

# Inoculação com fungos micorrízicos promove desenvolvimento de *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns durante a fase de aclimatização

 [João Ricardo Gonçalves de Oliveira](#)<sup>1,4</sup>,  [Nataniel Franklin de Melo](#)<sup>2</sup> e  [Adriana Mayumi Yano-Melo](#)<sup>3</sup>

**Como citar:** Oliveira, J.R.G., Melo, N.F., Yano-Melo, A.M. 2023. Inoculação com fungos micorrízicos promove desenvolvimento de *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns durante a fase de aclimatização. Hoehnea 50: e442022. <https://doi.org/10.1590/2236-8906e442022>

**ABSTRACT** – (Inoculation with mycorrhizal fungi promotes development of *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns during acclimatization). The aim of this work was to evaluate the efficiency of native and exotic isolates of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in promoting the growth of micropropagated seedlings of *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns during the acclimatization phase. The experiment was conducted in the greenhouse in an entirely randomized design with three inoculation treatments; *Entrophospora etunicata* (autochthonous), *Acaulospora longula* (exotic) and a non-inoculated control group. Seedlings were acclimated in soil and vermiculite (2:1 v/v) in 10 repetitions for each treatment totaling 30 experimental plots. At the end of the experiment, mycorrhized *P. simplicifolium* seedlings presented better development than those not inoculated. Although the inoculum with native AMF of *E. etunicata* was more efficient in colonizing the plants, the increments in leaf area, fresh and dry biomass were similar to those provided by the exotic AMF species (*A. longula*). It is concluded that during the acclimatization phase, *P. simplicifolium* seedlings present great vegetative development when mycorrhized, regardless of the origin of the fungal isolates tested in this study.

**Keywords:** Caatinga, imbiruçu, *in vitro* propagation, native plants

**RESUMO** – (Inoculação com fungos micorrízicos promove desenvolvimento de *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns durante a fase de aclimatização). O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de isolados nativos e exóticos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na promoção do crescimento de plântulas micropropagadas de *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns durante a fase de aclimatização. O experimento foi realizado em casa de vegetação em delineamento inteiramente casualizado em três tratamentos de inoculação; *Entrophospora etunicata* (autóctone), *Acaulospora longula* (exótico) e um grupo testemunha não inoculado. As plântulas foram aclimatizadas em solo e vermiculita (2:1 v/v) em 10 repetições para cada tratamento totalizando 30 parcelas experimentais. Ao final do experimento, mudas de *P. simplicifolium* micorrizadas apresentaram melhor desenvolvimento comparado às não inoculadas. Apesar do inóculo com FMA nativo de *E. etunicata* ter sido mais eficiente em colonizar as plantas, os incrementos na área foliar, biomassa fresca e seca foram similares aos proporcionados pela espécie exótica de FMA (*A. longula*). Conclui-se que durante a fase de aclimatização, mudas de *P. simplicifolium* têm o desenvolvimento vegetativo beneficiado pela micorrização, independente da origem dos isolados fúngicos testados nesse estudo.

**Palavras-chave:** Caatinga, imbiruçu, plantas nativas, propagação *in vitro*

## Introdução

O imbiruçu, *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns é uma espécie arbórea endêmica da Caatinga e, portanto,

restrita à região nordeste do Brasil (Duarte 2015). Pertencente à família Malvaceae, possui tronco característico, composto por uma espessa camada de súber que se divide verticalmente e revela um córtex verde subjacente (Mahr

1. Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Departamento de Biologia Molecular, Conj. Pres. Castelo Branco III, s/n, 58051-900 João Pessoa, PB, Brasil
2. Embrapa Semiárido, Laboratório de Biotecnologia, Rodovia BR-428, Km 152, Zona Rural, 56302-970 Petrolina, PE, Brasil
3. Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Colegiado de Zootecnia, Rodovia BR 407, km 12, Lote 543, Projeto de Irrigação Nilo Coelho, s/nº, “C1”, 56300-990 Petrolina, PE, Brasil
4. Autor para correspondência: [jrgoliveira@yahoo.com.br](mailto:jrgoliveira@yahoo.com.br)

2009). As raízes apresentam uma estrutura denominada xilopódio, que tem por finalidade o armazenamento de água e nutrientes como possível adaptação a condições de déficit hídrico, situação recorrente em áreas com clima semiárido, como a Caatinga (Melo *et al.* 2012). As sementes possuem elevado valor econômico, podendo servir como fonte de renda alternativa, mesmo considerando o grande esforço de coleta devido à sua distribuição esparsa e escassez de exemplares (Santo *et al.* 2010). Vale salientar que a pressão antrópica imposta à Caatinga (Tabarelli & Silva 2003), aliada à característica da espécie de apresentar crescimento lento, tem levado *P. simplicifolium* a uma condição de vulnerabilidade ambiental, como ocorre com outras plantas nativas do bioma (Castelletti *et al.* 2003).

