

DANIELA TOMAZELLI

**RESPOSTA DE MUDAS DE ERVA-MATE A INOCULAÇÃO COM FUNGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre no Curso de
Pós-Graduação em Ciência do Solo da
Universidade do Estado de Santa Catarina -
UDESC.

Orientador: Dr. Julio Cesar Pires Santos

LAGES – SC

2019

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da Biblioteca
Setorial do CAV/UDESC, com os dados fornecidos pela autora**

Tomazelli, Daniela

Resposta de mudas de erva-mate a inoculação com fungos com
fungos micorrízicos arbusculares / Daniela Tomazelli. -- 2019.
76 p.

Orientador: Julio Cesar Pires Santos

Coorientador: Osmar Klauberg Filho

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Ciência Do Solo, Lages, 2019.

1. Erva-mate. 2. Micorriza. 3. Fósforo. I. Santos, Julio Cesar
Pires . II. Klauberg Filho, Osmar . III. Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Ciência Do Solo. IV. Título.

DANIELA TOMAZELLI

**RESPOSTA DE MUDAS DE ERVA-MATE A INOCULAÇÃO COM FUNGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Aprovado em: ___/___/___ Homologado em: ___/___/___

Banca Examinadora:

Orientador/Presidente: _____

Dr. Julio Cesar Pires Santos
Universidade do Estado de Santa Catarina-UDESC

Membro: _____

Dr. Tássio Dresh Rech
EPAGRI

Membro: _____

Dr. Murilo Dalla Costa
EPAGRI

Membro: _____

Dr. Silmar Primieri
Instituto Federal de Santa Catarina - IFSC

Membro: _____

Dr. Osmar Klauberg Filho
Universidade do Estado de Santa Catarina-UDESC

Lages, 19 de fevereiro de 2019

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Paulo e Margarete Tomazelli, aos meus avós e familiares pelo apoio de sempre e pela inspiração de força e persistência que sempre foram.

Ao Prof. Dr. Julio Cesar Pires Santos, por apostar às cegas, pelo voto de confiança, pelas palavras positivas que sempre me trouxeram calma.

Ao Dr. Murilo e ao Dr. Tássio pela orientação na construção e na condução do experimento e por sanar tantas dúvidas que vieram a surgir ao longo deste tempo. As meninas do laboratório de biotecnologia da EPAGRI, Maria Aparecida (Cida) e a Fran, sempre muito prestativas e atenciosas. Ao Anderson, que auxiliou com seus conhecimentos em desenho gráfico. Ao Dr. João Frederico, a Simone e a toda equipe da EPAGRI-Lages, obrigada pelo auxílio e parceria.

Ao Prof. Dr. Osmar e ao Prof. Dr. Denis pela orientação e apoio no período do estágio em docência, momento desafiador para mim.

Ao Prof. Dr. Silmar e a equipe do IFSC, por disponibilizar a estrutura e os equipamentos para algumas análises, obrigada pela atenção e pela disponibilidade.

Aos colegas de laboratório Julia Machado, Pâmela, Gabriele Campos, Letícia Scoppel, Ana Lovatel, Douglas Alexandre, Aline Ronsani, Camila Casaril, Giovana, Rafa Peron, Elston, Dani Oliveira, Vane e a Super Gil, obrigada pela troca de experiências que sempre agregaram.

Aos amigos e colegas de programa, Diou, Diogo Semprebon, Marcelo, Cleiton, obrigadas pelas conversas acadêmicas e pelas conversas inúteis também.

Aos amigos e irmãos de casa, que compartilharam casa comigo neste período, Camila Seben, Patrick Suhre, João Frigeri, Dany Mauta, Gabriela Oliveira, Amanda Lima, Paula Cândido e Raissa Moreira. À amiga mais antiga da qual posso me lembrar, Ângela Preza Ramos por sempre ter me incentivado e auxiliado. As minhas amigas Diana Carolina e Maiara Liz que sempre se fizeram presentes nos momentos mais difíceis dessa jornada.

A todas as pessoas que me incentivaram com palavras positivas, muito obrigada!

Meu imenso agradecimento a toda a equipe da UDESC, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, obrigada a todos os docentes e todos os profissionais que contribuem com funcionamento desta unidade.

Ao Prof. Sidney Luiz Stürmer pelos inóculos de fungos micorrízicos que possibilitaram a pesquisa.

E a CAPES pela concessão da bolsa de pesquisa. Muito obrigada a todos!

RESUMO

TOMAZELLI, D. RESPOSTA DE MUDAS DE ERVA-MATE A INOCULAÇÃO COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES. 2019. 76 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Lages, SC. 2019.

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) é uma espécie florestal nativa da América do Sul que apresenta múltiplas aplicações, sendo utilizada na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética. Contudo a aquisição de mudas com qualidade sanitária e fisiológica é um entrave produtivo, evidenciando a necessidade de melhoria no processo de produção de mudas, uma alternativa para aumentar o vigor das mudas em fase de viveiro é a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Diante do efeito bioestimulante dos FMAs, a pesquisa teve por objetivo avaliar o efeito da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) no estabelecimento e desenvolvimento de mudas de erva-mate. O experimento foi conduzido na EPAGRI - Estação Experimental de Lages. Sementes oriundas de erval nativo do município de Urupema - SC foram estratificadas em areia e semeadas em substrato, oriundos da Coleção Internacional de Cultura de Glomeromycota – CICG - FURB/Blumenau. Adicionalmente foi estabelecido o controle natural, o qual não foi inoculado. O fósforo foi corrigido para 0; 25; 50; 100; e 200% a partir da recomendação para a cultura. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em esquema 3x5 de acordo com os tratamentos de inoculação de FMAs e doses de fósforo. As avaliações ocorreram aos 90 e 180 dias após a inoculação, foi avaliada a massa da matéria fresca de raiz (g), massa fresca de parte área (g), massa da matéria seca de parte área (g), morfologia e arquitetura de raízes: Comprimento radicular (cm), diâmetro médio (mm), área superficial (cm^2) e número de extremidades e bifurcações e quantificaram-se a frequência e intensidade de colonização micorrízica (%). Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de comparação de médias de Tukey ($p \leq 0,05$). Independentemente do nível de correção de fósforo, as mudas micorrizadas aumentaram de em torno de 80% a MFPA, a MSPA e a biomassa fresca total em comparação às cultivadas em solo autoclavado e sem inoculação. A frequência micorrízica e a intensidade de colonização micorrízica foram superiores nos tratamentos inoculados com FMAs. Os FMAs favoreceram o desenvolvimento e aceleraram o crescimento de mudas jovens de erva-mate. Os isolados de *R. clarus* e *A. colombiana* promovem aumento no acúmulo de massa total e parâmetros relacionados ao tamanho de raízes, tornado-se alternativa viável para produção de mudas de erva-mate de alto vigor.

Palavras-chave: Erva-mate. Micorriza. Fósforo.

ABSTRACT

TOMAZELLI, D. YERBA-MATE SEEDLINGS RESPONSE TO INOCULATION WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI. 2019. 76 p. Dissertation (Master in Soil Science) – Santa Catarina State University. Post Graduate Program in Soil Science Science, Lages, SC, 2019.

The yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) is a native forest specie from south America that has multiple applications and is used in the food, pharmaceutical and cosmetic industries. However, the acquisition of seedlings with sanitary and physiological quality is a productive obstacle, evidencing the need for improvement in the seedling production process, an alternative to increase the vigor of nursery seedlings is the inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). The objective of this research was to evaluate the effect of the inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on the establishment and development of mate grass seedlings. The experiment was conducted at the EPAGRI-Experimental Station of Lages. Seeds originating from native herbs of the municipality of Urupema-SC were stratified in sand and sown in substrate. The seedlings were selected and transferred to pots with non-sterilized soil and inoculated with FMA inocula, being these *Rhizophagus clarus* SCT720A, *Acaulospora colombiana*, from the International Collection of Glomeromycota Culture - CICG-FURB / Blumenau. In addition, natural control was established, which was not inoculated. The phosphorus was corrected to 0; 25; 50; 100; and 200% from the recommendation for the crop. The experimental design was in randomized blocks, in a 3x5 scheme according to the inoculation treatments of FMAs and phosphorus doses. The fresh mass of the root (g), the fresh mass of the area (g), and the dry matter mass of the leaves were evaluated at 90 and 180 days after inoculation. (mm), surface area (cm²) and number of extremities and bifurcations, and the frequency and intensity of mycorrhizal colonization were quantified (%). The results were submitted to analysis of variance (ANOVA) and Tukey averages comparison test ($p \leq 0.05$). Regardless of the level of P correction, the mycorrhizal seedlings increased by about 80% the MFPA, the MSPA and the total fresh biomass compared to those grown in autoclaved soil without inoculation. The mycorrhizal frequency and the intensity of mycorrhizal colonization were higher in the treatments inoculated with FMAs. FMAs favor the development and accelerate the growth of young seedlings of yerba mate. The isolates of *R. clarus* and *A. colombiana* promoted an increase in total mass accumulation and parameters related to root size, becoming a viable alternative for the production of high vigor grass mate.

