

Crescimento, parâmetros biofísicos e aspectos anatômicos de plantas jovens de seringueira inoculadas com fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum*

Patrícia Fabian de Araújo Diniz^{1,2}, Luiz Edson Mota de Oliveira¹, Marcelo Pedrosa Gomes¹, Evaristo Mauro de Castro¹, Alessandro Carlos Mesquita¹, Lisandro Tomas da Silva Bonome¹ e Luciana da Silva¹

Recebido em 4/04/2008. Aceito em 9/04/2009

RESUMO – (Crescimento, parâmetros biofísicos e aspectos anatômicos de plantas jovens de seringueira inoculadas com o fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum*). Fungos micorrízicos são reconhecidamente benéficos quando em associação às plantas por favorecerem seu crescimento e desenvolvimento. Apesar de pouco comum para a seringueira, a inoculação artificial de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) tem se mostrado uma alternativa para a redução no uso de fertilizantes e pesticidas nas culturas, bem como para a formação de mudas, visando obtenção de porta-enxertos precoces e bem nutridos. O estudo objetivou avaliar o efeito da inoculação do FMA *Glomus clarum* no crescimento e características biofísicas e anatômicas de plantas jovens de seringueira. Os tratamentos consistiram de plantas inoculadas com o fungo *Glomus clarum* adubadas com 50 ppm de fósforo (s/mic+50P), plantas não inoculadas adubadas com 50 ppm de fósforo (s/mic+50P) e plantas não inoculadas adubadas com 500 ppm de fósforo (s/mic+500P). Constatou-se que as plantas micorrizadas apresentaram altura e diâmetro dos caules, matéria seca da parte aérea, densidade estomática e área foliar, semelhantes às plantas s/mic+500P. Maior acúmulo de matéria seca de raiz, maior taxa de transpiração, menor resistência estomática e menor temperatura foliar foram observadas para as plantas micorrizadas. As análises anatômicas das raízes evidenciam a ocorrência de alterações no tecido vascular, com aumento no número de pólos de xilema das raízes das plantas micorrizadas.

Palavras-chaves: *Hevea brasiliensis*, micorrização, porta-enxertos, resistência estomática

ABSTRACT – (Growth, biophysical parameters and anatomical aspects of young rubber tree plants inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus clarum*). Mycorrhizal fungi are beneficial when associated with plants because they favor growth and develop. Although infrequent, artificial inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) has become an alternative to reduce the use of fertilizers and pesticides in crops, as well as for the formation of seedlings, to obtain precocious and well fed rootstocks. The objective of the study was to evaluate the effect of inoculation of AMF *Glomus clarum* on growth and biophysical and anatomical characteristics of young rubber trees. The treatments consist of plants inoculated with the fungus *Glomus clarum* and fertilized with 50 ppm of phosphorus (mic+50P), non-inoculated plants fertilized with 50 ppm of phosphorus (s/mic+50P) and non-inoculated plants fertilized with 500 ppm of phosphorus (s/mic+500P). The mycorrhizal plants showed height and stem diameter, dry matter accumulation of the aerial part, stomatal density and leaf area similar to the plants s/mic+500P. Greater accumulation of dry matter in the roots, higher transpiration rate, less stomatal resistance and lower leaf temperature were reported for the mycorrhizal plants. The anatomical analyses of the roots showed alterations in the vascular tissue, with increase in the number of xylem poles in the mycorrhizal plant roots.

Key words: *Hevea brasiliensis*, mycorrhizal, rootstocks, stomatal resistance

Introdução

Hevea brasiliensis [(Willd. ex A.Juss.) Müll.Arg.] é uma espécie arbórea, pertencente à família Euphorbiaceae que possui a maior capacidade produtiva de látex e maior variabilidade genética para resistência a doenças dentre todas as outras 11 espécies pertencentes ao gênero *Hevea*. A heveicultura é de representativa importância econômica, ecológica e social no Brasil, sendo o látex a matéria prima fundamental para a produção de borracha natural.

Atualmente, a propagação da seringueira ocorre quase que exclusivamente por enxertia. Dessa maneira, a disponibilidade de porta-enxertos aptos à enxertia é de fundamental importância para a exploração econômica desta cultura.

Na formação de porta-enxertos, a adubação das mudas reveste-se de grande importância, visando o suprimento de nutrientes para se atingir o máximo de uniformidade, precocidade, qualidade do sistema radicular e aptidão para enxertia (Bataglia *et al.* 1998). Para as plantas perenes, como é o caso da seringueira, a micorrização artificial pode ser uma alternativa para se conseguir porta-enxertos mais bem nutridos, vigorosos e uniformes, com um índice elevado

de sobrevivência e um melhor desempenho das plantas no campo (Chu *et al.* 2004), além de propiciar a redução no uso de insumos químicos na agricultura.

Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são fungos da ordem Glomerales que formam associações mutualísticas com raízes de quase todas as espécies vegetais terrestres. O efeito mais notável desta associação está no aumento do crescimento da planta, resultando do aumento da absorção de nutrientes, especialmente o fósforo (Mosse 1981).

Além de afetar o crescimento das plantas, a colonização de sistemas radiculares por FMAs pode afetar o comportamento estomático das plantas hospedeiras (Augé 2000), mesmo sob condições de boa hidratação (Nelsen & Safir 1982; Augé *et al.* 1986), o que reflete em uma variação da resistência difusiva dos estômatos e, conseqüentemente, em alterações nas taxas de transpiração e absorção de CO₂.

Poucos são os estudos envolvendo alterações de características anatômicas de plantas em resposta à inoculação por FMAs. Segundo Morandi (1996), a penetração do FMA induz um aumento na lignificação das paredes celulares dos tecidos radiculares. Tal processo pode estar associado ao aumento da sustentação e garantia de turgescência radicular,

¹ Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil

² Autor para correspondência: patifabian@yahoo.com.br

bem como assegurar uma proteção suplementar à penetração por patógenos nas raízes. Também são relatadas alterações nas atividades meristemáticas e nuclear das células da raiz após a penetração de fungos micorrízicos (Moreira & Siqueira 2006; Eckardt 2005).

Os efeitos benéficos da associação com FMAs, como o aumento na superfície de absorção radicular, suplementada pelas hifas dos fungos, podem acarretar modificações de caráter anatômico no corpo vegetal, visando uma maior eficiência nos processos de condução e assimilação de nutrientes. Os FMAs promovem também alterações no balanço hormonal, o que pode causar mudanças quanto à formação e multiplicação dos tecidos vegetais, principalmente nas raízes onde são verificadas as maiores modificações quanto ao conteúdo de fitohormônios (Karabaghli-Degron *et al.* 1998; Kaldorf & Ludwig-Müller 2000).

Para a seringueira, escassos são os trabalhos que objetivam avaliar os efeitos de FMAs na formação dos porta-enxertos, sendo que estes se restringem à avaliação da melhora nutricional e do crescimento.

Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da inoculação do fungo micorrízico arbuscular, *Glomus clarum*, no crescimento, características biofísicas e aspectos anatômicos de raiz e folha de plantas jovens de *Hevea brasiliensis*.

Material e métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras, localizado na região sul do Estado de Minas Gerais, a 918 m de altitude, latitude 21°14'S e longitude 45°00'W GRW.

As sementes de *Hevea brasiliensis*, obtidas da Fazenda Água Milagrosa, Tabapoã-São Paulo, latitude 20°57'51'', longitude 49°01'54'' e altitude de 516 m acima do nível do mar, foram germinadas em bandejas plásticas contendo areia lavada mantidas em condições de sala de germinação (temperatura de 27°C, radiação de aproximadamente 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{S}^{-1}$, fotoperíodo de 12 horas e 60 a 80% de umidade relativa do ar) com umidade de 80% da capacidade de campo.

O fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum* T.H. Nicolson & N.C. Schenck foi obtido de vaso de cultivo com *Brachiaria decumbens* Stapf., proveniente do Departamento de Microbiologia de Solos da UFLA, sendo a inoculação realizada utilizando-se 8 ml do inóculo, contendo cerca de 200 esporos/plântula, introduzidos na cova de plantio. Os tratamentos sem inoculação receberam 10 ml de um filtrado preparado a partir do substrato do inóculo diluído em água de modo a se obter uma suspensão, peneirada em malha de 0,71 e 0,053 mm e filtrada em papel de filtro para eliminar os propágulos de FMAs. A finalidade deste filtrado é homogeneizar a população microbiana do inóculo em todos os tratamentos.

O solo utilizado foi coletado no campus da UFLA e suas características químicas e físicas foram analisadas. O solo foi misturado com areia lavada na proporção 1:1 solo/areia. A adubação fosfatada consistiu de duas doses de fósforo na forma de fosfato super triplo (50 ppm e 500 ppm) de acordo com os tratamentos. As amostras de solo foram fumigadas com o fungicida Brometo de Metila em dosagem de 393 cm^3/m^3 de substrato e, após a volatilização do excesso de Brometo de Metila (aproximadamente 10 dias), o solo foi transferido para sacos de plástico com capacidade para 3 dm^3 de substrato.

O transplantio foi feito com plântulas no estágio comumente chamado "palito", com altura entre 5 e 10 cm, de maneira que as raízes no furo de plantio estivessem em contato direto com o inóculo. Após o transplantio, procedeu-se à adubação de cada recipiente de cultivo, em forma de solução nutritiva, de acordo com Malavolta (1980), a qual consistiu de: 20 mL

de uma solução de uréia, a qual forneceu 100 ppm de N; 20 mL de uma solução contendo 100 ppm de K (KCl) e 30 ppm de Mg (MgSO_4), 10 mL de uma solução contendo 5 ppm de Zn (ZnSO_4), 1,5 ppm de Cu (CuSO_4) e 5 ppm de Mn (MnSO_4); 10 mL de uma solução contendo 0,5 ppm de B (H_3BO_3); 10 mL de uma solução contendo 0,1 ppm de Mo (Molibdato de amônio). A concentração de enxofre adicionado pelas fontes sulfatadas foi de aproximadamente 41,7 ppm. Ressalta-se que os macronutrientes foram aplicados inicialmente em concentração abaixo daquela recomendada, a fim de se evitar a inibição da colonização micorrízica devido à fertilização.

Os recipientes de cultivo foram mantidos em casa de vegetação mantendo-se a umidade do substrato a aproximadamente 70% da capacidade de campo. Aos 60 e 120 dias do transplantio foram aplicados em todos os tratamentos 100 ppm de N na forma de uréia e 100 ppm de K na forma de KCl. Aos 180 dias foram aplicados 100 ppm de N na forma de uréia e 30 ppm de Mg na forma de MgSO_4 .

O experimento constituiu-se por três tratamentos, sendo: plantas micorrizadas e cultivadas em 50 ppm de fósforo (mic+50P); plantas não micorrizadas e cultivadas em 50 ppm de fósforo (s/mic+50P) e plantas não micorrizadas e cultivadas em 500 ppm de fósforo (s/mic+500P). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com uma planta por unidade experimental e 20 plantas por tratamento. O experimento foi conduzido por um período de 195 dias a contar do transplantio das mudas e inoculação.

A partir do 15º dia após a inoculação, foram efetuadas medições mensais da altura (do colo ao meristema apical) e do diâmetro do caule de 10 plantas por tratamento. Estas mesmas plantas foram submetidas às análises biofísicas de transpiração (E), temperatura média foliar (°C) e resistência difusiva dos estômatos (Rs), no decorrer do último mês do período experimental, utilizando-se um porômetro (Steady State Porometer, Licor. 1600M). Essas avaliações foram feitas entre 10 e 11 horas da manhã, a cada 10 dias, sendo selecionado de cada planta o folíolo central, completamente expandido e do terceiro nó, do ápice para a base, com uma mesma orientação cardinal em relação à radiação solar incidente, na face abaxial, uma vez que essa face apresenta o maior número de estômatos.

Ao final do período experimental, as plantas cujas análises de crescimento e biofísicas foram realizadas, foram coletadas e separadas em folhas, caule e raízes. As folhas foram utilizadas para as medições de área foliar, realizadas em 7 plantas por tratamento, utilizando-se o aparelho Licor Li 3100. Posteriormente, as folhas, caule e raízes foram lavados com água destilada, colocados em sacos de papel e levados para estufa com circulação constante de ar a 70 °C até massa constante para posterior determinação da matéria seca total, matéria seca da parte aérea e da raiz.

Para a avaliação da colonização pelo fungo, raízes laterais foram colocadas em placas de Petri e mergulhadas em solução de KOH 10% a frio, por 36 horas. Em seguida, foram lavadas em água corrente e colocadas em solução de HCl (1%) por 5 minutos. Às placas, foi adicionada uma solução de azul de tripano em lactofenol (0,05%), mantidas de 2 a 3 dias (Phillips & Hayman 1970). A avaliação da colonização micorrízica foi realizada pelo método de Giovanetti & Mosse (1980), com auxílio de microscópio Olympus CBB, a fim de determinar a presença ou ausência das estruturas fúngicas em interseções de segmentos de raízes, com os retículos espaçados de ½ polegada, marcadas em placa de Petri.

Para as análises dos aspectos anatômicos, foram coletadas raízes laterais e a primeira folha completamente expandida, de três plantas por tratamento, correspondentes às repetições. O material foi fixado em FAA 70 (formaldeído + ácido acético + álcool etílico 70%) (Johansen 1940) por 72 horas e posteriormente conservado em álcool 70%. Seções transversais foram feitas à mão livre, a 4 cm do ápice das raízes. Os cortes paradermicos foram realizados manualmente no terço médio das folhas. Para clarificação das seções transversais utilizou-se água sanitária 5% (Kraus & Arduim 1997) e uma mistura de azul de astra e safranina para coloração. As seções paradermicas foram coradas com solução de safranina 1%. As lâminas foram montadas em glicerina 50% e foram fotografadas com câmera digital (Canon Power Shot A620), utilizando microscópio de luz (Ken-a-Vision TT18).