Embora a participação de espécies autóctones no sistema de produção florestal seja ainda pequena, é amplamente reconhecido que espécies nativas com potencial econômico e ecológico devem ser preservadas e/ou reintroduzidas ao ambiente (Sato *et al.* 2001). Um dos principais motivos que limita o uso de espécies nativas é a dificuldade na germinação de sementes como também o enraizamento de estacas. Apesar dos limitados protocolos de micropropagação e estimulação da rizogênese (Kielse *et al.* 2009), o aperfeiçoamento da produção de mudas de espécies nativas através da micropropagação torna-se uma alternativa viável, principalmente pela produção em curto espaço de tempo e em qualquer época do ano de um grande número de indivíduos de boa qualidade fitossanitária e autenticidade varietal (Maciel *et al.* 2000).

A eficiência da micropropagação envolve a fase de aclimatização que, por se tratar de etapa de transição da condição heterotrófica para autotrófica, é considerada crítica para o sucesso da técnica. O cultivo *in vitro* além de patógenos, também elimina da planta os microorganismos simbiotes como os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) que, quando reintroduzidos na aclimatização, proporcionam aumento na taxa fotossintética (Singh *et al.* 2012), sobrevivência (Yadav *et al.* 2013), trazendo maior desenvolvimento vegetativo e acúmulo de nutrientes (Oliveira *et al.* 2011). Ressalta-se ainda que a origem autóctone e/ou exótica do isolado de FMA pode influenciar os benefícios dessa associação. Por exemplo, na aclimatização de *Kalopanax septemlobus* (Aggangan & Moon 2013) e *Gloriosa superba* L. (Yadav *et al.* 2013) foi demonstrado maior benefício de isolados autóctones e recentemente Hernández-Cuevas *et al.* (2023) relataram que os benefícios proporcionados pelos FMA independem da origem do isolado.

Embora alguns trabalhos de micropropagação e aclimatização tenham sido conduzidos com espécies lenhosas da Caatinga (Kielse *et al.* 2009, Campos *et al.* 2013, Andrade *et al.* 2000), não há registros do uso de FMA nessas espécies. Considerando que plantas micorrizadas na fase de aclimatização alcançam percentuais de sobrevivência maiores do que plantas não micorrizadas (Aggangan &

Moon 2013, Yadav *et al.* 2013), a aplicação de FMA nesta fase poderá ser vantajosa.

Desta forma, este trabalho é pioneiro e teve como objetivo determinar a eficiência de isolados (nativo e exótico) de FMA na promoção do crescimento de *P. simplicifolium* durante a fase de aclimatização.

## Material e métodos

**Local do experimento e espécie vegetal em estudo** – O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semiárido, Petrolina, Estado de Pernambuco, a partir de sementes de *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns, coletadas no campo experimental da unidade (latitude 09°13'S e longitude 40°29'O, 377 m.s.m.).

**Desinfestação de sementes e germinação *in vitro*** – Para obtenção de plântulas assépticas, inicialmente, todas as sementes de *P. simplicifolium* foram lavadas em solução de água destilada esterilizada (ADE) contendo três gotas de detergente Tween 20, durante 30 minutos, sendo em seguida, enxaguadas três vezes por cinco minutos em ADE. Posteriormente, as sementes foram submetidas a tratamentos distintos de desinfestação: T1 – 1% de Kasumin® (C<sub>14</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub> – fungicida/bactericida e antibiótico sistêmico) e 20% (v/v) de solução comercial de hipoclorito de sódio (NaClO), durante 20 minutos; T2 – 2% de Kasumin® e 20% (v/v) de solução comercial de NaClO durante 20 minutos. Ao final as sementes foram lavadas três vezes em ADE acrescida 0,1 g L<sup>-1</sup> de polivinilpirrolidona – C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>NO (PVP) e inoculadas em potes plásticos contendo meio WPM suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 6,5 g L<sup>-1</sup> de ágar, sendo o pH ajustado para 5,9 antes da autoclavagem.

Cada tratamento foi composto por 20 repetições com três sementes cada, totalizando 60 sementes por tratamento. O experimento foi conduzido em sala de crescimento com condições de temperatura de 25±3 °C, fotoperíodo de 16 horas e radiação fotossintética ativa de 45-60 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> fornecidos por lâmpadas do tipo fluorescente branca fria.

Aos trinta dias foram avaliados os percentuais de germinação e contaminação sendo os dados transformados em arco seno  $\sqrt{x/100}$ , para satisfazer a homogeneidade de variância. Visto que os dados não apresentaram distribuição normal, a comparação foi realizada por teste não paramétrico de Mann-Whitney T (p≤0,05), utilizando-se o programa R (R Team Core 2021).

**Aclimatização com fungos micorrízicos arbusculares (FMA)** – As plantas obtidas assepticamente da germinação *in vitro* (figura 1), foram retiradas dos potes plásticos de cultivo e lavadas em ADE até completa remoção do meio de cultura, sendo selecionadas, independente do tratamento de desinfestação, 30 plântulas que apresentavam tamanho, comprimento radicular e número de folhas similar, para padronização do experimento.



Figura 1. Plantulas de *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns germinadas *in vitro* após 30 dias de inoculação em meio WPM.

