



**ARLEY JOSÉ FONSECA**

**FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES  
NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE  
GENÓTIPOS DE *Coffea arabica* L.**

**LAVRAS - MG  
2016**

**ARLEY JOSÉ FONSECA**

**FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO  
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE GENÓTIPOS DE *Coffea arabica* L.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dr. Gladyston Rodrigues Carvalho

Coorientadores

Dr. Marco Aurélio Carbone Carneiro

Dra. Sônia Maria de Lima Salgado

**LAVRAS – MG**

**2016**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo (a) próprio (a) autor (a).**

Fonseca, Arley José.

Fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento inicial de genótipos de *Coffea arabica* L. / Arley José Fonseca. – Lavras: UFLA, 2016.

73p. : il.

Tese(doutorado)–Universidade Federal de Lavras, 2016.

Orientador(a): Gladyston Rodrigues Carvalho.

Bibliografia.

1. Café. 2. Híbridos. 3. Cultivar. 4. Inoculação fúngica. 5. Simbiose. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

**ARLEY JOSÉ FONSECA**

**FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO  
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE GENÓTIPOS DE *Coffea arabica* L.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

Aprovada em 16 de setembro de 2016.

Dr. Marco Aurélio Carbone Carneiro	UFLA
Dr. Antônio Nazareno Guimarães Mendes	UFLA
Dr. Carlos Henrique Siqueira de Carvalho	EMBRAPA
Dr. Rodrigo Luz Cunha	EPAMIG

Dr. Gladyston Rodrigues Carvalho  
Orientador

**LAVRAS – MG  
2016**

*A Deus Nosso Senhor e a Nossa Senhora Aparecida,  
por me abençoar e permitir que eu complete mais essa etapa em minha  
vida*

**OFEREÇO**

*Aos meus pais José Tibães e Helenita Cruz,  
aos meus irmãos Adriano e Andrea,  
pelo incentivo e amor*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por me abençoar e estar presente em todos os momentos da minha vida.

Aos meus pais, **José Tibães Fonseca e Helenita Perpetua da Cruz Fonseca**, bem como aos meus irmãos, Adriano Geraldo Fonseca e Andrea Aparecida Fonseca, que me apoiaram e acreditaram no meu trabalho.

Ao meu amor, **Dayana Rodrigues**, pelo carinho, amor, amizade e compreensão.

À **Universidade Federal de Lavras (UFLA)**, ao Departamento de Agricultura, por meio de seus professores e funcionários, pela oportunidade de realização do curso.

À **Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG)**, pela cessão das áreas experimentais e pelo apoio na condução do trabalho.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG)**, pela concessão da bolsa.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG)**, ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, à **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, ao **Consórcio Pesquisa Café** e ao **Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Café (INCT Café)**, pelo apoio financeiro ao projeto.

Ao orientador **Gladyston Rodrigues Carvalho**, pelo incentivo, pela oportunidade, amizade e pela orientação.

À coorientadora **Sônia Maria de Lima Salgado**, pela amizade e pelas contribuições no projeto.

Aos pesquisadores **César Elias Botelho e Walter Adão**, pela amizade e transmissão de seus conhecimentos.

Aos professores **Antônio Nazareno Guimarães Mendes, Rubens José Guimarães, Virgílio Anástacio da Silva, Maria Laene Moreira de Carvalho e Marco Aurélio Carbone Carneiro**, pelo apoio, pelos ensinamentos e pelas contribuições para aumentar os meus conhecimentos.

Aos funcionários do setor de cafeicultura, em especial, **José Maurício** e do laboratório de Microbiologia do Solo, em especial, **Manoel**.

Ao pesquisador **Carlos Henrique Siqueira de Carvalho**, que disponibilizou os clones utilizados no experimento.

Ao gerente da EPAMIG de Lavras, **Valter José da Silva**, pela amizade e pelo auxílio na implantação do experimento.

Aos funcionários da subestação, da Fazenda Experimental da EPAMIG, em Lavras e aos funcionários da UFLA.

À **Betel**, pela ajuda no laboratório de embriogênese somática (PROCAFÉ Varginha).

À secretária do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, **Marli dos Santos Túlio**, pela paciência, compreensão e pelo auxílio.

Aos amigos **Zélio, Rodrigo** (Dona Benta), **Regis, Raoni, Irã, Alisson, Josimar, Marcos, César e Bárbara**, pela amizade e pelo companheirismo.

Aos amigos e bolsistas da EPAMIG, em especial, **Carol, Alessandro, Fernando** (Capelinha), **João Paulo Felicori, João Luiz** (Xinxila), **Vinicius Lemos, Diêgo, Tassone, Rodrigo, Denis, Marcelo, Larissa, Manoel** e muitos outros que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

**MUITO OBRIGADO!**

## RESUMO

Objetivou-se com estes trabalhos avaliar o desenvolvimento e a resposta nutricional de mudas de *Coffea arabica* L., inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Para isto foram instalados dois experimentos, sendo um em viveiro com mudas propagadas por embriogênese somática, e outro em vasos, com mudas propagadas por sementes com seis genótipos em casa de vegetação. O experimento 01 objetivou melhorar o processo de produção de mudas por embriogênese somática por meio da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 7, sendo: os clones de café clone 1 “Catucaí Vermelho”, e o clone 2 “Acauã”, inoculados com cinco inóculos diferentes compostos pelos FMAs *Rhizophagus clarus*, *Gigaspora margarita* e *Acaulospora mellea* e desenvolvidas em substrato com redução da adubação; e os controles não inoculados com (Controle) e sem (Padrão) redução da adubação no substrato, com quatro repetições. Aos 180 dias foram avaliadas mudas dos dois clones inoculadas com e sem inoculação FMAs (Controle) e sem (Padrão). As conclusões obtidas foram que o uso de fungos micorrízicos arbusculares melhora o desenvolvimento de mudas micropopagadas de *C. arabica* L. Os clones comportaram-se de modo diferenciado quando inoculados com os FMAs sendo o clone 1 (Catucaí Vermelho), o de melhor resposta. O experimento 02 objetivou avaliar o efeito da inoculação FMAs *Rhizophagus clarus* e a mistura *Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita* sobre o desenvolvimento inicial e a resposta nutricional de seis genótipos de *C. arabica* L. O ensaio foi realizado em Delineamento Inteiramente Casualizado, com esquema fatorial 6 x 3, sendo seis genótipos de *C. arabica* L. (MGS Aranãs, Catiguá MG2, Paraíso H 419-1, IPR 100, Catuai Vermelho IAC 144 e uma progênie (H 29-1-8-5) em geração F4) e três referente aos FMAs: *Rhizophagus clarus*, *Gigaspora margarita* e tratamento não inoculado (Controle), com cinco repetições e uma planta por unidade experimental. As conclusões foram que a inoculação favoreceu o crescimento inicial das plantas de café e sua intensidade variou de acordo com os genótipos. Dos seis genótipos utilizados os destaques foram Catuai Vermelho IAC 144 e Catiguá MG 2 apresentando maiores acúmulos de nutrientes na matéria seca, sendo os mais promissores para o uso de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares. Todas as variáveis estudadas, quando as plantas foram inoculadas com os fungos micorrízicos arbusculares *Rhizophagus clarus*, e a mistura dos fungos *Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita*, apresentaram ganhos, em relação as plantas não inoculadas.

Palavras-chave: Café. Híbrido. Cultivar. Inoculação fúngica. Simbiose.



## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the development and nutritional response of seedlings of *Coffea arabica* L. inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). Thus, two experiments were installed, one in nursery with seedlings propagated by somatic embryogenesis, and another in pots with seedlings propagated by seeds from six genotypes in greenhouse. The experiment 01 aimed to improve the seedling production process by somatic embryogenesis through inoculation with mycorrhizal fungi. The design used was completely randomized in a factorial 2 x 7, with two coffee clones: clone 1 "Catucaí Vermelho" and clone 2 "Acauã", both inoculated with five different inoculants composed of AMF *Rhizophagus clarus*, *Gigaspora margarita* and *Acaulospora mellea* and grown on substrate with reduced fertilizing; and non-inoculated control with (Control) and without (Pattern) reduction of fertilizer in the substrate, using four replications. After 180 days were evaluated seedlings of two clones inoculated with and without inoculation AMF (Control) and without (pattern). The conclusions were that the use of mycorrhizal fungi improves the development of seedlings micropropagation of *C. arabica* L. Clones behaved differently when inoculated with AMF and the clone 1 (Catucaí Vermelho), with better response. In the experiment 02 was evaluated the effect of inoculation AMF *Rhizophagus clarus* and the mixture of *Rhizophagus clarus* and *Gigaspora margarita* on the initial development and the nutritional response of six *C. arabica* L. genotypes. The experiment was performed in design used was completely randomized in a factorial 3 x 6, with *C. arabica* L. genotypes (IPR100, Paraíso H 419-1, MGS Aranas, Catiguá MG2, Catuai Vermelho IAC 144 and H 29-1-8-5 progeny in F4 generation), and three for the AMF: *Rhizophagus clarus*, *Gigaspora margarita* and treatment uninoculated (Control), with five replications and one plant each. The conclusions were that inoculation favored initial growth of coffee plants and its intensity varied according to the genotypes. The genotypes which highlighted were Catuai Vermelho IAC 144 and Catiguá MG 2 presented the highest accumulation of N and P nutrients, the most promising to be inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. All variables, when the plants were inoculated with mycorrhizal fungi *Rhizophagus clarus*, and the mixture of fungi *Rhizophagus clarus* and *Gigaspora margarita* showed gains over the plants not inoculated.

Key-words: Coffee. Hybrid. Cultivars. Fungal inoculation. Symbiosis.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### CAPÍTULO 2

<b>Tabela 1</b>	Sobrevivência, altura da parte aérea e diâmetro do coleto das mudas de dois clones de café com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado casa de vegetação, Varginha MG.....	33
<b>Tabela 2</b>	Valores médios de porcentagem de raízes colonizadas, densidade de esporos, índice de clorofila total e massa seca da parte aérea das mudas de dois clones de café com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Varginha MG.....	35
<b>Tabela 3</b>	Massa seca das raízes, massa seca total e área foliar das mudas de dois clones de café com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instado em casa de vegetação, Varginha MG.....	37
<b>Tabela 4</b>	Acúmulo de Ca, Cu e Zn, das mudas de dois clones de café com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado casa de vegetação, Varginha MG.....	41
<b>Figura 1</b>	Representação gráfica das médias do acúmulo de N nas mudas de dois clones de café com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Varginha MG.....	38
<b>Figura 2</b>	Representação gráfica das médiasdo acúmulo de P e Mg nas mudas de dois clones de café com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Varginha MG.....	39
<b>CAPÍTULO 3</b>		
<b>Tabela 1</b>	Origens dos genótipos de <i>Coffea arabica</i> L. utilizadas no ensaio.....	52
<b>Tabela 2</b>	Incremento do diâmetro do caule das plantas de seis genótipos	

	de <i>Coffea arabica</i> L. aos 150 e 300 dias com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Lavras MG.....	58
<b>Tabela 3</b>	Porcentagem de raízes colonizadas, massa seca da parte aérea, massa seca das raízes e massa seca total das plantas de seis genótipos de <i>Coffea arabica</i> L. sem e com inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Lavras MG.....	60
<b>Tabela 4</b>	Área foliar e acúmulo de N, P e K das plantas de seis genótipos de <i>Coffea arabica</i> L. sem e com inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Lavras MG.....	62
<b>Tabela 5</b>	Correlação entre porcentagem de colonização, altura, diâmetro do caule, massa seca da parte aérea, massa seca das raízes, massa seca total, área foliar, acúmulo de N, P e K para plantas de café, com e sem uso de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação aos 300 dias, Lavras MG.	65
<b>Figura 1</b>	Representação gráfica das médias do incremento de altura das plantas de seis genótipos de <i>Coffea arabica</i> L. aos 150 e 300 dias, com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Lavras MG.....	57
<b>Figura 2</b>	Representação gráfica da resposta relativa à inoculação com <i>Rhizophagus clarus</i> e a mistura <i>Rhizophagus clarus</i> e <i>Gigaspora margarita</i> para massa seca das raízes das plantas de seis genótipos de <i>Coffea arabica</i> L. em ensaio instalado casa de vegetação, Lavras MG.....	64

## SUMÁRIO

	<b>CAPÍTULO 1.....</b>	12
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	12
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	14
<b>2.1</b>	<b>A cultura do café no Brasil.....</b>	14
<b>2.2</b>	<b>Cultivares de <i>Coffea arabica</i> L.....</b>	14
<b>2.3</b>	<b>Propagação vegetativa de <i>Coffea arabica</i> L.....</b>	16
<b>2.4</b>	<b>Fungos micorrízicos arbusculares.....</b>	17
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	19
	<b>CAPÍTULO 2 Fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de mudas de <i>Coffea arabica</i> L. produzidas por embriogênese somática.....</b>	23
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	26
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	28
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	32
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	42
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	43
	<b>CAPÍTULO 3 Fungos micorrízicos arbusculares no crescimento inicial e nutrição de seis genótipos de <i>Coffea arabica</i> L.....</b>	47
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	50
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	51
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	55
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	66
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	67
	<b>ANEXOS.....</b>	70

## CAPÍTULO 1

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

A cafeicultura é uma das atividades mais importantes no agronegócio brasileiro e mundial. O Brasil se destaca como maior produtor, maior exportador e segundo maior consumidor de café do mundo. O café gera muitos empregos e renda nas regiões produtoras, assim com importante papel socioeconômico no desenvolvimento do país. Minas Gerais é o maior produtor estadual, sendo responsável por aproximadamente 57% do café produzido no país. As pesquisas e técnicas recentes à cultura são essenciais para tornar a cafeicultura nacional autossustentável, proporcionando aumento em produtividade e no desenvolvimento socioeconômico da cafeicultura.

O melhoramento genético do cafeeiro tem proporcionado o desenvolvimento de cultivares com elevado potencial produtivo associado a outras características de interesse, tais como a resistência a pragas, doenças e qualidade de bebida superior. Além do registro de novas cultivares, a produção de híbridos F<sub>1</sub> para a multiplicação vegetativa consiste em mais uma alternativa oriunda dos programas de melhoramento para garantir a sustentabilidade da cafeicultura. Sabe-se que híbridos F<sub>1</sub> apresentam de 20 a 30% a mais de produtividade que as melhores cultivares e vêm sendo utilizados em países produtores de arábica na América Central. Contudo, a propagação vegetativa de *Coffea arabica* L. no Brasil ainda necessita ser adequada para utilização em escala comercial seja por estaquia ou embriogênese somática, pela baixa taxa de enraizamento e/ou alto custo das mudas.

Técnicas aplicadas em outras culturas têm sido estudadas para viabilizar a utilização da propagação vegetativa em *Coffea arabica* L. Ensaio utilizando diferentes gêneros de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em diferentes culturas vêm apresentando resultados promissores, durante o processo de aclimatização das mudas.

A simbiose entre as raízes das plantas do cafeeiro e os fungos micorrízicos arbusculares é uma das principais estratégias da associação, proporcionando inúmeros benefícios para ambos. Assim que os fungos micorrízicos associam-se com as células radiculares, promove um alongamento das hifas no solo, aumentando o volume de solo explorado. Essa associação gera benefícios à planta, maior resistência a doenças e patógenos, a estresse hídrico nas plantas e aumenta a absorção de nutrientes, especialmente os poucos móveis no solo como fósforo e zinco.

Dessa forma, estudos com diferentes genótipos de *Coffea arabica* L. em associação com fungos micorrízicos arbusculares poderão contribuir de maneira significativa para o avanço da cafeicultura no Brasil. Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar o desenvolvimento e a resposta nutricional de mudas de *Coffea arabica* L., inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Cultura do café no Brasil**

O café é um dos destaques no agronegócio brasileiro, sendo essencial no desenvolvimento socioeconômico, com geração de empregos para muitos trabalhadores (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2010). A produção brasileira na safra de 2016 é de 49,7 milhões de sacas de café (arábica e robusta). O estado de Minas Gerais se destaca como maior produtor de *Coffea arabica* L., com produção de 28,2 milhões de sacas, correspondendo a 56,7% da produção nacional (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2016). Em Minas Gerais está distribuída em quatro regiões: sul de Minas (sul/sudoeste), Matas de Minas (Zona da Mata/Rio Doce), Cerrados de Minas (Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba) e Chapadas de Minas (Vale do Jequitinhonha/Mucuri), com uma área que compreende 1,2 milhão de hectares, e gerando aproximadamente 3,8 milhões de empregos (BARBOSA et al., 2009; CARVALHO; PEREIRA, 2009).

