



PRODUÇÃO DE INÓCULO DE FUNGOS MICORRÍZICOS PARA INOCULAÇÃO EM MUDAS FRUTÍFERAS

SAMAR VELHO DA SILVEIRA¹; SÉRGIO FRANCISCO SCHWARZ²; PAULO VITOR DUTRA DE SOUZA³

INTRODUÇÃO

Os centros de pesquisa e grandes redes de laboratórios tem demonstrado grande interesse na descoberta de novos medicamentos provenientes de plantas medicinais e aromáticas, principalmente pelo elevado valor econômico que os princípios ativos dessas plantas têm alcançado no mercado (FREITAS et al., 2002). Dentre estas estão a hortelã pimenta (*Mentha piperita* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e melissa (*Melissa officinalis* L.).

Pela importância econômica que a parte aérea das plantas aromáticas possuem e por serem plantas de rápida propagação, a sua utilização como plantas multiplicadoras de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) pode propiciar aos viveiristas um ganho duplo: uso do sistema radicular como inóculo de FMA para as mudas de plantas frutíferas; e, aproveitamento da parte aérea para obtenção de matéria-prima para chá ou erva condimentar de valor comercial. No entanto, os benefícios máximos da inoculação de plantas por FMA somente são obtidos através da seleção de uma combinação compatível de substrato/fungo/hospedeiro (AZCÓN-AGUILAR; BAREA, 1997).

O objetivo desse trabalho foi testar três espécies de plantas aromáticas, hortelã pimenta, orégano e melissa como multiplicadoras de espécies de FMA e dois volumes de recipiente.

MATERIAL E MÉTODOS

Realizaram-se três experimentos, um para cada espécie de planta aromática (hortelã pimenta, orégano e melissa), sendo que cada um teve duas etapas. Na primeira, realizou-se a estaquia de ramos em bandejas alveoladas de isopor (bandeja com alvéolo de 40 mL e bandeja com alvéolo de 100 ml), contendo substrato formulado com casca de arroz carbonizada e fibra de côco (1:1; v:v) e 10 g de inóculo de FMA (*G. clarum*; *G. etunicatum* e *Acaulospora* sp.), adicionados na porção intermediária de cada alvéolo. Na segunda etapa, realizou-se o transplante das mudas para

¹Eng. Agr., Dr., Pesquisador Embrapa Uva e Vinho-RS. E-mail: samar@cnpuv.embrapa.br

²Eng. Agr., Dr., Prof. Adjunto, UFRGS- RS. E-mail: schwarz@ufrgs.br

³Eng. Agr., Dr., Prof. Associado, UFRGS- RS. E-mail: pvdsouza@ufrgs.br, bolsista CNPq

sacos de polietileno com 5 litros de volume, contendo substrato constituído de areia: solo argiloso: resíduo decomposto de casca de acácia negra : casca de arroz carbonizada (2:2:1:1; v:v:v:v). A areia utilizada possuía granulometria média (entre 0,6 e 1 mm) e o solo é caracterizado como ARGISSOLO VERMELHO Distrófico típico, unidade de mapeamento São Gerônimo, com teor de argila no horizonte B em torno de 43% (Embrapa, 1999). Todo substrato foi previamente desinfestado com solução de formolaldeído a 7%, e foi submetido a prévia análise química, não verificando-se necessidade de corrigir seus níveis nutricionais e de pH.

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Horticultura e Silvicultura, da Faculdade de Agronomia, UFRGS, Porto Alegre, RS. Para cada planta aromática, utilizaram-se 12 estacas por parcela, 4 repetições, 8 tratamentos, em um total de 384 estacas. O delineamento experimental adotado foi parcela sub-dividida, sendo a parcela principal formada por dois volumes de substrato e a parcela secundária formada por três espécies de FMA e a testemunha. Os tratamentos aplicados em cada planta aromática foram os seguintes: Testemunha, sem FMA, em 40 mL de volume; Inoculação com *G. clarum*, em 40 mL de volume; Inoculação com *G. etunicatum*, em 40 mL de volume; Inoculação com *Acaulospora* s.p., em 40 mL de volume. Os mesmos tratamentos foram realizados em bandejas com alvéolos de 100 mL de volume.