O preparo e a observação das amostras para microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizados no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-estrutural (LME) do Departamento de Fitopatologia da UFLA. Fragmentos foram retirados a 4 cm a partir do ápice de raízes laterais de cada tratamento e fixados em solução Karnovsky [(glutaraldeído (2,5%) e paraformaldeído (2,5%), em tampão cacodilato, pH 7,0 - 0,05M +

CaCl₂ 0,001M)] modificada a pH 7,2 e foram armazenadas em câmara fria por um período de 48 horas. As amostras foram transferidas para glicerina (30 min) e foram efetuados cortes transversais em nitrogênio líquido. Os fragmentos foram lavados em água destilada e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% em tampão cacodilato 0,05 mol L⁻¹ por 1-2 horas, para posterior desidratação em gradiente de acetona (25, 50, 70, 90 por 10 minutos e três vezes por 10 minutos em 100%). Em seguida, as amostras foram levadas para o aparelho de ponto crítico de dessecamento de CO₂ (BAL-TEC, CPD-03), fixadas no suporte metálico (stubs) com uma fita de carbono e submetidas ao processo de metalização em ouro (BAL-TEC, SCD-050). O material radicular preparado foi observado e eletromicrografado em microscópio eletrônico de varredura LEO-EVO 40, XVP.

Resultados e discussão

A colonização micorrízica para o tratamento mic+50P, foi avaliada em torno de 18% aos 195 dias após a inoculação. Não foi verificado percentual de colonização para os tratamentos de baixo nível de fósforo e alto nível de fósforo. Através da microscopia de varredura foi possível a identificação de arbuscúlos no interior das células corticais das raízes do tratamento mic+50P, ausentes para os demais tratamentos (Fig. 1).

P.C. Lima, dados não publicados, trabalhando com a inoculação de *Glomus clarum* em plantas jovens de seringueira adubadas com 40 ppm de fósforo, encontrou um percentual de 62% de colonização, valor elevado quando comparado ao presente trabalho. Contudo, o referido autor utilizou um

número de esporos bastante superior (cerca de 1000 esporos) para inoculação por unidade experimental, em comparação com cerca de 200 esporos utilizados neste trabalho. Segundo Siqueira & Saggin-Junior (2001) até mesmo taxas muito baixas na percentagem de colonização micorrízica podem trazer benefícios para o crescimento e desenvolvimento da planta, dependendo da espécie vegetal.

As plantas micorrizadas apresentaram ganhos em altura e diâmetro do caule equivalentes às plantas do tratamento s/mic+500P, em detrimento das plantas s/mic+50P, o que se torna bastante evidente aos 195 dias após a inoculação (Fig. 2). Dados semelhantes foram encontrados por Schwob *et al.* (1998) trabalhando com a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em *Hevea brasiliensis* e por Rocha *et al.* (2006) trabalhando com a inoculação de espécies variadas de FMAs em cedro.

O efeito do fungo simbionte sobre o crescimento em altura do caule pode refletir o estágio em que a colonização começa a ser traduzida em benefícios para a planta hospedeira. Essa resposta demorada do fungo pode ser causada pelo fato de que, durante os primeiros 30-45 dias, as plântulas ainda crescem utilizando as reservas das sementes, e assim são independentes de nutrição externa ou da colonização micorrízica. Segundo Schwob *et al.* (1998), outro fato que poderia levar a uma demora na resposta de crescimento da

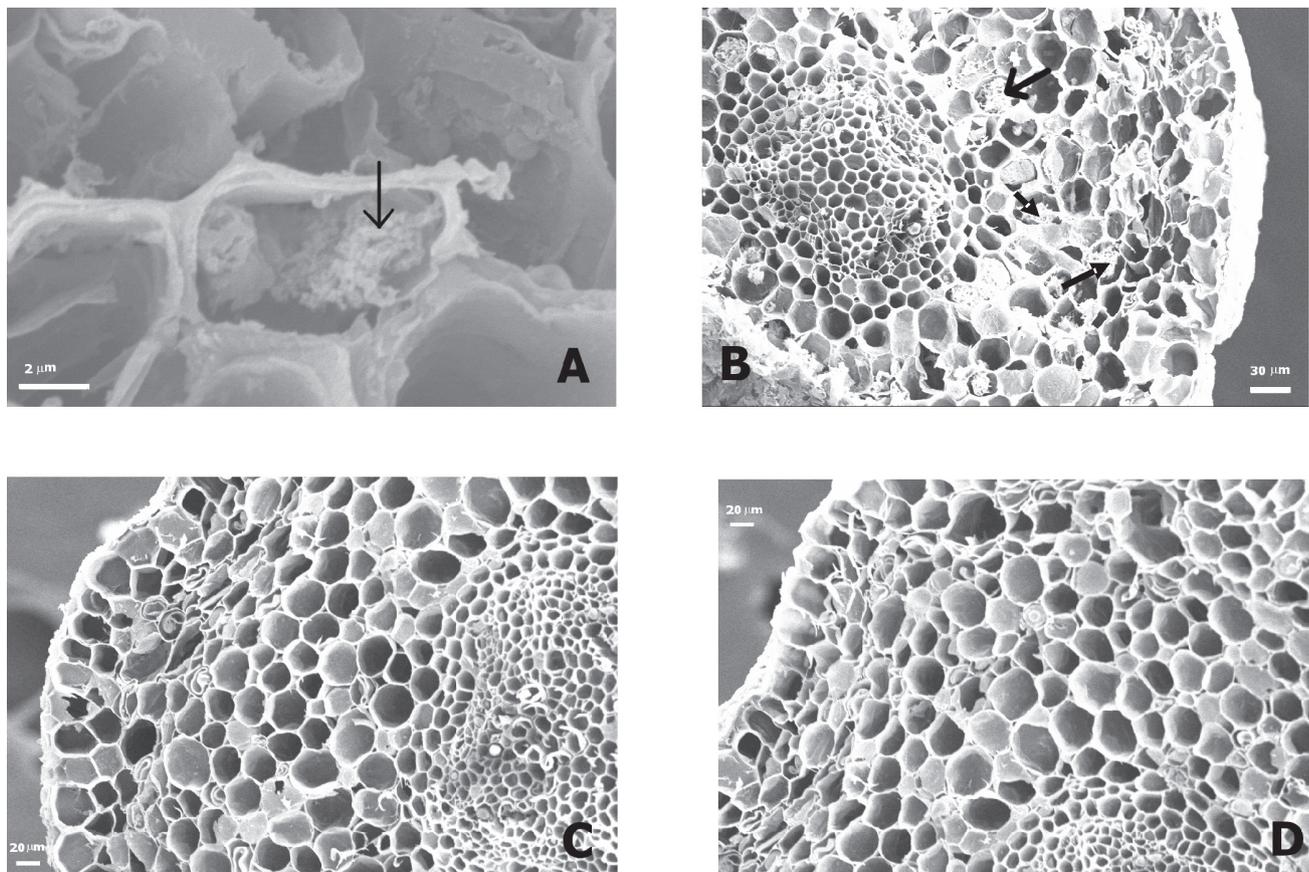


Figura 1. Eletromicrografia de varredura de seções transversais de raízes laterais de plantas jovens de *Hevea brasiliensis*. (A e B) mic +50P; (C) s/mic +50P; (D) s/mic +500P. As setas indicam estruturas arbusculares do fungo micorrízico em células do córtex radicular.

