

Fungos micorrízicos arbusculares e vermicomposto na aclimação de *Alpinia purpurata* (Viell.) Schum e *Zingiber spectabile* Griff. (Zingiberaceae)

Maryluce Albuquerque da Silva¹, Fábio Sérgio Barbosa da Silva¹, Adriana Mayumi Yano-Melo¹, Nataniel Franklin de Melo² e Leonor Costa Maia^{1,3}

Recebido em 8/03/2005. Aceito em 17/08/2005

RESUMO – (Fungos micorrízicos arbusculares e vermicomposto na aclimação de *Alpinia purpurata* (Viell.) Schum e *Zingiber spectabile* Griff. (Zingiberaceae)). Visando selecionar fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e substratos para produção de mudas micropropagadas de alpinia (*Alpinia purpurata*) e sorvetão (*Zingiber spectabile*), conhecidas espécies ornamentais tropicais, foram inoculadas mudas com 1.500 propágulos infectivos de *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora longula*, em recipientes contendo: (a) solo; (b) solo e vermicomposto (3:1) e (c) solo, areia e vermicomposto (2:2:1). O delineamento foi inteiramente casualizado em fatorial de: quatro tratamentos de inoculação (três com FMA e controle não inoculado), três substratos, oito repetições, para cada vegetal. Após 70 (*Z. spectabile*) e 100 (*A. purpurata*) dias da inoculação, parâmetros de crescimento da planta foram avaliados tais como altura, número de folhas e perfílios, massa seca da parte aérea e subterrânea, área foliar, e ainda a colonização micorrízica e a esporulação dos FMA. Não houve interações significativas entre os FMA e os substratos testados. Em *A. purpurata* os dois substratos com vermicomposto promoveram maior desenvolvimento; em *Z. spectabile*, apenas o substrato com maior proporção do fertilizante orgânico induziu crescimento diferenciado. A aplicação de adubo reduziu a colonização micorrízica nos dois hospedeiros e a esporulação de *A. longula*. Na fase de aclimação, o uso de substratos orgânicos favorece a formação de mudas vigorosas de alpinia e sorvetão, mas pode ser prejudicial para a comunidade de FMA.

Palavras-chave: micropropagação, Glomeromycota, flores tropicais

ABSTRACT – (Arbuscular mycorrhizal fungi and the use of vermicompost on the acclimatization of *Alpinia purpurata* (Viell.) Schum and *Zingiber spectabile* Griff. (Zingiberaceae)). To select AMF and substrates that enhance production of micropropagated seedlings of *Alpinia purpurata* and *Zingiber spectabile*, tropical ornamental species, seedlings were inoculated with 1,500 infective propagules of *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* and *Acaulospora longula*, in pots containing: (a) soil; (b) soil and vermicompost (3:1); (c) soil, sand and vermicompost (2:2:1). The experimental design was completely randomized in a factorial of: four inoculation treatments (three with AMF and uninoculated control), three substrates, with eight replicates for each plant species. After 70 (*Z. spectabile*) and 100 (*A. purpurata*) days of inoculation, plant growth parameters such as height, leaf and offshoots number, dry mass of shoots and roots, leaf area, as well as mycorrhizal colonization, AMF sporulation were evaluated. Significant interactions were not observed between AMF and substrates. In *A. purpurata*, the two substrates with vermicompost promoted growth, while in *Z. spectabile* only the substrate with higher proportion of this compound enhanced plant growth. Use of vermicompost reduced mycorrhizal colonization in both hosts and the sporulation of *A. longula*. During the acclimatization period, application of organic amendment is useful to induce formation of healthy seedlings of *A. purpurata* and *Z. spectabile* but it may be harmful to the AMF community.

Key words: micropropagation, Glomeromycota, tropical flowers

Introdução

As plantas ornamentais tropicais possuem características únicas, tais como formas exóticas, durabilidade e alta produtividade, além de beleza peculiar. O mercado tem crescido, pois essas plantas têm boa aceitação e, por outro lado, há saturação na oferta de flores tradicionais (Lamas 2002).

Pernambuco é o maior Estado produtor de flores tropicais no Brasil, com registro de crescimento de cerca de 1.000% de 1994 a 1999 (Ferreira *et al.* 2002). Dentre as plantas ornamentais tropicais, duas são comumente produzidas e comercializadas: a *Alpinia purpurata* (Viell.) Schum (conhecida como alpinia ou Panamá) e *Zingiber spectabile* Griff. (conhecida como sorvetão).

