

FÓSFORO ADICIONADO E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO CRESCIMENTO E NUTRIÇÃO MINERAL DE LIMOEIRO-CRAVO [*Citrus limonia* (L.) OSBECK]⁽¹⁾

R. MELLONI⁽²⁾, M. A. NOGUEIRA⁽³⁾,
V. F. FREIRE⁽⁴⁾ & E. J. B. N. CARDOSO⁽⁵⁾

RESUMO

Visando estudar a influência de fósforo adicionado e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) no crescimento e nutrição mineral de limoeiro-cravo, instalou-se um experimento em casa de vegetação, com delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6 x 3, sendo os fatores: (a) seis doses de P (0, 50, 100, 150, 200 e 250 mg kg⁻¹ de substrato) e (b) duas espécies de FMAs (*Glomus etunicatum* e *G. intraradices*) e um controle sem FMA, com três repetições, em vasos de 1,7 dm³ de substrato. Após cinco meses do transplântio das mudas de limoeiro-cravo, avaliaram-se a altura, diâmetro do caule, matéria seca da parte aérea das plantas, nutrientes acumulados na parte aérea e percentagem de colonização radicular. No substrato, avaliaram-se o comprimento de micélio extra-radicular ativo (MEA) e total (MET) de FMAs. O porta-enxerto limoeiro-cravo apresentou alta dependência micorrízica na absorção dos nutrientes, quando inoculado com *G. intraradices*, o que resultou em maior altura, diâmetro de caule e matéria seca da parte aérea das plantas. Apenas essa espécie de FMA formou micorriza com o hospedeiro, com valores de colonização radicular inversamente proporcionais às doses de P adicionado. Houve aumento de MEA e MET com o aumento das doses de P, com alta correlação entre o primeiro e a absorção de nutrientes. Apesar de não colonizar o hospedeiro, a infestação com *G. etunicatum* resultou em valores de MEA e MET superiores aos do controle, indicando, talvez, capacidade saprofítica desse fungo para sobreviver no substrato.

Termos de indexação: citros, micélio extra-radicular, *Glomus intraradices*, *Glomus etunicatum*.

⁽¹⁾ Trabalho Parcialmente apresentado no XIII CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DO SOLO, Águas de Lindóia, 1996. Recebido para publicação em fevereiro de 2000 e aprovado em junho de 2000.

⁽²⁾ Doutorando do Curso de Pós Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, Universidade Federal de Lavras – UFLA. Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras (MG). Bolsista CNPq. E-mail: rmelloni@ufla.br

⁽³⁾ Doutorando do Curso de Pós Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ. Caixa Postal 9, CEP 13418-900 Piracicaba (SP). Bolsista FAPESP. E-mail: nogueira@carpa.ciagri.usp.br

⁽⁴⁾ Professora do Departamento de Ciência do Solo da UFC, bolsista PICD-CAPE/USFC. E-mail: cris@ufc.br

⁽⁵⁾ Professora do Departamento de Solos e Nutrição de Plantas/ESALQ-USP, bolsista CNPq. E-mail: ejbncard@carpa.ciagri.usp.br

SUMMARY: *PHOSPHORUS LEVELS AND ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI ON GROWTH AND MINERAL NUTRITION OF Citrus limonia (L.) OSBECK*

The aim of this work was to evaluate the influence of P levels and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on growth and mineral nutrition of Citrus limonia. The experiment was conducted under greenhouse conditions, with a completely randomized 6 x 3 factorial design, with six P levels (0, 50, 100, 150, 200 and 250 mg kg⁻¹ of substrate), two species of AMF (G. etunicatum and G. intraradices) and a control without AMF, with three replicates per treatment, using 1.7 dm³ pots. Five months after transplanting, plants were assessed for height, stem diameter, shoot dry matter, shoot nutrient content, root colonization and substrate analysis for active (AEM) and total (TEM) extraradical AMF mycelium length. Citrus limonia presented high mycorrhizal dependence on nutrient absorption, mainly when inoculated with Glomus intraradices, which promoted greater plant height, larger stem diameter and greater shoot dry matter production. Only G. intraradices promoted detectable root colonization, with percent root colonization being inversely proportional to the applied P level. AEM and TEM increased in accordance with P levels, and high correlations were found between the former and nutrient absorption. Although no root colonization could be observed, G. etunicatum produced AEM and TEM, which may show a saprophytic capacity for survival in soil.

Index terms: citrus, extraradical mycelium, Glomus intraradices, Glomus etunicatum.

INTRODUÇÃO

O limoeiro-cravo é o porta-enxerto mais utilizado pelos citricultores brasileiros graças às suas qualidades de precocidade, produção elevada e constante, apesar da suscetibilidade à tristeza dos citros e ao declínio, responsáveis por grandes crises na citricultura nacional (Pompeu Jr, 1991). A pesquisa com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em mudas de espécies cítricas tem alcançado êxito no que diz respeito à aceleração do desenvolvimento vegetal, antecipação da enxertia e obtenção de plantas mais resistentes a estresses ambientais (Cardoso et al., 1986), podendo aumentar a lucratividade do produtor. Esses benefícios têm sido atribuídos principalmente à melhor absorção de nutrientes e água, resultado da extensa rede micelial que aumenta a zona de absorção radicular e o volume de solo explorado, geralmente limitados em citros.