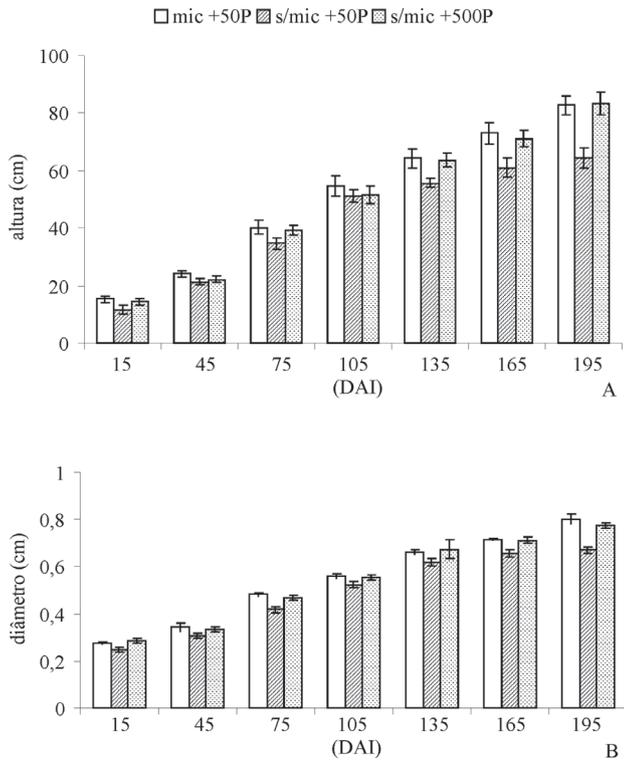


Figura 2. A= Crescimento em altura e B= diâmetro dos caules de plantas jovens de seringueira submetidas aos tratamentos mic+50P, s/mic+50P e s/mic+500P, ao longo de 195 dias de cultivo. DAI - dias após a inoculação do FMA *Glomus clarum*. As barras em cada coluna indicam o erro padrão da média de 10 repetições.

planta seria uma redução da disponibilidade de fotossintatos para o crescimento desta, a qual poderia surgir nos estádios mais iniciais da colonização. Esse atraso temporário no crescimento da planta pode ser causado, provavelmente, pela penetração inicial do fungo nas raízes. O fungo atuando como um forte dreno de carboidratos produzidos pela planta hospedeira, os quais são utilizados para o crescimento do simbiote e para seu próprio metabolismo, pode levar a um atraso em se observar um crescimento mais acentuado nos primeiros estádios da colonização, uma vez que esta ainda se encontra incompleta (Smith 1980).

O aumento no diâmetro dos caules das plantas é de grande importância para a heveicultura, uma vez que é com base neste valor que se estabelece o ponto de enxertia. Pelos resultados apresentados na Figura 2, é possível observar que as plantas micorrizadas apresentaram ganhos em altura e diâmetro do caule semelhante à do tratamento s/mic+500P. Além da significativa economia em fósforo, tais benefícios contribuem para que as plantas atinjam o ponto de enxertia precocemente, diminuindo o período de permanência das mudas em viveiro.

O acúmulo de matéria seca total (Fig. 3C) e da parte aérea (Fig. 3A) foi maior nas plantas mic+50P e nas plantas s/mic+500P, em relação aos valores observados para as plantas do tratamento s/mic+50P. Sabe-se que a produção de matéria seca esta intimamente relacionada ao estado nutricional da planta, o que justifica a elevada produção

observada nas plantas cultivadas em alto nível de fósforo. Porém, no caso das plantas micorrizadas, a maior produção de matéria seca pode estar associada aos efeitos da micorrização, que, *a priori*, promove uma maior captação de água e nutrientes para as raízes e, muitos autores sugerem que a liberação ou a indução da produção de fitohormônios pelos fungos possam contribuir para o crescimento da planta (Fitze *et al.* 2005; Karabaghli-Degron *et al.* 1998; Kaldorf & Ludwig-Müller 2000).

O acúmulo de matéria seca nas raízes foi maior nas plantas mic+50P (Fig. 3B), em relação aos demais tratamentos. Soares *et al.* (2003) encontrou aumentos de 560% para a matéria seca total das raízes das plântulas de ipê roxo inoculadas com *Gigaspora margarita*, aos três meses após a inoculação, quando comparadas com o controle não inoculado. Raízes de milho inoculadas com FMAs apresentaram um aumento precoce no nível de ácido 3-indol-butírico livre (AIB), (Ludwig-Müller *et al.* 1997; Kaldorf & Ludwig-Müller 2000), coincidindo com um aumento muito significativo na porcentagem de raízes laterais. Esses resultados poderiam explicar, em parte, o maior aumento na matéria seca das raízes das plantas micorrizadas, em relação aos demais tratamentos. O maior desenvolvimento do sistema radicular proporciona à planta maior capacidade de absorção de nutrientes e água, e serve como fonte de reserva de nutrientes para a planta, além de uma melhor sustentação e capacidade de sobrevivência após o transplante para o campo (Soares *et al.* 2003). Um sistema radicular mais desenvolvido torna-se uma vantagem seletiva para sobrevivência, favorecendo o desenvolvimento vegetal.

O maior ganho em matéria seca das raízes das plantas de seringueira micorrizadas em relação aos outros dois tratamentos justifica a menor razão parte aérea/raiz para o tratamento micorrizado (1,83) em relação ao tratamento s/mic+500P (2,60) (Fig. 3D), embora não tenha sido observada diferença entre o tratamento mic+50P e s/mic+50P (1,97).

Comparando os resultados obtidos para as plantas s/mic+50P (578,6 cm²) com as plantas micorrizadas na mesma concentração de P (815,3 cm²), pode-se concluir que o ganho na área foliar foi em decorrência da presença do fungo (Fig. 4). Contudo, como já relatado, a taxa de colonização (18%) foi considerada baixa e talvez não tenha sido suficiente para proporcionar o ganho máximo em área foliar. Esse fato pode ser comprovado pela maior área foliar observada no tratamento s/mic+500P (991,9 cm²), demonstrando, neste, uma possível resposta relacionada simplesmente à maior adubação fosfatada. A expansão foliar é estreitamente relacionada à expansão das células epidérmicas (Marschener 2002) e à concentração interna de fósforo no tecido (López-Bucio *et al.* 2002).