Figure 1. *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns seedlings germinated *in vitro* after 30 days of inoculation in WPM culture media.

As plântulas foram submetidas a uma pré-aclimatização, sendo transplantadas para copos plásticos de 300 mL contendo vermiculita de granulação média autoclavada. Estes copos foram cobertos individualmente por sacos plásticos (miniestufas) e permaneceram em casa de vegetação sob condições ambientais controladas de radiação global (17,20 MJ m<sup>-2</sup>dia<sup>-1</sup>), temperatura (24,43 °C) e umidade do ar (63,71%). Nesta fase a irrigação foi realizada conforme a necessidade, por meio de aspersão manual e a cada sete dias foi adicionado, para cada planta, cerca de 10 mL de solução nutritiva (Hoagland & Arnon 1950 modificada) em 50% da concentração inicial e sem adição de fósforo.

Após 30 dias, as plantas pré-aclimatizadas foram distribuídas em sacos de 1,5 kg de capacidade contendo solo (Argissolo) e vermiculita (2:1 v/v) previamente autoclavados. A aplicação dos FMA foi realizada com cerca de 200 glomerosporos na região radicular na forma de solo-inóculo do isolado autóctone de *Entrophospora etunicata* (= *Claroideoglossum etunicatum* (W.N. Becker & Gerd.) Blaszk., Niezgodna, B.T. Goto & Magurno [UNIVASF06] e exótico de *Acaulospora longula* Spain e Shenck [UNIVASF12]. Estes isolados pertencem ao banco de inóculo da Univasf e foram multiplicados em casa de vegetação, em vasos contendo areia:solo (1:1 v/v) previamente desinfectados, tendo como hospedeiro o sorgo (*Sorghum bicolor* [L.] Moench.). Os isolados foram mantidos em geladeira (cerca de 5 °C) até o momento de utilização. UNIVASF06 foi isolado de área com cultivo de banana (*Musa* sp. cv. Pacovan) (Yano-Melo *et al.* 1997) e previamente testado em plantas nativas da Caatinga (Oliveira *et al.* 2015, 2017, Teixeira-Rios *et al.* 2016, Pedone-Bonfim *et al.* 2018, Honorato *et al.* 2020) e em bananeira (Yano-Melo *et al.* 1999). O isolado UNIVASF12 é proveniente

da coleção URM-UFPE (URM-AMF07) e foi testado em plantas nativas da Caatinga (Oliveira *et al.* 2015, Honorato *et al.* 2020) e feijão-caupi (Lino *et al.* 2022). Nos tratamentos controle foram adicionados 2,0 mL de filtrado (45 µm) do solo-inóculo, oriundo do peneiramento dos inóculos testados (20 g dos inóculos em 200 mL de ADE), visando equilibrar a microbiota do solo, excluindo os FMA.

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação sob condições ambientais controladas de radiação global (17,20 MJ m<sup>-2</sup>dia<sup>-1</sup>), temperatura (24,43 °C) e umidade do ar (63,71%) e conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos: Controle (não inoculado); inoculado com *E. etunicata* ou *A. longula* em 10 repetições, totalizando 30 parcelas experimentais.

A cada 30 dias da aclimatização foram avaliados: altura, número de folhas e diâmetro do caule e, ao final do experimento (90 dias), foi determinada a taxa de sobrevivência, área foliar, biomassa fresca e seca da parte aérea e radicular, colonização micorrízica, número de glomerosporos e incremento proporcionado pelos FMA.

Para determinação da biomassa seca, todas as folhas e raízes de *P. simplicifolium* foram colocadas em estufa (65 °C) até a obtenção do peso constante. A colonização micorrízica foi estimada pelo método da interseção dos quadrantes de Giovannetti & Mosse (1980), após diafanização das raízes com KOH 10% e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10% (v/v), acidificação em HCl 1% com posterior coloração em azul de Trypan (0,05%) em lactoglicerol (Phillips & Hayman 1970 modificado). Os glomerosporos foram extraídos do solo por meio das técnicas de decantação e peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson 1963), seguido de centrifugação em água e sacarose (40% p/v e 2500 rpm) (Jenkins 1964 modificado). O número de glomerosporos foi obtido após contagem em placas canaletadas, ao estereomicroscópio (40 x). A área foliar foi obtida utilizando-se o aparelho Li 3100 (LI-Cor Inc. Lincon, Neb., USA) e para determinação do incremento proporcionado pelos FMA, foi utilizada a fórmula de Weber *et al.* (2004) adaptada:  $I (\%) = [(Tr - T) T^{-1}] \times 100$ , onde; I (%) = incremento da variável; Tr = valor médio para o tratamento inoculado; T = valor médio do tratamento não inoculado.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), utilizando-se o programa assistat software 7.7 (Silva & Azevedo 2016).

## Resultados e discussão

Desinfestação de sementes e germinação *in vitro* – Os tratamentos de desinfestação aplicados às sementes de *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns não diferiram estatisticamente entre si (41% e 36%), de forma que podem ser considerados parcialmente eficientes no controle de contaminantes (tabela 1). Trabalhos similares com sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King) (Couto *et al.* 2004,

Tabela 1. Percentual de germinação e contaminação de plântulas de *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns após 30 dias de inoculação em meio WPM.