¹ Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Micologia, Centro de Ciências Biológicas, CEP 50670-420, Recife, PE, Brasil

² Embrapa Semi-árido, BR 428, Km 152, Zona Rural, CEP 56302-970, Petrolina, PE, Brasil

³ Autor para correspondência: leonorcmaia@yahoo.com.br

A propagação vegetativa *in vitro* (micropropagação) permite a obtenção de grande número de indivíduos sadios e geneticamente homogêneos, em curto período de tempo, com alta produtividade e uso de pouco espaço físico (Carvalho 1999). Porém, o último estágio do processo (aclimação) é crítico, sendo muitas vezes fator limitante, pois as plantas obtidas são transplantadas para substratos desinfestados e transferidas para casa de vegetação (Debergh & Read 1991), passando assim de uma condição heterotrófica, onde cresciam em condições de umidade e luminosidade controladas, para uma condição autotrófica. É nessa fase que há necessidade da utilização de alternativas para minimizar o estresse produzido pelo transplante.

Micorrizas, formadas pela maioria das espécies vegetais, são associações entre raízes de plantas com certos fungos do solo. Nessa relação, a planta fornece fotossintatos para o fungo, que em troca cede nutrientes minerais do solo, deixando o vegetal em melhor condição nutricional e mais resistente a estresses de origem biótica e abiótica (Azcón-Aguilar & Barea 1997). O tipo mais comum de micorriza, sobretudo nas regiões tropicais, é aquele formado pelos fungos micorrízicos arbusculares (FMA).

Os FMA têm sido utilizados na produção de mudas, bem como na aclimação de plantas micropropagadas de diversas culturas, principalmente fruteiras, com respostas promissoras dos hospedeiros, pois um organismo benéfico está sendo reintroduzido na rizosfera (Lovato *et al.* 1996). O resultado da associação micorrízica é dependente da espécie de planta, do isolado de FMA, do substrato e das condições ambientais (Sato *et al.* 1999; Lins *et al.* 2003).

Os FMA podem influenciar o crescimento de plantas micropropagadas pela redução do bloqueio do crescimento apical (Naqvi & Mukerji 1998) e pela redução da relação entre parte aérea e radicular (Quatrini *et al.* 2003), afetando ainda a uniformidade (Rapparini *et al.* 1994), a sobrevivência (Varma & Schuepp 1994), e diminuindo o período de aclimação (Salamanca *et al.* 1992). Além desses efeitos benéficos, a micorrização aumenta a absorção de nutrientes, melhorando o estado geral da planta e, conseqüentemente, o crescimento, como observado em mudas de morangueiro, *Fragaria ananassa* Duch. (Borkowska 2002), bananeira, *Musa* spp. cv. Grand naine (Declerck *et al.* 2002) e macieira, *Prunus prunifolia* (Wild.) Borkh. (Locatelli & Lovato 2002).

Os substratos utilizados na aclimação podem influenciar a associação micorrízica e o desenvol-

vimento da planta, sendo muitas vezes favoráveis, quando aplicados em doses adequadas, como relatado em macieira, *Malus pumila* L. (Schubert & Lubraco 2000), bambu, *Dendrocalamus asper* Backer ex K. Heyne (Verma & Arya 1998) e bananeira variedade caipira (Trindade *et al.* 2003), ou desfavoráveis, como observado em *Gentiana verna* L. (Sýkorová *et al.* 2003). Em altas doses de P (> 250 mg kg⁻¹) mudas de citros micorrizadas apresentaram redução de crescimento quando comparadas com o controle (Sena *et al.* 2004). Assim, é importante a escolha de substratos e respectivos teores que sejam benéficos para determinada cultura, levando-se em consideração que o uso de fontes e doses impróprias podem comprometer os benefícios da micorrização.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da inoculação com três espécies de FMA e de substratos compostos na aclimação de *Alpinia purpurata* e *Zingiber spectabile*.

Material e métodos

Substrato – Foram utilizados três substratos (Tab. 1): (a) solo (camada superficial de latossolo vermelho amarelo, coletado na Estação Experimental de Bebedouro da Embrapa Semi-Árido); (b) solo, areia e vermicomposto (proveniente da compostagem de esterco bovino misturado com solo, utilizando-se minhocas) (2:2:1 v/v); (c) solo e vermicomposto (3:1 v/v), previamente (15 dias) desinfestados com Bromex® (98% brometo de metila e 2% de cloropicrina).