O aumento na área foliar implica em aumentos na superfície de captação de luz, aumento na assimilação de CO₂ e produção de fotoassimilados, que no caso das plantas micorrizadas, é necessário para atender a demanda do sistema micorrízico e da planta hospedeira (Peng *et al.* 1993;

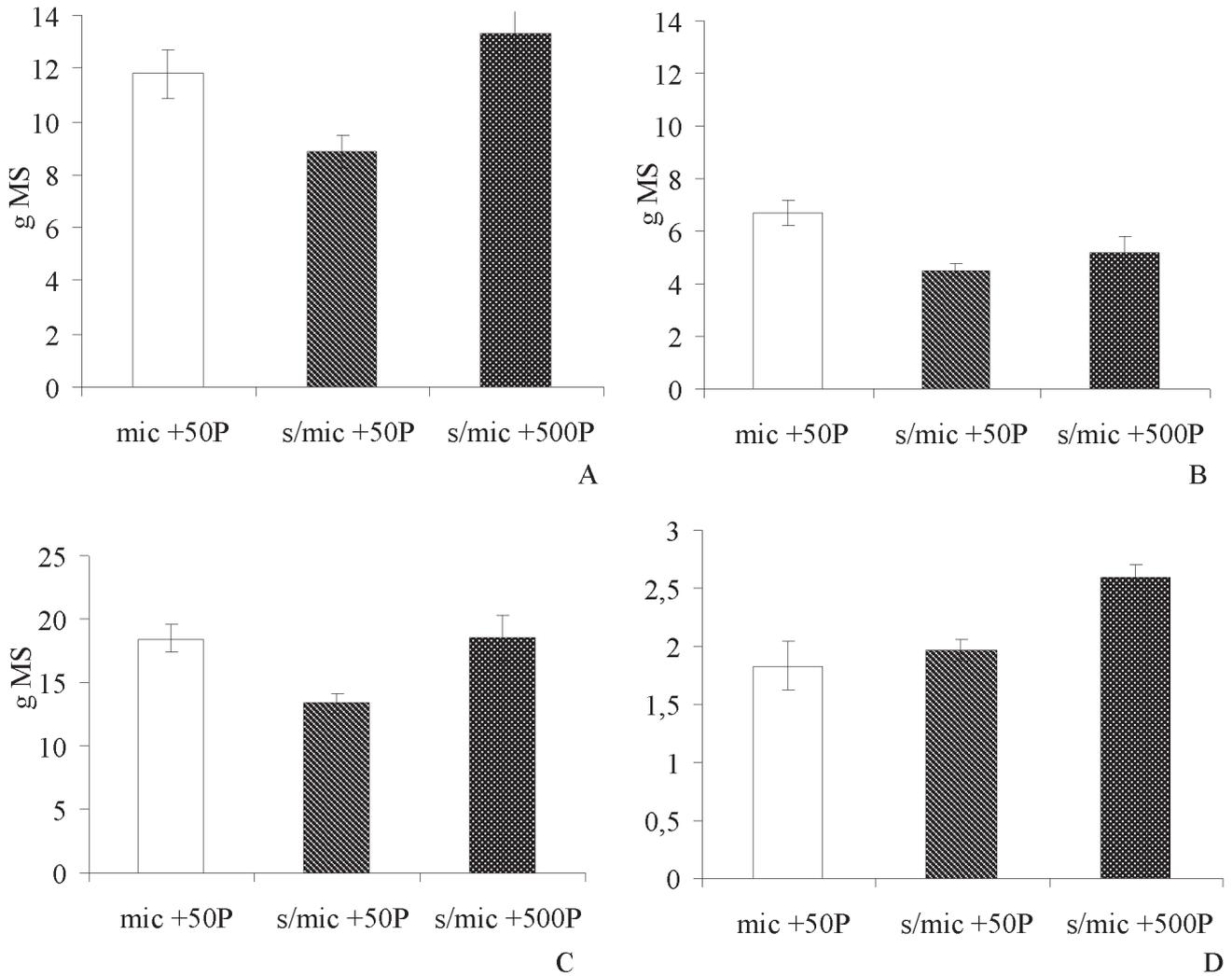


Figura 3. Acúmulo de matéria seca na parte aérea (A), de matéria seca nas raízes (B), de matéria seca total (C) e relação parte aérea/raiz (D) em plantas jovens de seringueira submetidas aos tratamentos mic+50P, s/mic+50P e s/mic+500P, após 195 dias de cultivo. As barras em cada coluna indicam o erro padrão da média de 7 repetições.

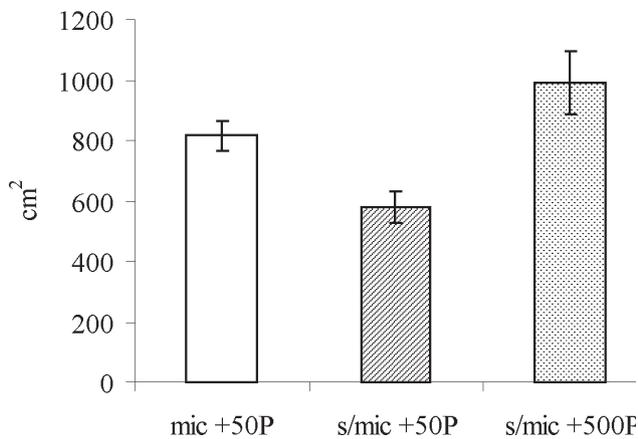


Figura 4. Área foliar de plantas jovens de seringueira submetidas aos tratamentos mic+50P, s/mic+50P e s/mic+500F, após 195 dias de cultivo. As barras em cada coluna indicam o erro padrão da média de 7 repetições.

Bago *et al.* 2003). Possivelmente, o aumento da área foliar é resultante do aumento na absorção de nutrientes e água pelo FMA e suas implicações em nível fisiológico e bioquímico, como o estímulo da síntese de hormônios, especialmente auxinas (AIB) e citocininas, aminoácidos, proteínas e de fotoassimilados (Sena 2004).

As plantas micorrizadas apresentaram maior taxa de transpiração (Fig. 5B), menor resistência estomática (Fig. 5A) e temperatura média foliar (Fig. 5C). Schwob *et al.* (1998) também encontraram maiores taxas de condutância estomática e, conseqüentemente, menores valores de resistência estomática, associados a uma maior assimilação de CO₂ a partir dos 180 dias de inoculação das raízes de *Hevea brasiliensis* com o fungo micorrízico *Glomus mosseae*, alcançando as maiores taxas de condutância estomática, absorção de CO₂ e transpiração aos 225 dias após a inoculação.