Table 1. Percentage of germination and contamination of *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns seedlings after 30 days of inoculation in WPM culture medium.

Tratamento	Germinação (%)	Contaminação (%)
1% Kasumin® + 20% NaClO	41 a	41 a
2% Kasumin® + 20% NaClO	22 a	36 a
CV (%)	53	40

Médias (transformadas em arco seno  $\sqrt{x/100}$ ) seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Mann-Whitney ( $P>0,05$ ).

Pereira *et al.* 2021) e angico-branco [*Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan] (Nascimento *et al.* 2007) ressaltam que a composição e/ou concentração de agentes desinfestantes, além do tempo de exposição, tipo de semente e sensibilidade do tecido, podem determinar a eficiência do processo e ter efeito na germinação.

Constata-se que o aumento na concentração do fungicida e bactericida sistêmico Kasumin® de 1 para 2% pode ter afetado a germinação (41% e 22% respectivamente), pois mesmo não havendo diferença significativa entre os tratamentos (tabela 1), estes percentuais são inferiores aos obtidos por Souza *et al.* (1980), que observaram que sementes armazenadas até cinco meses em diferentes condições apresentaram média de 85% de germinação. Porém é importante ressaltar que a germinação pode ser afetada pela maturidade das sementes, conforme demonstrado por Lopes *et al.* (2008), que encontraram maiores percentuais de germinação (cerca de 90%) de sementes de *P. grandiflorum* providas de frutos deiscentes (80 dias). Esses autores também demonstraram a influência do substrato na germinação, desta forma, os menores percentuais na germinação de *P. simplicifolium* alcançados em nosso estudo em comparação ao obtido por Souza *et al.* (1980) devem considerar estes aspectos e também as condições do experimento e controle local.

Embora a utilização de fungicidas e antibióticos, adicionados diretamente ao meio de cultura ou no preparo do material propagativo em soluções de limpeza, para o controle e/ou erradicação de micro-organismos contaminantes seja usual (Grattapaglia & Machado 1998), concentrações elevadas podem proporcionar toxidez aos tecidos vegetais (Pereira & Fortes 2003) além de diminuir a capacidade germinativa (Hass *et al.* 2022). Destaca-se ainda, que o estudo conduzido em campo por Juliatti *et al.* (2014) demonstrou que o uso de Kasumin® não causa efeito fitotóxico em milho e nem redução da produção de grãos. Porém, em condições de cultivo *in vitro*, Santos *et al.* (2019) observaram que o efeito de kasugamicina (princípio ativo do Kasumin) sobre o estabelecimento de segmentos nodais de bambu pode variar entre as espécies estudadas. Dessa forma, para controle de contaminantes da espécie

em estudo é necessária adequação nos tratamentos, além de estudos que possam confirmar os efeitos das doses desta substância na germinação e desenvolvimento, contribuindo na proposição de estratégias favoráveis ao estabelecimento das plantas em campo.

Aclimatização com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) – A partir de 60 dias da aclimatização observa-se que as plantas de *P. simplicifolium* micorrizadas por *E. etunicata* tiveram melhor desenvolvimento que o controle não inoculado, especialmente em relação ao número de folhas e diâmetro do caule. Incremento nos valores médios dessas variáveis a partir da inoculação com *A. longula* foi observado somente aos 90 dias, a exemplo do verificado com *E. etunicata*, diferindo significativamente do controle não inoculado (tabela 2). O aumento no desenvolvimento de plantas com uso de FMA na fase de aclimatização tem sido relatado, enfatizando o benefício da utilização destes micro-organismos simbiotes na promoção do crescimento das mais variadas espécies vegetais (Chandra *et al.* 2010). Trabalhos com espécies lenhosas nativas da Caatinga como aroeira – *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Andrade *et al.* 2000), angico – *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan (Kielse *et al.* 2009) e umburana de cheiro – *Amburana cearensis* (Allem.) A.C. Smith (Campos *et al.* 2013), sem utilização de FMA, mostram baixa sobrevivência dessas espécies durante a fase de aclimatização. Os resultados deste trabalho indicam, no entanto, que plantas lenhosas da Caatinga podem ser beneficiadas pela micorrização durante aclimatização.

Outro benefício proporcionado pela micorrização de *P. simplicifolium* foi o desenvolvimento pronunciado do xilopódio, que aumentou a produção de biomassa fresca radicular (tabela 3), possivelmente pelo maior acúmulo de água e nutrientes. O maior desenvolvimento do xilopódio aumenta, ainda mais, a capacidade adaptativa dessa planta às condições de estresse hídrico e pode estar diretamente relacionada a modificações fisiológicas induzidas pela micorrização, especialmente em relação ao balanço hídrico (Augé 2001) e translocação de nutrientes do solo para as células hospedeiras, como observado por Yadav *et al.* (2013) em plantas de *Gloriosa superba* L.