Key-words: Yerb mate. Mycorrhiza. Phosphorus.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Formas de colonização micorrízica: arbuscular, ectomicorriza, ectoendomicorriza, ericoíde e orquidoíde.....	33
Figura 2 - Esquema da estrutura de um arbúsculo em uma célula cortical vegetal e a formação das interfaces de troca.....	34
Figura 3 - Mudas de erva mate plantadas em copos de 500mL compondo um bloco do experimento.....	40
Figura 4 - Scanner profissional EPSON LA2400 equipado com cuba de acrílico utilizada nas raízes das plantas avaliadas aos 90 dias (A) e utilizada aos 180 dias após a inoculação(B).....	42
Figura 5 - Biomassa fresca de raiz (A), biomassa fresca de parte aérea (B), biomassa fresca total (C) e relação entre biomassas fresca do sistema radicular e da parte aérea (D) em gramas (g) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação. Avaliação realizada aos 90 dias após a inoculação.....	46
Figura 6 - Biomassa seca de parte aérea em gramas (g) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação. Avaliação realizada aos 90 dias após a inoculação.....	46
Figura 7 - Frequência micorrízica (%) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação. Avaliação realizada aos 90 dias após a inoculação.....	48
Figura 8 - Intensidade micorrízica (%) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação. Avaliação realizada aos 90 dias após a inoculação.....	49
Figura 9 - Resposta de crescimento (%) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação. Avaliação realizada aos 90 dias após a inoculação. Comparativo entre os isolados de FMAs (A); comparativo entre doses de fósforo (B).....	50
Figura 10 - Comparativo de massa fresca total entre 90 e 180 dias após a inoculação em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação.....	53
Figura 11 - Frequência micorrízica (%) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação. Avaliação realizada aos 180 dias após a inoculação.....	55

Figura 12 - Intensidade micorrízica (%) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação.....55

Figura 13 - Resposta de crescimento (%) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação, sob diferentes doses de fósforo. Avaliação realizada aos 180 dias após a inoculação.....56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Atributos químicos do solo utilizado para a instalação do experimento.....	38
Tabela 2 - Morfologia e arquitetura radicular de plantas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação, sob diferentes doses de fósforo. Avaliação realizada aos 90 dias após a inoculação.....	47
Tabela 3 - Biomassa fresca de raiz, biomassa fresca de parte aérea, biomassa total e relação entre biomassa fresca do sistema radicular e da parte aérea (g) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação, sob diferentes doses de fósforo. Avaliação realizada aos 180 dias após a inoculação.....	51
Tabela 4 - Biomassa seca de parte aérea (g) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação, sob diferentes doses de fósforo. Avaliação realizada aos 180 dias após a inoculação.....	52
Tabela 5 - Morfologia e arquitetura radicular de plantas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação, sob diferentes doses de fósforo. Avaliação realizada aos 180 dias após a inoculação.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A.c - Inóculo de *Acaulospora colombiana* SCT115A

ANOVA - Análise de variância

EPAGRI - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina

FMAs - Fungos micorrízicos arbusculares

MFPA - Massa da matéria fresca parte área

MFR - Massa da matéria fresca de raiz

MSPA - Massa da matéria seca da parte área

R.c - Inóculo de *Rhizophagus clarus* SCT720A

SC - Estado de Santa Catarina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	23
2	HIPÓTESES.....	25
3	OBJETIVOS.....	27
3.1	OBJETIVO GERAL.....	27
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
4	REVISÃO DE LITERATURA.....	29
4.1	ERVA-MATE (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil).....	29
4.1.1	Características botânicas e nutricionais.....	29
4.1.2	Contexto socioeconômico da erva-mate.....	30
4.1.3	Entraves produtivos.....	31
4.2	MICORRIZAS.....	32
4.2.1	Aspectos gerais.....	32
4.2.2	Características gerais e classificação taxonômica.....	33
4.2.3	Fisiologia dos FMAs.....	34
4.2.4	Micorrizas e aspectos nutricionais do hospedeiro.....	35
4.3	INTERAÇÃO DA ERVA-MATE COM FMAs.....	35
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	37
5.1	COLETA DO MATERIAL.....	37
5.1.1	Obtenção das sementes.....	37
5.1.2	Obtenção do inóculo.....	37
5.2	INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO.....	38
5.2.1	Correção do solo.....	38
5.2.2	Delineamento experimental e tratamentos.....	39
5.2.3	Repique das plântulas.....	40
5.3	AVALIAÇÕES.....	41
5.3.1	Biomassa fresca e seca.....	41
5.3.2	Morfologia e arquitetura radicular.....	41
5.3.3	Colonização micorrízica.....	42
5.3.4	Resposta micorrízica.....	43
5.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43

6	RESULTADOS.....	45
6.1	AVALIAÇÃO 90 DIAS APÓS INOCULAÇÃO.....	45
6.1.1	Biomassa fresca e seca.....	45
6.1.2	Arquitetura e morfologia de raízes.....	47
6.1.3	Colonização micorrízica.....	48
6.1.4	Resposta micorrízica.....	49
6.2	AVALIAÇÕES AOS 180 DIAS APÓS A INCULAÇÃO.....	50
6.2.1	Biomassa fresca e seca.....	50
6.2.2	Arquitetura e morfologia de raízes.....	53
6.2.3	Colonização micorrízica.....	54
6.2.4	Resposta micorrízica.....	55
7	DISCUSSÃO.....	57
7.1	ACÚMULO DE BIOMASSA.....	57
7.2	DESENVOLVIMENTO RADICULAR.....	59
7.3	COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA.....	61
7.4	RESPOSTA MICORRÍZICA	62
7.5	INFLUÊNCIA DO FÓSFORO.....	64
8	CONCLUSÕES.....	65
	REFERÊNCIAS.....	67

1 INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) é uma espécie pertencente a família Aquifoliaceae, nativa da América do Sul (CARVALHO, 2003). A cultura possui importância econômica e social no sul da América Latina. No sul do Brasil, a erva-mate é fonte de renda para a agricultura familiar, sendo matéria prima para a indústria na fabricação de chás e outras bebidas e tem o chimarrão como principal forma de consumo, além da indústria alimentícia, as folhas também são utilizadas para a produção de fármacos e cosméticos (PAGLIOSA et al., 2010; RACANICCI et al., 2008; WENDLING et al., 2013).

O Brasil se destaca entre os maiores produtores mundiais de erva-mate. Estima-se uma produção anual de 860.045 mil toneladas, a comercialização da folha movimenta R\$ 975,5 milhões no mercado interno. A área cultivada fica em torno de 110 mil hectares, distribuída entre os estados do Rio Grande do sul, Santa Catarina e Paraná (IBGE, 2015).

Entretanto, a produção de mudas com qualidade genética, fisiológica e sanitária é uma das principais dificuldades da produção (STURION e RESENDE, 2010). A grande parte das mudas produzidas atualmente é via semente, um método que apresenta uma série de limitações, como a dormência das sementes, tornando necessário tempo considerável à estratificação (de quatro a seis meses), a germinação é demorada e desuniforme (de 100 a 360 dias) e em baixo percentual, necessitando de um longo período de produção das mudas (STURION, 1988; WENDING et al., 2018).

Como alternativa à produção de mudas por sementes, a produção de mudas por estaca pode contribuir com melhoria da qualidade da produção de erva mate (WENDING e SANTIN, 2014). Wendling e Souza Junior (2003) conduziram experimentos de propagação vegetativa de erva mate mostrando que a miniestaca, a partir de material juvenil de origem seminal, é tecnicamente viável, atingindo-se valores médios de 75% de sobrevivência.

O desenvolvimento de estratégias para a produção de mudas com qualidade, em menor tempo e em condições acessíveis é muito importante (CARRASCO, 2003). Dessa maneira, estudos envolvendo a inoculação das mudas com fungos micorrízicos arbusculares (CUNHA et al., 2005.; SOUZA et al., 2009), são importantes para o processo de produção de mudas, os microrganismos favorecem o estabelecimento das mudas e aumentam o vigor das plantas (FREITAS, 2007).

A produção de mudas tanto por sementes quanto por estacas pode ser favorecida com a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), esses fungos do solo estabelecem simbiose com as raízes, beneficiando as plantas jovens com maior disponibilidade de água e

nutrientes, acelerando a desenvolvimento vegetal (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). A produção de mudas de qualidade com vigor, aliada à adoção de boas práticas agrícolas e a certificação de produção orgânica podem valorizar a produção de erva mate e expandir a comercialização para o mercado exterior. Torna-se importante, estudos que venham a trazer melhorias ao processo de produção das folhas, favorecendo o agricultor e os consumidores com um produto de qualidade.

2 HIPÓTESES

- Os fungos micorrízicos arbusculares associados às mudas de erva-mate, promovem o desenvolvimento, aumentando o acúmulo de biomassa e crescimento radicular em solos com baixas dosagens de fósforo.
- Diferença entre os isolados de FMA testados *Rhizophagus clarus* SCT720A e *Acaulospora colombiana* SCT720A influencia na resposta da erva-mate a inoculação.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a respostas de mudas de erva-mate a inoculação com diferentes isolados de fungos micorrízicos arbusculares e a influência de doses de fósforo.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Mensurar o acúmulo de biomassa fresca/seca das plantas inoculadas com diferentes isolados de FMAs e em diferentes doses de fósforo;
- Mensurar tamanho radicular das plantas inoculadas com diferentes isolados de FMAs e em diferentes doses de fósforo;
- Quantificar a colonização micorrízica das raízes inoculadas com diferentes isolados de FMAs e em diferentes doses de fósforo.
- Estimar resposta da erva-mate aos diferentes isolados de FMAs testados.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)

4.1.1 Características botânicas e nutricionais

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) é um espécie arbórea pertence à família Aquifoliaceae (VALDUGA et al., 1997). As folhas são de coloração verde escura e as flores são pequenas, brancas, dióicas, ocorrendo normalmente na mesma inflorescência flores masculinas e femininas (LORENZI, 2008). Possuem uma característica peculiar, pois embora em todas se encontrem estames e pistilo, nas flores femininas, os estames são rudimentares, e nas masculinas, o pistilo aborta. Em função disto ocorre dificuldade de polinização natural. A floração ocorre entre setembro a dezembro, a frutificação se estende até o mês de abril, a dispersão natural da espécie das sementes é efetuada principalmente por pássaros (CARVALHO, 2003). Produz frutos avermelhados, globosos, de polpa carnosa com 5 a 8 sementes (LORENZI, 2008).

O estágio ecológico sucessional da erva-mate a caracteriza como uma espécie de clímax (KAGEYAMA et al., 1986; FLOSS, 1994), o que significa que a espécie é de final de sucessão. A germinação e desenvolvimento ocorrem preferencialmente à sombra e o tempo de crescimento é lento ou muito lento. O ciclo de vida é muito longo (mais de 100 anos) e a regeneração ocorre por banco de sementes (ZANGARO et al., 2003; ALMEIDA, 2016). A espécie em habitat natural pode chegar a 25 metros de altura e quando cultivada em sistemas convencionais o crescimento fica limitado em uma faixa de 3 a 5 metros de altura (CARVALHO, 2003).

A erva-mate possui muitos componentes químicos de elevado valor nutricional, a cafeína assume destaque por suas propriedades farmacológicas e boa parte das ações fisiológicas atribuídas à erva-mate deve-se à presença desse composto. Os taninos, embora ainda não tenha uma função completamente esclarecida, estão relacionados com mecanismos de defesa da planta. Em relação aos produtos obtidos a partir da erva mate, o tanino é um constituinte que confere sabor amargo, característica das bebidas feita com erva-mate (ZAMPIER, 2001).