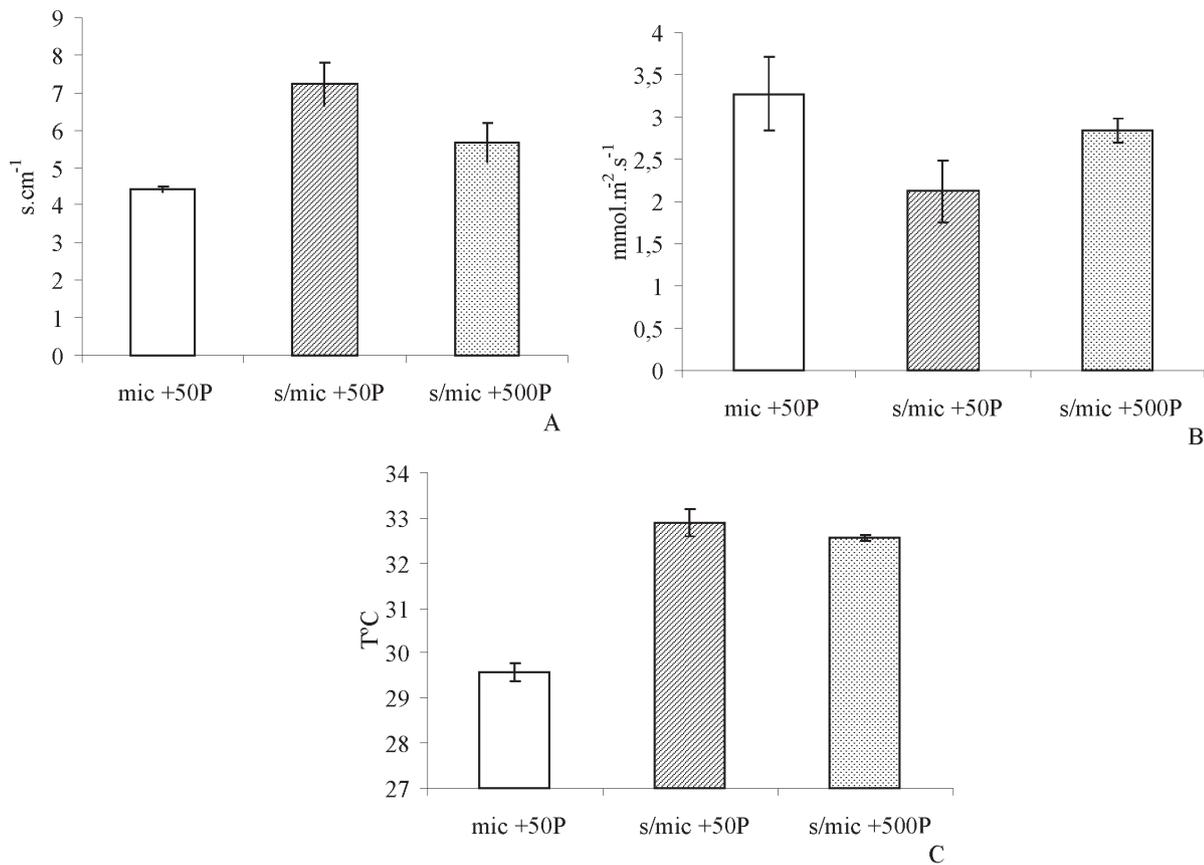


Figura 5. A= Resistência estomática (Rs), B= Transpiração (E) e C= temperatura média foliar (C) de plantas jovens de seringueira submetidas aos tratamentos mic+50P, s/mic +50P e s/mic +500P, após 195 dias de cultivo. As barras em cada coluna indicam o erro padrão da média de 10 repetições.

Uma maior taxa de transpiração associada a uma diminuição na resistência estomática, implica em um aumento na concentração de CO₂ intracelular, e possivelmente, um aumento na atividade fotossintética das plantas micorrizadas, o que pode justificar, em parte, o elevado crescimento destas plantas pela maior disponibilidade de fotoassimilados. Dentre os mecanismos que permitem as plantas micorrizadas, em condições de boa hidratação, aumentar suas taxas de transpiração e diminuir a resistência dos estômatos, incluem uma significativa contribuição das hifas externas para a captação de água pelas raízes micorrizadas (Marulanda *et al.* 2003), e o incremento no sistema radicular verificado pelo aumento na produção de matéria seca das raízes destas plantas (Fig. 3B).

Segundo Koide (1993), o fósforo incrementa o crescimento tanto da parte aérea quanto das raízes e, portanto, as plantas do tratamento s/mic+500P, com um sistema radicular mais abundante que as plantas do tratamento s/mic+50P, são capazes de captar mais água do solo, conseguindo manter uma menor resistência estomática e uma maior taxa de transpiração, quando comparadas a este tratamento.

As plantas micorrizadas apresentaram menor temperatura média foliar em comparação aos demais tratamentos (Fig. 5C). Tal fato pode estar associado à diminuição da resistência estomática observada nestas plantas, o que favoreceu uma

maior transpiração, possibilitando um maior resfriamento da superfície foliar. Uma maior capacidade de controle da temperatura foliar possibilita manter a integridade do aparelho fotossintético, e evita efeitos adversos negativos sobre os processos redutivos e oxidativos do metabolismo do carbono.

As plantas micorrizadas e as plantas do tratamento s/mic +500P apresentaram maior densidade estomática, maior diâmetro polar (DP) e diâmetro equatorial (DE) dos estômatos, em relação ao tratamento s/mic+50P, sendo que os dois primeiros tratamentos não diferiram estatisticamente entre si (Tab. 1). A razão DP/DE, porém, não diferiu estatisticamente entre todos os tratamentos (Tab. 1).

O aumento na densidade estomática geralmente está associado com maior condutância estomática (Boardman 1977) e, portanto, a uma menor resistência estomática, como pode ser verificado principalmente para as plantas micorrizadas. Alguns trabalhos têm demonstrado correlações positivas entre o número de estômatos e taxa fotossintética (Castro *et al.* 2003; Cavalcante & Conforto 2002). Portanto, o aumento na densidade estomática acompanhada do aumento na área foliar e à diminuição na resistência estomática, permite o maior influxo de CO₂ que acarreta uma maior atividade fotossintética, e com isso, elevado crescimento e acúmulo de matéria seca como verificado para as plantas dos tratamentos com inoculação do fungo.

Tabela 1. Densidade (n° de estômatos/mm²), diâmetro polar dos estômatos da epiderme abaxial (DPEEAb), diâmetro equatorial dos estômatos da epiderme abaxial (DEEEAb) e razão diâmetro polar/diâmetro equatorial (DP/DE) de folhas de plantas jovens de seringueira submetidas aos tratamentos mic+50P, s/mic+50P e s/mic+500P, após 195 dias de cultivo.

Tratamentos	N° de estômatos/mm ²	DPEEAb (µm)	DEEEAb (µm)	DP/DE
MIC+ 50P	301,020 a	28,44 a	14,4 a	1.69 a
S/MIC+ 50P	249,000 b	20,7 b	12,24 b	1.74 a
S/MIC+ 500P	318,420 a	28,26 a	14,4 a	1.67 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Scott-Knott a $P \leq 0,05$.

