & Lovato, 1999). A inoculação *in vitro* de FMA tem custo e complexidade operacional muito altos para aplicações comerciais, devido a necessidade de desinfestação dos esporos, uso de meios de cultura seletivos e controle de contaminações por outros fungos e por bactérias (Cassells et al., 1996).

A aclimatização de mudas micropropagadas é uma etapa de transição entre as condições controladas do sistema *in vitro* e o ambiente natural. Esta fase é crítica e delicada, pois as plantas passarão de uma condição heterotrófica para condição autotrófica, ocorrendo ativação funcional dos estômatos e das raízes. Apesar das plantas poderem associar-se a FMA após a aclimatização, a introdução precoce destes fungos é desejável por trazer diversas vantagens (Saggin Júnior & Lovato, 1999). Ravolanirina et al. (1989) conseguiram aumentos no crescimento de videiras micorrizadas durante a aclimatização em relação a plantas inoculadas em condições *in vitro*, e segundo Gribaudo et al. (1996), raízes desta espécie formadas *in vitro* e *ex vitro* foram colonizadas por *Glomus mosseae* após aclimatização. Em trabalho realizado na UFSC, a inoculação de FMA em macieiras durante a aclimatização e enraizamento mostrou-se

vantajosa, pelo maior crescimento da parte aérea e do sistema radicular das plantas (Locatelli et al., 1998). As micorrizas podem auxiliar as plantas micropropagadas, inclusive a videira, na superação da fase de aclimatização e na adaptação ao novo ambiente, trazendo benefícios, como: encurtamento das fases *in vitro* e da aclimatização (Vestberg, 1992; Azcón-Aguilar et al., 1992), supressão do bloqueio do crescimento apical após o transplante (Berta et al., 1994), crescimento das plantas com menor quantidade de fertilizantes (Williams et al., 1992), maior homogeneidade das plantas (Blal & Gianinazzi-Pearson, 1989) e maior resistência a estresses bióticos e abióticos (Guillemin et al., 1994; Siqueira & Franco, 1988).

Na videira, diversos efeitos benéficos de micorrizas arbusculares têm sido relatados. Biricolti et al. (1997) encontraram grande dependência micorrízica nesta espécie, manifestada pelo maior crescimento da parte aérea e sistema radicular e pelo aumento da absorção de P em plantas inoculadas com *G. mosseae* e *G. constrictus*. Karagiannidis et al. (1997) demonstraram que taxas de micorrizas arbusculares foram inversamente proporcionais ao P lábil do solo, chegando a 75% em raízes de Paulsen 1103.

Segundo Waschkes et al. (1994), videiras inoculadas com *Glomus mosseae* em solo de replantio tiveram maior crescimento e acúmulo de matéria da parte aérea e maior área foliar, e a diminuição de micorrizas arbusculares no solo esteve associada com uma maior susceptibilidade das videiras aos agentes causais da doença de replantio. Diversos trabalhos demonstram aumento no crescimento de videiras micorrizadas (Bavaresco & Fogher, 1996), com incrementos na quantidade de matéria seca e concentrações de P e Zn na parte aérea (Petgen et al., 1998; Karagiannidis et al., 1995).

A composição física e química do substrato utilizado na aclimatização pode afetar de maneira diversa a sobrevivência das plantas e instalação de micorrizas arbusculares. Os principais fatores que afetam a micorrização são a aeração, teor de matéria orgânica e disponibilidade de nutrientes, especialmente o P. De maneira geral, formulam-se substratos utilizando-se materiais disponíveis, de preferência leves e de boa drenagem (Saggin Júnior & Lovato, 1999).

A composição do substrato pode variar em função da espécie de planta a ser aclimatizada e o fungo a ser inoculado. Misturas a base de solo, turfa e vermiculita ou perlita fornecem os melhores resultados no crescimento de plantas micorrizadas. O uso de fertilizantes solúveis no substrato, principalmente P, é comumente realizado na

aclimatização de plantas. Esta prática pode reduzir o efeito benéfico de FMA sobre o crescimento das plantas (Brazanti et al., 1992).

A idéia central do trabalho foi associar as biotecnologias de micropropagação e micorrização na produção de mudas micropropagadas de videira. Como fatores que podem afetar essa produção, testaram-se o efeito da inoculação de FMA e do tipo de substrato na sobrevivência durante a aclimatização e crescimento de videiras micropropagadas.

I.1. Objetivos.

I.1.1. Desenvolvimento de procedimentos para aclimatização e inoculação micorrízica em porta-enxerto de videira micropropagado;

I.1.2. Verificar a ação de FMA na sobrevivência e no crescimento do porta-enxerto de videira Paulsen 1103;

I.1.3. Verificar a influência do tipo de substrato para aclimatização, sobrevivência e crescimento do porta-enxerto de videira Paulsen 1103.

II. MATERIAL E MÉTODOS.

II.1. Produção de inóculo de FMA.

Em um período anterior ao desenvolvimento deste trabalho, realizou-se a produção dos inóculos de FMA, com objetivo de utilização nos clones de videiras micropropagados.

Multiplicaram-se os FMA *Glomus etunicatum* # 69, *Glomus clarum* # 31 e *Acaulospora* sp. # 45, fornecidos pelos Laboratórios de Microbiologia de Solo do Departamento de Engenharia Rural do CCA e do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do CCB - UFSC. Na multiplicação utilizou-se como hospedeiro *Paspalum sauriae*, cultivado em vasos com o substrato areia e solo Podzólico Vermelho-Amarelo (PVA) (2:1,v:v) autoclavado. O PVA foi passado em peneira de 4mm; a areia, em peneira de 2mm com posterior lavagem para a eliminação de possíveis elementos tóxicos. As sementes do hospedeiro foram desinfestadas com hipoclorito de sódio e semeadas na superfície dos vasos com 1 litro de substrato e 10 ml de inóculo de FMA.