Em condições controladas, Marschner & Dell (1994) verificaram que o micélio extra-radicular de FMAs pode ser responsável por cerca de 80% do P, 25 do N e Zn e 60 do Cu absorvidos pela planta. Os efeitos de FMAs no crescimento e produção de plantas, entre outros, estão diretamente relacionados com a maior absorção de nutrientes, especialmente aqueles de baixa mobilidade, como P e Zn (Cooper & Tinker, 1978).

A dependência micorrízica de algumas plantas é inversamente proporcional à disponibilidade de P, e esse pode ser considerado o fator que mais afeta as

micorrizas arbusculares (Cardoso et al., 1986; Siqueira & Colozzi-Filho, 1986). No entanto, é conveniente salientar que interações do genótipo do fungo e o da planta e destes com o ambiente são as determinantes da eficiência simbiótica. Percebe-se que diferentes espécies de FMAs podem comportar-se de maneira diferenciada no estabelecimento da simbiose com um mesmo hospedeiro, sob mesmas condições ambientais (Lambais & Cardoso, 1990; Paula et al., 1990; Lambais & Mehdy, 1996). Contudo, a causa dessa diferença de comportamento não é bem conhecida, apesar de pesquisas revelarem alto grau de "compatibilidade funcional" entre alguns simbiontes (Cardoso et al., 1986; Koide & Schreiner, 1992).

Oliveira & Jesus (1987), utilizando alguns porta-enxertos de citros em associação com FMAs, verificaram respostas diferenciadas de crescimento de acordo com os endófitos utilizados, tendo *Glomus intraradices* reduzido o crescimento do limoeiro-cravo quando a simbiose ocorria sob alta disponibilidade de P. Em condições de alta fertilidade do solo (principalmente P), têm-se verificado reduções no crescimento de várias espécies de plantas micorrizadas (Hall et al., 1984; Cardoso et al., 1986; Antunes & Cardoso, 1991).

A maioria dos estudos das associações micorrízicas aborda aspectos relacionados com a planta, poucos se referindo ao fungo envolvido, ou se limitando apenas a estudos de colonização radicular, subestimando o fato de ser a absorção de

P e de outros nutrientes um processo ativo, realizado pelo micélio extra-radicular ativo (Sanders et al., 1977). Estudos com avaliação de micélio extra-radicular de diferentes endófitos submetidos a doses de P podem ser encontrados em Nagahashi et al. (1996), Gomes (1997), Melloni & Cardoso (1999), Cardoso-Filho et al. (1999), Nogueira & Cardoso (2000), entre outros.

Várias hipóteses tentam explicar o efeito depressivo de FMAs no crescimento de plantas adequadamente adubadas. Dentre elas, destacam-se o dreno de carbono da planta para o fungo (Peng et al., 1993), a toxidez de P ou outros nutrientes (Antunes & Cardoso, 1991), as alterações na cinética de absorção de P em raízes micorrizadas (Silveira & Cardoso, 1990; Faquin et al., 1990) ou o desbalanço no comprimento de micélio extra-radicular ativo (MEA) e total (MET) de FMAs. Esse último causa a redução da absorção de nutrientes pela redução do MEA e mantém o dreno de carbono destinado ao endófito para a formação do MET (Gomes, 1997; Melloni & Cardoso, 1999).

Este trabalho teve por objetivo avaliar o crescimento e o acúmulo de nutrientes por mudas de limoeiro-cravo submetidas a doses de P e duas espécies de FMAs, cuja eficiência micorrízica foi relacionada com a variação do comprimento de MEA e MET no substrato.

MATERIAL E MÉTODOS

Instalou-se um experimento em delineamento inteiramente casualizado em casa de vegetação, em esquema fatorial 6 x 3, sendo os fatores: (a) seis doses de P nas formas de KH_2PO_4 e $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0, 50, 100, 150, 200 e 250 mg kg^{-1} de substrato) e (b) duas espécies de FMAs, *G. etunicatum* (Becker & Gerdemann) e *G. intraradices* (Schenck & Smith) e um controle sem fungo micorrízico, com três repetições por tratamento, em vasos de 1,7 dm^3 .

O substrato, caracterizado quimicamente, antes e depois da autoclavagem (Quadro 1), foi composto por três partes de um solo classificado como Areia Quartzosa, série Paredão Vermelho distrófico (Quartzipsamment), obtido na camada de 0-20 cm no município de Piracicaba (SP), para uma parte de areia de rio lavada e autoclavada a 121°C por duas horas, antes de receber calagem (elevação da saturação por bases a 65%, com calcário dolomítico PRNT 131%) e adubação de plantio [40 mg kg^{-1} de N na forma de NH_4NO_3 ; 45 mg kg^{-1} de Mg na forma de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 48 mg kg^{-1} de S na forma de $\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 50 mg kg^{-1} de K na forma de KCl, além de solução de micronutrientes (Cu, Zn, B, Mo e Fe-EDTA), conforme Antunes & Cardoso (1991)].

Após incubação por 15 dias e adição das doses de P, transplantou-se uma muda de limoeiro-cravo (*Citrus limonia*) com três meses de idade, simultaneamente à infestação do substrato com 20 g de solo rizosférico de *Brachiaria decumbens* micorrizada com *Glomus intraradices* ou *G. etunicatum*, pertencentes ao banco de inóculo do Laboratório de Microbiologia do Solo da ESALQ/USP. Duas adubações de N em cobertura (total de 80 mg kg^{-1} de N na forma de NH_4NO_3) foram realizadas 30 e 60 dias após o transplante, sendo a última realizada juntamente com a nova aplicação da solução de micronutrientes.