Abrams *et al.* (1994) correlaciona o comprimento da célula estomática positivamente à assimilação de carbono e condutância estomática. Portanto, estômatos de maiores dimensões apresentam menor resistência estomática, permitindo maior influxo e assimilação de CO₂. De acordo com H.S. Rocha, dados não publicados, a relação entre os diâmetros polar (DP) e equatorial (DE), fornece um bom indicativo do formato dos estômatos, sendo que quanto maior a razão DP/DE, mais elipsóide é o formato estomático e maior será sua funcionalidade. Como não houve diferença estatística entre a razão dos diâmetros estomáticos para os tratamentos, não se pode atribuir parâmetros de maior ou menor eficiência de estômatos entre estes.

Foram verificadas alterações quanto ao número de pólos de xilema nas secções transversais das raízes das plantas (Fig.

6). As raízes micorrizadas apresentaram um maior número de pólos de xilema em comparação com os outros dois tratamentos. O aumento no número de pólos de xilema, aparentemente associa-se a um aumento no número de vasos de xilema e de seu somatório de área. Segundo Firbas (1931 *apud* Larcher 2006), plantas com altas taxas de transpiração apresentam elevada área de condução, que se refere à soma da área transversal de todos os elementos do xilema. Levando-se em consideração uma maior taxa de transpiração associada a uma maior condutância estomática e menor resistência difusiva, pode-se inferir que um maior número de pólos de xilema contribui para uma maior condutividade hidráulica da raiz, o que acarreta em translocação de maior volume de água pelas raízes micorrizadas em relação aos tratamentos sem inoculação.

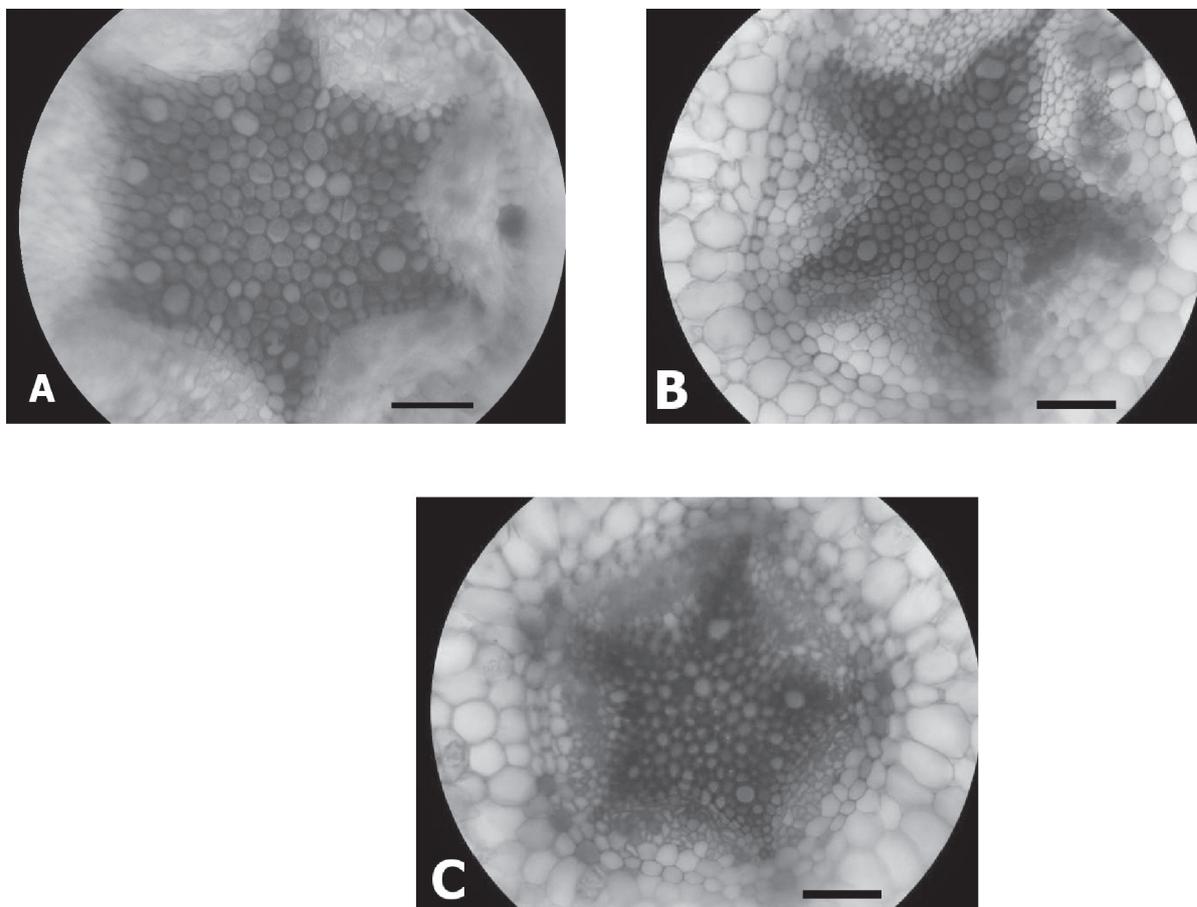


Figura 6. Fotomicrografia de secções transversais de raízes de plantas jovens de seringueira submetidas aos tratamentos mic+50P (A), s/mic+50P (B) e s/mic+500P (C), após 195 dias de cultivo. Escalas = 50µm.

Devido à substancial contribuição à absorção radicular realizada pelo micélio dos fungos micorrízicos, adaptações no sentido de se garantir uma maior condutância hidráulica das raízes seria importante para as plantas colonizadas. É possível que este fato possa contribuir para justificar a maior taxa de transpiração observada nas plantas micorrizadas em relação ao tratamento s/mic+500P, após 195 de inoculação. O aumento no número de pólos de xilema pode ser decorrente da liberação diferenciada ou produção de fitohormônios pelos fungos (Fitze *et al.* 2005; Karabaghli-Degron *et al.* 1998; Kaldorf & Ludwig-Müller 2000) na raiz, como por exemplo, o aumento nos níveis de citocininas (Allen *et al.* 1980), e auxinas, que são reconhecidas importantes no processo de divisão e diferenciação vascular e na regulação do número de elementos de vasos.

A inoculação do fungo micorrízico *Glomus clarum* proporcionou alterações nas características biofísicas e fisionômicas favoráveis ao desenvolvimento e crescimento de mudas de *Hevea brasiliensis*, constituindo um procedimento eficiente a ser considerado na formação de mudas desta espécie, que possibilita a obtenção de porta enxertos precoces e mais vigorosos.