Material vegetal – Plântulas micropropagadas de *Alpinia purpurata* e *Zingiber spectabile*, originadas de planta matriz, foram multiplicadas em meio MS (Murashige & Skoog 1962) suplementado com 4 mg/L de BAP (6-benzilaminopurina) no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semi-Árido e transplantadas, no início do período de aclimação, para sacos pretos contendo 2 kg de cada substrato.

FMA – Foram utilizados propágulos de *Gigaspora albida* Becker & Hall (UFPE 01), *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann (UFPE 06) e *Acaulospora longula* Spain & Schenck (UFPE 21), mantidos no Banco de Inóculo de FMA da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). O inóculo foi multiplicado em vasos com areia e vermiculita (1:1 v/v) irrigados com solução nutritiva de Hoagland & Arnon, modificada por Jarstfer & Sylvia (1992), e suplementada com Tris-HCl (pH 6,5), tendo como hospedeiro *Panicum miliaceum* L. Após multiplicação, o número

Tabela 1. Quantidade de nutrientes e matéria orgânica (MO), valor de pH, capacidade de troca catiônica (CTC), extrato saturado (CE) e granulometria dos substratos utilizados na aclimação de *Alpinia purpurata* (Viell.) Schum e *Zingiber spectabile* Griff.

Substratos	Areia	Silte (%)	Argila	pH (H ₂ O-1:2,5)	P (mg dm ⁻³)	Na	K (cmol _c dm ⁻³)	Ca	Mg	CE (dS/m)	CTC (cmol _c dm ⁻³)	MO (g kg ⁻¹)
s	82	13	5	7,1	21	0,07	1,10	4,7	1,3	1,04	9,64	13,3
s:v (25%)	72	23	5	7,1	209	0,15	1,50	9,0	5,5	1,87	18,95	92,5
s:a:v (20%)	84	12	4	7,1	192	0,14	1,20	7,3	4,5	1,23	14,79	69,5

s = solo; s:v = solo e vermicomposto; s:a:v = solo, areia e vermicomposto

de propágulos infectivos de cada FMA foi avaliado pelo método de Feldmann & Idczak (1994). As plântulas foram inoculadas no momento do transplantio para condição *ex vitro* em potes (2 kg), sendo o solo-inóculo colocado na região próxima às raízes. Foram aplicados cerca de 1.500 propágulos infectivos de FMA por vaso, no respectivo tratamento. Com isso, as plântulas foram separadas em quatro grupos, sendo um não inoculado e três inoculados separadamente com os fungos mencionados.

Delineamento experimental – Para cada espécie vegetal, o delineamento experimental foi do tipo inteiramente casualizado, em arranjo fatorial de: três substratos (solo, solo e vermicomposto (25%)-3:1 e solo, areia e vermicomposto (20%)-2:2:1) × quatro tratamentos de inoculação (não inoculado e inoculado separadamente com *G. albida*, *G. etunicatum* e *A. longula*) com oito repetições, totalizando 96 parcelas experimentais por espécie vegetal.

Condições experimentais – O experimento foi realizado na casa de vegetação da Embrapa Semi-Árido, em Petrolina, Pernambuco, sob condições ambientais controladas (temperatura: 27 ± 2 °C; umidade relativa: 75%; luminosidade: 250 a 560 μmol.m⁻².s⁻¹).

Avaliação – Após 70 e 100 dias, respectivamente, em sorvetão e em alpinia, foram avaliados: altura, número de folhas e perfilhos, taxa de sobrevivência, massa seca da parte aérea e subterrânea, área foliar, colonização micorrízica e densidade de esporos de FMA. A biomassa seca foi obtida após secagem em estufa (65 °C) até peso constante. A colonização micorrízica foi estimada pelo método da interseção dos quadrantes (Giovannetti & Mosse 1980) em raízes coradas com Clorazol Black, 0,03% (Brundett *et al.* 1984). Os esporos de FMA foram extraídos do solo por decantação e peneiramento úmido seguido por centrifugação em água e sacarose (Gerdemann & Nicolson 1963; Jenkins 1964) e quantificados em

estereomicroscópio (40x). A área foliar foi estimada utilizando-se o aparelho Li 3100 (LI-Cor Inc. Lincon, Neb., USA).

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 (Statsoft 1997). Para análise, valores em percentual e em número de esporos foram transformados em arcoseno x/100 e de √x+2,5, respectivamente.