Apesar de conquistar significativo patamar no agronegócio, ainda existem demandas por novas tecnologias, para garantir a sustentabilidade da cafeicultura nacional. Os avanços em produtividade têm sido observados ao longo de alguns anos nas lavouras cafeeiras de Minas Gerais, com a adoção de técnicas de manejo, melhoramento genético com emprego de novas cultivares, uso racional de fertilizantes e melhoria na qualidade dos cafés especiais (CARVALHO; PEREIRA, 2009).

### **2.2 Cultivares de *Coffea arabica* L.**

O amplo desenvolvimento científico e tecnológico da cafeicultura convencional do século XX vem assegurando alta produtividade e lucratividade. O melhoramento genético do cafeeiro tem contribuído de maneira decisiva para

esse desenvolvimento, incorporando, por meio de cruzamentos, ganhos genéticos para produtividade e outras características de interesse agrônomo. O sucesso dos programas de melhoramento genético tem colocado à disposição dos cafeicultores cultivares mais adaptadas às condições adversas, produtivas e com qualidade superior de bebida (BERTRAND et al., 2005).

A obtenção de novas variedades depende basicamente da seleção dentro das populações híbridas. A vantagem desse processo é a relativa facilidade com que são feitas as seleções de características com alta herdabilidade, permitindo o descarte de genótipos indesejáveis. A desvantagem está na rápida perda das características com baixa herdabilidade, devido à redução do nível de heterozigose dos indivíduos selecionados (GALLAIS, 1990).

Muitos pesquisadores sugerem a possibilidade de criação de variedades híbridas (CHARRIER, 1978; VANDERVOSSSEN, 1985), visando à exploração da heterozigose. Isso se justifica na medida em que o melhoramento genético de café envolve a seleção inicial de plantas híbridas com alto vigor e produtividade, além de apresentarem resistência a doenças e pragas (ETIENNE et al., 2002; MIRANDA; PERECIN; PEREIRA, 2005; RIBEIRO et al., 2005). Alguns autores observaram heterose variando de 10 a 40% (AMEHA, 1990; CARVALHO; MÔNACO, 1969).

Híbridos  $F_1$  produzem de 20 a 30% a mais que as melhores linhagens estáveis, além de poder carregar genes estáveis complementares a pragas e doenças (ETIENNE et al., 2002).

Comparando híbridos  $F_1$  com cultivar tradicional ("Bourbon") sob várias condições edafoclimáticas e em diferentes altitudes, verificou-se que o uso de híbridos  $F_1$  deve contribuir para reduzir variações na qualidade de bebida (BERTRAND et al., 2005).



### 2.3 Propagação vegetativa de *Coffea arabica* L.

A exploração de variedades híbridas pressupõe o domínio de uma metodologia de multiplicação clonal em larga escala, que possa ser viabilizada comercialmente. Os mais importantes métodos de propagação vegetativa são: multiplicação por estacas “estaquia” e por meio da “embriogênese somática”.

Na estaquia o processo de enraizamento é mais complexo, depende do sistema de propagação em dar turgidez ao propágulo, para poder formar as raízes, exercendo suas funções de absorção de água e nutrientes para as mudas (THOMPSON, 1992). Para isso, o ambiente ao redor das estacas deve apresentar alto grau de umidade (LOACH, 1987).

A embriogênese somática é outra metodologia de multiplicação em larga escala, que consiste no desenvolvimento de embriões a partir de células somáticas haploides ou diploides, sem que haja fusão de gametas e possibilita propagação vegetativa acelerada e uniformidade genética de clones superiores, apresentando um grande potencial a ser explorado. Técnicas de micropropagação podem ser aplicadas para a rápida produção em massa de clones selecionados de *Coffea canephora*, e para híbridos interespecíficos, como o Arabusta, mas elas são particularmente interessantes em genótipos de *C. arabica*, no qual a superioridade de híbridos F<sub>1</sub> tem sido demonstrada no Kenia (VANDERVOSSSEN; WALYARO, 1981), Etiópia (AMEHA, 1983) e na América Central (BERTRAND et al., 2005). Alguns autores têm demonstrado que a embriogênese somática é um excelente método para a propagação em massa de híbridos F<sub>1</sub> de *C. arabica* L. (ETIENNE et al., 2002).

Apesar de muito promissora, a técnica da embriogênese somática em cafeeiro, apresenta algumas dúvidas em relação ao comportamento das plantas pós-laboratório. São problemas comuns quanto ao alto custo, a desuniformidade,

baixa taxa de enraizamento e menor desenvolvimento das mudas durante a aclimatização (ALMEIDA, 2007).

Por ser uma tecnologia relativamente nova em *C. arabica* L. e com grande potencial de adoção e retorno econômico para os produtores, o plantio de mudas de híbridos F<sub>1</sub> está sendo muito aguardado pelos cafeicultores.

#### **2.4 Fungos micorrízicos arbusculares**

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) (glomeromicetos – Filo Glomeromycota) estabelecem associações simbióticas mutualística entre certos fungos de solo e as raízes da maioria das plantas (SIQUEIRA et al., 2010; SMITH; READ, 1997). Assim que o fungo coloniza as células radiculares formando estruturas típicas como arbúsculos e em algumas espécies de fungos vesículas, ocorre uma maior exploração do solo proporcionando melhorias nutricionais. Essa associação gera benefícios à planta, pois aumenta absorção de nutrientes, especialmente os poucos móveis no solo, como o fósforo e zinco (SIQUEIRA, 1994; SIQUEIRA et al., 1993). Além desses benefícios, os FMAs podem proporcionar maior resistência a doenças e patógenos e ao estresse hídrico nas plantas em caso de veranicos (MARONECK et al., 1981).

A simbiose é dependente de fatores bióticos (densidade e diversidade dos fungos) e abióticos (manejo do solo, planta, fertilização, pesticidas e outros) (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; SIQUEIRA et al., 2010). A presença dos fungos micorrízicos no solo têm sido relacionada a aumentos de produtividade e diversificação de ecossistemas vegetais terrestres (VANDERHEIJDEN et al., 1998). Assim, contribuem para redução dos gastos com fertilizantes e defensivos agrícolas, aumentando a eficiência da adubação fosfatada nas culturas (MARONECK et al., 1981).

O alto potencial do uso de fungos micorrízicos para formação de mudas de cafeeiro com elevada qualidade é caracterizado pela dependência micorrízica,

em solos de baixa fertilidade e em condições de estresses bióticos e abióticos (COLOZZI FILHO et al., 1994; LOPES et al., 1983). Porém devem ser utilizados os FMAs que apresentarem elevada eficiência simbiótica e forem mais competitivos e adaptados ao ambiente (SAGGIN JÚNIOR; LOVATO, 1999). Souza et al. (2006) concluíram, em seu estudo sobre fungos micorrízicos, que o Brasil apresenta enorme potencial para utilização de micorriza, promovendo ganho de produção e retorno financeiro.

Entre as principais medidas para o uso de FMAs em plantas de *C. arabica* L. está inoculação fúngica eficiente, capaz de colonizar rapidamente as raízes do cafeeiro, gerando respostas positivas para a planta (COLLOZZI FILHO et al., 1994; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Escassos são os trabalhos que relatam o uso de fungos micorrízicos arbusculares em mudas de *C. arabica* L. multiplicadas via propagação vegetativa. Recentemente, estudos com utilização de fungos micorrízicos arbusculares em mudas de abacaxizeiro ‘Smooth Cayenne’ (SANTOS et al., 2011), apresentaram resultados promissores no desenvolvimento inicial. Vários autores verificaram o potencial do uso dos FMAs em plantas de *C. arabica* L. multiplicadas via sementes (COLOZZI FILHO et al., 1994; MAIA; SILVEIRA; CAVALCANTE, 2006; SIQUEIRA, 1994; SIQUEIRA et al., 1993, 1998; TRISTÃO; ANDRADE; SILVEIRA, 2006). Estudando duas cultivares de café, inoculadas com as espécies de fungos micorrízicos arbusculares *G. margarita* e *Glomus etunicatum*, em solo ácido com alta concentração de Al e três níveis de saturação por bases, observaram aumento na altura e no diâmetro do caule em relação as do controle (KONRAD et al., 2014). Mudanças de café micorrizadas com fungos micorrízicos arbusculares apresentaram maiores teores de Cu em relação as não micorrizadas (COLOZZI FILHO; SIQUEIRA, 1986; SIQUEIRA; COLOZZI FILHO; SAGGIN JÚNIOR, 1994).

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, G.R.R. **Comportamento de cafeeiros propagados via embriogênese somática**. 2007. 57 p. Tese (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- AMEHA, M. Heterosis and Arabica coffee breeding in Ethiopia. **Plant Breed**, Malden, v. 6, p. 593-598, 1990.
- AMEHA, M. Heterosis in crosses of indigenous coffee selected for yield and resistance to coffee berry disease. I. First bearing stage. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 140, p. 155-161, 1983.
- BARBOSA, J.N. et al. Distribuição espacial de cafés do estado de Minas Gerais e sua relação com a qualidade. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 6., 2009, Vitória. **Resumos expandidos...** Brasília: Embrapa Café, 2009. 1 CD-ROM.
- BERTRAND, B. et al. *Coffea arabica* hybrid performance for yield, fertility and bean weight. **Euphytica**, Wageningen, v. 141, p. 255-262, 2005.
- CARVALHO, A.; MONACO, L.C. The breeding of arabica coffee. In: FEWERDA, F.P.; WIT, F. (Ed.). Outlines of perennial crop breeding in the tropics. **Miscellaneous Paper Agricultural University**, Wageningen, v. 4, p. 198-216, 1969.
- CARVALHO, J.S.; PEREIRA, R.T.G. Implantação de um sistema público de certificação de propriedades cafeeiras: o caso do programa certifica Minas Café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 35., 2009, Araxá. **Anais...** Rio de Janeiro: MAPA/PROCAFÉ, 2009. p. 333-334.
- CHARRIER, A. Etude de la structure et de la variabilite genetique des cafeiers. **Bulletin IFCC**, Paris, v. 14, p. 100, 1978.
- COLOZZI FILHO, A. et al. Efetividade de diferentes fungos micorrízicos arbusculares na formação de mudas, crescimento pós transplante e produção do cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 1397-1406, 1994.
- COLLOZZI FILHO, A.; SIQUEIRA, J.O. Micorrizas vesículo-arbusculares em mudas de cafeeiro. I. Efeitos de *Gigaspora margarita* e adubação fosfatada no

crescimento e nutrição. **Revista Brasileira Ciências do Solo**, Campinas, v. 10, p. 199-205, 1986.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Levantamento CONAB da safra de café**. 2016. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16\\_09\\_22\\_09\\_06\\_12\\_boletim\\_cafe\\_setembro\\_2016.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_09_22_09_06_12_boletim_cafe_setembro_2016.pdf)>. Acesso em: 7 jul. 2016.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. 2010. **Histórico do café**. Disponível em: <<http://www22.sede.embrapa.br/cafe/unidade/historico.htm>>. Acesso em: 22 jul. 2016.

ETIENNE, H. et al. Biotechnological application for the improvement of coffee (*Coffea arabica* L.). **In vitro Cellular and Development Biology Plant**, Columbia, v. 38, p. 129-138, 2002.

GALLAIS, A. **Theorie de la selection en amelioration das plantes**. Paris: Masson, 1990. 588 p.

KONRAD, M.L.F. et al. Resposta do cafeeiro á inoculação de fungos micorrízicos arbusculares, em Latossolo Vermelho de cerrado. **Bioscience, Journal**, Uberlandia, v. 30, n. 4, p. 933-941, 2014.

LOACH, K. Water relations and adventitious rooting. In: DAVIES, T.D.; HAISSING, B.E.; SANKHLA, N. **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Dioscorides, 1987. p. 102-116. (Advances in Plant Sciences Series, 2).

LOPES, E.S. et al. Efeito da inoculação do cafeeiro com diferentes espécies de fungos micorrízicos vesicular-arbusculares. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Campinas, v. 7, n. 2, p. 137-141, 1983.

MAIA, L.C.; SILVEIRA, N.S.S.; CAVALCANTE, U.M.T. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and root pathogens. In: RAI, M. K. (Org.). **Handbook of microbial biofertilizers**. New York: The Haworth, 2006. p. 325-352.

MARONECK, D.M. et al. Mycorrhizal fungi and their importance in horticultural crop production. In: MENDER, W.J.; MARDUSKY, F.J.; PIERCE, L. C. (Ed.). **Horticultural reviews**. Connecticut: AVI, 1981. p. 172-213.

MIRANDA, J.M.; PERECIN, D.; PEREIRA, A.A. Produtividade e resistência à ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix* Berk. Et Br.) de progênies F<sub>5</sub> de Catuaí

Amarelo com o Híbrido de Timor. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 6, p. 1195-1200, 2005.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. atual. e ampl. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729 p.

RHEINHEIMER, D.S. et al. Crescimento de leguminosas forrageiras afetado pela adição de fósforo, calagem do solo e micorrizas, em condições de casa de vegetação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, n. 4, p. 571-576, 1997.

RIBEIRO, R.C.F. et al. Resistência de progênies de híbridos interespecíficos de *Coffea arabica* e *Coffea canephora* a *Meloidogyne exigua*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 29, n. 1, p. 11-16, 2005.

SAGGIN JÚNIOR, O.J.; LOVATO, P.E. Aplicação de micorrizas arbusculares na produção de mudas e plantas micropropagadas. In: SIQUEIRA, J.O. et al. (Ed.). **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Lavras: DCS, 1999. p. 725-773.

SANTOS, P.C. et al. Fungos micorrízicos no crescimento e nutrição de rebentos oriundos de coroa de abacaxi. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, p. 658-665, 2011. Número Especial.

SIQUEIRA, J.B. Micorrizas arbusculares. In: ARAÚJO, R.S.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília, DF: Embrapa, 1994. p. 151-194.

SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI FILHO, A.; SAGGIN JÚNIOR, O.J. Efeitos da infecção de plântulas de cafeeiro com qualidade crescente de esporos do fungo endomicorrízico *Gigaspora margarita*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 875-883, 1994.

SIQUEIRA, J.O. et al. Arbuscular mycorrhizal inoculation and superphosphate application influence plant development and yield of coffee in Brazil. **Mycorrhiza**, Cham, n. 7, p. 293-300, 1998.

SIQUEIRA, J.O. et al. Crescimento de mudas e produção do cafeeiro sob influência de fungos micorrízicos e superfosfato. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Campinas, v. 19, n. 1, p. 53-60, 1993.

SIQUEIRA, J.O. et al. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: Editora UFLA, 2010. v. 1, p. 279-310.

SMITH, S.E.; READ, D.J. **Mycorrhizal Symbiosis**. London: Academic, 1997. 605 p.

SOUZA, V.C. et al. Estudo sobre fungos micorrízicos. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v. 10, n. 3, p. 612–618, 2006.

THOMPSON, D.G. Current state-of-the-art of rooting cuttings and a view to the future. In: SYMPOSIUM IN IUFRO'S CENTENNIAL YEAR - MASS PRODUCTION TECHNOLOGY FOR GENETICALLY IMPROVED FAST GROWING FOREST TREE SPECIES, 1992, Bordeaux. **Syntheses...** Paris: AFOCEL, IUFRO, 1992. p. 159-172. (Colloque AFOCEL - IUFRO).

TRISTÃO, F.S.M.; ANDRADE, S.A.L.; SILVEIRA, A.P.D. Fungos micorrízicos arbusculares na formação de mudas de cafeeiro, e, substrato orgânico comerciais. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n. 4, p. 649-658, 2006.

VAN DER HEIJDEN, M.G.A. et al. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. **Nature**, London, v. 396, n. 6706, p. 69-72, 1998.

VAN DER VOSSSEN, H. Coffee selection and breeding. In: CLIFFORD, C.; WILSON, K. C. (Ed.). **Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage**. Westport: Avi Publishing Company, 1985. p. 46-68.

VAN DER VOSSSEN, H.; WALYARO, D.J. The Coffee breeding programme in Kenia: a rewiem of progress made since 1971 and plan of action for the coming years. **Kenya Coffee**, Nairobi, v. 46, p. 113-130, 1981.