Após cinco meses do transplante, avaliaram-se a altura e o diâmetro do caule das plantas antes da sua colheita, seguindo-se determinação da matéria seca da parte aérea, percentagem de colonização radicular (Phillips & Hayman, 1970; Giovannetti & Mosse, 1980) e análise dos teores de P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn e Zn na parte aérea das plantas (EMBRAPA, 1997).

Com os resultados de produção de matéria seca da parte aérea, calculou-se a percentagem de dependência micorrízica (Bethlenfalvai et al., 1982), conforme os tratamentos, por meio da seguinte equação: [(MSPA da planta micorrizada - MSPA da planta não inoculada)/MSPA da planta não

Quadro 1. Características químicas do substrato antes (A) e depois (D) da autoclavagem

pH em CaCl_2	M.O.	P	S- SO_4	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H + Al	SB	T	V	m
	g dm^{-3}	mg dm^{-3}				mmolc dm^{-3}					%	
(A) 4,2	14	6	22,41	0,4	5	3	10	31	8	39	21	56
(D) 4,0	15	4	14,25	0,4	5	2	11	31	7	38	18	61
Micronutrientes + Na (mg kg^{-1})												
B		Cu		Fe		Mn		Zn		Na		
(A) 0,06		0,64		90		3,18		1,58		4,6		
(B) 0,03		0,42		93		10,92		1,62		4,6		

inoculada] x 100. Esse valor indica se houve aumento (valor positivo) ou redução (valor negativo) da produção de matéria seca quando da inoculação da planta com fungo micorrízico arbuscular, comparada àquela não inoculada (controle).

Amostras do substrato foram coletadas para extração e avaliação do comprimento de MEA e MET pelo método da fluorescência induzida com diacetato de fluoresceína (Schubert et al., 1987; Melloni & Cardoso, 1999). Não se fez a correção do comprimento de MEA e MET pela simples subtração dos valores encontrados nas amostras de solo infestadas com FMAs daqueles das amostras de solo-controle (recomendado por Abbott et al., 1984; Sylvia, 1988; Cardoso Filho et al., 1999). O motivo, conforme discutido em Melloni & Cardoso (1999) e Nogueira & Cardoso (2000), deve-se ao fato de não se conhecer bem as interações dos diferentes fungos (biotróficos obrigatórios e sapróbios) do solo, as quais alteram a proporção de cada um, conforme as condições ambientais.

Os resultados foram submetidos à análise de variância com testes de médias e regressão com auxílio do programa estatístico SANEST (Zonta et al., 1984), sendo os dados de percentagem de colonização radicular previamente submetidos à transformação $\text{arc sen } (x/100)^{1/2}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação de FMAs e doses de P para as variáveis altura, diâmetro do caule, matéria seca da parte aérea e percentagem de colonização radicular. Plantas inoculadas com *G. intraradices* apresentaram maior altura em todas as doses de P, enquanto as inoculadas com *G. etunicatum* não diferiram das não inoculadas em nenhuma dose (Figura 1a). Plantas inoculadas com *G. intraradices* apresentaram maior diâmetro do caule, principalmente nas doses menores que 100 mg kg⁻¹ de P, igualando-se àquelas inoculadas com *G. etunicatum* e não inoculadas, em doses superiores (Figura 1b).

Para matéria seca da parte aérea, a inoculação com *G. intraradices* também resultou em maiores valores em praticamente todas as doses de P, principalmente naquelas acima de 50 mg kg⁻¹, com comportamento expresso por equação quadrática e maior valor na dose estimada de 195 mg kg⁻¹ de P (Figura 1c). Plantas inoculadas com *G. etunicatum* não diferiram daquelas não inoculadas em todas as variáveis testadas, apresentando comportamentos semelhantes de acordo com as doses de P (Figuras 1a, 1b e 1c).

A resposta positiva do crescimento da planta com o aumento das doses de P já era esperada pelo fato de ser esse o único nutriente limitante no experimento.