Resultados e discussão

Nenhuma das espécies de FMA utilizadas influenciou de forma significativa o crescimento das plantas; diferenças estatísticas foram observadas em relação aos substratos utilizados, com o vermicomposto favorecendo o desenvolvimento das duas espécies vegetais (Tab. 2). Resultados semelhantes foram encontrados por Lovato *et al.* (1994) em cereja selvagem (*Prunus avium* L.) inoculada com *Glomus intraradices* Schenck & Smith, onde apenas o substrato influenciou o desenvolvimento vegetativo. Por outro lado, em *Gentiana verna* L. nem a inoculação com FMA nem o uso de adubos orgânicos alterou a produção de biomassa vegetal (Sýkorová *et al.* 2003).

Os benefícios da micorrização são variados e dependentes do genótipo da planta e do fungo, modulados pelas condições edafoclimáticas (Lovato *et al.* 1996). Apesar de existirem relatos de benefícios da aplicação de FMA em plantas ornamentais, como *Gerbera* sp. (Sato *et al.* 1999), *Lilium* sp. (Varshney *et al.* 2002) e *Hydrangea* sp. (Varma & Schuepp 1994), tanto *A. purpurata* quanto *Z. spectabile* não foram beneficiados pela inoculação com FMA. É possível que essas duas espécies não sejam responsivas aos FMA, pelo menos nos estádios iniciais do crescimento. Por outro lado, os elevados teores de P, especialmente nos tratamentos adubados, podem ter contribuído

Tabela 2. Efeito do substrato sobre variáveis de crescimento em mudas de *Alpinia purpurata* (Viell.) Schum (alpinia) e *Zingiber spectabile* Griff. (sorvetão) micropropagadas e cultivadas em solo (s), solo e vermicomposto (s:v/ 3:1) e solo, areia e vermicomposto (s:a:v/ 2:2:1), após 70 (sorvetão) e 100 dias (alpinia) de aclimação (n = 8)

	Substratos		
	s	s:v (25%)	s:a:v (20%)
		Altura (cm)	
<i>Alpinia purpurata</i>	18,14 a	21,31 a	19,98 a
<i>Zingiber spectabile</i>	11,91 c	31,35 a	24,36 b
		Número de folhas	
<i>Alpinia purpurata</i>	12,63 b	26,55 a	25,87 a
<i>Zingiber spectabile</i>	6,28 c	17,71 a	12,25 b
		Número de perfilhos	
<i>Alpinia purpurata</i>	2,50 b	5,98 a	5,69 a
<i>Zingiber spectabile</i>	0,78 c	2,59 a	1,90 b
		Massa seca da parte aérea (g)	
<i>Alpinia purpurata</i>	0,69 b	1,59 a	1,47 a
<i>Zingiber spectabile</i>	0,24 c	1,51 a	0,77 b
		Massa seca da parte subterrânea (g)	
<i>Alpinia purpurata</i>	0,08 b	0,23 a	0,27 a
<i>Zingiber spectabile</i>	0,14 c	0,35 a	0,23 b
		Área foliar (cm ²)	
<i>Alpinia purpurata</i>	105,73 b	254,09 a	243,61 a
<i>Zingiber spectabile</i>	59,12 c	360,72 a	214,08 b

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

para ausência de respostas produzidas por FMA.

Nas mudas de *Z. spectabile*, o substrato com maior quantidade de vermicomposto (25%) resultou em melhores respostas de crescimento em todas as variáveis, diferindo significativamente dos outros dois tratamentos de substrato, que também diferiram entre si, sendo o crescimento favorecido pela presença de vermicomposto. As mudas de *A. purpurata* cultivadas nos dois substratos adubados com vermicomposto (nas proporções de 20 e 25%) também apresentaram maior desenvolvimento, com exceção da altura, do que o observado no tratamento sem adição de vermicomposto (Tab. 2). O solo, sem vermicomposto, foi o substrato menos favorável ao crescimento das espécies estudadas, com os resultados diferindo significativamente, para a maioria das variáveis de crescimento, dos obtidos nos demais substratos testados.

Não houve interações significativas entre a inoculação de FMA e os substratos, tanto para *A. purpurata* quanto para *Z. spectabile*. Do mesmo modo, em pessegueiros (*Prunus persica* (L.) Batsch. × *Prunus amygdalus* Stokes.) micropropagados, Estaun *et al.* (1999) observaram que três meses após a inoculação não havia interações significativas entre

FMA e o substrato de cultivo.