## **CAPÍTULO 2**

**Fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de mudas de *Coffea arabica* L. produzidas por embriogênese somática**



## RESUMO

A produção de mudas de híbridos de *Coffea arabica* L. é uma das alternativas de maior demanda pelos cafeicultores. Atualmente, existem programas de melhoramento para seleção de híbridos F1, contudo a produção de mudas via embriogênese somática de *C. arabica* L. ainda é um grande complicador pela dificuldade durante a aclimatização em casa de vegetação e alto custo das mudas. Uma das alternativas que vem sendo testadas e com resultados promissores é a utilização de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) durante o processo de aclimatização das mudas. Dessa forma, o objetivo neste trabalho foi promover a melhoria do processo de produção de mudas por embriogênese somática por meio da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares. Para produção das mudas clonais, utilizou-se plântulas de aproximadamente cinco centímetros e quatro pares de folhas dos clones (clone 1 “Catucaí Vermelho” e clone 2 “Acauã”) produzidas e desenvolvidas em biorreatores “embriogênese somática”. No momento de transferência das plântulas obtidas *in vitro* para os tubetes, procedeu-se a inoculação com os inóculos dos FMAs *Rhizophagus clarus*, *Gigaspora margarita* e *Acaulospora mellea*, a mistura *R. clarus* e *G. margarita* e a mistura de *R. clarus*, *G. margarita* e *A. mellea*. O uso de fungos micorrízicos arbusculares melhora o desenvolvimento de mudas micropopagadas de *C. arabica* L. Os clones comportaram-se de modo diferenciado quando inoculados com os FMAs, sendo o clone 1 “Catucaí Vermelho”, o de melhor comportamento.

**Palavras-chave:** Propagação. Enraizamento. Clones. Micorrizas. Nutrição mineral.

### ABSTRACT

The seedlings production of *Coffea arabica* L. hybrid is one of the alternatives of higher demand by coffee farmers. Currently there are breeding programs for selection of F1 hybrids, however the production of seedlings by somatic embryogenesis of *C. arabica* L. is still a major complicating factor for difficulty during acclimatization in greenhouse and high cost of seedlings. One alternative that has been tested and with promising results is the use of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) during the acclimatization of the seedlings. Thus, the objective of this study was to promote the improvement of seedling production process by somatic embryogenesis through inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. For clonal plants production, seedlings used are approximately five centimeters and four pairs of leaves of the clones (clone 1 "Catucaí Vermelho" and Clone 2 "Acauã") developed and produced in bioreactors "Somatic embryogenesis". At the time of transfer of the plantlets obtained in vitro for the tubes, inoculation was carried out with inoculants of AMF *Rhizophagus clarus*, *Gigaspora margarita* and *Acaulospora mellea*, and the mixture *R. clarus* *G. margarita* mix and *R. clarus*, *G. margarita* and *A. mellea*. The use of arbuscular mycorrhizal fungi improves the development of seedlings micropropagation of *C. arabica* L. The clones presented different behavior when inoculated with AMF and the clone 1 "Catucaí Vermelho" obtained the best behavior.

Keywords: Propagation. Rooting. Clone. Mycorrhizal. Mineral nutrition.

## 1 INTRODUÇÃO

A Cafeicultura é uma das principais atividades agrícolas do Brasil, promove o desenvolvimento socioeconômico, com geração de vários empregos nas regiões produtoras de café (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2010). O estado de Minas Gerais se destaca como maior produtor brasileiro de *Coffea arabica* L., contando com mais da metade da produção nacional (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2016).

Alternativas que contribuem para o aumento da produtividade e melhoria da qualidade do café têm sido alvo de buscas pelos pesquisadores e cafeicultores brasileiros. A produção de mudas de híbridos de *C. arabica* L. é uma das alternativas mais promissoras (ETIENNE et al., 2002; VAN DER VOSSSEN, 1985). Além do aumento de mais de 30% da produtividade, em relação às cultivares tradicionais, também é possível agregar características de interesse mais rapidamente ao compararmos com o método tradicional para obtenção de cultivares (BERTRAND et al., 2005).

Como alternativa para a multiplicação de híbridos F1, a embriogênese somática se destaca entre os métodos de multiplicação vegetativa. Já que, pequenas quantidades de material de origem (Folhas) são utilizadas para produção de grande número de mudas (REZENDE et al., 2012). Contudo, mudas de *C. arabica* L. produzidas via embriogênese somática ainda apresentam alguns complicadores pós-laboratório. A dificuldade durante a aclimatização em casa de vegetação e o alto custo para a produção de mudas são alguns dos problemas mais comuns (CARVALHO et al., 2013; ETIENNE et al., 2002). Uma técnica que pode melhorar esses complicadores é a utilização de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em mudas micropropagadas de *C. arabica* L. Esta pode tornar-se uma tecnologia promissora durante o processo de aclimatização e aclimação das mudas micropropagadas.

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), estabelecem associações simbióticas com as raízes da maioria das plantas (SIQUEIRA et al., 2010). Os FMAs possuem hifas, que em associação com as raízes das plantas agem como extensão destas, aumentando a área explorada no solo, assim, confere benefícios para as plantas aumentando a absorção de água e nutrientes (KAHILUOTO; KETOJA; VESTBERG, 2012; MAIA; SILVEIRA; CAVALCANTE, 2006; SIQUEIRA; COLOZZI FILHO; SAGGIN JÚNIOR, 1994; SIQUEIRA et al., 2006; SMITH; READ, 1997). Podem também proporcionar maior resistência a condições ambientais adversas, aumentar a sobrevivência pós-plantio e acelerar o desenvolvimento inicial dos cafeeiros no campo (SILVEIRA et al., 2003; SIQUEIRA et al., 2006, 2010; SOUZA et al., 2006). Além desses benefícios citados, a simbiose contribui para aumentar a absorção de nutrientes como P, Ca, Mg, S e Cu, além de proteger contra a toxidez de Mn e Zn (SAGGIN JÚNIOR et al., 1995a, 1995b; SIQUEIRA et al., 1995), podendo gerar ganhos na matéria seca pelo maior acúmulo dos nutrientes (CALDEIRA; CHAVES; ZAMBOLIM, 1983; TRISTÃO; ANDRADE; SILVEIRA, 2006).

O aumento da eficiência do processo de produção de mudas clonais via Embriogênese Somática e redução do custo da muda com uso de FMAs poderá melhorar algumas características agrônômicas de interesse em menor tempo. Dessa forma, o objetivo neste trabalho foi promover a melhoria do processo de produção de mudas por embriogênese somática por meio da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e viveiro na Fundação Procafé, em Varginha, Minas Gerais, Brasil, coordenadas geográficas 21°34'00"S e 45°24'22"W, altitude média de 1.000 metros.

### 2.2 Delineamento experimental

O arranjo experimental foi em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), em esquema fatorial 2 x 7. Considerando dois clones de café: clone 1 “Catucaí Vermelho” e clone 2 “Acauã”, e cinco inóculos de FMAs sendo: F1 (*Rhizophagus clarus*), F2 (*Gigaspora margarita*), F3 (*Acaulospora mellea*), F4 (mistura de *R. clarus* e *G. margarita*) e F5 (mistura de *R. clarus*, *G. margarita* e *A. mellea*) e dois tratamentos não inoculados com (Padrão) e sem (Controle) a redução da adubação com fertilizante 09-45-11 (N-P-K) de Raizal 400®. Os tratamentos foram compostos de quatro repetições e seis mudas por cada unidade experimental. Escolheram-se esses clones por apresentarem resistência à ferrugem (*Hemileia vastatrix*), boa qualidade de bebida e elevada produtividade. Os clones foram selecionados em uma população em desenvolvimento de Acauã e Catucaí Vermelho. O genótipo Catucaí Vermelho (clone 1) é originário de cruzamento entre Icatu e Catuaí e o Acauã (clone 2) é originário de cruzamento entre Mundo Novo (388-17) e Sarchimor (IAC 1668).

### 2.3 Produção de inoculante

Para multiplicação dos FMAs, foi utilizado um substrato composto de solo (Latossolo Vermelho Distrófico) e areia na proporção de 1:1 (v:v). Para esterilização deste, com autoclave a 1 atm e 120 °C, por 60 minutos, sendo esse

processo repetido ao completar 24 horas. Após 20 dias, vasos de três litros foram preenchidos com substrato e semeados com *Brachiaria decumbens*, inoculados separadamente com esporos de *R. clarus*, *G. margarita* e *A. mellea*. Sendo esse material cedido pelo Laboratório de Microbiologia do Solo, Departamento de Ciência do Solo (UFLA).

Após cinco meses da inoculação fez-se a quantificação da densidade dos esporos dos fungos de cada espécie separadamente, retirando amostras de 50 ml de solo dos vasos e submetendo à técnica de extração úmida descrita por Gerdemann e Nilcolson (1963).

#### **2.4 Produção das mudas, formação do substrato e adubação**

Para a produção das mudas clonais, procedeu-se multiplicação e o desenvolvimento em biorreatores no processo de multiplicação clonal “embriogênese somática”. Quando as plântulas apresentaram aproximadamente cinco centímetros de altura e quatro pares de folhas, foram transferidas para tubetes de polietileno de 290 cm<sup>3</sup> com substrato inerte composto de fibra de coco fina e acondicionadas em casa de vegetação para serem aclimatizadas.

A adubação do substrato para os tratamentos com e sem (Controle) inoculação dos FMAs, procedeu-se a redução da adubação do fertilizante Raizal 400®, para diminuir a quantidade do fósforo no substrato e aumentar a simbiose entre os fungos e as mudas de café. Para isso adicionou-se ao substrato 8,00 g dm<sup>-3</sup> do fertilizante 14-14-14 (N-P-K) de liberação lenta Osmocote® e 5,00 g dm<sup>-3</sup> do fertilizante 09-45-11 (N-P-K) de Raizal 400®. No tratamento sem inoculação dos FMAs (Padrão), o substrato recebeu 8,00 g dm<sup>-3</sup> do fertilizante 14-14-14 (N-P-K) de liberação lenta Osmocote® e 7,00 g dm<sup>3</sup> do fertilizante 09-45-11 (N-P-K) de Raizal 400®. No final do ensaio o substrato dos tratamentos com e sem inoculação com FMAs foi enviado para análise dos nutrientes e apresentou 1,4 mg dm<sup>-3</sup> de P; 3,3 mg dm<sup>-3</sup> de K, 3,0 cmolc dm<sup>-3</sup> de Ca e 0,6

cmolc dm<sup>-3</sup> de Mg. Para o tratamento Padrão, o substrato apresentou 1,8 mg dm<sup>-3</sup> de P; 5,5 mg dm<sup>-3</sup> de K, 3,2 cmolc dm<sup>-3</sup> de Ca e 0,7 cmolc dm<sup>-3</sup> de Mg.

## 2.5 Inoculação das mudas

No processo de repicagem, 336 plântulas foram transferidas da condução *in vitro* para tubetes de 290 cm<sup>3</sup>. Para formar as mudas inoculadas com os fungos, utilizou-se 240 plântulas e nesse momento procedeu-se a inoculação com os FMAs o *R. clarus*, *G. margarita*, *A. mellea* e a mistura *R. clarus* e *G. margarita* e a mistura *R. clarus* e *G. margarita* e *A. mellea*. Cada tubete aplicou-se, os inoculantes do solo-inóculo contendo esporos, hifas e raízes colonizadas, assim cada muda recebeu o equivalente a 600 esporos. Os inoculantes foram compostos por espécies de FMAs *R. clarus*, *G. margarita*, *A. mellea* e a mistura de *R. clarus* e *G. margarita* e mistura *R. clarus*, *G. margarita* e *A. mellea*. A mistura do FMA é a combinação dos fungos em iguais proporções de esporos.

## 2.6 Condução do experimento

Em seguida, tubetes com as plântulas foram colocados em casa de vegetação equipada com sistema de irrigação por nebulização, com período de 12 horas, ligada por 20 segundos com turno de rega 20 minutos e lâmina de água 0,8 mm diário. As mudas permaneceram na casa de vegetação por 135 dias, após esse período foram transferidas para um viveiro.

A aclimação das mudas foi realizada inicialmente em viveiro equipado com proteção na parte superior e nas laterais com tela de sombreamento 50% (sombrite®) e com sistema automático de irrigação por aspersão intermitente, período de 4 horas, ligada por 5 minutos com turno de rega 5 horas e lâmina de água 6 mm diário.

## 2.7 Avaliações do experimento

Ao final de seis meses, foram avaliadas a porcentagem de sobrevivência e as características de crescimento em altura da parte aérea e diâmetro do coleto das mudas. Também aos 180 dias foi avaliado com auxílio de um clorofilômetro ClorofiLoG® modelo CFL 1030, expressos em Índice de Clorofila Falker (ICF). Em seguida avaliou-se a área foliar das mudas (HUERTA, 1962), posteriormente foram cortadas separando a parte aérea das raízes. As raízes foram lavadas em água corrente para a remoção do substrato e obtenção de fragmentos de 1 a 2 cm, que em seguida foram armazenadas em solução de álcool 70% para posteriormente determinação da porcentagem de raízes colonizadas (GIOVANNETTI; MOSSE, 1980). O restante das raízes e toda a parte aérea foram secas até peso constante em estufa de circulação de ar forçada, a 65 °C, para determinação da massa seca de raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca total (MST). Também foram retiradas amostras 50 ml de substrato de cada unidade experimental para contagem da densidade de esporos.

A parte aérea das plantas após determinação da MSPA foi moída em moinho tipo Willey com peneira de 40 mesh. Em seguida, digerida em solução sulfúrica para determinação do N (nitrogênio) pelo método micro Kjeldahl (destilação) e em solução nitroperclórica 2:1 (v:v) e determinados os teores de P (fósforo), K (potássio), Ca (cálcio), Cu (cobre) e Zn (zinco) nas partes aéreas das mudas. O teor de P foi determinado por colorimetria; Ca, Cu e Zn por espectrofotometria de absorção atômica (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997). O acúmulo dos nutrientes foi calculado multiplicando-se o teor dos nutrientes na parte aérea pela massa seca da parte aérea.



## 2.8 Análises estatísticas

Os dados foram analisados quanto à normalidade (teste de Lilliefors) e homogeneidade das variâncias (teste de Cochran & Bartlett). Os dados de porcentagem de raízes colonizadas, densidade de esporos, massa seca das raízes, área foliar e conteúdo de Cu foram transformados multiplicando-os por  $\ln(x+2)$ , por não seguirem distribuição normal e, ou serem inferiores a 30%. Em seguida, todas as variáveis foram submetidas à análise de variância pelo teste F a 5% de significância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste Scott & Knott ao nível de 5% de significância. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa computacional Sistema para Análise de Variância – Sisvar (FERREIRA, 2008) e com o programa SAS.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A sobrevivência das mudas foi influenciada pelos fungos ( $p < 0,05$ ) e foi dependente dos clones (Tabela 1). A sobrevivência das mudas para o clone 1, não diferiram significamente entre os tratamentos. Já no clone 2, todas as mudas dos tratamentos inoculados com FMAs, apresentaram maior sobrevivência do que as não inoculadas (Padrão). As mudas não inoculadas (Padrão) apresentaram um comportamento diferenciado, para o clone 1 com 100,0% de sobrevivência, já no clone 2, essa taxa caiu, sendo de apenas 79,2%. Alguns estudos corroboram o presente trabalho, nos quais mudas de cafeeiro inoculadas com FMAs, apresentaram maior porcentagem de sobrevivência em relação às mudas não inoculadas (SIQUEIRA et al., 1995; VALLONE et al., 2010).

A altura da parte aérea e o diâmetro do coleto foram influenciados pelos fungos ( $P < 0,05$ ) e dependentes dos clones (Tabela 1). A altura da parte aérea das mudas do clone 2, não diferiram entre si. Para o clone 1, as mudas inoculadas com os FMAs F1, F2, F3, F4 e F5, apresentaram maiores alturas da parte aérea

em relação às não inoculadas (Controle e Padrão). Esse aumento variou de 33,4 a 57,1% em relação ao Padrão e de 20,4 a 41,7 % em relação as do Controle. As mudas do clone 1 inoculadas com os FMAs F1, F2, F3, F4 e F5, apresentaram aumento do diâmetro do coleto, este variou de 25,5 a 47,7% em relação as do Padrão e de 18,6 a 39,5% em relação as do Controle (Tabela 1). Já para avaliação do diâmetro do coleto entre os clones, a inoculação dos FMAs F1, F2 e F3 no clone 1, foram maiores em relação ao clone 2. Em vários trabalhos de *C. arabica* L. inoculada com espécies e/ou isolados de fungos micorrízicos arbusculares, observou-se aumento para as características de altura e diâmetro do coleto (BHATTACHARYA; BAGYARAJ, 2002; KONRAD et al., 2014; SIQUEIRA; COLOZZI FILHO; SAGGIN JÚNIOR, 1994; TRISTÃO; ANDRADE; SILVEIRA, 2006).