Após um mês da semeadura e inoculação, foram feitas aplicações semanais com

a solução nutritiva Long-Ashton (Brundrett et al., 1994) modificada (10% do fósforo da composição original), numa quantidade de 10 ml de solução por vaso. Após 4 meses do cultivo, os inóculos de FMA estavam prontos para o uso nas plantas de videira. Para verificar o resultado da multiplicação realizou-se a contagem de esporos dos fungos utilizando-se o processo de peneiragem e centrifugação (Brundrett et al., 1994) e a coloração de raízes de *P. sauriae* para verificar o grau de colonização micorrízica (Koske & Gemma, 1989).

II.2. Aclimatização e inoculação micorrízica em porta-enxerto de videira micropropagados.

As mudas de porta-enxerto de videiras Paulsen 1103 foram produzidas através de técnicas de cultura de meristemas e fornecidas pelo Laboratório de Morfogênese Vegetal do Departamento de Fitotecnia - CCA - UFSC. Os explantes foram submetidas a aclimatização e inoculação micorrízica em bandejas de polipropileno expandido com células de 40 ml, contendo o substrato desenvolvido em trabalhos anteriores (tre+v+ct) (Cassol, 1996) - elaborado com Terra Roxa Estruturada, vermiculita e composto termofílico (1:1:1, v.v:v) e autoclavado duas vezes em intervalo de 24 horas a 105°C e por 60 min - ou o substrato comercial Plantmax, utilizado sem sofrer esterilização. Plantmax é formulado basicamente de casca de árvore com calcário, turfa, vermiculita, perlita e adubo solúvel (300 ppm N, 1.850 ppm P₂O₅ e 525 ppm K₂O).

Os tratamentos consistiram de dois tipos de substratos (tre+v+ct e Plantmax), inoculados com os FMA *G. clarum*, *G. etunicatum* e *Acaulospora* sp. ou inóculo estéril. O experimento constituiu-se em um fatorial 2x4 com 40 repetições por tratamento. A inoculação foi realizada misturando-se 5 g de inóculo em cada célula. Para recompor a microbiota não micorrízica, cada planta recebeu, após o transplante, 2 ml de suspensão dos inóculos filtradas em papel.

No momento da aclimatização do porta-enxerto de videira, realizaram-se a uniformização do tamanho da parte aérea e do sistema radicular, deixando-o com 1 cm de raízes e altura média de 25 a 30 mm com 3 a 4 folhas. As bandejas de polipropileno expandido foram acondicionadas no interior de bandejas de plástico, as quais foram cobertas com uma lâmina de vidro, para manter a umidade do ar e evitar a dessecação das plantas. As bandejas com as plantas ficaram 10 dias em sala de aclimatização (16 horas de luz, 20-25^o C, aproximadamente 100% de umidade relativa do ar) e após

transferidas para túnel de polietileno com nebulização intermitente.

Após 60 dias, 5 plantas de cada tratamento foram extraídas e avaliadas quanto à frequência de micorrização e intensidade de micorrização do córtex, através do método descrito por Trouvelot et al. (1986), utilizando-se corantes para este fim (Gianinazzi & Gianinazzi-Pearson, 1992 ; Hungria & Araújo, 1994). As raízes foram despigmentadas em KOH 10% (90° C por 25 minutos) e solução de H₂O₂ e NH₄OH 0,5% (temperatura ambiente por 5 minutos) e coloridas com glicerol acidificado contendo 0,05% de azul de tripano (90° C por 30 minutos). O restante das mudas sobreviventes foi acondicionado em tubetes, com volume de 240 ml, contendo solo de viveiro de videiras, provindo do município de Rodeio - SC. Durante esse período as plantas permaneceram em casa de vegetação.

A cada 10 dias foi registrada a altura da parte aérea das plantas, medida entre a superfície do substrato e o meristema apical. Após 120 dias, as plantas foram avaliadas quanto à produção de matéria seca da parte aérea (MSA) e do sistema radicular (MSR), biomassa total (BST) e relação entre massas das raízes e da parte aérea (R/PA). As raízes de 5 plantas de cada tratamento foram avaliadas quanto à frequência de micorrização e intensidade de micorrização do córtex. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o programa Statgraphics. Quando houve efeito significativo de tratamento, fez-se o teste de separação de médias (Newman-Keuls, $p < 0,05$).

III. RESULTADOS.

III.1. Sobrevivência das plantas durante a aclimatização.

Houve diferenças entre tratamentos quanto à sobrevivência das plantas. As mortes de plantas foram observadas somente nos primeiros 10 dias de aclimatização, quando as videiras estavam acondicionadas em bandejas de plástico cobertas por uma lâmina de vidro. O processo de aclimatização utilizado demonstrou índices variáveis de sobrevivência das plantas nos diferentes tratamentos. O tipo de substrato foi o fator que mais influenciou na sobrevivência das plantas micropropagadas; o substrato à base de Terra Roxa Estruturada, vermiculita e composto termofílico aumentou o índice de sobrevivência das mudas em comparação com o substrato Plantmax (Tabela 1). No substrato tre+v+ct, o tipo de inoculação micorrízica não teve influência direta na

sobrevivência das plantas, pois o padrão de sobrevivência manteve-se nos tratamentos, inclusive nas plantas não inoculadas.

As taxas de sobrevivência diferentes entre os tipos de substratos pode estar condicionado à fatores químicos e físicos. No substrato tre+v+ct, a utilização de solo e composto termofílico pode ter contribuído para um melhor disponibilidade de nutrientes às plantas. Aliado à presença de vermiculita, um material inerte com boa capacidade de retenção de água, o substrato apresentou uma melhor aeração e controle no excesso de água.

Tabela 1. Sobrevivência (%) de videiras micropropagadas aclimatizadas em substrato à base de solo (Terra Roxa Estruturada, vermiculita e composto termofílico) (tre+v+ct) ou em substrato comercial (Plantmax), inoculadas ou não com fungos micorrízicos (Média de 40 repetições).

Fungo micorrízico	Substrato	
	tre+v+ct	Plantmax
não inoculado	100 a	48 b
<i>Glomus clarum</i>	95 a	50 b
<i>Glomus etunicatum</i>	98 a	48 b
<i>Acaulospora</i> sp.	95 a	18 c

Médias seguida da mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Newman-Keuls a 5%).