Tabela 2. Altura, número de folhas e diâmetro do caule de plantas de *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns associadas ou não com *Entrophospora etunicata* e *Acaulospora longula* após 30, 60 e 90 dias de aclimatização em casa de vegetação.

Table 2. Height, number of leaves and stem diameter of *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns plants associated or not with *Entrophospora etunicata* and *Acaulospora longula* after 30, 60 and 90 days of acclimatization in a greenhouse.

Tratamento	Tempo (dias)		
	30	60	90
	<b>Altura (cm)</b>		
Controle	6,25 a	9,43 a	9,56 b
<i>E. etunicata</i>	5,62 a	9,12 a	14,36 a
<i>A. longula</i>	5,12 a	6,55 a	12,20 ab
CV (%)	22,04	16,65	25,40
	<b>Número de folhas</b>		
Controle	5,25 a	7,12 b	7,87 b
<i>E. etunicata</i>	5,25 a	10,25 a	15,00 a
<i>A. longula</i>	6,25 a	9,75 ab	12,37 a
CV (%)	25,48	25,75	27,84
	<b>Diâmetro (mm)</b>		
Controle	1,60 a	2,92 b	4,39 b
<i>E. etunicata</i>	1,57 a	3,63 a	4,48 a
<i>A. longula</i>	1,61 a	3,31 ab	5,93 a
CV (%)	12,47	14,06	19,45

Médias seguidas da mesma letra na coluna em cada parâmetro e período de avaliação, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Tabela 3. Área foliar, número de glomerosporos, colonização micorrízica e biomassa fresca e seca, aérea e radicular de plantas de *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns associadas ou não com *Entrophospora etunicata* e *Acaulospora longula*, após 90 dias de aclimatização em casa de vegetação.

Table 3. Leaf area, number of glomerospores, mycorrhizal colonization and fresh and dry, aerial and root biomass of *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns plants associated or not with *Entrophospora etunicata* and *Acaulospora longula*, after 90 days of acclimatization in a greenhouse.

Tratamento	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Número de glomerosporos (50 g <sup>-1</sup> solo)	Colonização micorrízica (%)	Biomassa fresca		Biomassa seca	
				aérea (g)	radicular (g)	aérea (g)	radicular (g)
Controle	68,72 b	00,00 b	00,25 c	02,20 b	06,20 b	00,69 b	02,04 a
<i>E. etunicata</i>	279,86 a	32,87 a	95,25 a	07,14 a	12,08 a	01,80 a	02,78 a
<i>A. longula</i>	193,41 ab	19,25 a	69,62 b	04,98 ab	10,14 ab	01,40 ab	02,88 a
CV (%)	55,21	35,59	22,48	53,66	34,92	47,09	42,80

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Médias de Colonização micorrízica transformadas em  $\arcsen \sqrt{x/100}$

Médias de Número de glomerosporos transformados em  $\log(x + 1)$

O inóculo de *E. etunicata* se mostrou mais infectivo, alcançando colonização micorrízica (95,25%) estatisticamente superior ao de *A. longula* (69,62%). No entanto, o benefício proporcionado pelos inóculos de FMA

às plantas de *P. simplicifolium* foi similar nos parâmetros de área foliar, biomassa fresca e seca da parte aérea e biomassa fresca radicular (tabela 3).

Semelhante ao observado neste trabalho, Meddad-Hamza *et al.* (2010) verificaram que maior taxa de colonização micorrízica em plantas de oliveira (*Olea europaea* L.) não resultou em maior eficiência na promoção do crescimento vegetal, concluindo que o sucesso da utilização de FMA no processo de aclimatização não depende exclusivamente do percentual de colonização micorrízica, mas da eficiência do fungo. Da mesma forma, Thonar *et al.* (2011) demonstraram que embora a colonização radicular em plantas de *Medicago truncatula* Gaertn. promovida por *Rhizoglyphus intraradices* (= *Glomus intraradices*) (85%) tenha sido maior do que a observada com *Entrophospora clarioideum* (= *Glomus clarioideum*) (41%) e *Gigaspora margarita* (54%), a eficiência em promover o crescimento e absorver P era similar entre os gêneros de *Rhizoglyphus* e *Entrophospora*, demonstrando que os FMA podem apresentar mecanismos distintos para beneficiar as plantas. Nesse sentido, além de selecionar FMA que tenham maior eficiência em promover o crescimento e aquisição de P, na aplicação destes fungos deve se considerar a escolha de combinações mais favoráveis dos simbiontes, de forma que o fluxo de carbono entre eles permita maior desenvolvimento vegetal.