As altas doses de vermicomposto (20% e 25%) utilizadas podem ter inibido o estabelecimento da simbiose ativa, uma vez que os FMA inoculados não beneficiaram os hospedeiros testados. Trindade *et al.* (2003) observaram que o uso de doses reduzidas de esterco (5%) favoreceu a atuação de *Gigaspora margarita* Becker & Hall sobre o crescimento de bananeiras micropropagadas.

Algumas plantas necessitam de mais tempo para estabelecimento de simbiose efetiva, principalmente quando se utiliza substratos ricos em nutrientes, sendo este um fator importante a ser considerado na utilização de FMA. Em mudas de pessegueiro, respostas positivas em relação a substratos e à inoculação micorrízica foram registradas somente após sete meses, nas plantas associadas a *G. intraradices*, que apresentaram aumento de 40% em relação ao controle; aos 14 meses, todas as plantas inoculadas foram maiores que o controle, independentemente do substrato testado (Estaun *et al.* 1999). De modo similar, Fortuna *et al.* (1996) observaram que plantas micorrizadas de macieira (*Prunus prunifolia* (Wild.) Borkh.) e de ameixeira (*Prunus cerasifera* Ehrh.) apresentavam

crescimento similar ao controle não inoculado aos dois meses, com o efeito da micorrização sendo observado apenas depois de seis meses de iniciado o experimento. Estes resultados mostram que o efeito benéfico da simbiose pode aparecer em estádios mais tardios do desenvolvimento da planta, principalmente em substratos ricos em nutrientes. No presente experimento não houve possibilidade de estender a duração do experimento, pois as mudas estavam sendo aclimatadas e no tempo estabelecido para avaliação, plantas de ambas as espécies vegetais atingiram o tamanho necessário para o transplantio ao campo.

A percentagem de sobrevivência das mudas de *Z. spectabile* foi de 100% em todos os tratamentos com FMA e substrato, com exceção daquele com *G. etunicatum* em solo, onde apenas 85% das plantas sobreviveram. Isto indica que a inoculação com este fungo pode representar dreno adicional de fotossintatos, sem trazer benefícios para o vegetal associado, como observado por Locatelli & Lovato (2002), em mudas micropropagadas de macieira inoculadas com mistura de *Scutellospora pellucida* (Nicol. & Schenck) Walker & Sanders, *G. etunicatum* e *Glomus* sp.

Mudas de *A. purpurata* tiveram grande variação na taxa de sobrevivência, sendo esta diferenciada entre os substratos e entre os fungos. No tratamento sem FMA, a sobrevivência nos substratos com vermicomposto foi de 100% e em solo 87,5%. As mudas inoculadas com *G. albida* tiveram 50, 87 e 100%, com *G. etunicatum* 25, 75 e 75% e com *A. longula* 62, 87 e 100% de sobrevivência nos substratos solo, solo:vermicomposto e solo:areia:vermicomposto, respectivamente. Nem sempre a presença de FMA influencia a sobrevivência

de mudas, como observado em ameixeiras micropropagadas (Estaun *et al.* 1996).

Embora o uso de vermicomposto tenha favorecido o desenvolvimento das plantas, seu efeito sobre a colonização micorrízica foi reduzida em *A. purpurata*, com formação de estruturas fúngicas em quantidade significativamente superior nos tratamentos apenas com solo, sem adubo em relação aos demais tratamentos (Tab. 3). A colonização micorrízica mais pronunciada (40,3%) foi formada apenas por *G. albida* em *A. purpurata*, no tratamento não adubado, sendo que a colonização pelos outros fungos significativamente menor (33,12 e 28,33%, respectivamente com *A. longula* e *G. etunicatum*). Nos tratamentos com adição de vermicomposto, a colonização produzida pelos três FMA não diferiu (Tab. 3). Em contrapartida, as mudas de *Z. spectabile* associadas a *A. longula* tiveram a colonização micorrízica visivelmente prejudicada pela adubação orgânica, o que não ocorreu nos demais tratamentos de FMA (Tab. 4). De modo geral, a colonização produzida em *Z. spectabile* foi baixa (<10%, com exceção de tratamento com *A. longula*) e provavelmente por isso não se detectou possíveis diferenças na atuação dos FMA.