**Tabela 1.** Sobrevivência, altura da parte aérea e diâmetro do coleto das mudas de dois clones de café com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Varginha MG.

Tratamentos	Sobrevivência		Altura da parte aérea		Diâmetro do coleto	
	Clone 1	Clone 2	Clone 1	Clone 2	Clone 1	Clone 2
	.....%/.....		.....cm.....		.....mm.....	
Padrão	100,0 aA <sup>1/</sup>	79,2 bB	11,2 bA	9,1 aA	2,39 bA	2,44 bA
Controle	87,5 aA	100,0 aA	12,4 bA	12,5 aA	2,53 bA	2,77 aA
<i>R. clarus</i>	100,0 aA	95,8 aA	15,9 aA	12,3 aA	3,26 aA	2,50 aB
<i>G. margarita</i>	95,8 aA	100,0 aA	16,5 aA	12,6 aB	3,53 aA	2,66 aB
<i>A. mellea</i>	95,8 aA	100,0 aA	17,6 aA	11,4 aB	3,12 aA	2,29 aB
<i>R. c.</i> ; <i>G. m.</i>	100,0 aA	100,0 aA	14,9 aA	13,0 aA	3,01 aA	2,93 aA
<i>R. c.</i> ; <i>G. m.</i> ; <i>A. m.</i>	100,0 aA	100,0 aA	17,0 aA	12,1 aB	3,00 aA	2,74 aA
<b>CV<sup>2/</sup>, %</b>	<b>9,1</b>		<b>13,8</b>		<b>12,1</b>	

<sup>1/</sup>Médias seguidas de letras iguais maiúsculas na linha e minúsculas na coluna para cada variável, não diferem entre si pelo teste Scott & Knott ao nível de 5% de significância.

<sup>2/</sup> Coeficiente de variação.

*R. c.*: *Rhizophagus clarus*; *G. m.*: *Gigaspora margarita*; *A. m.*: *Acaulospora mellea*

A porcentagem de raízes colonizadas e a densidade de esporos foram influenciadas pelos fungos (P<0,01) e ambas foram independentes dos clones. A colonização foi maior nas mudas inoculadas com F5, seguidas pelas inoculadas

com F2, F4, F3 e F1. A porcentagem de raízes colonizadas nas mudas inoculadas com F5 foi de 31,7%, já os demais fungos apresentaram uma variação na colonização de 14,8 a 21,5% (Tabela 2). Os tratamentos sem inoculação (Controle e Padrão), não apresentaram colonização. Esses resultados da porcentagem de raízes colonizadas foram satisfatórios, já que, as não inoculadas (Controle e Padrão) não apresentaram colonização e o tratamento F5, composto por três gêneros ou espécies de FMAs apresentou maior porcentagem de colonização.

Para a densidade de esporos, as mudas inoculadas com os FMAs F3, F4 e F2 foram maiores, seguido pelas inoculadas com F5 e F1 (Tabela 2). O primeiro grupo apresentou número de esporos acima de 32 e o segundo entre 14 e 22 esporos. Já para os tratamentos não inoculados (Controle e Padrão), não foram encontrados esporos de FMAs. Alguns fatores podem influenciar na densidade de esporos como umidade, temperatura e aeração e variam de acordo com a matéria orgânica (ARIAS et al., 2012; SOUZA et al., 1987).

A porcentagem de colonização nas raízes das plantas pode ser influenciada por diversos fatores bióticos e abióticos (FLORES AYLAS et al., 2003; MACHINESKI; BALOTA; SOUZA, 2011). Vários trabalhos com diferentes materiais genéticos de cafeeiro inoculados com FMAs apresentaram variação na porcentagem de raízes colonizadas e na densidade de esporos, com influência do ambiente (ALBAN; GUERRERO; TORO, 2013; BERBARA; SOUZA; FONSECA, 2006; COSTA et al., 2005; SIQUEIRA et al., 1995; TRISTÃO; ANDRADE; SILVEIRA, 2006; VAAST; CASWELL CHEN; ZASOSKI, 1998).

Tristão, Andrade e Silveira (2006) avaliando mudas de café Catuaí Amarelo IAC 62 inoculadas com FMAs *Glomus intraradices*, *Glomus etunicatum* e *Gigaspora margarita*, em diferentes substratos, observaram grande

variação na porcentagem de raízes colonizadas com valores de 3,1 a 39,1%, sendo esses resultados próximos aos do presente trabalho.

O índice de clorofila total (ICF) foi influenciado ( $P < 0,05$ ) pelo efeito principal dos fungos (Tabela 2). O ICF, na média dos clones foi maior nas mudas inoculadas com FMAs F1 e F4, seguidas dos F2, F3 e F5, e todos foram maiores em relação aos não inoculados (Controle e Padrão). As mudas dos clones inoculadas com FMAs isolados ou mistura (*R. clarus*, *G. margarita* e *R. clarus*, *G. margarita* e *A. mellea*), apresentaram relação direta com o índice de clorofila total. Esse resultado é bastante favorável para a planta de café, além de proporcionar alguns benefícios como: maior crescimento inicial da parte aérea, maior taxa fotossintética, maior diâmetro do caule, entre outros. Alguns trabalhos evidenciam que os FMAs promoveram aumentos do teor de clorofila nas folhas de cafeeiro (KONRAD, 2003; TRISTÃO; ANDRADE; SILVEIRA, 2006).

**Tabela 2.** Valores médios de porcentagem de raízes colonizadas, densidade de esporos, índice de clorofila total e massa seca da parte aérea das mudas de dois clones de café com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Varginha MG.

Tratamentos	Porcentagem de raízes colonizadas .....%.....	Densidade de esporos .Nº 50 dm <sup>-3</sup> .	Índice de clorofila .....ICF.....	Massa seca da parte aérea .....gramas.....
Padrão	0,00 c <sup>1/</sup>	0,00 d	49,30 c	2,41 b
Controle	0,00 c	0,00 d	50,69 c	2,55 b
<i>R. clarus</i>	14,84 b	14,38 c	57,55 a	2,78 a
<i>G. margarita</i>	21,50 b	32,25 a	55,09 b	3,04 a
<i>A. mellea</i>	19,02 b	41,63 a	56,17 b	3,12 a
<i>R. c.</i> ; <i>G. m.</i>	21,21 b	33,50 a	58,38 a	2,94 a
<i>R. c.</i> ; <i>G. m.</i> ; <i>A. m.</i>	31,66 a	21,88 b	54,68 b	2,94 a
<b>CV<sup>2/</sup>, %</b>	<b>11,6</b>	<b>13,8</b>	<b>5,1</b>	<b>10,6</b>

<sup>1/</sup>Médias seguidas de letras iguais na coluna para cada variável, não diferem entre si pelo teste Scott & Knott ao nível de 5% de significância.

<sup>2/</sup> Coeficiente de variação.

*R. c.*: *Rhizophagus clarus*; *G. m.*: *Gigaspora margarita*; *A. m.*: *Acaulospora mellea*

A massa seca da parte aérea foi influenciada ( $P < 0,01$ ) pelos efeitos principais dos fungos (Tabela 2). A MSPA foi maior na média dos clones para as mudas inoculadas com FMAs F1, F2, F3, F4 e F5, com aumento em relação às do Padrão e Controle.

A MSR e MST foram influenciadas pelos fungos ( $P < 0,01$ ) e foram dependentes dos clones (Tabela 3).

A massa seca das raízes das mudas do clone 2 não diferiram entre si, já para o clone 1, as mudas inoculadas com os FMAs F1, F2, F3, F4 e F5, apresentaram aumento em relação às não inoculadas (Controle e Padrão). Na comparação entre os clones, as mudas do clone 1, quando inoculadas com os FMAs F1, F2, F3 e F5, foram maiores do que as do clone 2 (Tabela 3).

Para a massa seca total, as mudas do clone 1, inoculadas com FMAs F1, F2, F3, F4 e F5, apresentaram aumento em relação às do Controle e do Padrão (Tabela 3). Na comparação entre os clones, as mudas do clone 1, inoculadas com os FMAs F1, F2, F3 e F5, foram maiores do que as do clone 2 (Tabela 3). Resultados semelhantes foram observados em trabalhos utilizando plantas de cafeeiro inoculadas com FMAs isolados ou em combinações, os quais apresentaram maiores massas secas da parte aérea e das raízes em relação às plantas não inoculadas (SIQUEIRA et al., 1993, 1995).

A área foliar foi influenciada pelos fungos ( $P < 0,01$ ) e foi dependente dos clones (Tabela 3). A área foliar das mudas do clone 2 com e sem inoculação com os FMAs, não diferiram entre si, porém para as mudas do clone 1, quando inoculadas com os FMAs F1, F2, F3, F4 e F5, apresentaram maiores áreas foliares em relação às não inoculadas (Controle e Padrão). Esse aumento variou de 54,0 a 101,4% em relação ao Padrão e de 55,5 a 103,3% em relação às do Controle. Quando comparados os efeitos em relação aos clones, as mudas do clone 1, inoculadas com os FMAs F1, F2, F3, F4 e F5, apresentaram aumento em relação ao clone 2.

Em trabalhos com cafeeiro, inoculados com fungos micorrízicos arbusculares e com baixas doses de P no solo, houve efeito positivo na área foliar em relação às não inoculadas (SIQUEIRA; COLLOZI FILHO, 1986). A altura, o diâmetro do coleto e a área foliar aumentaram de forma semelhante (Tabelas 1 e 3).

**Tabela 3.** Massa seca das raízes, massa seca total e área foliar das mudas de dois clones de café com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Varginha MG.

Tratamentos	Massa seca raízes		Massa seca total		Área foliar	
	Clone 1	Clone 2	Clone 1	Clone 2	Clone 1	Clone 2
	.....gramas.....				.....cm <sup>2</sup> .....	
Padrão	0,79 bA <sup>1/</sup>	0,81 aA	3,33 bA	3,09 bA	191,5 bA	167,6 aA
Controle	1,41 bA	1,20 aA	3,93 bA	3,78 bA	189,7 bA	253,2 aA
<i>R. clarus</i>	2,15 aA	1,29 aB	5,17 aA	3,84 bA	357,8 aA	164,8 aB
<i>G. margarita</i>	2,38 aA	1,63 aB	5,66 aA	4,44 aB	385,7 aA	193,9 aB
<i>A. mellea</i>	2,42 aA	1,27 aB	5,93 aA	4,02 bB	376,7 aA	181,3 aB
<i>R. c.; G. m.</i>	2,32 aA	1,89 aA	5,30 aA	4,80 aA	294,9 aA	186,0 aB
<i>R. c.; G. m.; A. m.</i>	2,62 aA	1,19 aB	5,84 aA	3,86 bB	353,3 aA	156,5 aB
<b>CV<sup>2/</sup>, %</b>	<b>9,5</b>		<b>14,3</b>		<b>4,1</b>	

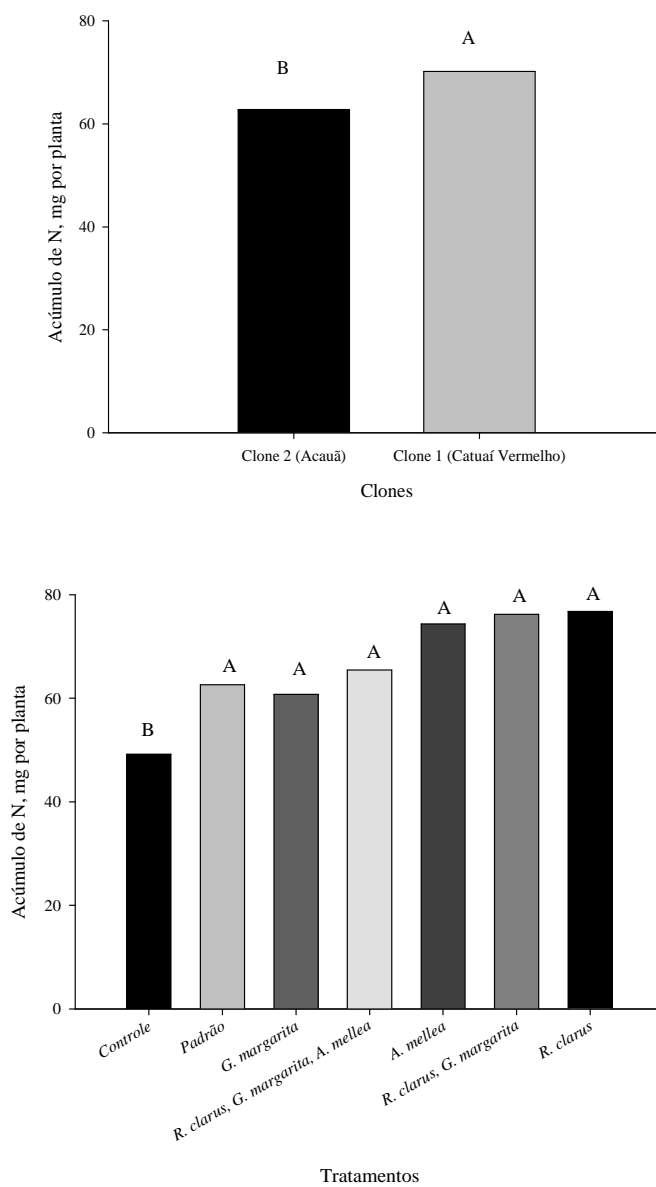
<sup>1/</sup>Médias seguidas de letras iguais maiúsculas na linha e minúsculas na coluna para cada variável, não diferem entre si pelo teste Scott & Knott ao nível de 5% de significância.

<sup>2/</sup> Coeficiente de variação.

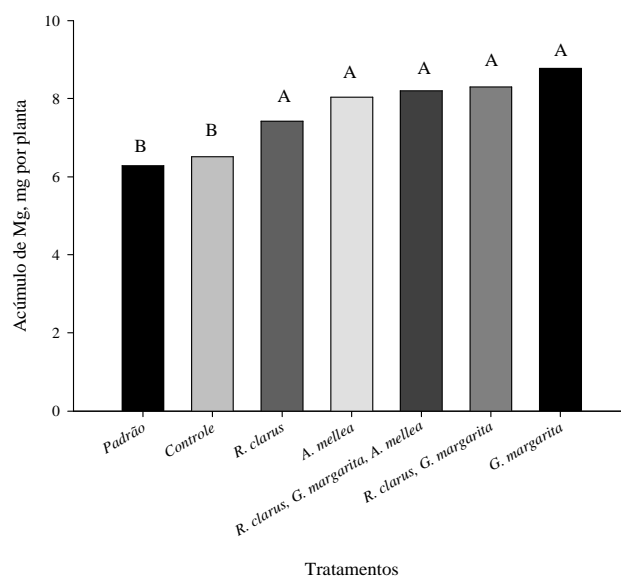
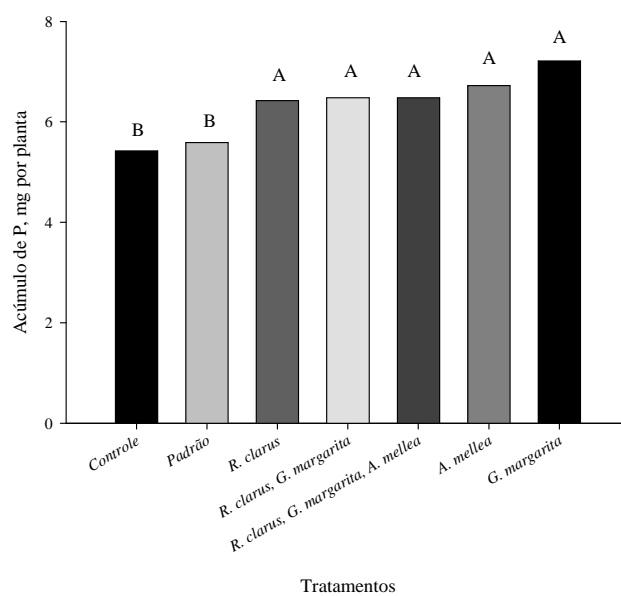
*R. c.*: *Rhizophagus clarus*; *G. m.*: *Gigaspora margarita*; *A. m.*: *Acaulospora mellea*

O acúmulo de N foi influenciado ( $P < 0,05$ ) pelos efeitos principais dos fungos e pelos clones. O acúmulo de N, na média dos dois clones, foi maior nas mudas inoculadas com FMAs F1, F2, F3, F4 e F5 em relação às mudas não inoculadas (Controle), porém não diferiram das do Padrão (Figura 1). O clone 1 apresentou um acúmulo de 70,2 microgramas por planta, em relação as do clone 2 com acúmulo de 62,6 microgramas por planta (Figura 1).