As folhas de mate contêm cerca de 0,2 – 2 % de cafeína, 0,3 % de teobromina, traços de teofilina, cerca de 10 – 16 % de ácido clorogênico (ácido cafeoiltânico), pequena quantidade de óleo volátil, saponinas triterpênicas, aminoácidos e vitaminas (SIMÕES et al., 2001; JACQUES, 2005). A concentração de cafeína na erva-mate varia com o grau de

maturação das folhas. O estudo de Borges et al. (2013) verificou maior concentração de cafeína nas folhas mais jovens (um mês de idade) com relação a folhas maduras (6 meses de idade).

4.1.2 Contexto socioeconômico da erva-mate

A erva mate é nativa da América do Sul, ocorrendo no Brasil, Paraguai e Argentina, aparecendo no bioma brasileiro Mata Atlântica (ALEGRE, VILCAHUAMÁN e CORRÊA, 2007). No Brasil, os ervais abrangem 110 mil hectares, em cerca de 180.000 propriedades nos Estados do Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Mato Grosso do Sul. Explorada em mais de 560 municípios, as propriedades em que ela é cultivada são, na maioria, pequenas e médias, gerando mais de 710 mil empregos diretos (CAMARA SETORIAL DA CADEIA PRODUTIVA DA ERVA-MATE, 2015).

A produção nacional de erva mate é de 860.045 toneladas, sendo o Paraná responsável por mais de 50 % da produção brasileira, Rio Grande do Sul por 33 %, Santa Catarina 14 % e menos de 1 %, Mato Grosso do Sul. A maior parte da produção brasileira, cerca de 60 %, é proveniente de cultivos comerciais, o restante da produção é procedente de atividades extrativistas (DORNELES, 2014).

À nível mundial, o Brasil é o maior produtor (IBGE, 2013), seguido pela Argentina com 690 mil toneladas (INYM – Instituto Nacional do Mate, 2013), e Paraguai, 85 mil toneladas (MAG – Ministério de Agricultura y Ganadería, 2013). A colheita e comercialização da erva mate nacional gera um montante estimado em R\$ 975,5 milhões pela produção da folha (IBGE, 2015).

O consumo do mate está atrelado a hábitos culturais, sendo os principais consumidores os estados da região sul, razão pela qual o consumo per capita da erva mate é considerado baixo no país (cerca de 1,2 kg por ano) quando comparado aos números demandados pela Argentina e Uruguai, onde a população consome 5 a 7 kg por ano (OLIVEIRA e WALQUIL, 2015).

A cadeia produtiva da erva-mate destaca-se no cenário nacional por contribuir ao processo de desenvolvimento regional através das esferas econômica, social e ambiental. A exploração da erva-mate como atividade econômica historicamente flutuou em importância devido à grande variação nos preços pagos pela indústria aos produtores. Entretanto, nos últimos anos o aumento no consumo fora do Brasil e a redução das áreas plantadas ou nativas têm gerado uma valorização significativa no produto, atraindo novamente a atenção para sua exploração (STURION e RESENDE, 2010; WENDLING, 2018).

Assim, o cultivo da espécie demanda a produção de mudas para atender a plantios comerciais, visando à obtenção de matéria prima prioritariamente às indústrias de erva-mate para chimarrão e chá (SILVA et al., 2007). Ao levar em consideração o estabelecimento de povoamentos florestais, a produção de mudas, tanto em quantidade quanto em qualidade, representa uma das fases mais importantes e com repercussão direta na produtividade e qualidade do produto final (WENDLING et al., 2007).

4.1.3 Entraves produtivos

A produção de mudas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) é um processo demorado que segue uma sequência de atividades interligadas (WENDLING, GUASTALA e DOMINGOS, 2006). A obtenção de mudas de qualidade a partir de sementes enfrenta problemas silviculturais como a germinação desuniforme, dormência embrionária e a baixa qualidade fisiológica das sementes (KRATZ et al., 2015).

A propagação sexuada feita a partir de sementes é comumente utilizada na produção de mudas de erva-mate (DANIEL, 2009). Este método gera maior variabilidade genética, é barato e utilizado pelos próprios produtores, entretanto é um procedimento que requer quebra de dormência por estratificação a qual leva em torno de quatro a seis meses (FOWLER e STURION, 2000).

As sementes de erva-mate possuem dormência fisiológica, decorrente da imaturidade do embrião, e também dormência tegumentar, por possuírem endocarpo lenhoso, requerendo período de estratificação para germinação. O processo de estratificação tem a função de evitar o dessecamento do tegumento das sementes e ao mesmo tempo promover a redução da tensão de oxigênio e aumentar a tensão de dióxido de carbono (CO₂) no meio, promovendo condições para a maturação. Em termos práticos a técnica consiste em alternar uma camada de sementes imaturas com areia úmida por um período médio de cinco meses (WENDLING e BRONDANI, 2015).

A multiplicação por via sexuada, produção de mudas por estaquia passa a ser uma alternativa importante à propagação desta espécie (FOWLER e STURION, 2000). A multiplicação vegetativa por miniestacas tem mostrado resultados promissores, relando altos índices de enraizamento (BRONDANI et al., 2008), entretanto, as dificuldades para o rejuvenescimento de material adulto e técnicas de manejo do ambiente de propagação dificultam a expansão do método de propagação a nível de viveiro (WENDLING, GUASTALA e DEDECEK, 2007).

A produção de mudas é umas das etapas agrícolas mais importantes do sistema de produção, uma vez que ela determina o desempenho e produtividade da planta ao campo (SANTOS, 2017). A inserção de microrganismos promotores de crescimento na etapa de produção das mudas, melhora o vigor como verificado em trabalhos conduzidos por Schiavo e Martins (2002), onde o FMA, *Glomus etunicatum* aumentou o vigor de mudas de goiabeira. Os FMAs podem ser uma alternativa viável a para serem utilizados na produção de mudas (TRINDADE, FARIA e ALMEIDA, 2000).

4.2 MICORRIZAS

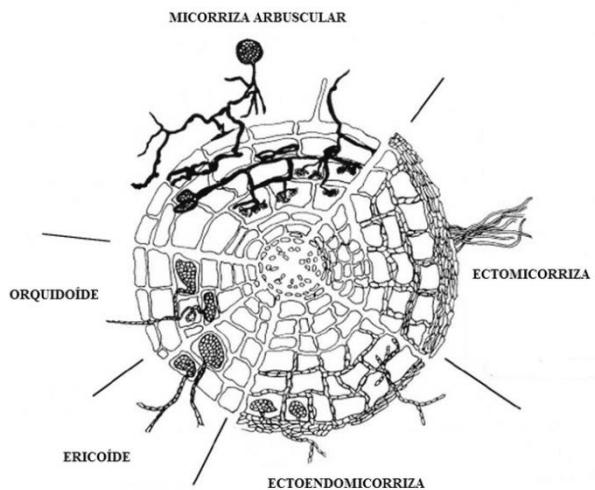
4.2.1 Aspectos gerais

O termo Micorriza é utilizado para denominar a associação simbiótica mutualística entre determinados fungos do solo e as raízes de plantas. A simbiose possibilita o fluxo bidirecional de fotoassimilados e nutrientes inorgânicos (BERBARA et al., 2006). O fungo micorrízico coloniza o córtex radicular sem danificar os tecidos vegetais, de modo que o contato fungo-planta possibilite a troca de água e nutrientes. A planta se beneficia com o aumento da área de contato raiz-solo proporcionado pelas hifas dos fungos, aumentando a absorção de água e nutrientes, principalmente os poucos móveis como o fósforo, favorecendo o desenvolvimento vegetal. Em contrapartida, o fungo é favorecido com suprimento de açúcar provenientes da fotossíntese, além de manter suas estruturas protegidas no córtex radicular (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Associações de fungos micorrízicos com raízes de plantas são de ocorrência generalizada no ambiente natural, sendo que em torno de 80 % das plantas formam micorrizas (INVAM, 2019). As próprias associações podem ser classificadas em um dos sete tipos diferentes (arbuscular, ectomicorizas, ectoendomicorizas, ericoides, arbutóides, orquídeas e monotropoides) com base no tipo de fungo envolvido e na variedade de estruturas resultantes produzidas pela combinação raiz-fungo (HODGE, 2000).

Dentre todos os tipos de associações entre fungos e raízes a mais representativa é a micorriza arbuscular, caracterizada pela formação de arbúsculos, sendo este uma hifa modificada que coloniza o interior das células do córtex através de invaginações, ilustrado na Figura 1 (BRUNDRETT et al., 1996).

Figura 1 - Formas de colonização micorrízica: arbuscular, ectomicorriza, ectoendomicorriza, ericoíde e orquidoíde



Fonte: <https://orquimaniaco.wordpress.com/tag/micorriza/>, adaptado pelo autor, 2018.

4.2.2 Características e classificação taxonômica

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) ocorrem em todas as áreas terrestres cobertas por vegetação e podem estabelecer simbiose com a maioria das espécies vegetais, sendo esta relação mutualística fungo-planta uma regra e não uma exceção (SIQUEIRA, COLOZZI-FILHO e OLIVEIRA, 1989; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Os FMA pertencem ao filo Glomeromycota, classe Glomeromycetes formado por um grupo de fungos, classificados em 3 ordens, 11 famílias e 27 gêneros e mais de 215 espécies descritas (REDECKER et al., 2013). Os glomeromicetos são organismos biotróficos obrigatórios, ou seja dependem do estabelecimento da simbiose com plantas hospedeiras compatíveis para que completem o ciclo de vida (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

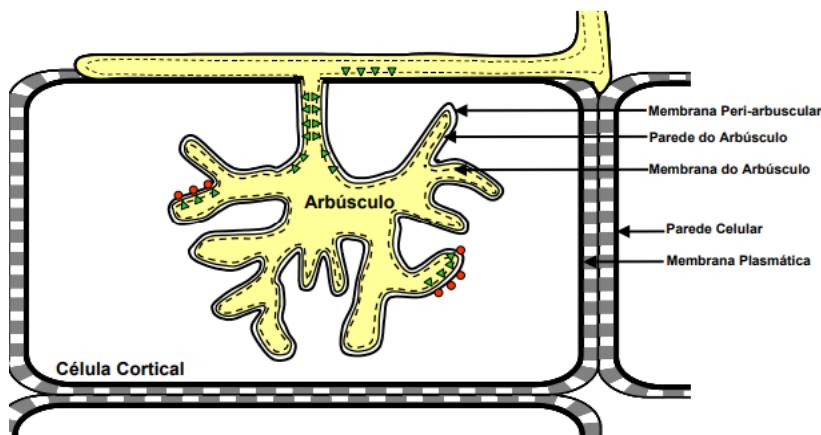
Estudos por conduzidos Cordazzo e Stürmer (2007) mostram que os gêneros de FMAs; *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Glomus* e *Scutellospora* ocorrem abundantemente no território sul catarinense. O gênero *Acaulospora* apresenta-se como cosmopolita nos solos subtropicais como verificado por Ceola (2015) em análise da biogeografia e diversidade de fungos micorrízicos em solos catarinenses.