No substrato Plantmax, a formulação à base de materiais orgânicos pode ter causado um excesso de umidade e, conseqüentemente, menor sobrevivência das plantas. O tipo de inoculação micorrízica teve influência na sobrevivência das plantas cultivadas neste substrato. Os menores índices de sobrevivência foram encontrados em plantas inoculadas com *Acaulospora* sp. Este resultado possivelmente foi causado por uma interação entre o tipo de substrato e a inoculação micorrízica, com uma possível modificação na relação entre o FMA e as plantas e, em conseqüência, mudança da simbiose de mutualística para parasítica. Devido à alta mortalidade das plantas no tratamento com inoculação de *Acaulospora* sp. em Plantmax, não foi possível registrar dados de altura da parte aérea na etapa subsequente, na qual as plantas foram

transferidas para tubetes com solo de viveiro.

III.2. Crescimento da parte aérea das videiras.

Houve diferenças significativas no crescimento da parte aérea entre os tratamentos, durante todo o período de avaliação. As plantas cultivadas em tre+v+ct, nos tratamentos que receberam inoculação micorrízica com *G. etunicatum*, *G. clarum* e *Acaulospora* sp., apresentaram crescimento semelhante e sempre superior às videiras não inoculadas (Figura 1a). No substrato Plantmax, no período entre 60 e 100 dias, houve uma tendência das videiras inoculadas com *G. etunicatum* apresentaram maior crescimento que as plantas não inoculadas; entretanto, aos 120 dias não houve diferenças na altura da parte aérea entre os tratamentos (Figura 1b).

A partir do início da fase de aclimatização até 60 dias, período em que as plantas permaneceram em bandejas, houve um maior crescimento das videiras cultivadas em tre+v+ct e inoculadas com *G. etunicatum*, *G. clarum* e *Acaulospora* sp. e um menor desempenho dos tratamentos cultivados em Plantmax sem inoculação micorrízica e inoculadas com *Acaulospora* sp. Neste tratamento, os valores de incremento foram registrados somente durante o período em bandejas, devido à insuficiência de plantas para transferência, causada pela baixa taxa de sobrevivência.

Após 120 dias, os maiores valores de crescimento foram observados nos tratamentos que receberam inoculação micorrízica, especialmente nos tratamentos com *G. etunicatum* e *G. clarum* cultivados em tre+v+ct, que diferenciaram-se significativamente das plantas não inoculadas com FMA. Os menores níveis de incremento da parte aérea ocorreram nos tratamentos sem inoculação de FMA nos dois tipos de substratos.

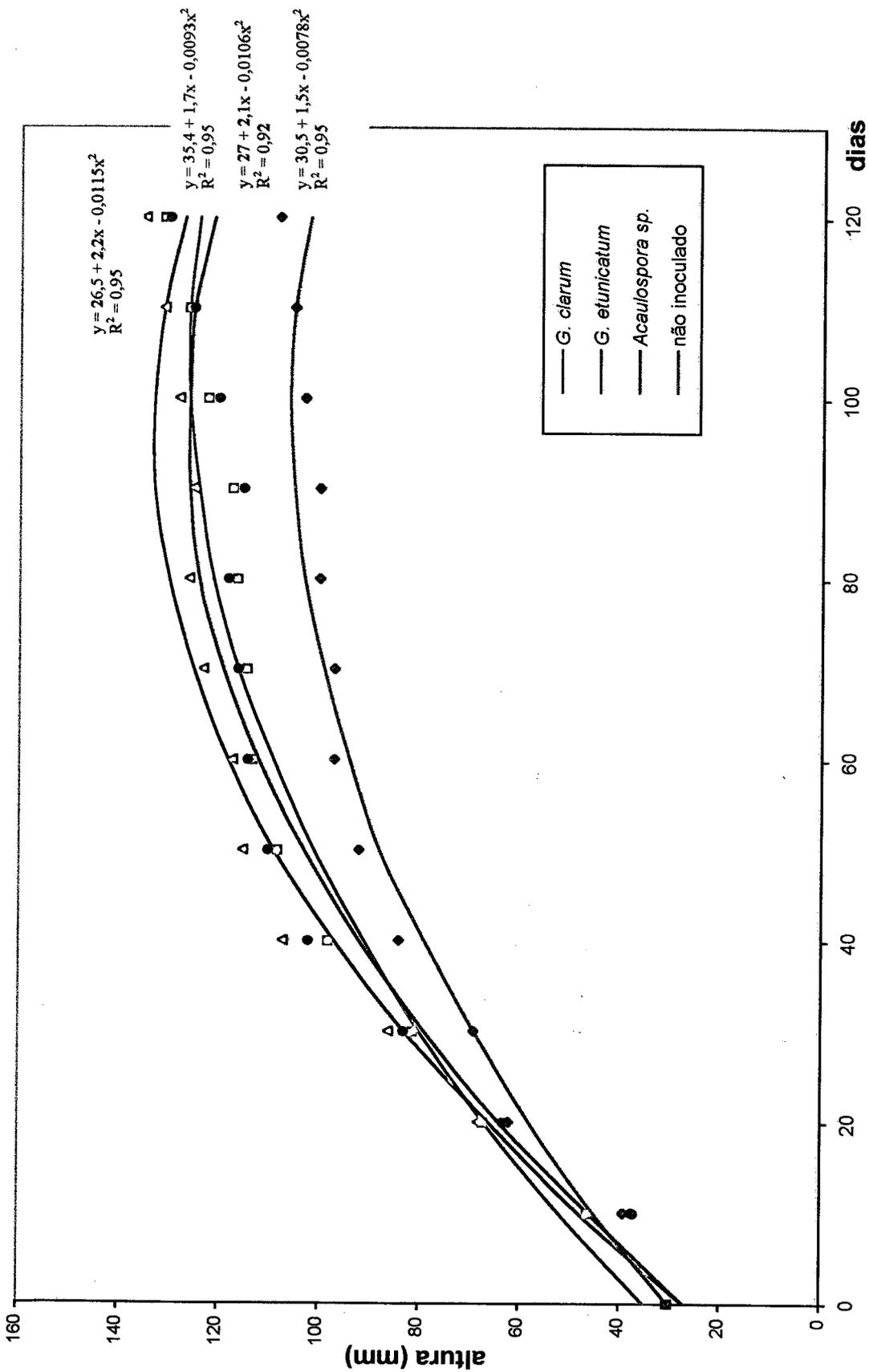


Figura 1a. Incremento de altura de videiras, inoculadas ou não com FMA, em substrato à base de Terra Roxa Estruturada, vermiculita e composto termofílico.