O acúmulo P e Mg foi influenciado ( $P < 0,01$ ) pelo efeito principal dos fungos. O acúmulo de P e Mg, na média dos clones, foi maior nas mudas inoculadas com FMAs F1, F2, F3, F4 e F5, em relação às não inoculadas (Controle e Padrão) (Figura 2).



**Figura 1.** Representação gráfica das médias do acúmulo de N nas mudas dos clones de café com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Varginha MG.



**Figura 2.** Representação gráfica das médias do acúmulo de P e Mg nas mudas dos clones de café com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Varginha MG.



O acúmulo de Ca, Cu e Zn foi influenciado pelos fungos ( $P < 0,01$ ) e dependente dos clones (Tabela 4).

Para o acúmulo dos nutrientes Ca e Cu, as mudas do clone 2, com e sem inoculação com FMAs não diferiram entre si (Tabela 4). Porém, para o clone 1, as mudas inoculadas com F1, F2, F3, F4 e F5 foram maiores em relação às não inoculadas (Controle e Padrão). O acúmulo de Ca nas mudas do clone 1 inoculadas com FMAs, apresentou aumento variando de 46,8 a 122,5% em relação às do Padrão e de 27,6 a 81,5% em relação às do Controle. A inoculação das mudas do clone 1 com os FMAs apresentou aumento de pelo menos 60% no acúmulo de Cu, em relação às do Padrão e de pelo menos 33,3% em relação às do Controle (Tabela 4). A inoculação de ambos os clones com os FMAs F2, F3 e F5, responderam de maneira diferenciada, já que, o clone 1 apresentou maior acúmulo de Cu em relação ao clone 2.

A inoculação das mudas dos clones de *C. arabica* L. com F1, F2, F3, F4 e F5 apresentaram aumentos expressivos de pelo menos 80% no acúmulo de Zn, em relação às do Padrão e de no mínimo 21,6% em relação às do Controle (Tabela 4). Para a comparação entre os clones, o acúmulo de Zn nas mudas do clone 1 quando inoculadas com os FMAs F2, F3 e F5, apresentou aumento em relação ao clone 2.

Outros trabalhos corroboram com o observado, nos quais plantas de café inoculadas com várias espécies de FMAs aumentaram a absorção para os nutrientes de nitrogênio, fósforo e cobre (HODGE; CAMPBELL; FITTER, 2001; SIQUEIRA; COLOZZI FILHO; SAGGIN JÚNIOR, 1994; SIQUEIRA et al., 1998).

**Tabela 4.** Acúmulo de Ca, Cu e Zn, das mudas de dois clones de café com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Varginha MG.

Tratamentos	Acúmulo de Ca		Acúmulo de Cu		Acúmulo de Zn	
	Clone 1	Clone 2	Clone 1	Clone 2	Clone 1	Clone 2
	.....mg por planta.....		.....mg por planta.....			
Padrão	16,61 cA <sup>1/</sup>	15,34 aA	0,05 bA	0,05 aA	0,25 cA	0,23 bA
Controle	20,36 cA	18,69 aA	0,06 bA	0,06 aA	0,37 bA	0,39 aA
<i>R. clarus</i>	24,39 bA	20,91 aA	0,09 aA	0,07 aA	0,50 aA	0,41 aA
<i>G. margarita</i>	27,48 bA	22,49 aA	0,10 aA	0,06 aB	0,54 aA	0,39 aB
<i>A. mellea</i>	27,84 bA	20,39 aB	0,09 aA	0,06 aB	0,57 aA	0,34 aB
<i>R. c.</i> ; <i>G. m.</i>	25,98 bA	21,94 aA	0,08 aA	0,07 aA	0,45 aA	0,46 aA
<i>R. c.</i> ; <i>G. m.</i> ; <i>A. m.</i>	36,95 aA	20,98 aB	0,09 aA	0,05 aB	0,45 aA	0,34 aB
<b>CV<sup>2/</sup>, %</b>	<b>19,3</b>		<b>1,0</b>		<b>16,7</b>	

<sup>1/</sup>Médias seguidas de letras iguais maiúsculas na linha e minúsculas na coluna para cada variável, não diferem entre si pelo teste Scott & Knott ao nível de 5% de significância.

<sup>2/</sup> Coeficiente de variação.

*R. c.*: *Rhizophagus clarus*; *G. m.*: *Gigaspora margarita*; *A. m.*: *Acaulospora mellea*

Nesse sentido, os parâmetros de crescimento em altura, diâmetro do coleto, massa seca da parte aérea, da raiz e total, área foliar, índice de clorofila total, e os acúmulos dos nutrientes N, P, Mg, Ca, Cu e Zn foram positivamente afetados pela inoculação dos FMAs em pelos menos um dos clones e apresentaram maiores efeitos quando comparados com os grupos das mudas não inoculadas. Resultados semelhantes foram observados para *C. arabica* L. inoculadas com FMAs isoladamente ou em combinações (SIQUEIRA et al., 1993; TRISTÃO; ANDRADE; SILVEIRA, 2006).

Plantas quando colonizadas e bem nutridas apresentam vantagens adaptativas após plantio no campo, como sobrevivência e crescimento inicial (SIQUEIRA et al., 1995). Dessa forma evidencia-se a eficácia do uso FMA sem mudas de cafeeiro na fase de viveiro podendo ser passada em fase mais avançada de desenvolvimento das plantas na lavoura. Além disso, outro ponto a ser observado é a qualidade e a nutrição mineral das plantas, proporcionando maior vigor e maior produtividade da lavoura.

#### **4 CONCLUSÕES**

- O uso de fungos micorrízicos arbusculares melhora o desenvolvimento de mudas micropropagadas de *Coffea arabica* L.
- Os clones comportaram-se de modo diferenciado quando inoculados com os FMAs, sendo o clone 1 (Catucaí Vermelho), o de melhor comportamento.

#### **5 AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem à FAPEMIG, pela bolsa de doutorado concedida para ao primeiro autor, ao CNPq pela bolsa de produtividade (GRC).

## REFERÊNCIAS

- ALBÁN, R.; GUERRERO, R.; TORO, M. Interactions between a root knot nematode (*Meloidoyne exigua*) and arbuscular mycorrhizae in coffee plant development (*Coffea arabica*). **American Journal of Plant Sciences**, San Francisco, v. 4, p. 19-23, 2013.
- ARIAS, R.M. et al. Diversity and abundance of arbuscular mycorrhizal fungi spores under different coffee production systems and in a tropical montane cloud forest patch in Veracruz, Mexico. **Agroforestry Systems**, Dordrecht, v. 85, p. 179-193, 2012.
- BERBARA, R.L.L.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H.M.A.C. Fungos Micorrízicos 611 arbusculares: muito além da nutrição. In: ERNANDES, M. S. (Ed.). **Nutrição mineral de 612 plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 53-88.
- BERTRAND, B. et al. *Coffea arabica* hybrid performance for yield, fertility and bean weight. **Euphytica**, Wageningen, v. 141, p. 255-262, 2005.
- BHATTACHARYA, S.; BAGYARAJ, D.J. Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungal isolates on arabica coffee (*Coffea arabica* L.). **Biological Agriculture and Horticulture**, Oxon, v. 20, p. 125-131, 2002.
- CALDEIRA, F.F.; CHAVES, G.M.; ZAMBOLIM, L. Associação de micorriza vesicular-arbuscular com café, limão-rosa e capim gordura. **Pesquisa Brasileira Agropecuária**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 223-228, 1983.
- CARVALHO, C.H.S. et al. **Custo de produção de mudas clonais de café Arábica produzidas por embriogênese somática**. Brasília: Embrapa, 2013. (Circular Técnica).
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Levantamento CONAB da safra de café**. 2016. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16\\_09\\_22\\_09\\_06\\_12\\_boletim\\_cafe\\_setembro\\_2016.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_09_22_09_06_12_boletim_cafe_setembro_2016.pdf)>. Acesso em: 7 jul. 2016.
- COSTA, C.M.C. et al. Fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada em mudas de mangabeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 3, p. 225-232, 2005.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Histórico do café**. 2010. Disponível em: <<http://www22.sede.embrapa.br/cafe/unidade/historico.htm>>. Acesso em: 27 jul. 2016.

ETIENNE, H. et al. Biotechnological application for the improvement of coffee (*Coffea arabica* L.). **In vitro Cellular and Development Biology Plant**, Columbia, v. 38, p. 129-138, 2002.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, p. 36-41, 2008.

FLORES AYLAS, W.W. et al. Efeito de *Glomus etunicatum* e fósforo no crescimento inicial de espécies arbóreas em semeadura direta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 2, p. 257-266, 2003.

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

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, Cambridge, v. 84, p. 489-500, 1980.

HODGE, A.; CAMPBELL, C.D.; FITTER, A.H. An arbuscular mycorrhizal fungi accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. **Nature**, London, v. 413, n. 20, p. 297-299, 2001.

HUERTA, S.A. Comparacion de métodos de laboratorio y de campo para medir el área del café. **Cenicafé**, Chinchina, v. 13, p. 33-42, 1962.

KAHILUOTO, H.; KETOJA, E.; VESTBERG, M. Plant-available P supply is not the main factor determining the benefit from arbuscular mycorrhizal crop P nutrition and growth in contrasting cropping systems. **Plant and Soil**, The Hague, v. 350, n. 1, p. 85-98, 2012.

KONRAD, M.L.F. **Crescimento do cafeeiro sob influência do alumínio em solução nutritiva e em solo ácido, inoculado com micorrizas arbusculares**. 2003. 114 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

KONRAD, M.L.F. et al. Resposta do cafeeiro á inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em Latossolo Vermelho de cerrado. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 4, p. 933-941, 2014.

MACHINESKI, O.; BALOTA, E.L.; SOUZA, J R.P. Resposta da mamoneira a fungos micorrízicos arbusculares e a níveis de fósforo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, p. 1855-1862, 2011. Supl.

MAIA, L.C.; SILVEIRA, N.S.S.; CAVALCANTE, U.M.T. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and root pathogens. In: RAI, M. K. (Ed.). **Handbook of microbial biofertilizers**. New York: The Haworth, 2006. p. 325-352.

REZENDE, J.C. et al. Multiplication of embryogenic calli in *Coffea arabica* L. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 34, n. 1, p. 93-98, 2012.

SAGGIN JÚNIOR, O.J. et al. Avaliação da eficiência simbiótica de fungos endomicorrízicos para o cafeeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 19, p. 221-228, 1995a.

SAGGIN JÚNIOR, O.J. et al. Colonização do cafeeiro por diferentes fungos micorrízicos: Efeito na formação das mudas e no crescimento em solo fumigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 19, p. 213-220, 1995b.

SILVEIRA, A.P.D. et al. Desenvolvimento de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo, em diferentes substratos. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 1, p. 89-99, 2003.

SIQUEIRA, J.O.; COLLOZI FILHO, A.A. Micorrizas vesículo-arbusculares em mudas de cafeeiro. II. Efeito do fósforo no estabelecimento e funcionamento da simbiose. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 10, n. 3, p. 207-211, 1986.

SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI FILHO, A.A.; SAGGIN JÚNIOR, O.J. Efeitos da infecção de plântulas de cafeeiro com quantidades crescentes de esporos do fungo endomicorrízico *Gigaspora margarita*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 6, p. 875-883, 1994.

SIQUEIRA, J.O. et al. Arbuscular mycorrhizal inoculation and superphosphate application influence plant development and yield of coffee in Brazil. **Mycorrhiza**, Cham, n. 7, p. 293-300, 1998.

SIQUEIRA, J.O. et al. Crescimento de mudas e produção do cafeeiro sob influência da inoculação com fungos micorrízicos e aplicação de superfosfato. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 17, n. 1, p. 53-60, 1993.

SIQUEIRA, J.O. et al. Influência do substrato de formação e da micorriza no crescimento de mudas de cafeeiro transplantadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 12, p. 1417-1425, 1995.

SIQUEIRA, J.O. et al. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: Editora UFLA, 2010. v. 1, p. 279-310.

SOUZA, C.A.S. et al. Influência de micorrizas vesicular-arbusculares o crescimento de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) em substrato com e sem matéria orgânica e diferentes doses de superfosfato simples. **Ciência Prática**, Lavras, v. 11, n. 2, p. 177-189, 1987.

SOUZA, V.C. et al. Estudo sobre fungos micorrízicos. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v. 10, n. 3, p. 612-618, 2006.

TRISTÃO, F.S.M.; ANDRADE, S.A.L.; SILVEIRA, A.P.D. Fungos micorrízicos arbusculares na formação de mudas de cafeeiro, e, substrato orgânico comerciais. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n. 4, p. 649-658, 2006.

VAAST, P.; CASWELL CHEN, E.P.; ZASOSKI, R.J. Influences of a root-lesion nematode, *Pratylenchus coffea*, and two arbuscular mycorrhizal fungi, *Acaulospora mellea* and *Rhizophagus clarus* on coffee (*Coffea arabica* L.). **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 26, p. 130-135, 1998.

VALLONE, H.S. et al. Diferentes recipientes e substrato na produção de mudas de cafeeiros. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 1, p. 55-60, 2010.

VAN DER VOSSEN, H. Coffee selection and breeding. In: CLIFFORD, C.; WILSON, K.C. (Ed.). **Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage**. Westport: Avi Publishing Company, 1985. p. 46-68.

### **CAPÍTULO 3**

**Fungos micorrízicos arbusculares no crescimento inicial e nutrição de seis genótipos de *Coffea arabica* L.**



## RESUMO

Os benefícios da micorrização ocorrem com o crescimento das hifas nas raízes colonizadas, promovendo o aumento do volume do solo explorado, facilita maior crescimento inicial no campo, aumentando a absorção de água e nutrientes. Para uma boa micorrização é necessário que haja interação do genótipo da planta com os fungos. A utilização de cultivares com maiores respostas positivas aos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) poderá contribuir para uma melhoria na sustentabilidade da cafeicultura. Objetivou-se assim avaliar o efeito da inoculação FMAs *Rhizophagus clarus* e a mistura *Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita* sobre o desenvolvimento inicial e a resposta nutricional de seis genótipos de *Coffea arabica* L. Foram utilizados seis genótipos de *Coffea arabica* L. (IPR 100, Paraíso H 419-1, MGS Aranãs, Catiguá MG2, Catuai Vermelho IAC 144 e uma progênie (H 29-1-8-5) em geração F4 e duas espécies de FMAs: *Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita* com cinco repetições e uma planta por unidade experimental. Quando as mudas com e sem inoculação com os FMAs apresentaram seis pares de folhas foram transplantadas para vasos de 13 litros, contendo solo (Latosolo Vermelho Amarelo Distrófico) esterilizado. Aos 300 dias foram avaliadas altura, diâmetro do caule, área foliar, massa seca da parte aérea e das raízes, porcentagem de raízes colonizadas e os acúmulos dos nutrientes na parte aérea das plantas. Os genótipos de café responderam de forma diferenciada tanto para crescimento quanto para os parâmetros nutricionais à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares. As plantas de café inoculadas com os FMA *R. clarus* e a mistura dos FMAs *R. clarus* e *G. margarita*, apresentaram maior crescimento vegetativo em relação às plantas não inoculadas. Dos seis genótipos utilizados os destaques foram Catuai Vermelho IAC 144 e Catiguá MG 2 apresentando maiores acúmulos de nutrientes na matéria seca, sendo os mais promissores para o uso de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares. Todas as variáveis estudadas, quando as plantas foram inoculadas com os fungos micorrízicos arbusculares *Rhizophagus clarus*, e a mistura dos fungos *Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita*, apresentaram ganhos, em relação as plantas não inoculadas.