De modo geral, altos níveis de P no solo inibem a colonização e o desenvolvimento do FMA, bem como o estabelecimento da simbiose (Schubert & Martinelli 1988). No presente estudo, os elevados teores de P nos substratos com vermicomposto (Tab. 1) pode ter comprometido o estabelecimento do fungo na raiz. Varshney *et al.* (2002) observaram que houve redução na colonização micorrízica em plântulas de *Lilium* sp., quando cultivadas em substrato com elevados teores de P (14,6 mg kg⁻¹).

Tabela 3. Colonização micorrízica e produção de esporos de FMA associados a *Alpinia purpurata* (Viell.) Schum cultivada em solo (s), solo e vermicomposto (s:v) e solo, areia e vermicomposto (s:a:v), após 100 dias de aclimatação (n = 8).

	Substratos		
	s	s:v (25%)	s:a:v (20%)
	Colonização micorrízica (%)		
<i>Gigaspora albida</i>	40,30 aA	1,37 bA	0,59 bA
<i>Glomus etunicatum</i>	28,33 aB	2,12 bA	2,42 bA
<i>Acaulospora longula</i>	33,12 aB	0,53 bA	0,40 bA
	Número de esporos (50 g ⁻¹ solo)		
<i>Gigaspora albida</i>	7,25 aB	0,42 aA	0,50 aA
<i>Glomus etunicatum</i>	5,50 aB	0,33 aA	0,83 aA
<i>Acaulospora longula</i>	117,40 aA	0,28 bA	0,12 bA

Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Tabela 4. Colonização micorrízica e produção de esporos de FMA associados a *Zingiber spectabile* Griff. cultivada em solo (s), solo e vermicomposto (s:v) e solo, areia e vermicomposto (s:a:v), após 70 dias de aclimação (n = 8).

	Substratos		
	s	s:v (25%)	s:a:v (20%)
	Colonização micorrízica (%)		
<i>Gigaspora albida</i>	9,39 aA	2,35 aA	0,37 aA
<i>Glomus etunicatum</i>	5,74 aA	1,05 aA	0,14 aA
<i>Acaulospora longula</i>	18,51 aA	0,04 bA	0,21 bA
	Número de esporos (50 g ⁻¹ solo)		
<i>Gigaspora albida</i>	2,12 aB	0,50 aA	0,42 aA
<i>Glomus etunicatum</i>	0,12 aB	0,87 aA	0,37 aA
<i>Acaulospora longula</i>	25,25 aA	0,75 bA	0,87 bA

Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Houve correspondência entre a reduzida colonização e a ineficiência dos FMA utilizados. Em certos casos, mesmo produzindo elevada taxa de colonização das raízes o FMA não beneficiou o hospedeiro (Lovato *et al.* 1994), o que também ocorreu no presente estudo: as plantas de *A. purpurata* cultivadas em solo, sem adubo, apresentaram-se bem colonizadas, mas não tiveram o crescimento beneficiado pela presença do fungo micorrízico. Resultados semelhantes foram obtidos por Lovato *et al.* (1992) em mudas micropropagadas de videira (*Vitis vinifera* L.) e de abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merril.) inoculadas com AGC (inoculante comercial), as quais apresentaram elevada taxa de colonização micorrízica (93%), sem o conseqüente aumento no crescimento.

Nas duas espécies ornamentais estudadas, a presença de vermicomposto reduziu a esporulação de *A. longula*, enquanto os demais FMA tiveram a reprodução inalterada pela adição do adubo orgânico (Tab. 3 e 4). A adição de doses adequadas de matéria orgânica no substrato pode estimular a esporulação de FMA (Zambolim *et al.* 1992). A redução na reprodução de *A. longula* pode indicar sensibilidade deste fungo aos elevados teores de matéria orgânica e P presentes nos substratos com vermicomposto (Tab. 1). Esse comportamento é reforçado pela elevada esporulação desta espécie em solo sem adubo, em relação aos demais FMA estudados (Tab. 3 e 4). Ressaltando ainda, que representantes de Acaulosporaceae não têm sido referidas em solos submetidos à adubação orgânica (Douds Jr. *et al.* 1997).

Como observado, a aplicação dos FMA testados não se apresenta como alternativa para reduzir o tempo de aclimação e aumentar o crescimento de mudas

micropropagadas de alpinia e de sorvetão, enquanto o uso de substratos orgânicos favorece a formação de mudas dessas espécies ornamentais. Por outro lado, foi observado efeito negativo do vermicomposto sobre os FMA, sendo necessário portanto avaliar a relação custo × benefício da adição desse composto, considerando os danos que pode causar à comunidade de FMA, importante componente da microbiota do solo. Assim, a estratégia a ser adotada no campo deverá levar em conta que a adição de propágulos de FMA na área de cultivo e será mais efetiva se no substrato de produção não se incluir vermicomposto em doses elevadas.