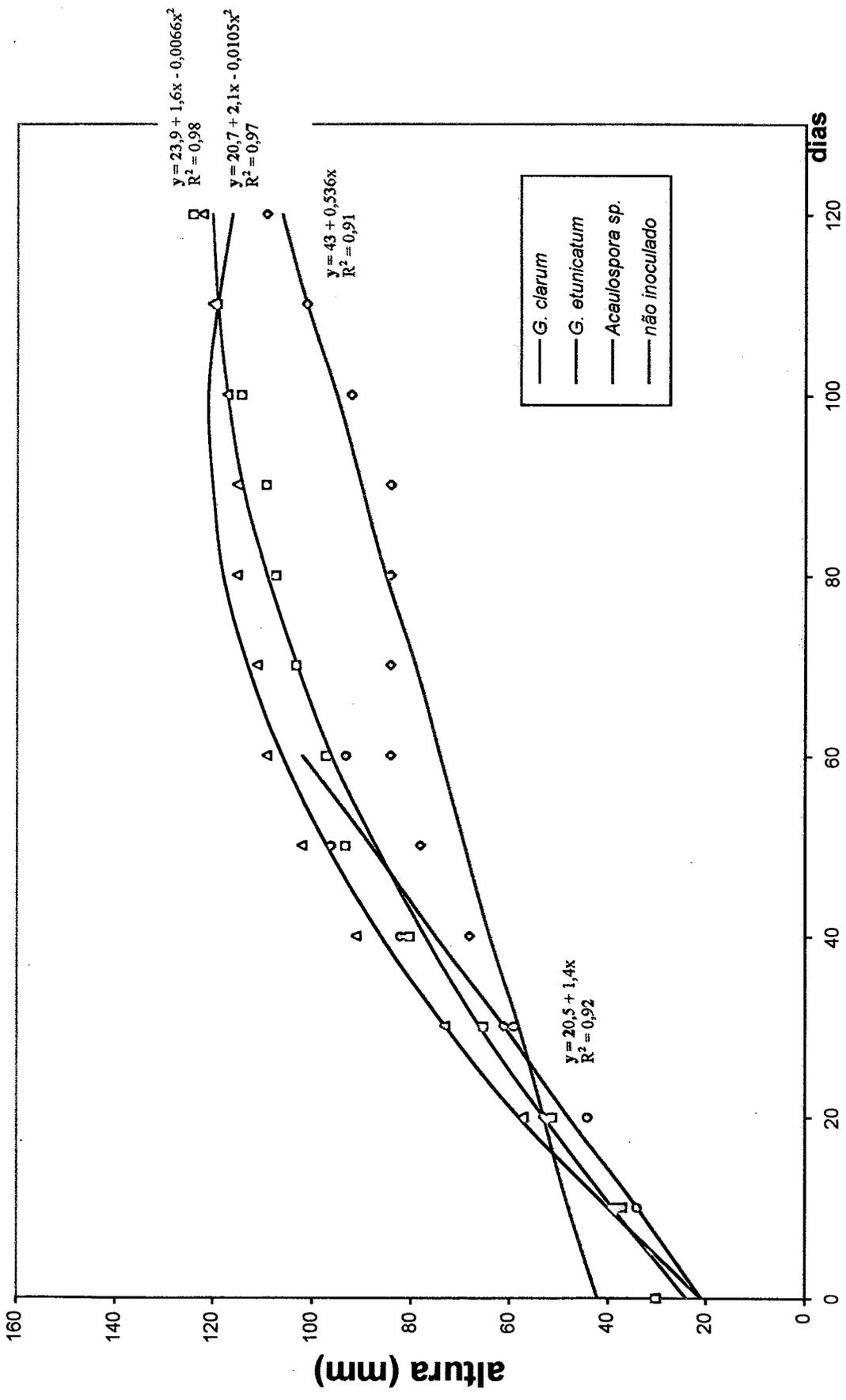


Figura 1b. Incremento de altura de videiras, inoculadas ou não com FMA, em substrato comercial Plantmax.

III.3. Acúmulo de matéria seca da parte aérea (MSA) e de raízes (MSR) e biomassa seca total (BST).

Os maiores valores de massa da MSA foram observados nas plantas inoculadas com *G. clarum* e cultivadas em Plantmax, apesar deste não diferir significativamente dos demais tratamentos (Tabela 2). O menor crescimento das plantas não inoculadas com FMA e cultivadas em tre+v+ct refletiu-se nos menores valores de acúmulo de MSA.

Os tratamentos com inoculação micorrízica apresentaram os maiores crescimento da parte aérea, refletidos em maior acúmulo de matéria seca. As plantas não inoculadas cultivadas em Plantmax, apesar do menor crescimento, apresentaram acúmulo de MSA superior, possivelmente por fatores ligado ao substrato, como maior disponibilidade de nutrientes solúveis.

Tabela 2. Massa da matéria seca da parte aérea (MSA) de raízes (MSR) e biomassa total (BST) de videiras micropropagadas aclimatizadas em substrato à base de solo (Terra Roxa Estruturada, vermiculita e composto termofílico) (tre+v+ct) ou em substrato comercial (Plantmax), inoculadas ou não com fungos micorrízicos.