4.2.3 Fisiologia dos FMAs

A simbiose inicia a partir de uma série de eventos moleculares e bioquímicos. Em uma condição hídrica adequada, ocorre a germinação do esporo, onde as hifas desenvolvem-se de forma assímbiotica, a partir da reserva energética do esporo. As hifas alcançam a superfície radicular, guiadas por sinalização do hospedeiro, como exsudação de flavonóides. Na epiderme vegetal ocorre a modificação das hifas em apressórios, estrutura que favorece a sua penetração nas células epidérmicas da raiz. As hifas ramificam-se e colonizam o córtex radicular e, no interior das células corticais o FMA forma uma estrutura ramificada, denominada arbúsculo, que promove a troca de compostos entre o fungo e a planta (JOHRI et al., 2015; SIQUEIRA et al., 2010).

Quando a hifa se difere em arbúsculo, a membrana plasmática do hospedeiro é modificada resultando na membrana periarbuscular (Figura 2). Os arbúsculos são considerados essenciais na formação da interface simbiótica e no movimento bidirecional de carbono (C) e nutrientes orgânicos e inorgânicos (RAMOS et al., 2005).

Figura 2 - Esquema da estrutura de um arbúsculo em uma célula cortical vegetal e a formação das interfaces de troca



Fonte: Adaptado de Ramos et al., (2005).

O processo de colonização do fungo micorrízico na raiz do hospedeiro é influenciada por fatores fisiológicos e genéticos da planta e também pelas condições do ambiente edáfico, como disponibilidade de nutrientes, características físicas, químicas, biológicas e hídricas do solo (ALLEN, 2001).

4.2.4 Micorrizas e aspectos nutricionais do hospedeiro

Os efeitos nutricionais fornecidos pela simbiose entre micorrízica estão relacionados com a absorção de nutrientes de baixa mobilidade no solo, como o fósforo. Esses nutrientes praticamente não se movem por fluxo de massa e são absorvidos por interceptação radicular (SIQUEIRA et al., 2010). A absorção de fósforo favorecida pelos FMAs foi comprovado por Fernandes et al. (1999), que trabalhando com eucalipto inoculados com FMAs e diferentes dosagens de fósforo, concluiu que plantas inoculadas absorvem mais P em relação as que não possuem a simbiose.

A melhoria na nutrição e das relações hídricas proporcionada pela micorriza geram aumento do fluxo de água pelos vasos condutores afetando a frequência de abertura dos estômatos (condutância estomática), alterando processos fisiológicos como a perda de água (transpiração) e a assimilação de carbono (fotossíntese) (AUGÉ, 2001). Avaliando as trocas gasosas de plantas cítricas micorrizadas, Wang et al. (2016) verificaram que a simbiose com FMAs aumentam a condutância estomática e a fotossíntese.

Alguns estudos apontam a importância dos FMAs para outras espécies florestais, tal como a *Araucaria angustifolia*, que mostrou-se altamente responsável a inoculação com os fungos micorrízicos (MOREIRA-SOUZA e CARDOSO, 2002). Entretanto os serviços prestados por FMAs vão muito além da nutrição individual das plantas, pois o micélio de FMAs interconecta o sistema radicular de plantas vizinhas da mesma espécie ou de espécies distintas. Desta forma, a maioria das plantas está interligada por uma rede de hifas micorrízicas em comum, durante alguma fase do seu ciclo de vida (NEWMAN, 1988). Em experimentos conduzidos por Simard et al. (1997) com plantas de bétula e abeto e usando carbono radioativo, os autores concluíram que através da rede de hifas fúngicas as espécies vegetais trocam carbono fotoassimilado.

4.3 INTERAÇÃO DA ERVA-MATE COM FMAs

A associação de fungos micorrízicos arbusculares com a erva-mate foi relatada por Gaiad e Lopes (1986) em mudas provenientes de viveiros dos estados de Santa Catarina e do Paraná, os autores verificaram que todas as mudas avaliadas apresentavam colonização micorrízica e os gêneros predominantes foram *Acaulospora* e *Glomus*, além destes dois gêneros Auer e Grigolleti Junior (2002) relatam a presença do gênero de FMA *Gigaspora*.

Trabalhos mais recentes como o de Bergottini et al. (2017) verificaram que 5 % da comunidade fúngica das raízes de erva-mate pertenciam ao filo Glomeromycota, que

compreende espécies de FMAs, dentre as famílias encontradas 81 % das espécies sequênciadas pertenciam a família Acaulosporeacea, 9 % das espécies mapeadas pertenciam ao gênero *Glomus* spp., 2 % *Rhizophagus* e 1 % *Gigaspora* e uma fração de 6 % era pertencente a um gênero não identificado da família Glomeraceae.

Estes trabalhos evidenciam que a erva-mate forma predominantemente, micorriza do tipo arbuscular, com isso torna-se evidente a importância de estudos que caracterizem a resposta da erva-mate a micorrização, podendo ajudar no futuro como uma tecnologia auxiliar a melhoria da produção de mudas de erva-mate e outras espécies florestais.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 RECURSOS BIOLÓGICOS

5.1.1 Sementes de erva-mate

As sementes de erva-mate utilizadas para a produção das mudas foram coletadas de várias árvores em erval nativo. A propriedade rural está situada no município de Urupema, Planalto Catarinense sob as coordenadas 27° 57' 10" S e 49° 52' 23" W, estado de Santa Catarina. O clima da região é temperado úmido, enquadrado como Cfb, pela classificação de Köppen, com chuvas bem distribuídas durante todo o período do ano e precipitação média anual de 1.789 mm. A temperatura média anual é de 14 °C, sendo comum também a ocorrência de neve nos meses mais frios (URUPEMA, 2018).

Após a coleta, as sementes foram selecionadas e estratificadas em areia úmida por seis meses. A semeadura destas foi realizada em outubro de 2017, em bandejas plásticas contendo uma camada de 8 cm de substrato comercial, onde permaneceram até atingirem de 2 a 6 folhas.

5.1.2 Inóculos de FMAs

Os inóculos iniciais dos isolados de FMAs *Acaulospora colombiana* SCT115A e *Rhizophagus clarus* SCT720A, avaliados no trabalho, foram fornecidos pela Coleção Internacional de Cultura de Glomeromycota – CICG - FURB/Blumenau.

Na Estação Experimental da EPAGRI - Lages, os isolados foram multiplicados em vasos com capacidade de 1,7 L, contendo substrato esterilizado a base de arenito + quartzo moído (2:1, v/v). Braquiária foi utilizada como planta hospedeira. Após 90 dias da semeadura dessa espécie, foi suspensa a irrigação das plantas para induzir a esporulação pelos FMAs; o solo de cultivo e o sistema radicular contendo os esporos constituiu o inoculante. Para a quantificação do numero de esporos, foi realizada a extração por peneiramento úmido e posteriormente foi realizada a contagem de esporos presente nos inoculantes - solo, onde o inóculo do fungo *Rhizophagus clarus* possuía 304 esporos em 50 gramas de solo - inóculo e o inoculante de *Acaulospora colombiana* 280 esporos em 50 gramas de solo - inóculo.

5.2 INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO

5.2.1 Correção do solo

A instalação do experimento foi realizada na primeira quinzena de fevereiro de 2018 na Epagri Estação Experimental de Lages, Santa Catarina, sob as coordenadas 27°47'33"S e 50° 18' 4"W, com altitude de aproximadamente 900 m. Foi utilizado Cambissolo húmico retirado de uma área de florestal não antropizada localizada em Lages - SC, o qual apresentava as características descritas na tabela 1. De acordo com a classificação de Koeppen, o clima do município de Lages é mesotérmico úmido com verão ameno (Cfb temperado). A temperatura média anual é de 15 °C e a precipitação média anual varia de 1.300 a 1.500 mm (EPAGRI, 2002).

Tabela 1 - Atributos químicos do solo utilizado para a instalação do experimento

pH Água	Ca	Mg	Al	H+Al	V	m	P	K	M.O	Argila
				...cmolc dm ⁻³%...	...mg dm ⁻³ ...		%	%
4,7	2,6	0,7	1,4	13,7	19,8	29,28	61	32	2,5	23

Fonte: Laboratório de Análises de Solo da Epagri de Ituporanga, 2015.

O solo foi corrigido para os teores de nitrogênio e potássio conforme a recomendação do manual de adubação e calagem para a cultura da erva-mate (CQFS-RS/SC, 2016). O nitrogênio foi corrigido, utilizando-se nitrato de amônio (NH_4NO_3) como fonte do nutriente, com base na necessidade de reposição de 15 kg ha⁻¹ para a erva-mate (CQFS-RS/SC, 2016). Para a correção de potássio foi utilizado cloreto de potássio (KCl), na dose de 20 kg ha⁻¹.

O fósforo foi corrigido com fosfato dissódico (Na_2HPO_4). A partir da recomendação de fósforo para a cultura da erva-mate, que de acordo com os níveis de fósforo presentes no solo utilizado, é de 20 kg ha⁻¹ de P₂O₅ (CQFS-RS/SC, 2016), estabeleceram-se as dosagens de 0; 25;50;100 e 200% do nutriente amparado na recomendação para a cultura da erva-mate, estes constituíram os tratamentos de fertilização fosfatada do experimento.

As correções de N e K e a aplicação das dosagens de fósforo, foram baseadas na recomendação para a cultura da erva-mate, levando em consideração as características químicas do solo utilizado no experimento. Não foi realizada a correção do pH do solo, por não ser recomendado a utilização de calagem para a cultura da erva-mate.

A correção dos nutrientes foi feita manualmente com auxílio de embalagens plásticas; cada copo (unidade experimental), contendo 400 mL de solo, foi despejado em embalagem de polietileno, onde foi aplicado 10 mL de solução de correção dos níveis de N e K e as doses de fósforo e o conteúdo foi homogeneizado. O período de incubação do solo corrigido, foi de três dias, em seguida foi realizado a inoculação dos FMAs e o repique das mudas para os copos com o solo corrigido, iniciando o experimento.