**Palavras-chave:** Café. Nutrição mineral. Progênie. Inoculação fúngica. Simbiose.

## ABSTRACT

The mycorrhizal fungi benefits are due to the growth of hyphae in roots colonized, promoting the increase in exploited soil volume, facilitating higher initial growth in the field and increasing absorption of water and nutrients. For a good mycorrhization is necessary that there plant genotype interaction with the fungus. The use of cultivars with higher positive responses to arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) can help to improve the sustainability of coffee production. Thus aimed to evaluate the effect of inoculation AMF *Rhizophagus clarus* and the mixture *Rhizophagus clarus* and *Gigaspora margarita* on the initial development and the nutritional response of six genotypes of *Coffea arabica* L. We used six genotypes of *Coffea arabica* L. (IPR 100, Paraíso H 419-1, MGS Aranas, Catiguá MG2, Catuai Vermelho IAC 144 and progeny (H 29-1-8-5) in F4 generation and two species of AMF: *Rhizophagus clarus* and *Gigaspora margarita* with five replications and one plant each. When the seedlings with and without inoculation with AMF had six pairs of leaves were transplanted into 13-liter pots containing soil (Oxisol dystrophic) sterilized. At 300 days were evaluated plant height, stem diameter, leaf area, dry weight of shoots and roots, percentage of colonized roots and the accumulation of nutrients in the shoots. Coffee genotypes responded differently both for growth and for the nutritional parameters to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. Inoculation favored initial growth of coffee plants and its intensity varied according to the genotypes. Of the six genotypes used the highlights were Catuai Vermelho IAC 144 and Catiguá MG 2 showing higher accumulation of nutrients in the dry matter, being the most promising for inoculating arbuscular mycorrhizal fungi. All variables, when the plants were inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi *Rhizophagus clarus* mycorrhizal, and the mixture of fungi *Rhizophagus clarus* and *Gigaspora margarita* showed gains over the plants not inoculated.

**Keywords:** Coffee. Mineral nutrition. Progeny. Inoculation fungal. Symbiosis.

## 1 INTRODUÇÃO

No cenário mundial o café se encontra entre os produtos mais comercializados e rentáveis representando fonte de renda para vários países (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2010). A espécie *Coffea arabica* L. se destaca na cafeicultura do Brasil, possui uma área plantada de 1.525 mil hectares e uma produção de 40,3 milhões de sacas para o ano de 2016. Tem grande importância para a economia, contribuindo positivamente na balança comercial brasileira (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2016).

A crescente demanda por um produto de maior qualidade e em larga escala, possibilita o emprego de diversas técnicas promissoras na cafeicultura brasileira. Uma delas é o uso de cultivares melhoradas tolerantes às condições adversas do ambiente como, resistência a doenças, melhor qualidade de bebida, maior produtividade e melhor aproveitamento de nutrientes (ALBÁN; GUERRERO; TORO, 2013; BERTRAND et al., 2005; PINTO et al., 2001). Uma alternativa ainda em desenvolvimento é o uso de microrganismos como os fungos micorrízicos arbusculares, durante a produção de mudas, visando ao estabelecimento inicial da planta no campo e conseqüentemente a produção de grãos (BEENHOUWER et al., 2015; SIQUEIRA; COLOZZI FILHO, 1986; SIQUEIRA; COLOZZI FILHO; SAGGIN JÚNIOR, 1994; SIQUEIRA et al., 1995).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), beneficiam as plantas, principalmente, quando estas crescem em solos de baixa fertilidade, como os encontrados na maioria das regiões tropicais (COLOZZI FILHO et al., 1994; SIQUEIRA et al., 1998). Os benefícios da interação fungo-planta são resultantes do aumento do volume de solo explorado, maior eficiência na utilização de fertilizantes e água contribuindo para maior sobrevivência das mudas no campo e produção (ANDRADE; SILVEIRA; MAZZAFERA, 2010; SIQUEIRA et

al.,1995; TRISTÃO; ANDRADE; SILVEIRA, 2006). Porém, esses benefícios são dependentes da espécie vegetal, dos FMAs (isolado) e das condições edafoclimáticas, especialmente a disponibilidade de P no solo (BHATTACHARYA; BAGYARAJ, 2002; COLOZZI FILHO et al., 1994; SMITH; READ, 1997).

A *C. arabica* L. encontra-se entre as plantas que se beneficiam da associação micorrízica, sendo altamente micotrófica (SIQUEIRA; COLOZZI FILHO, 1986). Com a produção comercial de inoculantes, será possível a utilização dos FMAs na formação de lavouras de café, podendo se tornar uma excelente tecnologia para a cafeicultura brasileira. Assim o objetivo neste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação *Rhizophagus clarus* e a mistura *Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita* sobre o desenvolvimento inicial e a resposta nutricional de seis genótipos de *Coffea arabica* L.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local do experimento**

O experimento foi realizado em viveiro e casa de vegetação na estação experimental da EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais) na Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, Minas Gerais, Brasil, nas coordenadas geográficas 21°13'20"S e 44°58'05"W, altitude 875 metros. A casa de vegetação tinha temperatura de  $25,5 \pm 3^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa média de 60%.

### **2.2 Delineamento experimental e as origens dos genótipos**

O experimento foi realizado em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com esquema fatorial 6 x 3, sendo seis genótipos de *Coffea arabica* L. (MGS Aranãs, Catiguá MG2, Paraíso H 419-1, IPR 100, Catuai Vermelho IAC

144 e uma progênie (H 29-1-8-5) em geração F4) (Tabela 1) e três referente aos FMAs: *Rhizophagus clarus*, *Gigaspora margarita* e tratamento não inoculado (Controle), com cinco repetições e uma planta por unidade experimental.

**Tabela 1.** Origens dos genótipos de *Coffea arabica* L. utilizadas no ensaio.

<b>Genótipos</b>	<b>Genitores</b>
MGS Aranãs	Icatu Vermelho IAC 3851-2 x Catimor UFV 1602-215
Catiguá MG2	Catuaí Amarelo IAC 86 x Híbrido de Timor UFV 440-10
Paraíso H 419-1	Catuaí Amarelo IAC 30 x Híbrido de Timor UFV 445-46
IPR 100	Catuaí x Genótipo H7314-4 da série BA-10
Catuaí Vermelho IAC 144	Caturra Amarelo x IAC 476-11 x Mundo Novo IAC 374-19
Progênie H 29-1-8-5	Icatu Vermelho IAC 2942 x Catimor UFV 1340

### 2.3 Produção de inoculante

Os inoculantes foram compostos por duas espécies de FMAs *R. clarus* e *G. margarita* e a mistura de ambos. A mistura do FMA é a combinação de dois fungos *R. clarus* e *G. margarita* em iguais proporções de esporos. Para multiplicação dos FMAs foi utilizado substrato formado pela mistura de solo (Latosolo Vermelho Distrófico) e areia na proporção de 1:1 (v:v). O substrato foi autoclavado a 1atm e 120 °C, por 60 minutos, sendo esse processo repetido após 24 horas. Após 20 dias, vasos de 3 litros foram preenchidos com substrato, semeados com *Brachiaria decumbens*, e inoculados separadamente com esporos de *R. clarus* e *G. margarita*, sendo esse material cedido pelo Laboratório de Microbiologia do Solo, Departamento Ciência do Solo (UFLA).

Após cinco meses da inoculação fez-se a quantificação da densidade dos esporos dos inóculos, retirando amostras 50 ml de solo dos vasos e submetendo-as à técnica de extração úmida descrita por Gerdemann e Nilcolson (1963).

## 2.4 Produção e inoculação das mudas

Para produção das mudas de café foram coletadas sementes no campo experimental da EPAMIG, em seguida colocadas para germinar em bandejas plásticas com areia esterilizada. Ao atingirem a fase de “esporinha”, foram repicadas para tubetes de polietileno de 0,120 dm<sup>3</sup> com substrato de casca de pinus carbonizada e vermiculita média expandida na proporção de 4:1 (v:v).

Na repicagem, 60 plântulas de cada genótipo foram transferidas das bandejas com areia para os tubetes. Nesse momento procedeu-se a inoculação com *R. clarus* e uma mistura *R. clarus* e *G. margarita*. Foi aplicado, respectivamente, 10 e 15 g do solo-inóculo contendo esporos, hifas e raízes colonizadas, sendo que cada muda recebeu o equivalente a 240 esporos. As mudas permaneceram em tubetes por seis meses. Nesse período, a adubação foi realizada com adubo de liberação lenta “osmocote Plus” 15-09-12, na dose de um grama por planta.

## 2.5 Transplântio das mudas e adubação do substrato

Quando as mudas apresentaram seis pares de folhas foram transplantadas para vasos de 13 litros, contendo solo (Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico) esterilizado e colocadas em casa de vegetação. A adubação fosfatada foi realizada segundo análise de solo realizada no Laboratório de Fertilidade do Solo, Departamento Ciência do Solo (UFLA). Adicionou-se o equivalente a 80 mg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> dm<sup>-3</sup> (superfosfato simples) e a adubação de nitrogênio e potássio, o equivalente a 350 mg de N dm<sup>-3</sup> (ureia) e 200 mg de K<sub>2</sub>O dm<sup>-3</sup> (cloreto de potássio), segundo Guimarães et al. (1999). O solo adubado apresentou pH (em água) 5,3; 57 mg dm<sup>-3</sup> de P; 101 mg dm<sup>-3</sup> de K, 3,1 cmolc dm<sup>-3</sup> de Ca; 1,6 cmolc dm<sup>-3</sup> de Mg; 3,1 cmolc dm<sup>-3</sup> de H+Al; 5,0 cmolc dm<sup>-3</sup> de SB; 61,5 % de V e 32,8 g kg<sup>-1</sup> de matéria orgânica.

No momento do transplante das mudas nos vasos foram realizadas medições de altura da parte aérea e diâmetro do caule. O solo foi mantido úmido com adição de 0,490 litro de água filtrada por vaso, com turno de rega diário, com sistema de gotejamento automático. O controle de plantas daninhas e pragas foi feito manualmente e doenças de acordo com as recomendações para a cultura.

## **2.6 Avaliações do experimento**

Após cinco meses foram mensurados a altura da parte aérea e o diâmetro do caule. No final do período de 10 meses as características foram novamente mensuradas, obtendo-se os incrementos de altura da parte aérea e diâmetro do caule.

Aos 300 dias foram avaliadas a área foliar (HUERTA, 1962), e coletadas parte aérea e raízes. As raízes foram lavadas em água corrente para a remoção do substrato e fragmentos de 1 a 2 cm, em seguida foram armazenadas em solução de álcool 70% para posterior determinação da porcentagem de raízes colonizadas (GIOVANNETTI; MOSSE, 1980). O restante das raízes e a parte aérea foram secas em estufa de circulação de ar forçada a 65 °C para determinação da massa seca de raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca total (MST), e cálculo da resposta relativa à inoculação. A resposta relativa à inoculação foi calculada pela seguinte fórmula,  $RI = [(massa\ seca\ das\ raízes\ das\ plantas\ micorrizadas) - (massa\ seca\ das\ raízes\ das\ plantas\ não\ inoculadas) / massa\ seca\ das\ raízes\ das\ plantas\ não\ inoculadas] \times 100$ .

A parte aérea das plantas após determinação da MSPA foi moída em moinho tipo Willey com peneira de 40 mesh. Em seguida, foi digerido em solução sulfúrica para determinação do teor de N pelo método micro Kjeldahl (destilação) e solução nitroperclórica 2:1 (v:v) para determinação do teor de P na parte aérea das plantas. O teor de P foi determinado por colorimetria

(MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997). O acúmulo de N e P foi calculado multiplicando-se o teor dos nutrientes na parte aérea pela MSPA.

### **2.7 Análises estatísticas**

Os dados foram analisados quanto à normalidade (teste de Lilliefors) e homogeneidade das variâncias (teste de Cochran & Bartlett). Os dados do diâmetro do caule, massa seca da parte aérea, massa seca das raízes, massa seca total, porcentagem de raízes colonizadas, área foliar e os acúmulos de N, P e K foram transformadas multiplicando-os por  $\ln(x+2)$ , por não seguirem distribuição normal e/ou serem inferiores a 30%. Em seguida as variáveis foram submetidas à análise de variância pelo teste F a 5% de significância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste Scott & Knott, ao nível de 5% de significância. Análise de correlação foi determinada entre as variáveis, considerando um nível de 5% de significância por meio do teste Pearson. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa computacional Sistema para Análise de Variância – Sisvar (FERREIRA, 2008) e com o programa SAS.

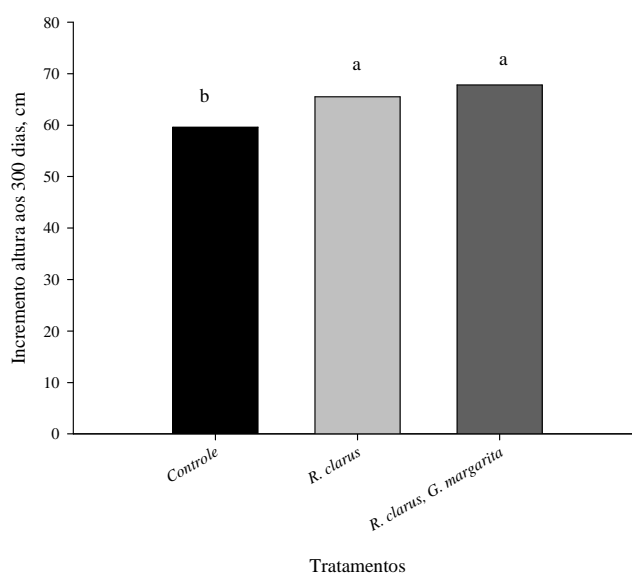
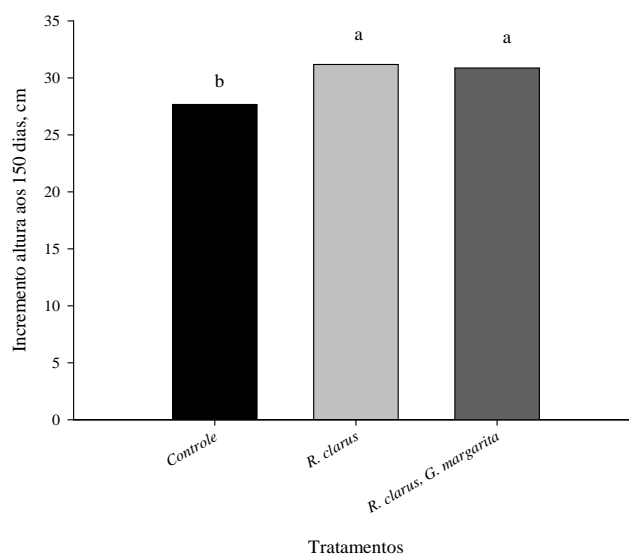
## **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O incremento da altura da parte aérea das plantas aos 150 e 300 dias, foi influenciado ( $p < 0,01$ ) pela inoculação com FMAs. Aos 150 dias, nas plantas inoculadas com o FMA *R. clarus* (Figura 1) houve um aumento de 11,6% enquanto o grupo inoculado com a mistura *R. clarus* e *G. margarita* o aumento foi de 12,7%, em relação às mudas não inoculadas (Controle). Já aos 300 dias o incremento da altura da parte aérea, nas plantas inoculadas com FMA *R. clarus* (Figura 1), foi de 9,5% enquanto o grupo inoculado com a mistura *R. clarus* e *G. margarita* o aumento foi de 13,3%, em relação às mudas não inoculadas (Controle).



O incremento do diâmetro do caule das plantas de cafeeiro aos 150 e 300 dias, foi influenciado ( $p < 0,01$ ) pela inoculação com FMAs e foi dependente dos genótipos. Para o incremento do diâmetro do caule aos 150 dias, as cultivares Catuai Vermelho IAC 144, IPR 100 e Catiguá MG 2, inoculadas com *R. clarus* (Tabela 2), houve aumento de 88,5; 99,2 e 35,4% respectivamente, ao passo que o grupo com a mistura de FMAs *R. clarus* e *G. margarita* o ganho foi de 47,1; 35,4 e 25,5% respectivamente, em relação as plantas não inoculadas (Controle). Já aos 300 dias os genótipos MGS Aranãs, progênie H 29-1-8-5, Catuai Vermelho IAC 144, IPR 100 e Catiguá MG 2, inoculados com *R. clarus* (Tabela 2), houve aumento de 45,9; 53,5; 48,4; 66,8 e 39,3%. Já para as plantas inoculadas com a mistura de FMAs *R. clarus* e *G. margarita* o incremento do diâmetro do caule para as os genótipos MGS Aranãs, progênie H 29-1-8-5, Catuai Vermelho IAC 144, Catiguá MG 2 e Paraiso H 419-1 foi de 97,4; 40,8; 67,3; 64,1; 48,1% respectivamente, em relação as plantas não inoculadas (Controle). Incrementos na altura da parte aérea e no diâmetro do caule das plantas quando inoculadas com FMAs apresentam uma relação positiva.