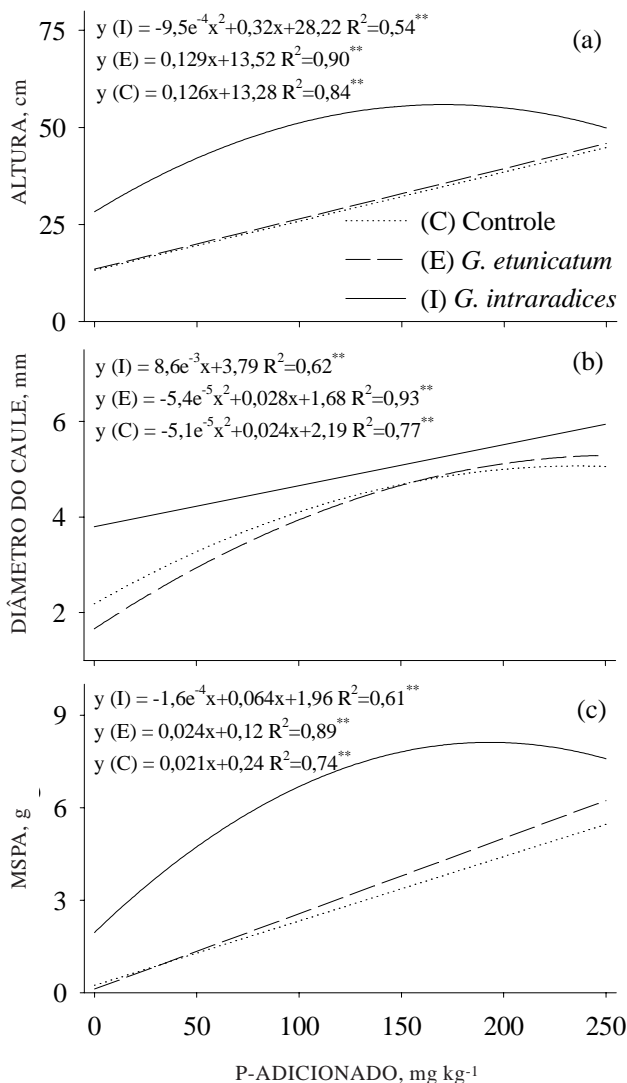


Figura 1. Altura (a), diâmetro do caule (b) e matéria seca da parte aérea (c) de plantas inoculadas com *G. etunicatum*, *G. intraradices* ou controle sem FMA, considerando as doses de P. * e ** significativos a 5 e 1%, respectivamente.

Para as doses de P testadas, não se verificou efeito negativo dos FMAs em relação ao controle, apesar da tendência observada de redução da matéria seca da parte aérea de plantas inoculadas com *G. intraradices* com o aumento das doses de P (Figura 1c). Em doses superiores às empregadas, poder-se-ia encontrar uma alteração do efeito micorrízico, passando de simbiótico para parasítico em plantas inoculadas com esse fungo, podendo levar a uma redução de seu crescimento, conforme observado por Antunes & Cardoso (1991), Peng et al. (1993), Gomes (1997), entre outros, utilizando outras espécies cítricas e FMAs.

O fato de não se ter verificado diferença significativa para as variáveis relacionadas com o crescimento entre plantas inoculadas com *G. etunicatum* e o controle sem FMA, em todas as doses de P, foi resultado da não-colonização do hospedeiro pelo FMA, cujas causas não puderam ser identificadas, uma vez que os propágulos utilizados na infestação do substrato apresentavam viabilidade, e o suposto elevado teor de Mn no substrato, disponibilizado pela autoclavagem, encontrava-se adequado para a cultura de citros (Malavolta et al., 1997) e sem efeito ao fungo, conforme trabalho anteriormente realizado por Antunes & Cardoso (1991).

Não houve colonização radicular de plantas inoculadas com *G. etunicatum* ou plantas-controle (não inoculadas). No entanto, verificou-se colonização radicular (mínimo de 25 e máximo de 41%) em plantas inoculadas com *G. intraradices*, cujo comportamento, considerando as doses de P, pôde ser expresso por equação linear decrescente ($\hat{Y} = -0,069x + 40,75$ $R^2 = 0,91^{**}$), mostrando grande sensibilidade desse endófito à disponibilidade de P, conforme também observaram Melloni & Cardoso (1999) e Gomes (1997).

O efeito negativo das doses de P na percentagem de colonização radicular de FMAs resultou no mesmo comportamento encontrado por Peng et al. (1993), Miranda & Harris (1994b), Nagahashi et al. (1996), Gomes (1997), Melloni & Cardoso (1999), Cardoso-Filho et al. (1999), Nogueira & Cardoso (2000). Esses autores destacaram hipóteses relacionadas com a redução da exsudação radicular pela interferência no desenvolvimento micelial (Miranda & Harris, 1994a); com a restrição da infecção micorrizica pela redução da permeabilidade da membrana das células das raízes (Miranda et al., 1989); com a variação do fluxo de carbono do hospedeiro ao endófito (Siqueira et al., 1984); com o aumento da atividade de endoquitinases e endoglucanases na planta pela redução da colonização radicular pelo FMA (Lambais & Mehdy, 1995), dentre outras.

Verificou-se interação significativa de FMA e doses de P no acúmulo dos nutrientes analisados na parte aérea (Figura 2). O comportamento do acúmulo dos nutrientes em plantas inoculadas com *G. intraradices* foi representado por equação quadrática, enquanto os de plantas-controle ou inoculadas com *G. etunicatum* apresentaram comportamentos semelhantes, representados por equações lineares ou quadráticas em função das doses de P. Plantas inoculadas com *G. intraradices* apresentaram maior acúmulo de nutrientes em relação àquelas com *G. etunicatum* ou controle, principalmente na dose igual ou inferior a 150 mg kg^{-1} de P. Acima dessa dose, para todos os nutrientes analisados, plantas inoculadas com *G. intraradices* tenderam a apresentar valores semelhantes ou inferiores aos de plantas-controle ou inoculadas com *G. etunicatum*.

Também foi encontrada interação significativa de FMAs e doses de P para as variáveis comprimento de MEA e MET. O efeito das doses de P no comprimento de MEA foi expresso por equação linear tanto para *G. intraradices* quanto para o controle sem FMA (Figura 3). Houve aumento dos valores dessa variável de acordo com as doses de P para *G. intraradices*, com resultados semelhantes aos encontrados por Gomes (1997), para o mesmo porta-enxerto e FMA, em maiores doses de P, e por Melloni & Cardoso (1999), para o porta-enxerto tangerineira-cléopatra inoculado com o mesmo fungo.