5.2.2 Delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi em desenho fatorial duplo, constituído de 5 doses de fósforo, 2 inóculos com isolados de FMA e um controle, conforme descrito abaixo;

Doses de Fósforo:

- Dose 0 - Sem adição de fósforo, equivalente a 6,1 mg de Fósforo/dm³ presente no solo utilizado;
- Dose 25 - 25% da dose de fósforo recomendada para a cultura da erva-mate, equivalente a 7,5 mg de P₂O₅/dm³ de solo;
- Dose 50 - 50% da dose de fósforo recomendada para a cultura da erva-mate, equivalente a 9 mg de P₂O₅/dm³ de solo;
- Dose 100 - 100% da dose de fósforo recomendada para a cultura da erva-mate, equivalente a 12 mg de P₂O₅/dm³ de solo;
- Dose 200 - 200% da dose de fósforo recomendada para a cultura da erva-mate, equivalente a 24 mg de P/dm³ de solo.

Tratamentos de inoculação de FMAs:

- Controle (C) - solo sem inoculação de FMAs;
- *Rhizophagus clarus* (R.c) - solo inoculado com o isolado do FMA *R.clarus* (10 g de inoculante por planta/vaso);
- *Acaulospora colombiana* (A.c) - solo inoculado com o isolado do FMA *A. colombiana* (10 g de inoculante por planta/vaso).

Os tratamentos controle receberam mistura do inoculante misto (*R. clarus+A. colombiana*, 1:1, v/v) autoclavado (1h a 121°C, duas vezes em intervalo de 24h).

Como as sementes de erva mate apresentaram germinação e crescimento desuniforme, o fator de bloqueamento foi o tamanho das mudas. As plântulas foram separadas por tamanho, sendo consideradas plantas grandes as com mais de cinco folhas, médias com três a quatro

folhas e pequenas com apenas duas folhas. Com esta seleção, obteve-se 3 blocos com plantas grande, 5 com médias e 2 com plantas pequenas. O sistema de irrigação da estufa foi desativado e o experimento foi irrigado manualmente com água destilada, depositada no recipiente (capacidade 175 mL) abaixo do copo com as plantas.

Para avaliação dos parâmetros estipulados, foram realizados dois experimentos o primeiro com 6 blocos, foi avaliado aos 90 dias após o repique das plântulas e o segundo experimento com 4 blocos avaliados aos 180 dias após o repique. Em ambos os experimentos, cada bloco compunha uma repetição, distribuídos em mesas alocadas na casa de vegetação.

5.2.3 Repique das plântulas

O solo corrigido foi distribuído em copos plásticos com capacidade de 500 mL, nos quais foi adicionado 400 mL de solo com auxílio de um recipiente calibrado para tal volume. Cada copo recebeu 10 g do inoculante, conforme cada tratamento, que foi misturado ao solo com auxílio de um bastão de vidro. O solo inoculado foi umedecido até a capacidade de campo possibilitando a repique das mudas de erva-mate (Figura 3).

Figura 3 - Mudas de erva mate plantadas em copos de 500 mL compondo um bloco do experimento em casa de vegetação, localizada na EPAGRI-Lages



Fonte: Elaborado pela própria autora, 2018.

Em cada copo foi adicionado um volume de 50 mL de vermiculita autoclavada formando uma camada sobre o solo, reduzindo perda de água na superfície. Os copos

transparentes foram envoltos por papel alumínio, impedindo a passagem de luz, para evitar a proliferação de fungos e algas.

5.3 AVALIAÇÕES

As avaliações descritas foram realizadas em dois períodos aos 90 e aos 180 dias após a inoculação. Aos 90 dias após a inoculação foram realizadas as análises destrutivas, utilizando 6 blocos e aos 180 dias foram avaliados 4 blocos.

5.3.1 Biomassa fresca e seca

A parte área foi separada da raiz com auxílio de uma tesoura cirúrgica. O material foi armazenado em sacos de papel com a identificação. Para manter a integridade do sistema radicular, removeu-se o excesso de solo ao redor das raízes para posterior higienização destas em água corrente.

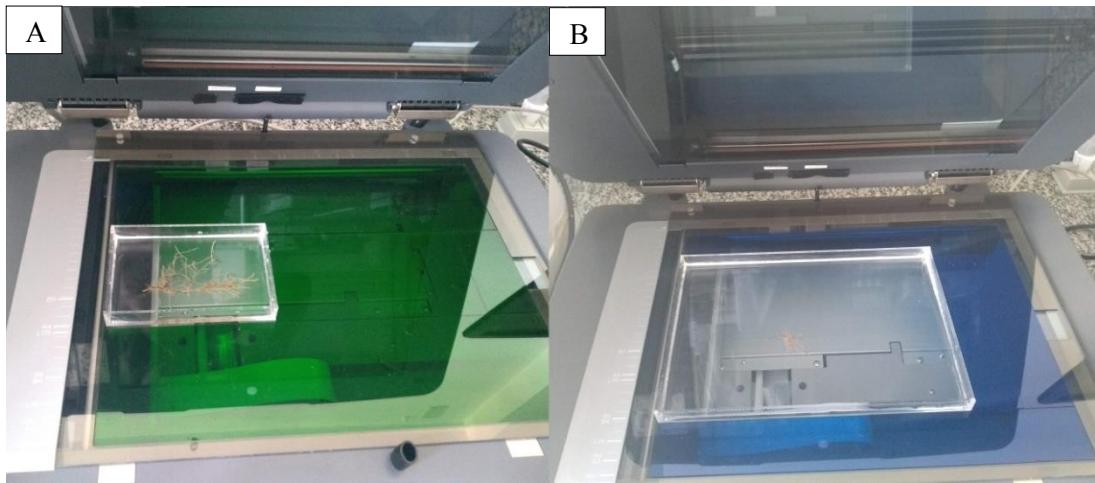
As raízes e a parte área das plantas foram pesadas separadamente, em balança analítica de precisão com quatro casas decimais, para estimar a massa fresca. Para a estimativa da massa seca, as amostras de parte área colocadas em estufa com sistema de circulação de ar forçado a 60 °C por 72 h, após este período foram realizadas as pesagens.

5.3.2 Morfologia e arquitetura radicular

As amostragens de raízes permaneceram armazenadas em recipientes com álcool 50 %, até o momento das avaliações.

Os parâmetros de arquitetura e morfologia radicular foram obtidos por meio da utilização de imagens digitais das raízes, com auxílio de um scanner (Epson, modelo LA2400), ilustrado na Figura 4. Para a obtenção das variáveis comprimento de raiz (cm), Área superficial (cm^2), volume de raiz (cm^3), diâmetro (mm), número de extremidades e número de bifurcações, utilizou-se o software WinRHIZO.

Figura 4 - Scanner profissional EPSON LA2400 equipado com cuba de acrílico utilizada nas raízes das plantas avaliadas aos 90 dias (A) e utilizada aos 180 dias após a inoculação (B)



Fonte: Elaborado pela própria autora, 2018.

5.3.3 Colonização micorrízica

As raízes foram cortadas em fragmentos e submetidas à descoloração mediante imersão em KOH 10 %, por 15 min em banho-maria a 90 °C (KOSKE e GEMMA, 1989). Após lavagem em água corrente, as raízes permaneceram por 40 min em ácido acético glacial (AAG) a 5 %. Após as raízes serem descoloridas e acidificadas, foi realizada a coloração com tinta de caneta tinteiro preta (Sheaffer®) diluída a 5 % em AAG na concentração de 5 % por 8 min a 90 °C (VIERHEILIG et al., 1998). Posterior a coloração, as raízes foram lavadas em água corrente e armazenadas em tubos de ensaio com água destilada.

Para o preparo das lâminas foram utilizados 20 fragmentos radiculares, com aproximadamente 1 cm. A frequência e intensidade micorrização dos fragmentos radiculares foram estimadas de acordo com método proposto por Trouvelot, Kough e Gianinazzi-Person (1986). A freqüência, relativa à porcentagem de raízes colonizadas foi obtida a partir número de segmentos infectados em relação ao total analisado. Para determinar a intensidade de colonização, atribuiu-se o valor 0 para ausência de estruturas; 1, para presença de 1 % de hifas; 2, para presença 5 % de hifas; 3, para presença de 30 % de hifas; 4, para a presença de 70 % de hifas e 5 para a presença de 95 % de hifas.

5.3.4 Resposta micorrízica

A partir da biomassa fresca total, determinou-se as respostas de crescimento micorrízico (RCM) pela fórmula descrita por Viega et al. (2011), calculadas usando os seguintes parâmetros:

$$\text{Se o controle} < \text{FMA, usa-se} \quad \text{RCM (\%)} = \left(1 - \left(\frac{\text{Controle}}{\text{FMA}} \right) \right) \times 100$$

$$\text{Se o controle} > \text{FMA, usa-se} \quad \text{RCM (\%)} = \left(1 + \left(\frac{\text{FMA}}{\text{Controle}} \right) \right) \times 100$$

Respostas positivas ao crescimento micorrízico significa que as espécies de plantas beneficiaram da inoculação de FMA em termos de biomassa fresca total. Equanto uma resposta negativa de crescimento micorrízico indica que a espécie vegetal foi suprimida por FMA.

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com aplicação do teste F e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade, utilizando o programa estatístico R e SISVAR.

Quando os dados não atendem a normalidade e requisitos de homogeneidade, estes foram transformados por boxcox.