Substrato	Fungo micorrízico	MSA	MSR	BST
Plantmax	não inoculado	0,20 a	0,29 b	0,49 bc
	<i>Glomus clarum</i>	0,22 a	0,50 a	0,72 a
	<i>Glomus etunicatum</i>	0,19 a	0,40 b	0,59 b
tre+v+ct	não inoculado	0,14 b	0,28 b	0,42 c
	<i>Glomus clarum</i>	0,19 a	0,32 b	0,52 bc
	<i>Glomus etunicatum</i>	0,19 a	0,37 b	0,56 bc
	<i>Acaulospora</i> sp.	0,20 a	0,30 b	0,50 bc
C.V. (%)		36,5	45,1	38,1

Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si (Newman-Keuls a 5%).

Na massa da matéria seca das raízes (MSR), os maiores valores foram

observados nas plantas inoculadas com *G. clarum* cultivadas em Plantmax. Os menores níveis ocorreram nos tratamentos não inoculados, apesar de não diferirem significativamente dos demais. Isso sugere que a colonização micorrízica pode ter aumentado o crescimento do sistema radicular e conseqüentemente o acúmulo de MSR.

Em conseqüência do maior acúmulo de MSA e MSR, os maiores valores de biomassa total foram observados nas plantas inoculadas com *G. clarum* em Plantmax. O menor desempenho foi observado nas plantas não inoculadas com FMA cultivadas em tre+v+ct, devido a uma menor produção de raízes. A disponibilidade de nutrientes provindas dos adubos solúveis no substrato Plantmax, associada à presença de FMA, pode ter implicado em um maior acúmulo de biomassa nos tratamentos inoculados com *G. clarum* e *G. etunicatum*.

III.4. Relação entre massas da matéria seca da parte aérea e de raízes (R/PA).

Houve um efeito claro do tipo de inoculação micorrízica sobre as plantas cultivadas em Plantmax. Os valores de relação R/PA aumentaram nas plantas, indicando maior desenvolvimento do sistema radicular em função dessa associação (Tabela 3). Nos tratamentos cultivados em tre+v+ct observou-se um efeito inverso, pois as plantas não inoculadas com FMA apresentaram maiores valores de relação R/PA.

Tabela 3. Relação entre massas das raízes e da parte aérea (R/PA) de videiras micropropagadas aclimatizadas em substrato à base de solo (Terra Roxa Estruturada, vermiculita e composto termofílico) (tre+v+ct) ou em substrato comercial (Plantmax), inoculadas ou não com fungos micorrízicos.

Fungo micorrízico	Substrato	
	Plantmax	tre+v+ct
não inoculado	1,44 c	2,21 a
<i>Glomus clarum</i>	2,20 a	1,67 abc
<i>Glomus etunicatum</i>	2,18 a	2,04 ab
<i>Acaulospora</i> sp.	-----	1,54 bc

C.V. (%) = 38,5

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Newman-Keuls a 5%).

Em plantas micorrizadas o desenvolvimento radicular é modificado, com tendência a reduzir-se a relação entre as massas das raízes e da parte aérea. Isso significa um sistema mais eficiente no acúmulo de biomassa, pois uma menor proporção de energia é destinada à formação de raízes (Gianinazzi-Pearson & Gianinazzi, 1983). A micorrização pode diminuir o crescimento radicular, devido a fatores como a compensação de funções das raízes pela presença do micélio externo do FMA, por exemplo, na absorção de nutrientes e água (Marschner, 1995). Essa possível tendência não foi observada nas videiras cultivadas em Plantmax. As plantas inoculadas com *G. clarum* e *G. etunicatum* apresentaram maior acúmulo de matéria seca das raízes e biomassa total, e como consequência maior relação R/PA. Os resultados sugerem que a associação micorrízica melhorou a absorção de nutrientes, aumentando proporcionalmente mais o acúmulo de matéria seca no sistema radicular.

Em relação ao substrato Plantmax, as plantas cultivadas em tre+v+ct e inoculadas com FMA apresentaram uma tendência de inversão de valores da relação R/PA. O menor valor desta relação foi observado nas plantas micorrizadas com *Acaulospora* sp., seguido de *G. clarum* e *G. etunicatum*. A diminuição na relação R/PA foi inversamente proporcional ao grau de colonização micorrízica das raízes, sugerindo que no substrato tre+v+ct o aumento da micorrização diminuiu os valores da relação R/PA.

Os resultados indicam que, dependendo do tipo de substrato, ocorrem diferenças claras entre o acúmulo de matéria seca na parte aérea e nas raízes. Relações substrato-planta, condições de aclimatização diferentes do substrato tre+v+ct e a inoculação micorrízica podem ter implicado em maior crescimento do sistema radicular das plantas cultivadas em Plantmax.

III.5. Taxa de micorrização das raízes de videiras em substrato de aclimatização.

A taxa de micorrização das raízes das plantas foi avaliada através dos parâmetros frequência e intensidade de micorrização. A frequência de micorrização corresponde à porcentagem de fragmentos de raízes colonizados por FMA. A intensidade de micorrização é a estimativa da proporção do córtex radicular colonizado por FMA (Trouvelot et al., 1986).

Durante o período em bandejas, houve diferenças na colonização micorrízica dos

tratamentos utilizados (Tabela 4). A intensidade de micorrização apresentou diferenças expressivas entre os substratos; os maiores valores foram observados nas plantas cultivadas em tre+v+ct. O mesmo padrão foi observado na frequência de micorrização, com mais intensidade entre os tratamentos inoculados com *G. etunicatum*.

Tabela 4. Frequência de micorrização (F%) e intensidade de micorrização do córtex (M%) de videiras micropropagadas aclimatizadas em substrato à base de solo (Terra Roxa Estruturada, vermiculita e composto termofílico) (tre+v+ct) ou em substrato comercial (Plantmax), inoculadas ou não com fungos micorrízicos.