O isolado de *Entrophospora etunicata* (= *Clarioideoglyphus etunicatum*) [UNIVASF06] utilizado neste trabalho vem se mostrando um eficiente inoculante com resultados positivos na promoção do desenvolvimento vegetal (Yano-Melo *et al.* 2003), inclusive durante a aclimatização (Yano-Melo *et al.* 1999, Oliveira *et al.* 2010, Oliveira *et al.* 2011). Apesar de não diferir estatisticamente dos resultados obtidos com o inóculo exótico de *A. longula*, os valores de incremento observados para os parâmetros de área foliar (307,24%), biomassa fresca aérea (224,54%) e radicular (94,83%), além da biomassa seca aérea (160,86%), superam os obtidos com *A. longula* em mais de 50%. Outros trabalhos evidenciam os benefícios da utilização de isolados autóctones durante a fase de aclimatização, especialmente quando se trata da sobrevivência do hospedeiro (Aggangan & Moon 2013) do desenvolvimento vegetativo (Meddad-Hamza *et al.* 2010) e do acúmulo de substâncias bioativas (Yadav *et al.* 2013).

Embora as plantas de *P. simplicifolium* inoculadas com o isolado de FMA autóctone não tenham diferido estatisticamente nos parâmetros vegetativos, como também observado por Oliveira *et al.* (2017), as vantagens de sua aplicação podem se estender ao momento do transplante, pois a aplicação de isolados autóctones pode contribuir na manutenção das propriedades biológicas do solo ao longo do tempo, garantindo funcionalidade às comunidades vegetais (Barea *et al.* 2011), especialmente na condição semiárida da Caatinga onde essa associação vem garantindo a resiliência das espécies vegetais (Pereira *et al.* 2020).

Neste sentido, trabalhos futuros que avaliem o estabelecimento no campo e crescimento das plantas de *P. simplicifolium* micorrizadas por FMA autóctones no

semiárido brasileiro podem contribuir para mensurar as vantagens da escolha de FMA nativos na recuperação e conservação do bioma Caatinga.

## Conclusões

Os tratamentos de desinfestação nas concentrações de Kasumin® utilizadas, eliminam parcialmente os contaminantes de sementes de *Pseudobombax simplicifolium* S. Robyns;

Durante a fase de aclimatização, plantas de *P. simplicifolium* submetidas a inoculação micorrízica apresentam melhor desenvolvimento vegetativo comparado às não inoculadas;

O isolado autóctone de *Entrophospora etunicata* (= *Clarioideoglyphus etunicatum*) [UNIVASF06] se mostrou mais infectivo, contudo os benefícios ao desenvolvimento vegetativo das plantas de *P. simplicifolium* foram similares aos promovidos pelo isolado exótico (*Acaulospora longula* Spain e Shenck [UNIVASF12]).

## Agradecimentos

Ao CNPq (Processo 562637/2010-9), pelo auxílio financeiro e concessão de bolsa de doutorado (Oliveira, J.R.G.) e Bolsa PQ (Yano-Melo, A.M. – Processo 314078/2021-5 e Melo, N.F. – Processo 306505/2022-3). Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos (PPGBF-UFPE). À Embrapa Semiárido, pelo uso de suas instalações. A toda equipe do Laboratório de Microbiologia da Univasf/CCA e Biotecnologia da Embrapa Semiárido, em especial aos alunos: Alan da Cunha Honorato e Jéssica Coelho Valeriano, pelo apoio e empenho.

## Contribuição dos Autores

**João Ricardo Gonçalves de Oliveira:** Contribuição substancial em todas as etapas da pesquisa e para a confecção intelectual do manuscrito; revisou e aprovou a versão final do manuscrito.

**Natoniel Franklin de Melo:** Contribuição na organização experimental e revisão crítica do manuscrito, agregando conteúdo intelectual; revisou e aprovou a versão final do manuscrito.

**Adriana Mayumi Yano-Melo:** Coordenação da pesquisa, contribuição intelectual e revisão do manuscrito; revisou e aprovou a versão final do manuscrito.