No substrato não infestado com FMAs (controle), apesar de ter sido autoclavado, foram encontradas hifas ativas, possivelmente de fungos sapróbios, provenientes de contaminação natural na casa de vegetação. Para *G. etunicatum*, não se verificou efeito das doses de P (Figura 3), apesar dos valores não diferirem estatisticamente daqueles apresentados por *G. intraradices* nas doses acima de 150 mg kg^{-1} de P. Foi observada a presença de hifas ativas no tratamento com *G. etunicatum* no substrato em todas as doses de P, porém sem ajuste significativo da equação de regressão. As hifas observadas podem ter sido provenientes do inóculo utilizado na infestação do substrato, o qual pode ter trazido, além de FMAs, outros fungos sapróbios, cujas hifas nem sempre podem ser diferenciadas visualmente daquelas originadas pelos primeiros (Abbott et al., 1984; Abbott & Robson, 1985; Sylvia, 1988). Outra hipótese é que este fungo poderia ter sobrevivido saprofiticamente no substrato, apesar de não haver estudos conclusivos sobre essa possibilidade em FMAs.

O efeito das doses de P no comprimento de MET foi representado por equação quadrática para *G. intraradices* e por equação linear para *G. etunicatum* (Figura 3). Observou-se, novamente, significativa presença de hifas no substrato infestado com *G. etunicatum* em todas as doses de P, intensificando a hipótese de saprofitismo para esta espécie nas condições experimentais. Contudo, deve-se admitir ser limitada a técnica utilizada para a visualização das estruturas desse fungo no interior das raízes, não possibilitando sua completa observação, como no caso do tratamento com *G. intraradices*. Pelo comportamento dessa variável em função das doses de P no substrato, observou-se que o comprimento de MET de *G. intraradices* foi inferior ao do controle nas doses entre 100 e 200 mg kg^{-1} de P, o qual, por sua vez, foi inferior aos valores observados no tratamento com *G. etunicatum*, em todas as doses de P.

Pressupõe-se uma inibição do desenvolvimento micelial de *G. intraradices* por outros fungos do solo, ressaltando que a micorrizosfera difere profundamente da rizosfera de plantas não micorrizadas (Silveira, 1992) e que outros métodos, como imunológicos (Wilson et al., 1983) ou moleculares (Di Bonito et al., 1995; Sanders et al., 1996; Colozzi Filho, 1999), seriam fundamentais na identificação segura dos fungos envolvidos.

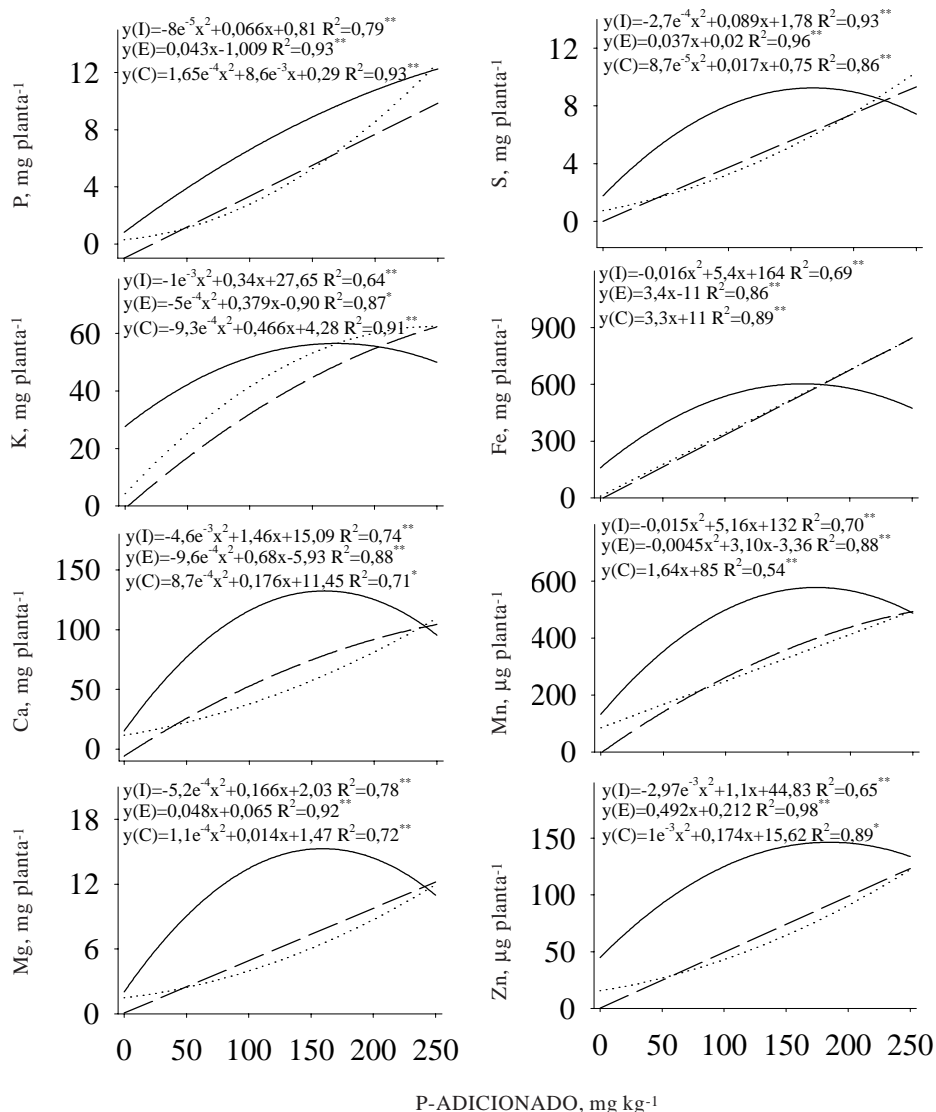


Figura 2. Nutrientes acumulados na parte aérea de limoeiro-cravo, considerando as doses de P. * e ** significativos a 5 e 1%, respectivamente.