Agradecimentos

À CAPES, pela concessão de Bolsas de Formação de Pesquisador (ME e DO) a Maryluce Albuquerque da Silva e Fábio Sérgio Barbosa da Silva; ao CNPq, pelo apoio financeiro e Bolsa de Produtividade concedida a Leonor Costa Maia; ao Laboratório de Biotecnologia e Microbiologia da Embrapa Semi-Árido, pelo apoio logístico para o desenvolvimento do trabalho.

Referências bibliográficas

- Azcón-Aguilar, C. & Barea, J.M. 1997. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. *Scientia Horticulturae* 68: 1-24.
- Borkowska, B. 2002. Growth and photosynthetic activity of micropropagated strawberry plants inoculated with endomycorrhizal fungi (AMF) and growing under drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 24(4): 365-370.

- Brundett, M.C.; Piché, Y. & Peterson, R.L. 1984. A new method for observing the morphology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. **Canadian Journal of Botany** **62**: 2128-2134.
- Carvalho, J.M.F.C. 1999. **Técnicas de micropropagação**. Documento 64. Embrapa Algodão, Campina Grande, Paraíba.
- Debergh, P.C. & Read, P.E. 1991. Micropropagation. Pp. 1-13. In: P.C. Debergh & R.H. Zimmerman (eds.). **Micropropagation: Technology and application**. London, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.
- Douds Jr., D.D.; Galvez, L.; Franke-Snyder, M.; Reiders, C. & Drinkwater, L.E. 1997. Effect of compost addition and crop rotation point upon VAM fungi. **Agriculture, Ecosystems and Environment** **65**: 257-266.
- Declerck, S.; Risede, J.M. & Delvaux, B. 2002. Greenhouse response of micropropagated bananas inoculated with "in vitro" monoxenically produced arbuscular mycorrhizal fungi. **Scientia Horticulturae** **93**: 301-309.
- Estaun, V.; Calvet, C. & Camprubi, A. 1996. Arbuscular mycorrhizae and growth enhancement of micropropagated *Prunus* rootstock in different soilless potting mixes. **Agricultural Science in Finland** **3**: 263-267.
- Estaun, V.; Calvet, C.; Camprubi, A. & Pinochet, J. 1999. Long-term effects of nursery starter substrate and AM inoculation of micropropagated peach x almond hybrid rootstock GF677. **Agronomie** **19**: 483-489.
- Feldmann, F. & Idczak, E. 1994. Inoculum production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for use in tropical nurseries. Pp.799-817. In: J.R. Norris; D. Read & A.K. Varma (eds.). **Techniques for Mycorrhizal Research. Methods in Microbiology**. London, Academic Press.
- Ferreira, A.; Souza Filho, I.C. & Albuquerque, S.R.C. 2002. Panorama global da floricultura em Pernambuco. Pp. 23-59. In: E. Ramos (ed.). **Floricultura em Pernambuco**. Recife, Edição Sebrae, Série Agronegócio.
- Fortuna, P.; Citernes, S.; Morini, S.; Vitagliano, C. & Giovannetti, M. 1996. Influence of arbuscular mycorrhizae and phosphate fertilization on shoot apical growth of micropropagated apple and plum rootstocks. **Tree Physiology** **16**: 757-763.
- Gerdemann, 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**(2): 235-244.
- Giovanetti, M. & Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist** **84**: 489-500.
- Jarstfer, A.G. & Sylvia, D.M. 1992. Inoculum production and inoculation strategies for vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. Pp. 349-377. In: **Soil Microbial Technologies: Applications in Agriculture, Forestry and Environmental Management**. New York, Ed. B. Metting. Marcel Dekker.
- Jenkins, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report** **48**(9): 692.
- Lamas, A.M. 2002. **Floricultura Tropical (técnicas de cultivo)**. Recife, Edição Sebrae, Série empreendedor.
- Lins, G.M.L.; Trindade, A.V. & Rocha, H.S. 2003. Utilização de *Gigaspora margarita* em plantas micropropagadas de bananeira em diferentes estádios de enraizamento. **Revista Brasileira de Fruticultura** **25**(1): 143-147.
- Locatelli, L.M. & Lovato, P.E. 2002. Inoculação micorrízica e aclimação de dois porta-enxertos de macieira micropropagados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **37**(2): 177-184.
- Lovato, P.E.; Gianinazzi-Pearson, V.; Trouvelot, A. & Gianinazzi, S. 1996. The state of art of mycorrhizas and micropropagation. **Advances in Horticultural Science** **10**: 46-52.
- Lovato, P.E.; Guillemin, J.P. & Gianinazzi, S. 1992. Application of commercial arbuscular endomycorrhizal fungal inoculants to the establishment of micropropagated grapevine rootstock and pineapple plants. **Agronomie** **12**: 873-880.
- Lovato, P.E.; Hammatt, N.; Gianinazzi-Pearson, V. & Gianinazzi, S. 1994. Mycorrhization of micropropagated mature wild cherry (*Punus avium* L.) and common ash (*Fraxinus excelsior* L.). **Agricultural Science in Finland** **3**: 297-301.
- Murashige, T. & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum** **15**: 473-497.
- Naqvi, N.S. & Mukerji, K.G. 1998. Mycorrhization of micropropagated *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. **Symbiosis** **24**: 103-114.
- Quatrini, P.; Gentile, M.; Carimi, F.; Pasquale, F. & Puglia, A.M. 2003. Effect of native arbuscular mycorrhizal fungi and *Glomus mosseae* on acclimatization and development of micropropagated *Citrus limon* (L.) Burm. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology** **78**(1): 39-45.
- Rapparini, F.; Baraldi, R.; Bertazza, G.; Branzanti, B. & Predieri, S. 1994. Vesicular arbuscular mycorrhizal inoculation of micropropagated fruit trees. **Journal of Horticultural Science** **69**(6): 1101-1109.
- Salamanca, C.P.; Herrera, M.A. & Barea, J.M. 1992. Mycorrhizal inoculation of micropropagated woody legumes used in revegetation programmes for desertified Mediterranean ecosystems. **Agronomie** **12**: 869-872.
- Sato, A.Y.; Nannetti, D.C.; Pinto, J.E.B.P.; Siqueira, J.O. & Blank, M.F.A. 1999. Fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de mudas de helicônia e gérbera micropropagadas. **Horticultura Brasileira** **17**(1): 25-28.
- Schubert, A. & Lubraco, G. 2000. Mycorrhizal inoculation enhances growth and nutrient uptake of micropropagated apple rootstock during weaning in commercial substrates of high nutrient availability. **Applied Soil Ecology** **15**: 113-118.
- Schubert, A. & Martinelli, A. 1988. Effect of vesicular arbuscular mycorrhizae on growth of "in vitro" propagated *Pistacia integerrima*. **Acta Horticulturae** **227**: 441-443.