6 RESULTADOS

6.1 AVALIAÇÃO AOS 90 DIAS APÓS A INOCULAÇÃO

6.1.1 Biomassa fresca e seca

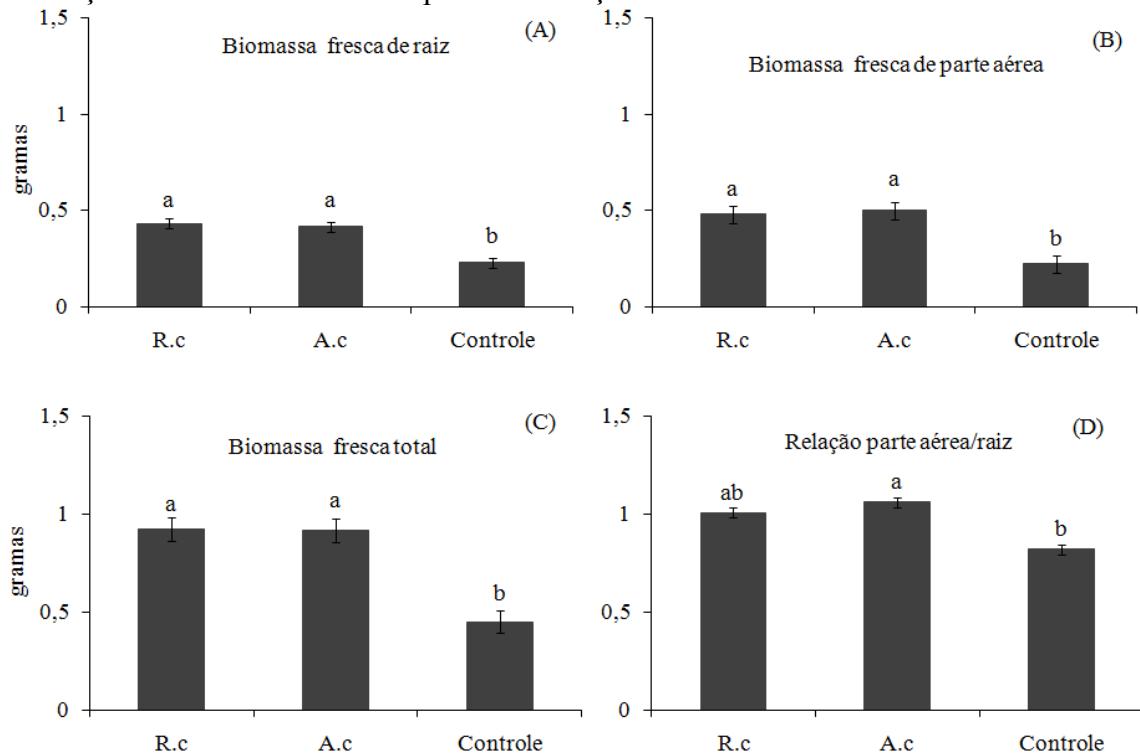
Aos 90 dias após a inoculação, as plantas de erva-mate inoculadas com *Rhizophagus clarus* e *Acaulospora colombiana* apresentaram maior acúmulo de biomassa fresca de raiz, os FMAs aumentaram em média 80 % a produção de massa fresca de raízes (Figura 5A). A biomassa fresca da parte área seguiu o mesmo comportamento, entretanto o incremento de peso foi maior, as plantas inoculadas com os isolados dos FMAs apresentaram maiores pesos de parte área, cerca de 110 % maior do que o controle. A biomassa fresca total foi em média 100 % maior nas mudas de erva-mate inoculadas com os isolados de *R. clarus* e *A. colombiana*.

A relação parte área/raiz foi maior nas plantas inoculadas com *A. colombiana* quando comparadas ao controle, verificando-se que o isolado proporcionou maior acúmulo de massa na parte aérea em relação a massa do sistema radicular, na ordem de 1,1 g/g, enquanto para o controle a relação PA/Raíz foi de 0,82 (Figura 5D).

Não foi observado efeito das doses de fósforo aplicadas para as variáveis relativas a biomassa fresca das mudas de erva-mate em um período de 90 dias após a inoculação com os FMAs.

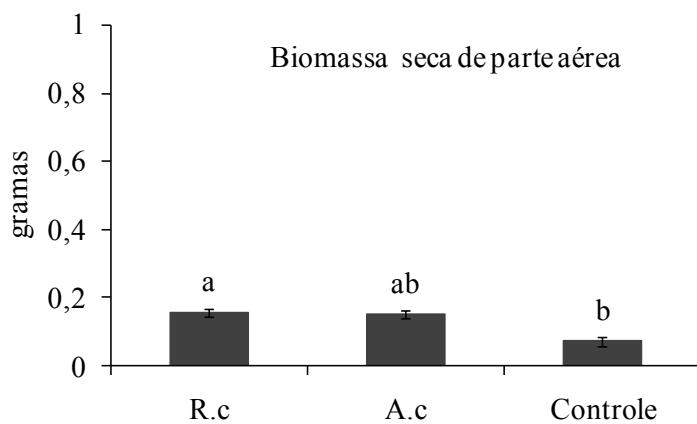
A inoculação com isolado de *Rhizophagus clarus* resultou em plantas maiores, em decorrência do maior acúmulo de massa seca da parte aérea, apresentando peso 117 % superior ao tratamento controle. O teor de massa seca de parte área acumulada é semelhante entre os dois FMAs, como pode ser observado na Figura 6. As doses de fósforo não influenciaram no acúmulo de massa seca aos 90 dias após a inoculação.

Figura 5 - Biomassa fresca de raiz (A), biomassa fresca de parte aérea (B), biomassa fresca total (C) e relação entre biomassas frescas do sistema radicular e da parte aérea (D) em gramas (g) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação. Avaliação realizada aos 90 dias após a inoculação.



Barras indicam erro-padrão; letras indicam diferenças significativas entre tratamentos (Tukey, $P \leq 0,05$)
Fonte: Elaborado pela própria autora, 2018.

Figura 6 - Biomassa seca de parte aérea em gramas (g) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação. Avaliação realizada aos 90 dias após a inoculação.



Barras indicam erro-padrão; letras indicam diferenças significativas entre tratamentos (Tukey, $P \leq 0,05$)
Fonte: Elaborada pela própria autora, 2019.

6.1.2 Arquitetura e morfologia de raízes

O comprimento radicular das raízes de erva-mate foi menor no controle, apresentando raízes 70 % menores quando comparadas as raízes de plantas inoculadas com *A. colombiana* e 59 % menores em comparação as plantas inoculados com *R. clarus* (Tabela 2).

O aumento da dose de fósforo resultou em maior comprimento radicular. A dose máxima de fósforo testada (D200) proporcionou comprimento de raízes 80 % maior, comparado as raízes das mudas cultivadas em solo sem correção e aplicação de fósforo (D0), como pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2 - Morfologia e arquitetura radicular de plantas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação, sob diferentes doses de fósforo. Avaliação realizada aos 90 dias após a inoculação.

Tratamento	Doses de Fósforo					Média
	0	25	50	100	200	
Comprimento radicular (cm)						
<i>A.c</i>	185,6aB	126,3aB	272,0Aab	175,0aB	383,1aA	228,4a
<i>R.c</i>	139,7aB	218,3aAB	178,6abAB	212,2aAB	314,9aA	212,8a
Controle	131,4 aA	157,1aA	103,8bA	155,62aA	121,2bA	133,8b
Média	152,3 B	167,3B	184,8AB	180,9AB	273,1A	
Área de projeção (cm ³)						
<i>A.c</i>	6,9aA	4,9aB	11,1aAB	6,7aB	14,8aA	8,9a
<i>R.c</i>	5,5aA	8,7aA	7,3abA	9,5aA	11,5aA	8,5a
Controle	5,4aA	6,1aA	4,2 bA	5,7aA	4,8bA	5,2a
Média	5,9B	6,6AB	7,5AB	7,3AB	10,3A	
Volume de raízes (cm ³)						
<i>A.c</i>	0,20aAB	0,16aB	0,36aAB	0,20aB	0,45aA	0,27a
<i>R.c</i>	0,17aA	0,27aAB	0,23abA	0,34aA	0,33abA	0,27a
Controle	0,17aA	0,19aA	0,14 bA	0,16aA	0,15bA	0,16b
Média	0,18A	0,21A	0,24A	0,23A	0,31A	
Extremidades (un.)						
<i>A.c</i>	249,8aA	255,1aA	279,9aA	286,3aA	392,8aA	292,8a
<i>R.c</i>	246,8aAB	272,4Aab	201,7aB	268,6aAB	401,7aA	278,2a
Controle	208,5aA	201,2aA	182,6aA	210,2aA	195,5bA	199,6b
Média	235,0AB	242,9AB	221,4 B	255,0AB	330,0A	
Bifurcações (un.)						
<i>A.c</i>	658,7aB	448,9aB	1137,4aAB	648,7aB	1770,5aA	932,4a
<i>R.c</i>	499,8aA	771,2aA	633,5abA	871,4aA	1249,8aA	805,2a
Controle	445,8aA	501,2aA	353,7bA	456,9aA	362,5bA	425,1b
Média	534,8B	573,8B	708,2AB	659,0AB	1127,1A	

Letras maiúsculas correspondem a comparação entre doses (colunas) e as letras minúsculas a diferença entre os FMAs (linhas) (Tukey, P≤0,05)

Fonte: Elaborado pela própria autora, 2018.

A área de projeção das raízes expressas para o volume de solo utilizado nas unidades experimentais (400 ml) não diferiu entre os isolados de FMA e o controle. Entretanto, as dosagens de fósforo aplicadas mostraram efeito na área de projeção de raízes(Tabela 2).

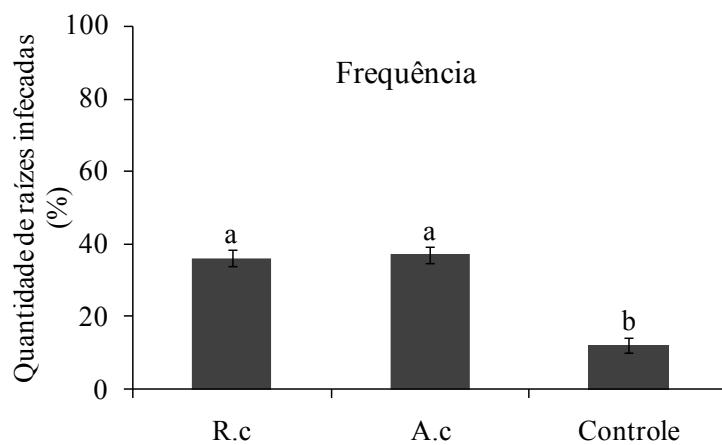
Pode-se observar o efeito da inoculação dos dois isolados de FMAs no volume radicular, ambos os fungos *A. colombiana* e *R. clarus* proporcionaram maior volume de raízes, quando comparados ao controle. Para esta variável não foi verificado efeito da aplicação de fósforo no solo (Tabela 2).

O número de extremidades e bifurcações radiculares foi influenciada pela presença dos FMAs nas raízes, as mudas de erva-mate inoculadas com *R. clarus* e *A. colombiana* apresentam raízes numerosas e ramificadas. O teor de fósforo presente no solo também influencia nas variáveis quantitativas das raízes (Tabela 2).