Os aumentos de MET de FMAs com o incremento das doses de P também foram constatados por Gomes (1997) e Melloni & Cardoso (1999) em espécies cítricas, porém foram distintos dos resultados encontrados por Miranda & Harris (1994a,b), Miranda et al. (1989) e Nogueira & Cardoso (2000), os quais, embora utilizando outros hospedeiros, em alguns casos, observaram decréscimos da produção de MET com o aumento das doses de P.

A redução da matéria seca da parte aérea de plantas inoculadas com *G. intraradices* em doses acima de 195 mg kg⁻¹ de P (Figura 1c) pode ter sido resultado da redução da percentagem de colonização radicular, diminuindo a área de troca de metabólitos entre endófito e hospedeiro, que, juntamente com o

aumento do comprimento de MEA e MET (Figura 3) desse fungo, resultou em aumento da quantidade de fotoassimilados necessária para a manutenção dessas estruturas. Nesse caso, a presença do FMA nas maiores doses de P constituiu apenas um dreno de fotoassimilados, sem que houvesse benefício na absorção de nutrientes pelo hospedeiro.

Verificaram-se correlações positivas significativas entre MEA de *G. intraradices* e os nutrientes avaliados ($r = 0,80^*$ para P; $r = 0,72^*$ para K; $r = 0,81^*$ para S; $r = 0,71^*$ para Fe; $r = 0,75^*$ para Zn; $r = 0,74^*$ para Mn), exceto para Ca e Mg. Em relação a *G. etunicatum*, como já esperado pela não colonização do hospedeiro, não se verificaram correlações com os nutrientes, assemelhando-se ao controle sem FMA.

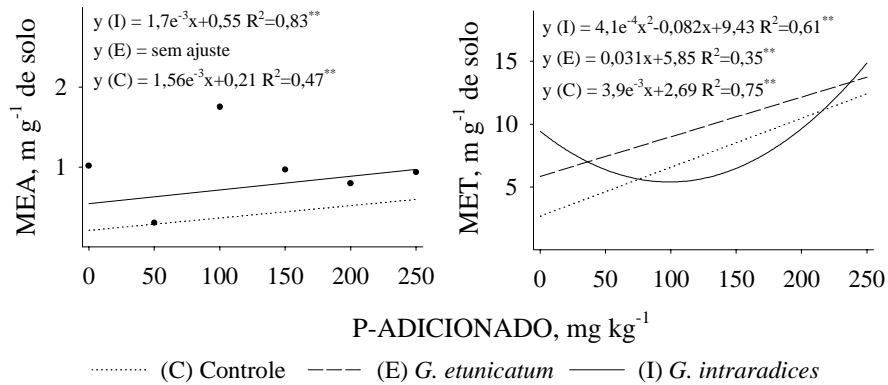


Figura 3. Comprimento de micélio extra-radicular ativo (MEA) e total (MET) de *G. etunicatum*, *G. intraradices* ou controle sem FMA, considerando as doses de P. * e ** significativos a 5 e 1%, respectivamente.

As correlações significativas positivas para MEA de *G. intraradices* e os nutrientes acumulados evidenciam ser esse porta-enxerto muito dependente da micorriza para a absorção de nutrientes, o que também foi observado por Gomes (1997), e muito semelhante ao porta enxerto tangerineira-cleópatra (Melloni & Cardoso, 1999). Calculando a percentagem de dependência micorrízica, verificou-se que esses valores decresceram com o aumento das doses de P no substrato (Quadro 2), comprovando o efeito negativo do aumento da disponibilidade do P na simbiose, fato muito discutido na literatura envolvendo micorrizas.

O limoeiro-cravo, quando inoculado com *G. etunicatum*, tendeu a apresentar valores negativos de dependência micorrízica, o que poderia ser interpretado como efeito negativo desse FMA na simbiose. Esse fato pode estar relacionado com os valores observados de comprimento de MEA e MET nesse tratamento em praticamente todas as doses de P (Figura 3), os quais consumiriam maior quantidade de fotoassimilados (maior dreno de carbono) e levariam a um menor desenvolvimento vegetativo do hospedeiro. Dentro dessa suposição, entretanto, seria necessário admitir relacionamento mais íntimo entre o endófito e a planta, apesar de não serem encontradas estruturas de colonização de FMA dentro da raiz. Conforme discutido anteriormente, pelo método de estudo utilizado, não foi possível assegurar se o micélio medido era de fato de *G. etunicatum*.

Não houve correlação entre o comprimento de MET e a quantidade acumulada de nutrientes na parte aérea, mostrando que sua absorção ocorre preferencialmente pelo MEA de FMAs, fato corroborado pelos trabalhos de Melloni & Cardoso (1999), dentre outros, mas são diferentes dos resultados de Schubert et al. (1987) e Miranda et al. (1989), os quais discutem a possibilidade de

translocação de P por corrente citoplasmática (Sylvia, 1988) e, ou, juntamente com o fluxo de água e solutos.