Referências bibliográficas

- Abrams, M.D.; Kubiske, M.E. & Mostoller, S.A. 1994. Relating wet and dry year ecophysiology to leaf structure in contrasting temperature tree species. **Ecology Durham** 75(1): 123-133.
- Allen, M.F.; Moore, T.S.Jr & Christensen, M. 1980. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. I. Cytokinin increases in the host plant. **Canadian Journal of Botany** 58(3): 371-374.
- Augé, R.M.; Schekel, K.A. & Wample, R.L. 1986. Osmotic adjustment in leaves of VA mycorrhizal non-mycorrhizal rose plants in response to drought stress. **Plant Physiology** 82: 765-770.
- Augé, R.M. 2000. Stomatal behavior of arbuscular mycorrhizal plants. Pp. 201-237. In: KAPULNIK, Y.; DOUDS, D.D. **Arbuscular mycorrhizas: physiology and function**. Dordrecht, Kluwer.
- Bago, B.; Pfeiffer, P.E.; Abubaker, J.; Jun, J.; Allen, J.W.; Brouillette, J.; Douds, D.; Lammers, P.J. & Shachar-Hill, Y. 2003. Carbon export from arbuscular mycorrhizal roots involves the translocation of carbohydrate as well as lipid. **Plant Physiology** 131(3): 1496-1507.
- Bataglia, O.C.; Santos, W.R.; Igue, T. & Gonçalves, P.S. 1998. Resposta da seringueira clone RRIM 600 à adubação NPK em solo Podzólico Vermelho Amarelo. **Bragantia** 57(2): 367-377.
- Boardman, N.K. 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology** 28: 355-377.
- Castro, E.M.; Pinto, J.E.B.P.; Alvarenga, A.A.; Lima Júnior, E.C.; Bertolucci, S.K.V.; Silva Filho, J.L.; Vieira, C.V. 2003. Crescimento e anatomia foliar em plantas jovens de *Mikania Glomerata* Sprengel (Guaco) submetidas a diferentes fotoperíodos. **Revista Ciência e Agrotecnologia** 27(6): 111-120.
- Cavalcante, J.R. & Conforto, E.C. 2002. Desempenho de cinco clones jovens de seringueira na região do Planalto Ocidental Paulista. **Bragantia** 61(3): 237-245.
- Chu, E.Y.; Yared, J.A.G. & Maki, H.J.O. 2004. Efeitos da inoculação micorrízica e da adubação fosfatada em mudas de *Vochysia máxima* Ducke. **Revista Árvore** 28(2):157-165.
- Eckardt, N.A. 2005. Insights into plant cellular mechanisms: of phosphate transporters and arbuscular mycorrhizal infection. **The Plant Cell** 17: 3213-3216.
- Fitze, D.; Wiepning, A.; Kaldorf, M. & Ludwig-Müller, J. 2005. Auxins in the development of an arbuscular mycorrhizal symbiosis in maize. **Journal of Plant Physiology** 162(11): 1210-1219.
- Giovannetti, M. & Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist** 84(3): 489-500.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. 2. ed. New York, Mc Graw-Hill.
- Kaldorf, M. & Ludwig-Müller, J. 2000. Fungi might affect the root morphology of maize by increasing indole-3-butyric acid biosynthesis. **Physiologia Plantarum** 109(1): 58-67.
- Karabaghli-Degron, C.; Sotta, B.; Bonnet, M.; Gay, G. & Le Tacon, F. 1998. The auxin transport inhibitor 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA) inhibits the stimulation of in vitro lateral root formation and the colonization of the tap-root cortex of Norway spruce (*Picea abies*) seedlings by the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor*. **New Phytologist** 140(4): 723-733.
- Koide, R. 1993. Physiology of the mycorrhizal plant. **Advance of Plant Pathology** 9: 33-54.
- Kraus, J.E. & Arduin, M. 1997. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: Edur.
- Larcher, W. 2006. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos, Rima Artes e Textos.
- López-Bucio, J.L.; Hernandez-Abreu, E.; Sánchez-Calderón, L.; Nietojacobo, M.F.; Simpson, J.; Herrera-Estrella, L. 2002. Phosphate availability alters architecture and cause changes in hormone sensitivity in the *Arabidopsis* root system. **Plant Physiology** 129(1): 244-256.
- Ludwig-Müller, J.; Kaldorf, M.; Sutter, E.G. & Epstein, E. 1997. Indole-3-butyric acid (IBA) is enhanced in young maize (*Zea mays*) L. roots colonized with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. **Plant Science** 125(2): 153-162.
- Malavolta, E. 1980. **Elementos da nutrição mineral de plantas**. Piracicaba, CERES.
- Marschener, H. 2002. **Mineral nutrition of higher plants**. San Diego, Academic Press.
- Marulanda, A.; Azcon, R. & Ruiz-Lozano, J.M. 2003. Contribution of six arbuscular mycorrhizal fungal isolates to water uptake by *Lactuca sativa* plants under drought stress. **Physiologia Plantarum** 119(4): 526-533.
- Morandi, D. 1996. Occurrence of phytoalexins and phenolic compounds in endomycorrhizal interactions, and their potential role in biological control. **Plant and Soil** 185(2): 241-251.
- Moreira, F.M.S. & Siqueira, J.O. 2006. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. 2ª ed., Lavras, UFLA. v.I.
- Mosse, B. 1981. **Vesicular-arbuscular mycorrhizae research for tropical agriculture**. Hawaii, Institute of Tropical Agriculture and Human Resources. College of Tropical Agriculture and Human Resources.
- Nelsen, C.E. & Safir, G.R. 1982. Increased drought tolerance of mycorrhizal onions due to improved phosphorus nutrition. **Planta** 154(5): 407-413.
- Peng, S.; Eissenstat, D.M.; Crahan, J.H.; Williams, K. & Hodge, N.C. 1993. Growth depressions in mycorrhizal citrus at high-phosphorus supply. **Plant Physiology** 101(3): 1063-1071.
- Phillips, J.M. & Hayman, D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment for infection. **Transactions of the British Mycological Society** 55: 158-161.
- Rocha, F.S.; Saggini-Junior, J.O.; Silva, E.M.R. & Lima, W.L. 2006. Dependência e resposta de mudas de cedro a fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 41(1): 77-84.
- Schwob, I.; Ducher, M.; Sallanon, H. & Coudret, A. 1998. Growth and gas exchange responses of *Hevea brasiliensis* seedlings to inoculation with *Glomus mosseae*. **Trees** 12(4): 236-240.
- 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 Ciência do Solo** 28(5): 827-832.
- Siqueira, J.O. & Saggini-Junior, O.J. 2001. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. **Mycorrhiza** 11(5): 245-255.
- Smith, S.E. 1980. Mycorrhizas of autotrophic higher plants. **Biological Reviews** 55(4): 475-510.
- Soares, A.C.F.; Garrido, M.S.; Azevedo, R.L.; Mendes, L.N. & Graziotti, P.H. 2003. Produção de mudas de ipê roxo inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares. **Magistra** 15(2): 123-127.