As avaliações de orégano, hortelã pimenta e melissa foram realizadas aos 125, 132 e 127 dias após a inoculação das plantas, respectivamente, sendo mensurados a presença das estruturas de colonização radicular do fungo: hifas, vesículas e arbúsculos, por meio da técnica de coloração de raízes, descrita por Phillips e Hayman (1970) e a separação e contagem de esporos mediante a técnica de peneiramento por via úmida e decantação (GERDEMANN; NICOLSON, 1963). Para a interpretação dos resultados, verificou-se a premissa básica da ANOVA de normalidade e homocedasticidade. Após, foi realizada a análise de variância, sendo a significância das diferenças entre as médias avaliada pelo teste de Duncan.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No cultivo inicial em 40 mL de substrato observa-se que *Acaulospora* sp propiciou uma produção de esporos em hortelã pimenta e melissa superior às espécies *Glomus etunicatum* e *Glomus clarum*. No cultivo inicial em 100 mL de substrato, no entanto, não houve diferenças significativas no número de esporos produzidos pelas três espécies de FMA em hortelã pimenta. No cultivo de melissa, as espécies *Glomus clarum* e *Acaulospora* sp. apresentaram um número de esporos superior a *Glomus etunicatum* (Tabela 1). No entanto, mais do que quantidades absolutas, interessa saber que estes esporos estão viáveis, sendo capazes de germinar e colonizar novas raízes

da planta hospedeira e isso foi verificado neste trabalho através das percentagens de colonização e presenças de hifas, arbúsculos e vesículas nas raízes das plantas estudadas (Tabelas 1, 2 e 3).

Todas as espécies as espécies de FMA formaram estruturas de colonização nas raízes das três plantas aromáticas testadas, independentemente do volume inicial de substrato (Tabelas 2 e 3). No caso de hortelã pimenta e melissa não houve diferenças na formação de arbúsculos entre espécies de FMA, no entanto para orégano, *Glomus clarum* e *Glomus etunicatum* apresentaram quantidades superiores de arbúsculos no sistema radicular em relação à *Acaulospora* sp. (Tabela 2). Quanto à formação de vesículas, para hortelã pimenta a espécie *Glomus clarum* apresentou maior presença desta estrutura, não se verificando diferenças significativas nas demais espécies de FMA. Em orégano e melissa a presença de vesículas foi semelhante entre os FMA.

Em termos de colonização do sistema radicular de orégano, hortelã pimenta e melissa por FMA (Tabela 3), observaram-se excelentes percentagens de colonização propiciadas pelas espécies *Glomus clarum*, *Glomus etunicatum* e *Acaulospora* sp., todas acima de 80%. Não se observaram diferenças significativas entre as espécies de FMA para percentagem de colonização nas três espécies de plantas aromáticas estudadas.

Tabela 1 - Número de esporos em 100 g de substrato de cultivo de mudas de orégano (*Origanum vulgare*), hortelã pimenta (*Mentha piperita*) e melissa (*Melissa officinalis*), inoculadas com 3 espécies de FMA em dois volumes iniciais de substrato: 40 e 100ml. Porto Alegre, RS. 2003.

Espécie de FMA	Orégano		Hortelã pimenta		Melissa	
	40 mL	100 mL	40 mL	100 mL	40 mL	100 mL
<i>Glomus clarum</i>	92,5 ABb	106,0 Aa	85,2 Bb	96,5 Aa	79,0 Bb	103,5 Aa
<i>Glomus etunicatum</i>	85,2 Ba	90,2 Ba	72,5 Cb	91,2 Aa	79,2 Bb	95,2 Ba
<i>Acaulospora</i> sp.	100,5 Ab	109,2 Aa	92,0 Ab	109,2 Aa	93,0 Ab	110,0 Aa
Testemunha	3,8 Cb	24,7 Ca	11,0 Db	31,0 Ba	0,2 Cb	8,2 Ca

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si ao nível de 5%, pelo teste de Duncan, para cada espécie de planta aromática.