## Conflitos de Interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse a informar.

## Literatura citada

- Andrade, M.W., Luz, J.M.Q., Lacerda A.S. & Melo, P.R.A.** 2000. Micropropagação da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All). *Ciência Agrotécnica* 24: 174-180.
- Aggangan, N.S. & Moon, Heung-Kyu.** 2013. The effects of soil sterilization, mycorrhizal inoculation, and rates of phosphorus on growth and survival of *Kalopanax septemlobus* microplants during the acclimatization period. *Plant Biotechnology Reports* 7:71-82.
- Augé, R.M.** 2001. Water relations, drought and VA mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11: 3-42.
- Barea, J.M., Palenzuela, J., Cornejo, P., Sánchez-Castro, I., Navarro-Fernández, C., Lopéz-García, A., Estrada, B., Azcón, R., Ferrol, N. & Azcón-Aguilar, C.** 2011. Ecological and functional roles of mycorrhizas in semi-arid ecosystems of Southeast Spain. *Journal of Arid Environment* 75: 1292-1301.
- Campos, V.C.A., Lima-Brito A., Gutierrez, I.E.M., Santana, J.R.F. & Souza, A.V.V.** 2013. Micropropagação de umburana de cheiro. *Ciência Rural* 43(4): 639-644.
- Castelletti, C.H.M., Silva, J.M.C. Tabarelli, M. & Santos, A.M.M.** 2003. Quanto ainda resta da Caatinga? Uma estimativa preliminar. In: J.M.C. Silva, M. Tabarelli, M.T. Fonseca, & L.V. Lins (org.). *Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação*. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, Universidade Federal de Pernambuco, pp. 91-100.
- Chandra, S., Bandopadhyay, R., Kumar, V. & Chandra R.** 2010. Acclimatization of tissue cultured plantlets: from laboratory to land. *Biotechnology Letters* 32:1199–1205.
- Couto, J.M.F., Otoni, W.C., Pinheiro, A.L. & Fonseca, E.P.** 2004. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King). *Revista Árvore* 28(5): 633-642.
- Duarte, M.C.** 2015. *Pseudobombax*: Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB25763> (acesso em 17-IIX-2022).
- Grattapaglia, D. & Machado, M.A.** 1998. Micropropagação. In: A.C. Torres, & L.S. Caldas (eds.). *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa-CNPq, pp. 183-260.
- Hass, O.O., Ornellas, T.S. & Bittencourt, R.** 2022. Propagação *in vitro* de *Colubrina glandulosa* Perkins: espécie nativa com potencial para programas de reflorestamento. *Ciência Florestal* 32(1) 287-308.
- Hernández-Cuevas, L.V., Salinas-Escobar, L.A., Segura-Castruita, M.Á., Palmeros-Suárez, P.A. & Gómez-Leyva, J.F.** 2023. Physiological responses of *Agave maximiliana* to inoculation with autochthonous and allochthonous arbuscular mycorrhizal fungi. *Plants* 12(3): 535.
- Hoagland, D.R. & Arnon, D.I.** 1950. The water culture method for growing plants without soils Berkeley: California Agricultural Experimental Station.
- Honorato, A.C., Oliveira, J.R.G., Passos, A.M. & Yano-Melo, A.M.** 2020. Mycorrhizal inoculation on the production of seedlings of native Caatinga species. *Floram* 27(2): e20171240.
- Juliatti, F.C., Beloti, I.F., Juliatti, B.C.M. & Crato, F.F.** 2014. Eficácia da associação de fungicidas e antibióticos no manejo da mancha branca do milho e seu efeito na produtividade. *Bioscience Journal* 30(6):1622-1630.
- Kielse, P., Franco, E.T.H., Paranhos, J.T. & Lima, A.P.S.** 2009. Regeneração *in vitro* de *Parapiptadenia rigida*. *Ciência Rural* 39(4): 1098-1104.
- Lino, I.A.N., Silva, D.K.A., Martins, L.M.V., Maia, L.C. & Yano-Melo, A.M.** 2022. Microbial inoculation and fertilizer application on growth of cowpea and spore-based assemblages of arbuscular mycorrhizal fungi in its rhizosphere. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 94(4): e20201243.
- Lopes, J.C., Matheus, M.T., Corrêa, N.B. & Silva, D.P.** 2008. Germinação de sementes de embiruçu (*Pseudobombax grandiflorum* (Cav.) A. Robyns) em diferentes estádios de maturação e substratos. *Floresta* 38(2): 331-337.
- Maciel, A.L.R., Silva, A.B. & Pasqual, M.** 2000. Aclimação de plantas de violeta (*Saintpaulia ionantha* Wendl) obtidas *in vitro*: efeitos do substrato. *Ciência Agrotécnica* 24: 9-12.
- Mahr, D.L.** 2009. Some Succulent Trees of Bahía and Minas Gerais, Brazil. *Cactus and Succulent Journal* 81(3): 138-146.
- Meddad-Hamza, A., Beddiar, A., Gollotte, A., Lemoine, M. C., Kuszala, C. & Gianinazzi, S.** 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth of olive trees and their resistance to transplantation stress. *African Journal of Biotechnology* 9(8): 1159-1167.
- Melo, A.P.C., Seleguini, A., Castro, M.N., Meira, F.A., Gonzaga, J.M.S. & Haga, K.I.** 2012. Superação de dormência de sementes e crescimento inicial de plântulas de umbuzeiro. *Semina: Ciências Agrárias* 33(4): 1343-1350.
- Nascimento, P.K.V., Franco, E.T.H. & Frassetto, E.G.** 2007. Desinfestação e Germinação *in vitro* de sementes de *Parapiptadenia rigida* Bentham (Brenam). *Revista Brasileira de Biociências* 5(2): 141-143.
- Oliveira, J.R.G., Morais, T.A.L., Melo, N.F. & Yano-Melo, A.M.** 2010. Fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias promotoras de crescimento na aclimatização de *Zingiber spectabile*. *Bragantia* 69(3): 687-694.
- Oliveira, J.R.G., Morais, T.A.L., Melo, N.F. & Yano-Melo, A.M.** 2011. Acclimatization of *Tapeinochilos ananassae* plantlets in association with arbuscular mycorrhizal fungi. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 46(9):1099-1104.