Fungo micorrízico	Substrato			
	Plantmax		tre+v+ct	
	F%	M%	F%	M%
não inoculado	0	0	0	0
<i>Glomus clarum</i>	22,0	2,1	28,9	6,9
<i>Glomus etunicatum</i>	9,1	0,5	27,3	3,6
<i>Acaulospora</i> sp.	66,1	12,6	71	28,4

Os FMA são aeróbios obrigatórios (Saggin Júnior & Lovato, 1999) e a aeração adequada proporcionado pelo substrato tre+v+ct parece ter proporcionado maiores taxas de colonização micorrízica. As menores frequências e intensidade de micorrização dos tratamentos cultivados em Plantmax podem estar associadas a maior retenção de água e em consequência menor aeração neste substrato, e ao excesso de nutrientes disponíveis no substrato, especialmente P. A disponibilidade muito alta de P no substrato pode reduzir a colonização micorrízica, que pode mesmo tornar-se parasítica (Siqueira e Colozzi-Filho, 1986; Koide, 1991). Saggin Júnior e Lovato (1999) propõe que, para diferentes espécies, as doses de P em que obtém o máximo benefício da inoculação micorrízica no crescimento e na taxa de colonização fique entre 0 e 200 mg/kg de substrato. A formulação do produto Plantmax apresenta 1.850 ppm de P_2O_5 , que em valores absolutos de P equivalem a 814 mg/kg. Este teor de P solúvel do substrato pode ter resultado em alta absorção e concentração de P nas plantas e, conseqüentemente, na diminuição da frequência e da intensidade de micorrização nas plantas cultivadas em Plantmax (Siqueira & Franco, 1988).

As taxas de colonização micorrízica variaram entre as espécies de FMA. Os

menores valores foram observados nas raízes inoculadas com *G. etunicatum*, especialmente no substrato Plantmax, demonstrando que este FMA apresentou uma menor capacidade infectiva. A intensidade de colonização micorrízica de *G. etunicatum* foi semelhante a *G. clarum* nas raízes de plantas cultivadas em tre+v+ct, indicando que este substrato favoreceu a sua colonização. Essa diferença também sugere uma maior sensibilidade de *G. etunicatum* às diferenças químicas e físicas dos substratos.

As plantas inoculadas com *Acaulospora* sp. cultivadas em Plantmax e tre+v+ct apresentaram os maiores valores de frequência e intensidade de micorrização. Entre os substratos testados, Plantmax teve os menores índices de sobrevivência em todos os tratamentos, especialmente nas plantas inoculadas com *Acaulospora* sp. A possível interação entre estes dois fatores sugere que condições químicas e físicas do substrato Plantmax, como alto teor de adubos solúveis e baixa aeração, podem ter ocasionado uma baixa resposta da planta ao FMA, criando condições para a mudança da simbiose de mutualística para parasítica, causando morte da maioria das plantas.

III.6. Taxa de micorrização das raízes de videiras em solo de viveiro.

Com a transferência das plantas para tubetes, houve um contato entre as raízes das videiras e os FMA nativos do solo de viveiro. Esse fato refletiu-se nas plantas não inoculadas, onde a colonização micorrízica atingiu valores expressivos, acima até de plantas inoculadas com FMA na fase de aclimatização (Tabela 5).

As plantas inoculadas com FMA no substrato tre+v+ct diminuíram a frequência de colonização micorrízica com a transferência para solo de viveiro. Contudo, as plantas inoculadas com *G. clarum* e *Acaulospora* sp. não alteraram a intensidade de colonização do córtex, e em consequência, a proporção de raízes colonizadas foi semelhante para estes tratamentos.

A transferência para o solo de viveiro não desinfestado aumentou consideravelmente a frequência e intensidade de micorrização de plantas aclimatizadas em Plantmax, atingindo valores maiores do que os das plantas cultivadas em tre+v+ct. Esse fato sugere que os FMA nativos do solo de viveiro foram mais infectivos nas plantas cultivadas em Plantmax. Condições químicas ou físicas do substrato de viveiro e a relação solo-planta podem estar relacionados no aumento da micorrização deste tratamento.

Tabela 5. Frequência de micorrização (F%) e intensidade de micorrização do córtex (M%) de videiras micropropagadas aclimatizadas em substrato à base de solo (Terra Roxa Estruturada, vermiculita e composto termofílico) (tre+v+ct) ou em substrato comercial (Plantmax), inoculadas ou não com fungos micorrízicos transferidas para solo de viveiro não desinfestado.

Fungo micorrízico	Substrato			
	Plantmax		tre+v+ct	
	F%	M%	F%	M%
não inoculado	40	5	37,5	3,7
<i>Glomus clarum</i>	52,5	10,9	25	6,9
<i>Glomus etunicatum</i>	20	2,6	17,5	1,2
<i>Acaulospora</i> sp.	----	----	62,5	28,6

IV. DISCUSSÃO.

Os resultados de sobrevivência e crescimento da parte aérea demonstram um benefício da inoculação micorrízica e do uso de substrato à base de Terra Roxa Estruturada, vermiculita e composto termofílico na aclimatização e produção de mudas de porta-enxertos de videira. O substrato formulado apresentou características físicas vantajosas, como boa aeração e boa retenção de água, proporcionando condições para o crescimento inicial do sistema radicular das plantas e para o estabelecimento da associação micorrízica. As micorrizas, por sua vez, melhoraram a absorção dos nutrientes disponibilizados pelo composto termofílico e pelo solo do substrato.

A inoculação com FMA e substratos adequados podem ser utilizados na produção de mudas micropropagadas, especialmente a videira. O uso destas técnicas pode melhorar a sobrevivência e o crescimento das plantas durante a fase de aclimatização, a adaptação ao novo ambiente, e ter possíveis efeitos benéficos nas fases subsequentes do sistema produtivo, de forma a diminuir custos e tempo de produção de mudas.

As plantas inoculadas com FMA e cultivadas em tre+v+ct, apesar de não haver diferenças claras, apresentaram menores valores de relação R/PA, possivelmente pela maior colonização micorrízica na aclimatização e por fatores ligados a relações entre o

substrato e a planta. Isso sugere um aumento de eficiência na absorção de nutrientes pelo sistema radicular das plantas neste substrato. Segundo Saggin Júnior & Lovato (1999), um sistema radicular mais eficiente, representado pela diminuição da relação R/PA, está ligado a mudanças na arquitetura do sistema radicular, ou seja, o padrão de crescimento e distribuição das raízes no solo. A colonização micorrízica aumenta a ramificação das raízes em ordens cada vez maiores, caracterizando um padrão dicotômico, mais eficiente na absorção de nutrientes.