Vários trabalhos observaram aumento em altura e diâmetro do caule das plantas de *C. arabica* L. para espécies ou isolados de fungos micorrízicos arbusculares (BHATTACHARYA; BAGYARAJ, 2002; KONRAD et al., 2014; SIQUEIRA; COLLOZI FILHO; SAGGIN JÚNIOR, 1994; TRISTÃO; ANDRADE; SILVEIRA, 2006). Em estudo com três níveis de saturação por bases, duas cultivares de *C. arabica* L. e duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares *G. margarita* e *Glomus etunicatum*, em solos ácidos com alta concentração de Al, obtiveram aumento da altura e do diâmetro do caule das mudas inoculadas em relação ao controle não inoculado (KONRAD et al., 2014).



**Figura 1.** Representação gráfica, das médias do incremento de altura das plantas de seis genótipos de *Coffea arabica* L. aos 150 e 300 dias, com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Lavras MG.

**Tabela 2.** Incremento do diâmetro do caule das plantas de seis genótipos de *Coffea arabica* L. aos 150 e 300 dias com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Lavras MG.

Genótipos	Incremento diâmetro do caule (150 dias)			Incremento diâmetro do caule (300 dias)		
	Controle	<i>R. clarus</i>	Mistura	Controle	<i>R. clarus</i>	Mistura
ARANAS	6,27 Aa <sup>1/</sup>	4,78 Aa	5,50 Aa	3,81Ca	5,56 Bb	7,52 Aa
H 29-1-8-5	5,15 Aa	5,48 Aa	6,07 Aa	4,52 Ba	6,94 Aa	6,37 Aa
C. IAC 144	3,96 Cb	7,46 Aa	5,82 Ba	3,73 Ba	5,54 Ab	6,24 Aa
IPR 100	3,33 Bb	6,64 Aa	4,51 Ba	4,55 Ba	7,59 Aa	5,40 Ba
C. MG 2	4,20 Bb	5,68 Ab	5,27 Aa	3,49 Ba	4,86 Ab	5,72 Aa
PARAISO	4,55 Ab	4,40 Ab	5,29 Aa	4,10 Ba	4,04 Bb	6,07 Aa
<b>CV<sup>2</sup>, %</b>		<b>19,1</b>			<b>9,2</b>	

1/ Médias seguidas de letras iguais maiúsculas na linha e minúsculas na coluna para cada variável, não diferem entre si pelo teste Scott & Knott ao nível de 5% de significância.

2/ Coeficiente de variação

A porcentagem de raízes colonizadas foi influenciada ( $p < 0,05$ ) pelos FMAs e esse efeito foi dependente dos genótipos (Tabela 3). A colonização foi maior nas plantas das seis cultivares inoculadas com FMAs em relação as do controle. As plantas apresentaram em média uma colonização variando de 34 a 62% e não houve colonização no tratamento controle.

Para especificidade da interação genótipos x fungos isso fica evidente, pois quando os genótipos foram inoculados com *R. clarus* não diferiram significativamente entre si, já na inoculação com a mistura de FMAs, os genótipos MGS Aranãs, progênie H 29-1-8-5, IPR 100, Catiguá MG2 apresentaram maiores porcentagem de raízes colonizadas diferindo significativamente dos demais genótipos estudados.

Em trabalho realizado com mudas de café Catuai Amarelo IAC 62 inoculadas com FMAs *Glomus intraradices*, *Glomus etunicatum* *Gigaspora margarita*, em substrato comercial sem adubação, apresentou boa porcentagem de raízes colonizadas, porém com porcentagens inferiores ao presente trabalho (TRISTÃO; ANDRADE; SILVEIRA, 2006).

A massa seca da parte aérea, massa seca das raízes e massa seca total foram influenciadas ( $p < 0,01$ ) pelos fungos e esse efeito foi dependente das cultivares (Tabela 3). Para massa seca da parte aérea, as cultivares Catuai Vermelho IAC 144, IPR 100, Catiguá MG 2 e a progênie H 29-1-8-5 inoculadas com o FMA *R. clarus* (Tabela 3) apresentaram aumento de 93,4; 149,3; 79,8 e 58,2% respectivamente, enquanto com a mistura de FMAs *R. clarus* e *G. margarita* o ganho com as mesmas cultivares exceto Catuai Vermelho IAC 144, foi de 111,0; 105,0 e 55,5% respectivamente, em relação as plantas não inoculadas (Controle). Já para as plantas inoculadas com FMA *R. clarus* as cultivares Catuai Vermelho IAC 144 e IPR 100 foram destaques entre as demais.

A maior resposta à interação dos genótipos x fungos ocorreu na massa seca das raízes, com influência da colonização com FMAs nas plantas da Catuai Vermelho IAC 144, IPR 100, Catiguá MG2 e progênie H 29-1-8-5 (Tabela 3). Nesses genótipos inoculados com o FMA *R. clarus*, o aumento foi de 360,6; 158,3; 317,0 e 244,3% e com a inoculação da mistura dos FMAs *R. clarus* e *G. margarita* nas cultivares IPR 100, Catiguá MG2 e progênie H 29-1-8-5, o ganho foi de 173,2; 363,7 e 149,1% respectivamente, em relação as plantas não inoculadas (Controle). A cultivar Catuai Vermelho IAC 144 teve maior influência pela inoculação com FMA *R. clarus* entre as demais. Esses resultados corroboram com os estudos realizados com FMAs que apresentaram maiores massas secas da parte aérea e das raízes (SIQUEIRA et al., 1993, 1995).

A massa seca total das plantas, de todos os genótipos, exceto as cultivares MGS Aranãs e Paraíso H 419-1, quando inoculadas com o FMA *R. clarus* (Tabela 3), aumentou satisfatoriamente. Já quando inoculadas com a mistura dos FMAs *R. clarus* e *G. margarita* o ganho foi de 124,5; 145,3 e 73,9%, para as cultivares IPR 100, Catiguá MG 2 e para a progênie H 29-1-8-5 respectivamente, em relação as plantas não inoculadas (Controle). Para as plantas inoculadas com FMA *R. clarus* destacaram as cultivares Catuai

Vermelho IAC 144, IPR 100 e a progênie H 29-1-8-5. A cultivar Catuai Vermelho IAC 144 quando inoculada com FMA *R. clarus*, foi destaque entre as demais, para massa seca da parte aérea, massa seca das raízes e massa seca total. Dessa forma, os parâmetros de crescimento em altura e diâmetro do caule, massa seca aérea e radicular foram beneficiados pela inoculação dos FMAs, e apresentaram os maiores efeitos quando comparados ao controle. Resultados semelhantes foram observados para FMAs isoladamente ou em combinações de fungos (SAGGIN JÚNIOR et al., 1994; SIQUEIRA et al., 1993).

**Tabela 3.** Porcentagem de raízes colonizadas, massa seca da parte aérea, massa seca das raízes e massa seca total das plantas de seis genótipos de *Coffea arabica* L. sem e com inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Lavras MG.

Genótipos	Porcentagem de raízes colonizadas			Massa seca da parte aérea		
	Controle	<i>R. clarus</i>	Mistura	Controle	<i>R. clarus</i>	Mistura
	.....%.....			.....gramas.....		
ARANAS	0,00 Ba <sup>1/</sup>	40,83 Aa	44,39 Aa	89,53 Aa	113,25 Ab	104,78 Aa
H 29-1-8-5	0,00 Ba	47,69 Aa	45,10 Aa	89,78 Ba	142,01 Ab	139,60 Aa
C. IAC 144	0,00 Ca	61,72 Aa	33,72 Bb	90,92 Ba	175,86 Aa	120,26 Ba
IPR 100	0,00 Ba	41,43 Aa	41,69 Aa	69,26 Ba	172,67 Aa	146,11 Aa
C. MG 2	0,00 Ba	46,16 Aa	50,11 Aa	72,63 Ba	130,61 Ab	148,91 Aa
PARAISO	0,00 Ba	31,98 Aa	29,32 Ab	102,09 Aa	103,93 Ab	120,23 Aa
<b>CV<sup>2/</sup>, %</b>		<b>9,2</b>			<b>5,8</b>	
	Massa seca das raízes			Massa seca total		
	.....gramas.....			.....gramas.....		
ARANAS	31,5 Aa	37,0 Ab	39,3 Aa	121,0 Aa	150,3 Ab	144,0 Aa
H 29-1-8-5	22,0 Ba	75,6 Ab	54,7 Aa	111,8 Ba	217,6 Aa	194,3 Aa
C. IAC 144	25,9 Ba	119,5 Aa	42,4 Ba	116,9 Ba	295,3 Aa	162,7 Ba
IPR 100	19,2 Ba	49,5 Ab	52,4 Aa	88,4 Ba	222,2 Aa	198,5 Aa
C. MG 2	13,4 Ba	55,8 Ab	62,0 Aa	86,0 Ba	186,4 Ab	211,0 Aa
PARAISO	42,2 Aa	45,5 Ab	57,0 Aa	144,3 Aa	149,5 Ab	177,2 Aa
<b>CV<sup>2/</sup>, %</b>		<b>13,9</b>			<b>6,5</b>	

1/ Médias seguidas de letras iguais maiúsculas na linha e minúsculas na coluna para cada variável, não diferem entre si pelo teste Scott & Knott ao nível de 5% de significância.

2/ Coeficiente de variação

A área foliar foi influenciada ( $p < 0,01$ ) pelos fungos e esse efeito foi dependente dos genótipos (Tabela 4). Para a área foliar as cultivares Catuai

Vermelho IAC 144, IPR 100 e Catiguá MG 2 inoculadas com os fungos, apresentaram aumento em relação às plantas controle. Para as inoculadas com FMA *R. clarus* (Tabela 4), teve aumento mínimo de 53,5% e quando inoculadas com a mistura dos FMAs *R. clarus* e *G. margarita*, foi de 57,3%. Dentro das plantas inoculadas com FMA *R. clarus*, foram maiores nas cultivares Catuai Vermelho IAC 144 e IPR 100, seguidas da cultivar Catiguá MG 2 e pela progênie H 29-1-8-5. Já nas inoculadas com a mistura dos FMAs *R. clarus* e *G. margarita*, destacam as cultivares IPR 100, Catiguá MG2 e a progênie H 29-1-8-5. A massa seca total e a área foliar comportam de maneira semelhante, com destaque para as cultivares Catuai Vermelho IAC 144 e IPR 100, quando inoculadas com FMA *R. clarus*.

Os acúmulos dos nutrientes foram influenciados ( $p < 0,05$ ) pelos fungos e esse efeito foi dependente dos genótipos (Tabela 4). O acúmulo de N na parte aérea das plantas das cultivares Catuai Vermelho IAC 144, IPR 100, Catiguá MG 2 e da progênie H 29-1-8-5 com FMA *R. clarus* foram respectivamente de 55,4; 197,5; 75,8 e 52,3% superiores que as do controle (Tabela 4). Já com a mistura de FMAs *R. clarus* e *G. margarita* as cultivares IPR 100, Catiguá MG 2 e a progênie H 29-1-8-5 foram as que apresentaram maiores valores para acúmulo de N. Entre os genótipos inoculados com FMA *R. clarus* merece destaque as cultivares Catuai Vermelho IAC 144 e IPR 100 para o acúmulo de nitrogênio.

Houve o acúmulo de P nas plantas das cultivares IPR 100, Catiguá MG2 e a progênie H 29-1-8-5 quando inoculadas com ambos inóculos (Tabela 4). Os mesmos genótipos quando inoculados com o FMA *R. clarus*, apresentaram aumento de 61,9; 70,6 e 45,5% respectivamente, em relação as do controle (Tabela 4). Já quando inoculadas com a mistura de FMAs *R. clarus* e *G. margarita*, os mesmos genótipos apresentaram resultados semelhantes, sendo 61,9; 82,4 e 40,9% maiores em relação ao controle.

O acúmulo de K foi maior nas cultivares IPR 100 e Catiguá MG 2, quando inoculadas com ambos inocúlos (*R. clarus* e a mistura *R. clarus* e *G. margarita*) (Tabela 4). Já dentro do grupo dos genótipos inoculados com FMA *R. clarus*, destaque para as cultivares Catuai Vermelho IAC 144 e IPR 100, com maior acúmulo em relação aos demais genótipos. As plantas de café com e sem inoculação com FMAs, não apresentaram sintomas visuais de deficiência nutricional. Vários trabalhos corroboram o observado, nos quais várias espécies, e ou, isolados de FMAs aumentaram absorção de fósforo e nitrogênio (HODGE; CAMPBELL; FITTER, 2001; SIQUEIRA et al., 1998; TRISTÃO; ANDRADE; SILVEIRA, 2006). Assim fica evidente o benefício direto dos fungos micorrízicos arbusculares com as plantas de café na absorção dos nutrientes do solo, refletindo no crescimento vegetativo destas.

**Tabela 4.** Área foliar e acúmulo de N, P e K das plantas de seis genótipos de *Coffea arabica* L. sem e com inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Lavras MG.

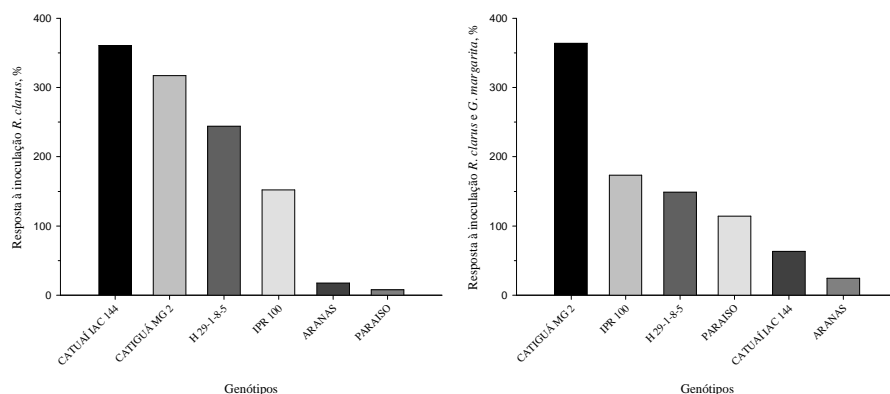
Genótipos	Área foliar			Acúmulo de N		
	Controle	<i>R. clarus</i>	Mistura	Controle	<i>R. clarus</i>	Mistura
	.....m <sup>2</sup> .....			.....gramas por planta.....		
ARANAS	0,82 Aa <sup>1/</sup>	1,08 Ac	0,94Ab	2,76 Aa	3,38 Ab	2,98Aa
H 29-1-8-5	0,90 Ba	1,38 Ab	1,41Aa	2,60 Ba	3,96 Ab	3,95Aa
C. IAC 144	0,87 Ba	1,67 Aa	1,20Bb	3,05 Ba	4,74 Aa	3,22Ba
IPR 100	0,67 Ba	1,79 Aa	1,45Aa	1,57 Bb	4,67 Aa	3,93Aa
C. MG 2	0,81 Ba	1,30 Ab	1,44Aa	2,11 Bb	3,71 Ab	3,98Aa
PARAISO	1,00 Aa	0,89 Ac	1,17Ab	3,05 Aa	2,83 Ab	3,32Aa
<b>CV<sup>2/</sup>, %</b>	<b>8,4</b>			<b>9,9</b>		
	<b>Acúmulo de P</b>			<b>Acúmulo de K</b>		
	.....gramas por planta.....			.....gramas por planta.....		
ARANAS	0,23 Aa	0,25 Ab	0,20Ab	1,31 Aa	1,28 Ab	1,46 Aa
H 29-1-8-5	0,22 Ba	0,32 Aa	0,31Aa	1,36 Aa	1,84 Ab	1,93 Aa
C. IAC 144	0,25 Aa	0,33 Aa	0,27Ab	1,45 Ba	2,60 Aa	1,67 Ba
IPR 100	0,21 Ba	0,34 Aa	0,34Aa	1,10 Ba	2,48 Aa	1,94 Aa
C. MG 2	0,17 Ba	0,29 Aa	0,31Aa	0,99 Ba	1,65 Ab	1,61 Aa
PARAISO	0,26 Aa	0,21 Ab	0,26Ab	1,54 Aa	1,28 Ab	1,47 Aa
<b>CV<sup>2/</sup>%</b>	<b>3,8</b>			<b>9,4</b>		

1/ Médias seguidas de letras iguais maiúsculas na linha e minúsculas na coluna para cada variável, não diferem entre si pelo teste Scott & Knott ao nível de 5% de significância.