- Oliveira, J.R.G., Silva, E.M., Teixeira-Rios, T., Melo, N.L. & Yano-Melo, A.M.** 2015. Response of an endangered tree species from Caatinga to mycorrhization and phosphorus fertilization. *Acta Botanica Brasilica* 29(1): 94-102.
- Oliveira, J.R.G., Resende, G.M., Melo, M.F. & Yano-Melo, A.M.** 2017. Symbiotic compatibility between arbuscular mycorrhizal fungi (autoctone or exotic) and three native species of the Caatinga in different phosphorus levels. *Acta Scientiarum Biological Sciences* 39(1): 59-69.
- Pedone-Bonfim, M.V.L., Silva, D.K.A., Silva-Batista, A.R., Oliveira, A.P., Almeida, J.R.G.S., Yano-Melo, A.M. & Maia, L.C.** 2018. Mycorrhizal inoculation as an alternative for the sustainable production of *Mimosa tenuiflora* seedlings with improved growth and secondary compounds content. *Fungal Biology* 122(9): 918-927.
- Pereira, J.E.S. & Fortes, G.R.L.** 2003. Toxicidade de antibióticos no cultivo *in vitro* da batata em meios semi-sólido e líquido. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 38(11): 1273-1279.
- Pereira, S., Inara, R.L., Tabarelli, M. & Santos, M.G.** 2020. Intense mycorrhizal root colonization in a human-modified landscape of the Caatinga dry forest. *Forest Ecology and Management* 462: e117970.
- Pereira, C.D., Bernini, C.S., Jantsch, M.G., Medeiros, R.A. & Moura, L.C.** 2021. Germinação e propagação *in vitro* de mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King). *Nativa*, Sinop 9(5): 595-599.
- R CORE TEAM.** 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em <https://www.R-project.org/>. (acesso em 30-I-2023).
- Santo, F.S.E., Siqueira-Filho, J.A., Melo-Junior, J.C.F., Gervasio, E.S. & Oliveira, A.M.B.** 2010. Quanto vale as sementes da caatinga? Uma proposta metodológica. *Revista Caatinga* 23(3): 137-144.
- Santos, D.W.R.D., Rucker, T.P., Ornellas, T.S. & Guerra, M.P.** 2019. Effects of a commercial biocide, kasugamycin and consistency of the culture medium on the *in vitro* establishment of bamboo. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 49: e55435.
- Sato, A.Y., Dias, H.C.T., Andrade, L.A. & Souza, V.C.** 2001. Micropropagação de *Celtis* Sp: Controle da contaminação e oxidação. *Cerne* 7(2): 117-123.
- Silva, F.A.S. & Azevedo, C.A.V.** 2016. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. *African Journal of Agricultural Research* 11(39): 3733-3740.
- Singh, N.V., Singh, S.K., Singh, A.K., Meshram, D.T., Suroshe, S.S. & Mishra, D.C.** 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) induced hardening of micropropagated pomegranate (*Punica granatum* L.) plantlets. *Scientia Horticulturae* 136: 122-127.
- Souza, S.M., Pires, I.E. & Lima, P.C.F.** 1980. Influência da embalagem e condições de armazenamento na longevidade de sementes florestais. *In: Pesquisa Florestal no Nordeste Semi-árido: sementes e mudas*. Petrolina: EMBRAPA – CPTSA, Boletim de Pesquisa n. 2: pp. 15-24.
- Tabarelli, M. & Silva, J.M.C.** 2003. Áreas e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da caatinga. *In: I. R. Leal, M. Tabarelli & J.M.C. Silva (eds.) Ecologia e conservação da caatinga*. Recife: Editora Universitária da UFPE. pp.: 777-796.
- Teixeira-Rios, T., Oliveira, J.R.G. & Yano-Melo, A.M.** 2016. Arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus in the initial development of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. *Brazilian Journal of Botany* 39(4): 997-1004.
- Thonar, C., Schnepf, A., Frossard, E., Roose, T. & Jansa, J.** 2011. Traits related to differences in function among three arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil* 339: 231-245.
- Weber, O.B., Souza, C.M., Gondin, D.F., Oliveira, F.S., Crisóstomo, L.A., Caproni A.L., Saggin-Júnior, O.** 2004. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada em mudas de cajueiro-anão-precoce. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 39(5): 477-483.
- Yadav, K., Aggarwal, A. & Singh, N.** 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) induced acclimatization, growth enhancement and colchicine content of micropropagated *Gloriosa superba* L. plantlets. *Industrial Crops and Products* 45: 88-93.
- Yano-Melo, A.M., Maia, L.C., & Morgado, L.B.** 1997. Fungos micorrízicos arbusculares em bananeiras cultivadas no Vale do Submedio Sao Francisco. *Acta Botanica Brasilica* 11(2): 115-121.
- Yano-Melo, A.M., Maia, L.C., Saggin-Junior, O.J., Lima-Filho, J. M. & Melo, N.F.** 1999. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the acclimatization of micropropagated banana plantlets. *Mycorrhiza* 9(2): 119-123.
- Yano-Melo, A.M., Trufem, S.F.B. & Maia, L.C.** 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi in salinized and surrounded areas at the São Francisco Submedium Valley, Brazil. *Hoehnea* 30(2): 79-87.

**Editora Associada:** Elaine Malosso  
**Submissão:** 18/08/2022  
**Aceito:** 15/08/2023