Marschner (1995) sugere que microorganismos do solo, como os FMA, podem estimular, inibir ou não ter efeito direto no crescimento radicular, e dependem de diversos fatores, como o genótipo da planta. As características químicas e físicas do substrato de aclimatização e a sua interação com os demais fatores possivelmente influencia o crescimento do sistema radicular e, conseqüentemente, a relação R/PA. Estudos mais aprofundados, como a análise química da biomassa e determinação do padrão de crescimento radicular das plantas e a análise química e física dos substratos, são necessários para melhor esclarecer as diferenças encontradas no crescimento das plantas e na colonização micorrízica.

V. CONCLUSÕES.

V.1. Sobrevivência das plantas durante a aclimatização.

1. O substrato à base de Terra Roxa Estruturada, vermiculita e composto termofílico incrementou significativamente a sobrevivência das videiras durante a aclimatização.
2. As videiras inoculadas com o fungo micorrízico *Acaulospora* sp. no substrato Plantmax apresentaram o menor índice de sobrevivência.

V.2. Crescimento da parte aérea das videiras.

1. A inoculação com *G. etunicatum* e *G. clarum* no substrato à base de Terra Roxa Estruturada, vermiculita e composto termofílico aumentou o incremento em altura da parte aérea das plantas.
2. O maior acúmulo de biomassa ocorreu em videiras inoculadas com *G. clarum* cultivadas em Plantmax.
3. A inoculação micorrízica com *G. clarum*, seguido de *G. etunicatum*, no substrato Plantmax, proporcionou os maiores acúmulos de biomassa total das plantas.

V.3. Relação entre massas da matéria seca da parte aérea e de raízes (R/PA).

1. A inoculação micorrízica aumentou os valores de R/PA nas plantas cultivadas em Plantmax.
2. A inoculação de FMA nas plantas cultivadas em substrato tre+v+ct diminuiu os valores de R/PA, sugerindo um aumento na eficiência do sistema radicular.

V.4. Taxa de micorrização das raízes de videiras em substrato de aclimatização.

1. Houve maior frequência e intensidade de micorrização nos tratamentos

cultivados em tre+v+ct.

2. As maiores taxas de micorrização foram observadas nas plantas inoculadas com *Acaulospora* sp.

V.5. Taxa de micorrização das raízes de videiras em solo de viveiro.

1. A transferência para solo não desinfestado propiciou a colonização das plantas não inoculadas sem aumentar a taxa de colonização micorrízica das videiras previamente inoculadas.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allen, M. F. The ecology of arbuscular mycorrhizas: a look back into the 20th century and a peek into the 21st. **Mycol. Res.**, Cambridge, 100:769-782, 1996.
- Azcón-Aguilar, C.; Barceló, A.; Vidal, M. T. & de la Viña, G. Further studies on the influence of mycorrhizae on growth and development of micropropagated avocado plants. **Agronomie**, 12: 837-840, 1992.
- Bavaresco, L. & Fogher, C. Lime-induced chlorosis of grapevine as affected by rootstock and root infection with arbuscular mycorrhiza and *Pseudomonas fluorescens*. **Vitis**, 35(3): 119-123, 1996.
- Berta, G.; Trotta, A. A. F.; Hooker, J.; Munro, M.; Atkinson, D.; Giovanetti, M.; Marini, S.; Loreti, F.; Tisserant, B.; Gianinazzi-Pearson, V. & Gianinazzi S. The effects of arbuscular mycorrhizal infection on plant growth, root system morphology and soluble protein content in *Prunus cerasifera* L. **Tree physiology** (*in press*). 1994.
- Biricolti, S.; Ferrini, F.; Rinaldelli, E.; Tamantini, I. & Vignozzi, N. VAM fungi and soil lime content influence rootstock growth and nutrient content. **American Journal of Enology and Viticulture**, 48(1): 93-99, 1997.
- Blal, B. & Gianinazzi-Pearson, V. Interest of mycorrhiza for the production of micropropagated oil palm clones. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, 29:39-43, 1989.
- Brazanti, B.; Gianinazzi-Pearson, V. & Gianinazzi, S. Influence of phosphate fertilization on the growth and nutrient status of micropropagated apple infected with endomycorrhizal fungi during the weaning stage. **Agronomie**, 12: 841-845, 1992.
- Brundrett, M.; Melville, L.; Peterson, L. Practical Methods in Mycorrhiza Research. Guelph, Ontario, Canada, 80 p. 1994.
- Cassells, A. C.; Mark, G. L. & Periappuram, C. Establishment of arbuscular mycorrhizal fungi in auxotrophic cultures *in vitro*. Comparison with inoculation of microplants *in vivo*. **Agronomie**, 16:625-632, 1996.
- Cassol, Sadi. **Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em porta-enxertos de macieira micropropagados adaptados às condições do Sul do Brasil**. Florianópolis: UFSC, Centro de Ciências Agrárias, 1996. 32 p. Relatório de Estágio.