2/ Coeficiente de variação

A resposta relativa à inoculação com *R. clarus* para massa seca das raízes das plantas foi maior para quatro genótipos com destaque para a cultivar Catuai Vermelho IAC 144, seguido da cultivar Catiguá MG2, progênie H 29-1-8-5 e cultivar IPR 100, por outro lado, houve pouca resposta para as cultivares Paraíso H 419-1 e MGS Aranãs (Figura 2). Já a resposta relativa à inoculação com a mistura *R. clarus* e *G. margaritae* foi maior para cinco genótipos com destaque para a cultivar Catiguá MG2, seguido da cultivar IPR 100, progênie H 29-1-8-5, Paraíso H 419-1 e cultivar Catuai Vermelho IAC 144, e, por outro lado, houve pouca resposta para a cultivar MGS Aranãs (Figura 2). A alta eficiência dos fungos inoculados pode estar associada a um elevado potencial de inoculação nas cultivares Catiguá MG2, Catuai Vermelho IAC 144, progênie H 29-1-8-5 e IPR 100, o que pode apresentar resultados favoráveis para o cafeeiro. A resposta relativa à inoculação das plantas pode ser influenciada por diversos fatores bióticos e abióticos (COSTA et al., 2005; MACHINESKI; BALOTA; SOUZA, 2011; SIQUEIRA et al., 2010). A resposta relativa à inoculação indica a previsão de sucesso da inoculação em genótipos de *C. arabica* L. Dessa forma, o elevado valor encontrado para resposta relativa à inoculação dos FMAs nesse ensaio indica que esses fungos podem ser empregados para inoculação de algumas cultivares de cafeeiro, corrobora com trabalho de Saggin Júnior; Siqueira, 1995, que mostram resposta da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares em cafeeiro.





**Figura 2.** Representação gráfica da resposta relativa à inoculação com *R. clarus* e a mistura *R. clarus* e *G. margarita* para massa seca das raízes das plantas de seis genótipos de *Coffea arabica* L. em ensaio instalado em casa de vegetação, Lavras-MG.

Para a correlação, a maioria das variáveis foi significativa e positiva, porém algumas com maiores magnitudes. As maiores correlações entre porcentagem de raízes colonizadas foram observadas com a massa seca da parte aérea, massa seca total, área foliar e acúmulo de P (Tabela 5).

Geralmente a porcentagem de colonização está altamente correlacionada com a quantidade de P na parte aérea, sendo esta dependente da concentração no solo. Em solos com elevados teores de P, pode ocasionar a inibição da taxa de colonização, devido ao bom estado nutricional da planta e aos mecanismos de regulação da simbiose (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Como o presente ensaio a concentração de fósforo foi de  $57 \text{ mg dm}^{-3}$ , assim este pode ter influenciado os fungos micorrízicos, principalmente para a mistura *R. clarus* e *G. margarita* nas variáveis analisadas. Quando as plantas se encontram em simbiose com FMA, apresentam boa nutrição, dessa forma demonstram vantagens adaptativas após o plantio para o campo, como maiores sobrevivência e crescimento inicial (SIQUEIRA et al., 1995).

**Tabela 5.** Correlação entre porcentagem de colonização, altura, diâmetro do caule, massa seca da parte aérea, massa seca das raízes, massa seca total, área foliar, acúmulo de N, P e K para plantas de café, com e sem uso de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação aos 300 dias, Lavras-MG.

Correlação	% colonização	Altura	Diâmetro do caule	Massa seca da parte aérea	Massa seca das raízes	Massa seca total	Área foliar	Acúmulo de N	Acúmulo de P
Altura	0,17ns								
Diâmetro	0,48**	0,25*							
Massa seca da parte aérea	0,59**	0,27**	0,46**						
Massa seca das raízes	0,47**	0,18ns	0,35**	0,75**					
Massa seca total	0,57**	0,24*	0,44**	0,94**	0,92**				
Área foliar	0,58**	0,32**	0,47**	0,99**	0,69**	0,91**			
Acúmulo de N	0,32**	0,23*	0,40**	0,44**	0,38**	0,44**	0,44**		
Acúmulo de P	0,53**	0,28**	0,38**	0,96**	0,70**	0,90**	0,94**	0,45**	
Acúmulo de K	0,48**	0,22*	0,40**	0,92**	0,66**	0,86**	0,91**	0,92**	0,89**

Significativo \* e \*\* 5 e 1% respectivamente, ns não significativo por meio do teste Pearson.

#### 4 CONCLUSÕES

- A inoculação favoreceu o crescimento inicial das plantas de café e sua intensidade variou de acordo com os genótipos.
- Dos seis genótipos utilizados Catuai Vermelho IAC 144 e Catiguá MG 2 foram os que apresentaram maiores acúmulos dos nutrientes N e P, sendo os mais promissores para serem inoculadas com fungos micorrizicos arbusculares.
- Todas as variáveis estudadas, quando as plantas foram inoculadas com os fungos micorrizicos arbusculares *Rhizophagus clarus*, e a mistura dos fungos *Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita*, apresentaram ganhos, em relação às plantas não inoculadas.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Consórcio Pesquisa Café, FUNDECC, a FAPEMIG e ao INCT Café, pelo apoio financeiro ao projeto e à FAPEMIG, pela bolsa de doutorado concedida para o primeiro autor, ao CNPq pela bolsa de produtividade (GRC) e a Capes.

## REFERÊNCIAS

- ALBÁN, R.; GUERRERO, R.; TORO, M. Interactions between a root knot nematode (*Meloidoyne exigua*) and arbuscular mycorrhizae in coffee plant development (*Coffea arabica*). **American Journal of Plant Sciences**, San Francisco, v. 4, p. 19-23, 2013.
- ANDRADE, S.A.L.; SILVEIRA, A.P.D.; MAZZAFERA, P. Arbuscular mycorrhiza alters metal uptake and the physiological response of *Coffea arabica* seedlings to increasing Zn and Cu concentrations in soil. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 408, p. 5381–5391, 2010.
- BEENHOUWER, M. et al. DNA pyrosequencing evidence for large diversity differences between natural and managed coffee mycorrhizal fungal communities. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 35, p. 241–249, 2015.
- BERTRAND, B. et al. *Coffea arabica* hybrid performance for yield, fertility and bean weight. **Euphytica**, Wageningen, v. 141, p. 255-262, 2005.
- BHATTACHARYA, S.; BAGYARAJ, D.J. Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungal isolates on arabica coffee (*Coffea arabica* L.). **Biological Agriculture and Horticulture**, Oxon, v. 20, p. 125-131, 2002.
- COLOZZI FILHO et al. Efetividade de diferentes fungos endomicorrízicosna formação, crescimento pós-transplante e produção do cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 9, p. 1397-1406, 1994.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Levantamento CONAB da safra de café**. 2016. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16\\_09\\_22\\_09\\_06\\_12\\_boletim\\_cafe\\_setembro\\_2016.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_09_22_09_06_12_boletim_cafe_setembro_2016.pdf)>. Acesso em: 7 jul. 2016.
- COSTA, C.M.C. et al. Fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada em mudas de mangabeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 3, p. 225-232, 2005.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Histórico do café**. 2010. Disponível em: <<http://www22.sede.embrapa.br/cafe/unidade/historico.htm>>. Acesso em: 22 jul. 2016.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, p. 36-41, 2008.

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

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, Cambridge, v. 84, p. 489-500, 1980.

GUIMARÃES, P.T.G. et al. Cafeeiro. In: RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ, V.H. (Ed.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa, MG: CFSEMG, 1999. p. 289-302.

HODGE, A.; CAMPBELL, C.D.; FITTER, A.H. An arbuscular mycorrhizal fungi accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. **Nature**, London, v. 413, n. 20, p. 297-299, 2001.

HUERTA, S. A. Comparacion de métodos de laboratorio y de campo para medir el areadelcafé. **Cenicafé**, Chinchina, v. 13, p. 33-42, 1962.

KONRAD, M.L.F. et al. Resposta do cafeeiro á inoculação de fungos micorrízicos arbusculares, em Latossolo Vermelho de cerrado. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 4, p. 933-941, 2014.

MACHINESKI, O.; BALOTA, E.L.; SOUZA, J. R. P. Resposta da mamoneira a fungos micorrízicos arbusculares e a níveis de fósforo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, p. 1855-1862, 2011. Supl.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319 p.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologiae bioquímica do solo**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

PINTO, H.S. et al. Zoneamento de riscos climáticos para a cafeicultura do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Sete Lagoas, v. 9, p. 495-500, 2001. (Número especial Zoneamento Agrícola).

SAGGIN JÚNIOR, O.J. et al. Interação fungos micorrízicos versus superfosfato e seus efeitos no crescimento e teores de nutrientes do cafeeiro em solo não fumigado. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 27-36, 1994.

SAGGIN JÚNIOR, O.J.; SIQUEIRA, J.O. Avaliação da eficiência simbiótica de fungos endomicorrízicos para o cafeeiro. **Revista Brasileira Ciências do Solo**, Campinas, v. 19, p. 221-228, 1995.

SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI FILHO, A. Micorrizas vesículo-arbusculares em mudas de cafeeiro. II. Efeito do fósforo no estabelecimento e funcionamento da simbiose. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Campinas, v. 10, p. 207-211, 1986.

SIQUEIRA, J.O.; COLLOZI FILHO, A.; SAGGIN JÚNIOR, O.J. Efeitos da infecção de plântulas de cafeeiro com quantidades crescentes de esporos do fungo endomicorrízico *Gigaspora margarita*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 6, p. 875-883, 1994.

SIQUEIRA, J.O. et al. Arbuscular mycorrhizal inoculation and superphosphate application influence plant development and yield of coffee in Brazil. **Mycorrhiza**, Cham, n. 7, p. 293-300, 1998.

SIQUEIRA, J.O. et al. Crescimento de mudas e produção do cafeeiro sob influência da inoculação com fungos micorrízicos e aplicação de superfosfato. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 53-60, 1993.

SIQUEIRA, J.O. et al. Influência do substrato de formação e da micorriza no crescimento de mudas de cafeeiro transplantadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 12, p. 1417-1425, 1995.

SIQUEIRA, J.O. et al. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: Editora UFLA, 2010. v. 1, p. 279-310.

SMITH, S.E.; READ, D.J. **Mycorrhizal Symbiosis**. London: Academic, 1997. 605 p.

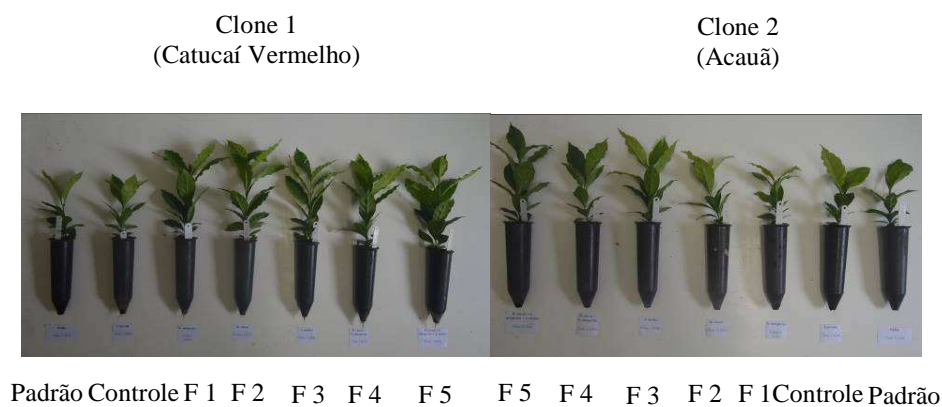
TRISTÃO, F.S.M.; ANDRADE, S.A.L.; SILVEIRA, A.P.D. Fungos micorrízicos arbusculares na formação de mudas de cafeeiro, em substratos orgânicos comerciais. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n. 4, p. 649-658, 2006.

## ANEXO DO CAPÍTULO 2

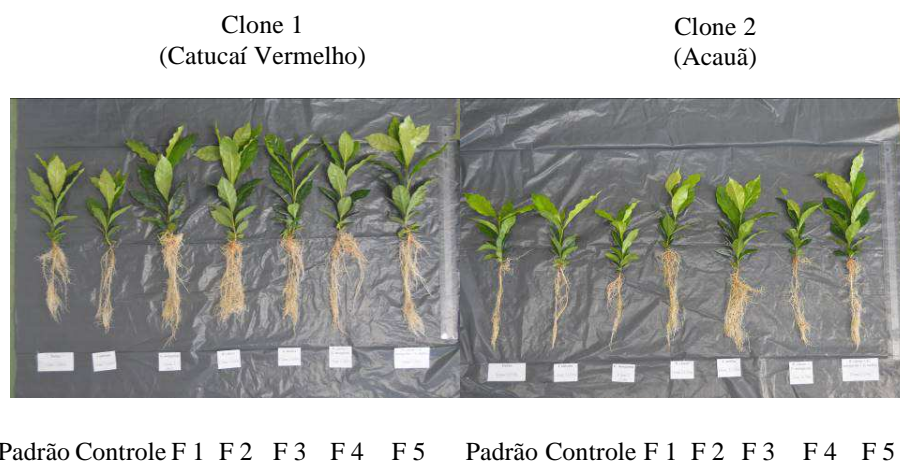
**Tabela 1A.** Quadrado médio e sua significância obtidos na análise de variância dos dados coletados nas avaliações de sobrevivência, altura da parte aérea, diâmetro do coleto, porcentagem de colonização, densidade de esporos, massa seca da parte aérea, massa seca das raízes, massa seca total, área foliar, índice de clorofila total, acúmulos dos nutrientes N, P, Mg, Ca, Cu e Zn das mudas de dois clones de café com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio em casa de vegetação, Varginha MG.

Variáveis	Fonte de variação			CV, %
	Fungos (F)	Clone (C)	F x C	
-----180 dias-----				
Sobrevivência	114,075	4,956	213,290*	9,1
Altura da parte aérea	21,287**	143,424**	8,740*	13,8
Diâmetro do coleto	0,402**	1,771**	0,419**	12,1
Porcentagem de colonização	18,234**	0,000	0,034	11,6
Densidade de esporos	21,618**	0,124	0,133	13,8
Massa seca parte aérea	0,555**	1,811**	0,161	10,6
Massa seca das raízes	0,143**	0,443**	0,036*	9,5
Massa seca total	4,047**	15,309**	1,156*	14,3
Área foliar	0,145*	2,894**	0,348**	4,1
-----Índice-----				
Clorofila total	92,059**	20,594	7,462	5,1
-----Acúmulos-----				
Nitrogênio	814,931**	775,918*	112,301	16,5
Fósforo	3,436**	0,032	0,728	12,6
Magnésio	7,153**	5,034	1,941	17,7
Cálcio	137,481**	431,679**	50,770*	19,3
Cobre	0,000**	0,001**	0,000*	1,0
Zinco	0,052**	0,103**	0,016**	16,7

\* = significativo a 5%, \*\* = significativo a 1%



**Figura 1A.** Parte aérea das mudas de dois clones de café com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Varginha MG.



**Figura 2A.** Parte aérea e sistema radicular, das mudas de dois clones de café com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Varginha MG.



## ANEXO DO CAPÍTULO 3

**Tabela 1B.** Quadrado médio e sua significância, obtidos na análise de variância dos dados coletados nas avaliações de incrementada altura, incremento do diâmetro do coleto, porcentagem de colonização, densidade de esporos, massa seca da parte aérea, massa seca das raízes, massa seca total, área foliar, conteúdos dos nutrientes N, P e K para as plantas de seis genótipos de *Coffea arabica* L. com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio em casa de vegetação, Lavras MG.

Variáveis	Fonte de variação			CV, %
	Fungos (F)	Genótipos (G)	F x G	
-----150 dias-----				
Incremento da altura	114,081**	16,036	18,571	14,0
Incremento do diâmetro do caule	10,807**	2,663*	5,307**	19,1
-----300 dias-----				
Incremento da altura	501,232**	98,451	59,539	10,7
Incremento do diâmetro do caule	0,806**	0,080*	0,063*	9,2
Porcentagem de colonização	89,675**	0,130	0,118*	9,2
Massa seca parte aérea	1,974**	0,125	0,212**	5,8
Massa seca das raízes	4,841**	0,271	0,776**	13,9
Massa seca total	2,772**	0,135	0,324**	6,5
Área foliar	0,250**	0,027*	0,029**	8,4
-----Acúmulos-----				
Nitrogênio	0,605**	0,027	0,090**	9,9
Fósforo	0,009**	0,002	0,002*	3,8
Potássio	0,242**	0,468**	0,037**	9,4

\* = significativo a 5%, \*\* = significativo a 1%



Controle

*Rhizophagus clarus*

Mistura *Rhizophagus clarus* e  
*Gigaspora margarita*

**Figura 1B.** Parte aérea e sistema radicular, das plantas de *Coffea arabica* L. com e sem inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em ensaio instalado em casa de vegetação, Lavras MG.