Tabela 2 - Presença de arbúsculos e vesículas no sistema radicular de mudas de orégano (*Origanum vulgare*), hortelã pimenta (*Mentha piperita*) e melissa (*Melissa officinalis*), inoculadas com 3 espécies de FMA em dois volumes iniciais de substrato. Porto Alegre, RS. 2003.

Espécie de FMA	Orégano		Hortelã pimenta		Melissa	
	Arbúsculo ⁽¹⁾	Vesícula ⁽²⁾	Arbúsculo ⁽¹⁾	Vesícula ⁽²⁾	Arbúsculo ⁽¹⁾	Vesícula ⁽²⁾
<i>Glomus clarum</i>	2,2 A	0,8 A	1,2 A	1,2 A	1,4 A	0,7 A
<i>Glomus etunicatum</i>	2,0 A	1,1 A	0,8 B	0,8 B	1,7 A	1,0 A
<i>Acaulospora</i> sp.	1,6 B	1,1 A	0,6 B	0,6 B	1,6 A	0,7 A
Testemunha	0,3 C	0,1 B	0 C	0 C	0,3 B	0,0 B
C.V.	3,6	5,2	4,0	4,8	5,3	5,7
Volume de substrato						

40 mL	1,5	0,7	1,5	0,7	1,1	0,6
100 mL	1,6	0,8	1,6	0,6	1,4	0,7
C.V.	11,3	18,1	10,1	9,6	11,5	8,9

Médias seguidas de mesma letra, na Coluna, não diferem entre si ao nível de 5%, pelo teste de Duncan, para cada espécie de planta aromática.

Tabela 3 - Presença de hifas internas e colonização (Col.) no sistema radicular de mudas de orégano (*Origanum vulgare*), hortelã pimenta (*Mentha piperita*) e melissa (*Melissa officinalis*), inoculadas com 3 espécies de FMA em dois volumes de substrato. Porto Alegre, RS. 2003.

Espécie de FMA	Orégano		Hortelã pimenta		Melissa	
	Hifa	Col.	Hifa	Col.	Hifa	Col.
<i>Glomus clarum</i>	1,52 A	87,06 A	2,05 A	90,17 A	1,26 A	83,37 A
<i>Glomus etunicatum</i>	1,79 A	81,16 A	1,10 B	90,50 A	1,54 A	86,15 A
<i>Acaulospora</i> sp.	1,52 A	85,78 A	1,18 B	87,86 A	1,33 A	83,25 A
Testemunha	0,49 B	11,88 B	0,31 C	11,97 B	0,45 B	07,53 B
C.V.	6,9	2,7	6,3	4,2	5,7	3,0
Volume de substrato						
40 mL	1,28	63,93	1,27	67,73 B	1,08	62,15 B
100 mL	1,38	69,00	1,05	74,43 A	1,21	68,00 A
C.V.	13,2	10,1	9,8	7,0	12,7	6,2

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si ao nível de 5%, pelo teste de Duncan, para cada espécie de planta aromática.

CONCLUSÕES

Origanum vulgare, *Mentha piperita* e *Melissa officinalis* podem ser utilizadas como plantas multiplicadoras das espécies de FMA *G. clarum*, *Acaulospora* sp. e *G. etunicatum*, para posterior inoculação em mudas frutíferas, sendo *Melissa officinalis* de mais fácil manejo.

O cultivo inicial em 100 mL de substrato propicia melhor colonização do sistema radicular em *Mentha piperita* e *Melissa officinalis* do que o cultivo inicial em 40 mL de substrato.

REFERÊNCIAS

- AZCÓN-AGUILAR, C.; BAREA, J. M. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 68, p. 1-24, 1997.
- PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **British Mycological Society Transactions**, Cambridge, v. 55, n. 1, p. 158-160, 1970.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa SPI; Rio de Janeiro: Embrapa CNPS, 199. 412p.

FREITAS, M. S. M.; MARTINS, M. A. Crescimento e produção de óleo essencial em plantas de *Mentha arvensis* L. em resposta à inoculação com micorrizas. In: FERTBIO, 25., 2002, Rio de Janeiro. **Resumo Estendido...** Rio de Janeiro: SBCS, 2002. 1CD-ROM. R240.

GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal Endogone extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 46, p. 235-244, 1963.