Verificou-se correlação negativa significativa entre MEA de *G. intraradices* e percentagem de colonização radicular ($r = -0,83^*$), de forma contrária aos resultados encontrados por Melloni & Cardoso (1999), com o mesmo fungo, no porta-enxerto laranjeira-caipira. Esse comportamento indica que o comprimento de MEA não está diretamente relacionado com o desenvolvimento de estruturas fúngicas intra-radulares, apesar de teoricamente se esperar que, com o aumento do comprimento de MEA, a quantidade de estruturas internas, como micélios e arbúsculos, também aumente, para que ocorram as trocas nutricionais entre os simbiontes (Sylvia, 1988).

Não se verificou correlação entre MEA e MET para os FMAs avaliados, exceto para os fungos sapróbios do tratamento-controle ($r = 0,94^{**}$),

Quadro 2. Dependência micorrízica do porta enxerto limoeiro-cravo, considerando os FMAs e as doses de P no substrato

Doses de P	Controle sem FMA	%	
		<i>G. etunicatum</i>	<i>G. intraradices</i>
mg kg ⁻¹			
0	0	21,21	363,64
50	0	-35,06	506,49
100	0	-33,83	131,45
150	0	37,74	149,86
200	0	129,17	91,67
250	0	-18,18	39,39

contrariando os resultados encontrados por Sylvia (1988) e indicando que a atividade do micélio de FMAs não depende do seu crescimento total e esse não depende da sua porção ativa.

CONCLUSÕES

1. O porta-enxerto limoeiro-cravo apresentou alta dependência micorrízica na absorção dos nutrientes P, K, S, Fe, Mn e Zn, destacando-se a contribuição do FMA *Glomus intraradices* no aumento dos valores de altura, diâmetro de caule e matéria seca da parte aérea, com maior valor para a última variável na dose estimada de 195 mg kg⁻¹ de P. Dessa forma, a inoculação das plantas com esse FMA, juntamente com o fornecimento de doses de P solúvel em torno de 200 mg kg⁻¹ de substrato, pode antecipar o período de enxertia e formar porta-enxertos mais vigorosos.

2. Apenas *G. intraradices* promoveu colonização radicular do hospedeiro, com valores inversamente proporcionais às doses de P aplicadas. Com o aumento das doses de P, houve aumento do comprimento de micélio extra-radicular ativo e total, com correlações significativas entre o primeiro e a absorção da maioria dos nutrientes.

3. *Glomus etunicatum* não colonizou o hospedeiro e sua inoculação não promoveu efeitos diferentes do controle sobre as variáveis estudadas. Apesar disso, o substrato infestado com esse fungo apresentou valores consideráveis de micélio extra-radicular ativo e total, indicando, talvez, capacidade saprofítica de sobrevivência no solo.

LITERATURA CITADA

- ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. & DE BOER, G. The effect of phosphorus on the formation of hyphae in soil by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus fasciculatum*. *New Phytol.*, 97:437-446, 1984.
- ABBOTT, L.K. & ROBSON, A.D. Formation of external hyphae in soil by four species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.*, 99:245-255, 1985.
- ANTUNES, V. & CARDOSO, E.J.B.N. Growth and nutrient status of citrus plants as influenced by mycorrhiza and phosphorus application. *Plant Soil*, 131:11-9, 1991.
- BETHLENFALVAY, G.J.; BROWN, M.S. & PACOVSKY, R.S. Relationships between host endophyte development in mycorrhizal soybean. *New Phytol.*, 90:537-542, 1982.
- CARDOSO, E.J.B.N.; ANTUNES, V.; SILVEIRA, A.P.D. & OLIVEIRA, M.H.A. Eficiência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em porta-enxertos de citros. *R. Bras. Ci. Solo*, 10:25-30, 1986.
- CARDOSO FILHO, J.A.; PACOVSKY, R.S. & CARDOSO, E.J.B.N. Growth and metabolic activity of the extramatrical mycelium of endomycorrhizal maize plants. *R. Bras. Ci. Solo*, 23:807-815, 1999.
- COLOZZI FILHO, A. Dinâmica populacional de fungos micorrízicos arbusculares no agrossistema cafeeiro e adubação verde com leguminosas. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1999. 106p. (Tese de Doutorado)
- COOPER, K.M. & TINKER, P.B. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. II. Uptake and translocation of phosphorus, zinc and sulphur. *New Phytol.*, 81:43-52, 1978.
- DI BONITO, R.; ELLIOT, M.L. & DES JARDIN, E.A. Detection of an arbuscular mycorrhizal fungus in roots of different plant species with the PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61:2809-2810, 1995.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solos. 2.ed. Rio de Janeiro, 1997. 212p.
- FAQUIN, V.; MALAVOLTA, E. & MURAOKA, T. Cinética de absorção de fosfato em soja sob influência de micorriza vesículo-arbuscular. *R. Bras. Ci. Solo*, 14:41-48, 1990.
- GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, 84:489-500, 1980.
- GOMES, V.F.F. Desenvolvimento de fungos micorrízicos arbusculares em três espécies de porta-enxertos cítricos sob níveis de fósforo. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1997. 89p. (Tese de Doutorado)
- HALL, I.R.; JOHNSTONE, P.D. & DOLBY, R. Interactions between endomycorrhizas and soil nitrogen and phosphorus on the growth of ryegrass. *New Phytol.*, 97:447-453, 1984.
- KOIDE, R.T. & SCHREINER, R.P. Regulation of vesicular arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Biol.*, 43:557-581, 1992.
- LAMBAIS, M.R. & CARDOSO, E.J.B.N. Response of *Stylosanthes guianensis* to endomycorrhizal fungi inoculation as affected by lime and phosphorus applications. I. Plant growth and development. *Plant Soil*, 129:283-289, 1990.
- LAMBAIS, M.R. & MEHDY, M.C. Different expression of defense-related genes in arbuscular mycorrhiza. *Can. J. Bot.*, 73:533-40, 1995.
- LAMBAIS, M.R. & MEHDY, M.C. Soybean roots infected by *Glomus intraradices* strains differing in infectivity exhibit differential chitinase and b-1,3-glucanase expression. *New Phytol.*, 134:531-538, 1996.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C. & OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba, POTAFOS, 1997. 319p.
- MARSCHNER, H. & DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil*, 159:89-102, 1994.