6.1.3 Colonização micorrízica

A quantidade de raízes colonizadas foi maior nas plantas inoculadas com os isolados de FMA, entretanto também foi observada a presença de estruturas de FMAs no tratamento controle embora significativamente inferior do que nos tratamentos inoculados (Figura 7). As doses de fósforo aplicadas não influenciaram a frequência de colonização no período de 90 dias após a inoculação.

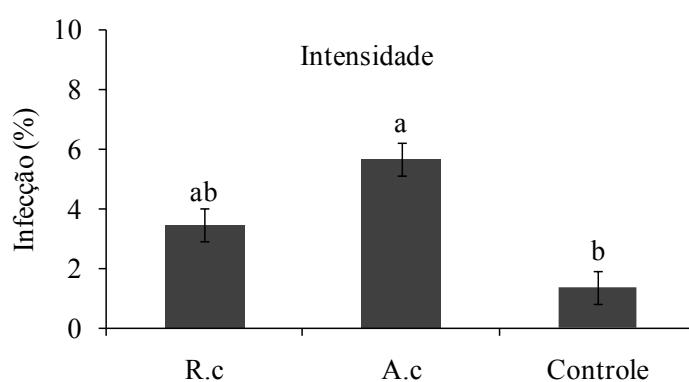
Figura 7 - Frequência micorrízica (%) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação. Avaliação realizada aos 90 dias após a inoculação.



Barras indicam erro-padrão; letras indicam diferenças significativas entre tratamentos (Tukey, $P \leq 0,05$)
Fonte: Elaborado pela própria autora, 2018.

A intensidade de colonização micorrízica foi numericamente maior nas raízes inoculadas com *A. colombina* quando comparadas ao controle, entretanto não houve diferença estatística significativa (Figura 8). O fungo *R. clarus* colonizou as raízes de maneira semelhante ao controle e ao fungo *A. colombiana*, entretanto não diferiu do controle (Figura 8). As dosagens de fósforo aplicadas não interferiram significativamente na intensidade de colonização das plantas com 90 dias de inoculação.

Figura 8 - Intensidade micorrízica (%) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação. Avaliação realizada aos 90 dias após a inoculação.



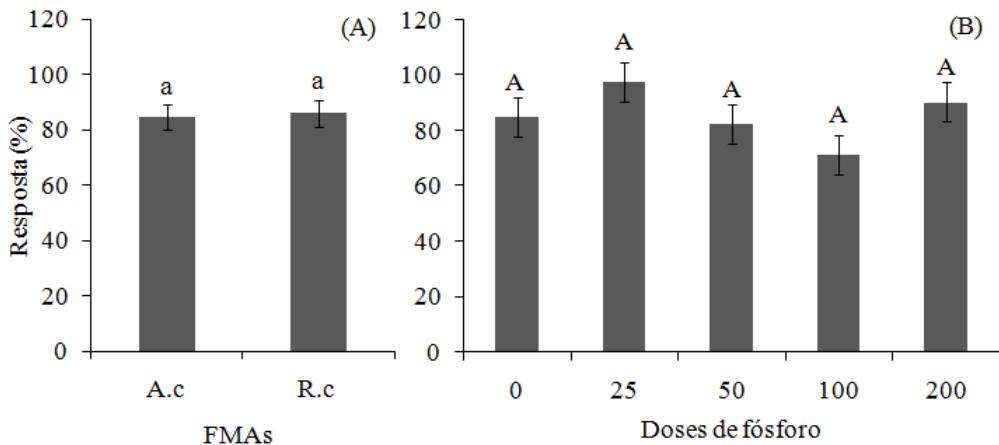
Barras indicam erro-padrão; letras indicam diferenças significativas entre tratamentos (Tukey, $P \leq 0,05$)
Fonte: Elaborado pela própria autora, 2018.

6.1.4 Resposta micorrízica

A erva-mate não apresentou diferença de resposta micorrízica entre as duas espécies de FMAs testadas e também não foi verificado efeito da dosagem de fósforo na variável (Figura 9). Aos 90 dias após a inoculação a erva-mate mostra resposta de crescimento semelhante para os dois isolados testados. Podendo-se afirmar que os dois fungos são eficientes para a erva-mate.

O fósforo aplicado ao solo não interferiu na resposta da planta hospedeira, não ocorrendo diferenças entre as dosagens de fósforo aos 90 dias após a inoculação das plantas (Figura 9B).

Figura 9 - Resposta de crescimento (%) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação, sob diferentes doses de fósforo. Avaliação realizada aos 90 dias após a inoculação. Comparativo entre os isolados de FMAs (A); comparativo entre doses de fósforo (B).



Barras indicam erro-padrão; letras indicam diferenças significativas entre tratamentos (Tukey, $P \leq 0,05$)
Fonte: Elaborado pela própria autora, 2018.

6.2 AVALIAÇÃO AOS 180 DIAS APÓS INOCULAÇÃO

6.2.1 Biomassa fresca e seca

A biomassa fresca de raiz foi maior nas plantas de erva-mate inoculadas com *R. clarus* com relação ao controle, pesando 176 % a mais do que as raízes de plantas não inoculadas. A biomassa fresca de parte aérea foi maior nas plantas inoculadas com os dois isolados de FMA quando comparada ao controle, superando em mais de 100 % o peso do controle. A biomassa fresca total foi maior nas plantas inoculadas com *R. clarus* aos 180 dias após a inoculação, mostrando peso 130 % maior que o controle (Tabela 3).

As doses de fósforo testadas influenciaram nas variáveis relativas ao acúmulo de massa fresca, a dose máxima testada (D200) proporcionou maior teor de biomassa fresca de raiz, parte aérea e total (Tabela 3). A relação parte aérea e raiz não apresentou diferença estatística entre os tratamentos e as doses de fósforo.

A biomassa seca de raiz foi maior nos tratamentos inoculados com *A. colombiana*, mostrando-se 160 % maior acúmulo de massa com relação ao controle, entre doses de fósforo não foi observado diferença estatística (Tabela 4).

Tabela 3 - Biomassa fresca de raiz, biomassa fresca de parte aérea, biomassa total e relação entre biomassa fresca do sistema radicular e da parte aérea (g) de mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação, sob diferentes doses de fósforo. Avaliação realizada aos 180 dias após a inoculação.

Tratamento	Doses de Fósforo(%)					Média
	0	25	50	100	200	
Biomassa fresca de raiz (g)						
<i>A.c</i>	0,71	2,86	1,73	2,38	2,56	2,07a
<i>R.c</i>	1,48	0,72	1,06	2,29	2,89	1,69ab
Controle	0,35	0,20	0,17	0,64	2,37	0,75b
Média	0,85B	0,98B	1,26AB	1,77AB	2,64A	
Biomassa fresca de parte aérea (g)						
<i>A.c</i>	0,77	2,27	1,75	2,66	2,58	2,01 a
<i>R.c</i>	1,48	0,83	1,06	2,99	3,56	1,98a
Controle	0,41	0,31	0,22	0,89	3,02	0,97b
Média	0,89B	1,14B	1,02B	2,18AB	3,05A	
Biomassa fresca total (g)						
<i>A.c</i>	1,48	5,14	3,49	5,05	5,24	4,08a
<i>R.c</i>	2,96	1,56	2,12	5,29	4,90	3,37ab
Controle	0,77	0,52	0,39	1,54	5,40	1,72b
Média	1,74A	2,40AB	2,00B	3,96AB	5,18A	
Relação parte aérea e raiz						
<i>A.c</i>	0,93	0,75	0,95	1,04	1,09	1,85a
<i>R.c</i>	1,17	1,13	0,88	1,51	4,55	1,34a
Controle	1,16	1,44	1,32	1,43	1,34	0,95a
Média	1,09A	1,11A	1,05A	1,32A	2,33A	

Letras maiúsculas correspondem a comparação entre doses (colunas) e as letras minúsculas a diferença entre os FMAs (linhas) (Tukey, P≤0,05)

Fonte: Elaborado pela própria autora, 2019.

O acúmulo de massa na parte aérea foi maior nas plantas inoculadas com os isolados de ambos os FMAs, as doses de fósforo também exerceram influencia no acúmulo de biomassa, a dose máxima proporcionou as maiores médias em todos os tratamentos e no controle, entretanto não ocorreu interação entre os fatores FMAs e doses de fósforo.

Tabela 4- Biomassa seca de parte aérea (g) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação, sob diferentes doses de fósforo. Avaliação realizada aos 180 após a inoculação.

Tratamento	Doses de Fósforo					Média
	0	25	50	100	200	
Biomassa seca de raiz (g)						
<i>A.c</i>	0,17	0,12	0,17	0,34	0,26	0,21a
<i>R.c</i>	0,18	0,07	0,11	0,17	0,20	0,15ab
Controle	0,04	0,04	0,03	0,06	0,23	0,08b
Média	0,13 A	0,08A	0,10A	0,19A	0,23A	
Biomassa seca de parte aérea (g)						
<i>A.c</i>	0,31	0,81	0,5	0,72	0,77	0,62a
<i>R.c</i>	0,48	0,23	0,32	0,77	1,12	0,58a
Controle	0,12	0,16	0,24	0,32	0,60	0,28b
Média	0,30B	0,40AB	0,35B	0,60AB	0,82A	
Biomassa seca total (g)						
<i>A.c</i>	1,27a	0,93a	0,66a	1,06a	1,02a	0,99a
<i>R.c</i>	0,66 ab	0,29a	0,38a	0,94 a	1,03a	0,66ab
Controle	0,16b	0,19a	0,26a	0,37 a	0,82a	0,37b
Média	0,69 A	0,48 A	0,44 A	0,79 A	0,96 A	

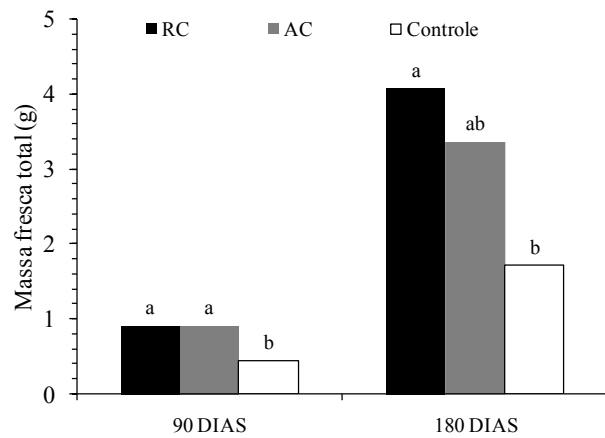
Letras maiúsculas correspondem a comparação entre doses (colunas) e as letras minúsculas a diferença entre os FMAs (linhas) (Tukey, P≤0,05)

Fonte: Elaborado pela própria autora, 2019

Pode-se observar diferença nas respostas de acúmulo de biomassa fresca total aos 90 e 180 dias após a inoculação, possivelmente devido às características de crescimento e desenvolvimento da erva-mate, aos 90 dias após a inoculação, não foi observado diferença entre os isolados de FMAs, apenas destes com relação ao controle (Figura 10). Em contra ponto, aos 180 dias, o fungo *R. clarus* apresentou maior acúmulo de massa que o controle, enquanto o *A. colombiana* mostrou comportamento semelhante ao controle e ao *R. clarus*.