- Debergh, P. L. & Zimmerman, R. H. Micropropagation: technology and application. **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht, The Netherlands, 1990.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. **Relatório técnico anual do Centro Nacional de Pesquisa de uva e vinho de Bento Gonçalves**. 1986.
- Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S. A. – EPAGRI. **Recomendação de cultivares para o Estado de Santa Catarina 1998/99**. Florianópolis, 164 p. (EPAGRI. Boletim Técnico, 98). 1998.
- Gallotti, G.J.M. Avaliação da resistência de *Vitis spp* a *Fusarium oxysporum* f. sp. *herbemontis*. **Fitopatologia brasileira**, 16: p. 74-77, 1991.
- Gallotti, G.J. & Schuck, E. Ocorrência da fusariose em porta-enxertos de videira. **Agropecuária catarinense**, 4: p. 47-49, 1991.
- Gianinazzi, S. & Gianinazzi-Pearson, V. Cytology, histology and immunocytochemistry as tools for studying structure and function in endomycorrhiza. **Methods in Microb.** 24: 109 - 139, 1992.
- Gianinazzi-Pearson, V. & Gianinazzi, S. The physiology of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots. **Plant Soil**, 71:197-209, 1983.
- Gribaudo, I.; Zanetti, R.; Morte, M. A.; Previati, A. & Schubert, A. Development of mycorrhizal infection in in vitro-and in vivo-formed roots of woody fruit plants. **Agronomie**, 16: 621-624, 1996.
- Guillemin, J. P.; Gianinazzi, S.; Gianinazzi-Pearson, V. & Marchal, J. Contribution of endomycorrhizas to biological protection of micropropagated pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) against *Phytophthora cinnamomi* Rands. **Agricultural Science in Finland**, 3:241-251, 1994.
- Hungria, M. & Araújo, R. S. (editores) **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, Centro Nacional de Pesquisa da Soja – Brasília : EMBRAPA – SPI. 542 p. 1994.
- Karagiannidis, N.; Nikolaou, N & Mattheou, A. Influence of 3 VA-mycorrhiza species on the growth and nutrient-uptake of 3 grapevine rootstocks and one table grape cultivar. **Vitis**, 34(2): 85-89, 1995.
- Karagiannidis, N.; Velemis, D. & Stavropoulos, N. Root colonization and spore population by VA-mycorrhizal fungi in four grapevine rootstocks. **Vitis**, 36(2), 57-60, 1997.
- Koide, R. T. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. **New Phytol.**, Oxford, 117:365-86, 1991.

- Koske, R. E. & Gemma, J. N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycol. Res.** 92(4) : 486-505, 1989.
- Locatelli, L.; Vitovski, C. A. & Lovato, P. E. Shoot growth and root architecture modifications of a micropropagated apple rootstock (*Malus prunifolia*) clone rooted *ex vitro* and inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. In: Second International Conference on Mycorrhiza, Uppsala, 1998. **Abstracts**, Uppsala, Swedish, University of Agricultural Sciences. P. 110.
- Lopes, E. S. ; Siqueira, J. O. & Zambolim, L. Caracterização das micorrizas vesiculares-arbusculares (MVA) e seus efeitos no crescimento das plantas. **Revista Brasileira da Ciência do Solo**, 7: p. 1-19, 1983.
- Losso, M. A **Viticultura catarinense: diagnósticos, conclusões e sugestões**. EPAGRI, Florianópolis, 1994.
- Lovato, P. E.; Guillemain, J. P. & Gianinazzi, S. Application of commercial arbuscular endomycorrhizal fungal inoculants to the establishment of micropropagated grapevine rootstocks and pineapple plants. **Agronomie**, 12:873-880, 1992.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd. Edition. Academic Press, London.
- Petgen, M.; Schropp, A.; George, E. & Romheld, V. Influence of different inoculum places of the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on mycorrhizal colonization in grapevine rootstocks (*Vitis* sp). **Vitis**, 37(3): 99-105, 1998.
- Ravolanirina, F.; Gianinazzi, S.; Trouvelot, A & Carre, M. Production of endomycorrhizal explants of micropropagated grapevine rootstocks. **Agric. Ecosystems Environ.**, 29:323-327, 1989.
- 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.; Lopes, S. A.; Guilherme, L. R.; Faquin, V.; Furtinni, A. E. & Carvalho, J. G., eds. Soil fertility, soil biology and plant nutrition interrelationships. 1999.
- Schubert, A.; Bodrino, C. & Gribaudo, I. Vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) micropropagated plants. **Agronomie**, 12: 847-850, 1992.
- Siqueira, J. O. & Colozzi-Filho, A. Micorrizas vesiculo-arbusculares em mudas de cafeeiro II. Efeito do fósforo no estabelecimento e funcionamento da simbiose. **R. Bras. C. do Solo**, Campinas, 10:207-211, 1986.
- Siqueira, J. O. & Saggin Júnior. The importance of mycorrhizae association in natural

- low-fertility soils. In: Machado, A. T.; Magnavaca, R.; Pandey, S. & Silva, A. F. da, eds. Proceedings of International Symposium on Environmental Stress: Maize in perspective. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS; México: CIMMYT/UNDP, 1995. P. 239-280.
- Siqueira, O. S. & Franco, A. A. **Biotechnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília: Ministério da Educação, ABEAS; Lavras: ESAL, FAEPE, 236 p., 1988.
- Souza, C. A. S.; Carvalho, M. M.; Souza, P.; Carvalho, J. G. & Oliveira, E. Influência de micorrizas vesiculares-arbusculares no crescimento de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) em substrato com e sem matéria orgânica e diferentes doses de superfosfato simples. **Ciência e prática**, 11(2): 177-189, 1987.
- Trappe, J. M. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. **Ann. R. Phytopath.**, 15: p. 203-222, 1977.
- Trouvelot, A.; Kough, J. L. & Gianinazzi-Pearson, V. Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: Mycorhizes: physiologie et génétique. 1st ESM/1^{er} SEM, Dijon, 1-5 July 1985 - INRA, Paris, p 217-220, 1986.
- Uosukainen, M. & Vestberg, M. Effect of inoculation with arbuscular mycorrhizas on rooting, weaning and subsequent growth of micropropagated *Malus* (L.) Moench. **Agricultural Science in Finland**, 3:269-279, 1994.
- Vestberg, M. Arbuscular mycorrhizal inoculation of micropropagated strawberry and field observations in Finland. **Agronomie**, 12:865-867, 1992.
- Waschkies, C.; Schropp, A. & Marschner, H. Relations between grapevine replant disease and root colonization of grapevine (*Vitis* sp) by fluorescent pseudomonads and endomycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, 162(2): 219-227, 1994.
- Williams, S. C. K.; Vestberg, M.; Uosukainen, M.; Doss, J. C. & Jeffries, P. Effects of fertilizer and arbuscular mycorrhizal fungi on the *post-vitro* growth of micropropagated strawberry. **Agronomie**, 12: 851-857, 1992.