- MELLONI, R. & CARDOSO, E.J.B.N. Quantificação de micélio extra-radicular de fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas. II. Comparação entre diferentes espécies cítricas e endófitos. R. Bras. Ci. Solo, 23:59-67, 1999.
- MIRANDA, J.C.C.; HARRIS, P.J. & WILD, A. Effects of soil and plant phosphorus concentrations on vesicular-arbuscular mycorrhiza in sorghum plants. New Phytol., 112:405-410, 1989.
- MIRANDA, J.C.C. & HARRIS, P.J. Effects of soil phosphorus on spore germination and hyphal growth of arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol., 128:103-108, 1994a.
- MIRANDA, J.C.C. & HARRIS, P.J. The effect of soil phosphorus on the external mycelium growth of arbuscular mycorrhizal fungi during the early stages of mycorrhiza formation. Plant Soil, 166:271-80, 1994b.
- NAGAHASHI, G.; DOUDS Jr., D.D. & ABNEY, G.D. Phosphorus amendment inhibits hyphal branching of the VAM fungus *Gigaspora margarita* directly and indirectly through its effect on root exudation. Mycorrhiza, 6:403-408, 1996.
- NOGUEIRA, M.A. & CARDOSO, E.J.B.N. Produção de micélio externo por fungos micorrízicos arbusculares e crescimento da soja em função de doses de fósforo. R. Bras. Ci. Solo, 24:329-338, 2000.
- OLIVEIRA, A.A.R. & JESUS, I.S. Efeito da infecção por fungos micorrízicos vesicular-arbusculares sobre o desenvolvimento de porta-enxertos de citros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9., Campinas, 1987. Anais. Campinas, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1987. p. 319-325.
- PAULA, M.A.; SIQUEIRA, J.O. & HOSHIKA, E. Crescimento, nutrição e produção de soja inoculada com populações de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares. R. Bras. Ci. Solo, 14:151-156, 1990.
- PENG, S.; EISSENSTAT, D.M.; GRAHAM, J.H.; WILLIAMS, K. & HODGE, N.C. Growth depression in mycorrhizal citrus at high-phosphorus supply. Plant Physiol., 101:1063-1071, 1993.
- PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc., 55:158-60, 1970.
- POMPEU Jr., J. Porta-enxertos. In: RODRIGUES, O.; VIÉGAS, F. & POMPEU Jr., J. Citricultura brasileira. Campinas, Fundação Cargill, 1991. p.265-280.
- SANDERS, F.E.; TINKER, P.B.; BLACK, R.L.B. & PALMERLEY, S.M. The development of endomycorrhizal root systems. I. Spread of infection and growth-promoting effects with four species of vesicular-arbuscular endophyte. New Phytol., 78:257-268, 1977.
- SANDERS, I.R.; CLAPP, J.P. & WIEMKEN, A. The genetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in natural ecosystems- a key to understanding the ecology and functioning of the mycorrhizal symbiosis. New Phytol., 133:123-134, 1996.
- SCHUBERT, A.; MARZACHÍ, C.; MAZZITELLI, M.; CRAVERO, M.C. & BONFANTE-FASOLO, P. Development of total and viable extraradical mycelium in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus clarum* Nicol. & Schenck. New Phytol., 107:183-90, 1987.
- SILVEIRA, A.P.D. & CARDOSO, E.J.B.N. Efeito de MVA e rizóbio nos parâmetros cinéticos de absorção radicular de ³²P pela soja. In: SIMPÓSIO LATINOAMERICANO DE MICORRIZAS, 1., Havana, 1990. Anais. Havana, 1990. p.13.
- SILVEIRA, A.P.D. Micorrizas. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. & NEVES, M.C., eds. Microbiologia do solo. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.257-282.
- SIQUEIRA, J.O. & COLOZZI-FILHO, A. Micorrizas vesículo-arbusculares em mudas de cafeeiro. II. Efeito do fósforo no estabelecimento e funcionamento da simbiose. R. Bras. Ci. Solo, 10:207-211, 1986.
- SIQUEIRA, J.O.; HUBBELL, D.H. & VALLE, R.R. Effects of phosphorus on formation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Pesq. Agropec. Bras., 19:1465-1474, 1984.
- SYLVIA, D.M. Activity of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Biol. Biochem., 20:39-43, 1988.
- WILSON, J.M.; TRINICK, M.J. & PARKER, C.A. The identification of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi using immunofluorescence. Soil Biol. Biochem., 15:439-45, 1983.
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. & SILVEIRA Jr., P. Sistema de análises estatísticas para microcomputadores (SANEST). Pelotas, Universidade Federal de Pelotas, 1984. 151p.