- Sena, J.O.A.; Labate, C.A. & Cardoso, E.J.B.N. 2004. Caracterização fisiológica da redução de crescimento de mudas de citros micorrizadas em altas doses de fósforo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo** **28**: 827-832.
- Statsoft, 1997. **Statistica for Windows**. Tulsa: CD-ROM.
- Sýkorová, Z.; Rydlova, J. & Vosatka, M. 2003. Establishment of mycorrhizal symbiosis in *Gentiana verna*. **Folia Geobotanica** **38**: 177-189.
- Trindade, A.V.; Lins, G.M.L. & Maia, I.C.S. 2003. Substratos e fungo micorrízico arbuscular em mudas micropropagadas de bananeira na fase de aclimação. **Revista Brasileira de Fruticultura** **25**(1): 137-142.
- Varma, A. & Schuepp, H. 1994. Positive influence of arbuscular mycorrhizal fungus on *in vitro* raised Hortensia plantlets. **Angewandti Botanik** **68**: 108-115.
- Varshney, A.; Sharma, M.P.; Adholeya, A.; Dhawan, V. & Srivastava, P.S. 2002. Enhanced growth of micropropagated bulblets of *Lilium* sp. inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi at different P fertility levels in an alfisol. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology** **77**(3): 258-263.
- Verma, R.K. & Arya, I.D. 1998. Effect of arbuscular mycorrhizal fungal isolates and organic manure on growth and mycorrhization of micropropagated *Dendrocalamus asper* plantlets and on spore production in their rhizosphere. **Mycorrhiza** **8**: 113-116.
- Zambolim, L.; Reis, M.A. & Costa, L.M. 1992. Substratos para multiplicação de inóculo do fungo micorrízico vesículo-arbuscular *Glomus etunicatum*. **Fitopatologia Brasileira** **17**: 28-31.