Aos 90 dias após a inoculação ambos os inoculados apresentaram peso de mudas, superando em 100% o controle. Aos 180 dias, *R. clarus* foi 137 % maior que o controle e o *A. colombiana* 96% maior que o controle. As diferenças de respostas entre as avaliações são reflexo da característica de crescimento da erva-mate, a espécie apresenta desenvolvimento mais lento, influenciando a interação com os simbiontes (Figura 10).

Figura 20- Comparativo de massa fresca total entre 90 e 180 dias após a inoculação com isolados de FMAs em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação.



Barras indicam erro-padrão; letras indicam diferenças significativas entre tratamento (Tukey, $P \leq 0,05$)
Fonte: Elaborado pela própria autora, 2019.

6.2.2 Morfologia e arquitetura de raízes

O comprimento radicular as mudas de erva-mate inoculadas com *A. colombiana* foi 91 % maior do que as raízes controle. Foi observado efeito da dose máxima de fósforo testada resultando em maior comprimento radicular.

A inoculação com os isolados de *A. colombiana* e *R. clarus* proporciona maior volume de raízes, as raízes inoculadas com os FMAs obtiveram o dobro do volume radicular, como pode ser observado na tabela 5. As doses de fósforo não influenciaram esta variável.

O número total de raízes e ramificações foi maior nos tratamentos inoculados com o fungo *A. colombiana*. A aplicação altas doses de fósforo influência de forma positiva na formação quantitativa de raízes.

Tabela 5 - Morfologia e arquitetura radicular de plantas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação, sob diferentes doses de fósforo. Avaliação realizada aos 180 dias após a inoculação

Tratamento	Doses de Fósforo (%)					Média
	0	25	50	100	200	
Comprimento radicular (cm)						
<i>A.c</i>	570,8	668,4	605,9	792,2	958,6	719,2a
<i>R.c</i>	691,9	358,3	427,3	790,2	925,6	638,7ab
Controle	205,6	267,1	325,9	414,8	665,3	375,8b
Média	489,5AB	431,3B	453,0AB	665,7AB	849,9A	
Volume de raízes (cm ³)						
<i>A.c</i>	0,82	1,42	1,08	1,46	1,46	1,25a
<i>R.c</i>	0,97	0,59	0,70	1,59	1,59	1,07a
Controle	0,32	0,36	0,54	0,96	0,96	0,55b
Média	0,71A	0,79A	0,77A	1,17A	1,34A	
Extremidades (un.)						
<i>A.c</i>	585	668	478	593	918	648 a
<i>R.c</i>	801	435	455	636	785	596a
Controle	250	316	327	338	582	388b
Média	546 AB	473AB	420 B	523 AB	762 A	
Bifurcações (un.)						
<i>A.c</i>	2358	2733	2205	3093	4679	3017a
<i>R.c</i>	2843	1160	1775	3348	4062	2637ab
Controle	692	747	960	1304	2694	1280b
Média	1964AB	1547B	1647 B	2581AB	3851A	

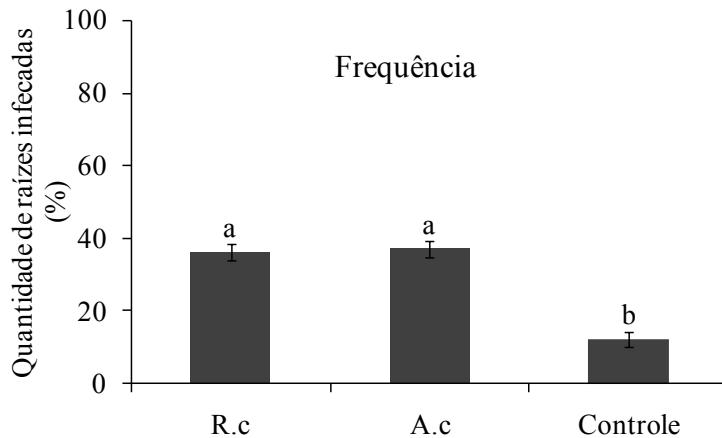
Letras maiúsculas correspondem a comparação entre doses (colunas) e as letras minúsculas a diferença entre os FMAs (linhas) (Tukey, P≤0,05)

Fonte: Elaborado pela própria autora, 2018.

6.2.3 Colonização micorrízica

A frequência de colonização foi maior nos tratamentos inoculados com as duas espécies de FMAs, ambos com mais de 36 % de raízes colonizadas, enquanto o controle apresentou pouco mais de 12 % de raízes colonizadas (Figura 11). As doses de fósforo testadas não influenciaram na colonização dos isolados de FMAs testados.

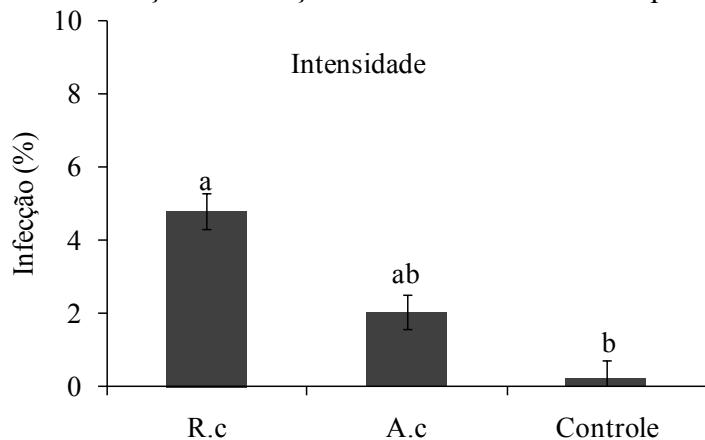
Figura 11- Frequência micorrízica (%) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação. Avaliação realizada aos 180 dias após a inoculação.



Barras indicam erro-padrão; letras indicam diferenças significativas entre tratamento (Tukey, $P \leq 0,05$)
Fonte: Elaborado pela própria autora, 2019.

A intensidade colonização foi maior nas raízes de plantas inoculadas com a espécie *R. clarus*, com 4,8 % de suas estruturas infectadas, enquanto as plantas do controle apresentaram taxa de 0,23 % (Figura 12). As doses de fósforo não influenciaram na abrangência da infecção nas raízes.

Figura 12 - Intensidade micorrízica (%) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação. Avaliação realizada aos 180 dias após a inoculação.



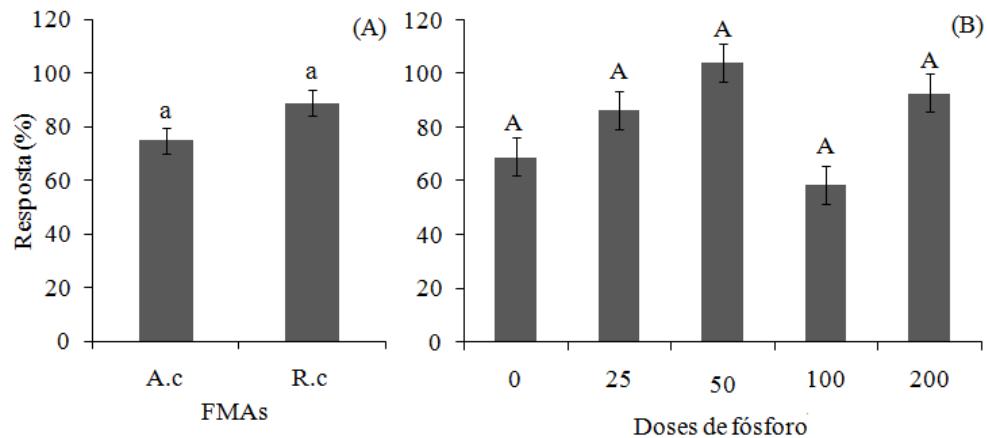
Barras indicam erro-padrão; letras indicam diferenças significativas entre tratamentos (Tukey, $P \leq 0,05$)
Fonte: Elaborado pela própria autora, 2019.

6.2.4 Resposta micorrízica

A erva-mate não apresentou diferença de resposta entre as duas espécies de FMAs testados, também não foi verificado efeito da dosagem de fósforo na variável resposta de crescimento (Figura 13). Comportamento semelhante ao verificado aos 90 dias após a

inoculação, mostrando elevada resposta da erva-mate a micorrização ao longo do período de permanência no viveiro.

Figura 13 - Resposta de crescimento (%) em mudas de erva-mate inoculadas com isolados de FMAs e na ausência de inoculação, sob diferentes doses de fósforo. Avaliação realizada aos 180 dias após a inoculação. Comparativo entre os isolados de FMAs (A); comparativo entre doses de fósforo (B).



Barras indicam erro-padrão; letras indicam diferenças significativas entre tratamentos (Tukey, $P \leq 0,05$)
Fonte: Elaborada pela própria autora, 2019.

7 DISCUSSÃO

7.1 ACÚMULO DE MASSA

A inoculação com os isolados de FMAs *R. clarus* e *A. colombiana* promoveram alterações no crescimento e acúmulo de biomassa das mudas de erva-mate. Tal resultado foi constatado nas avaliações de 90 e 180 dias após a inoculação com isolados de FMAs. Muitos trabalhos apontam a influência positiva da inoculação de FMAs em espécies arbóreas, Souza et al. (2000) constatou que as plantas de citrange ‘Carrizo’ (*Citrus sinensis* (L.) Osb. x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) inoculadas com o FMA, *Glomus intraradices* expressam maior massa seca, diâmetro caulinar, número de folhas, observaram também aumento da área foliar e maior concentração de fósforo e potássio no tecido vegetal. Melloni et al. (2000) também relata a eficiência do FMA: *Glomus intraradices*, constando que o FMA aumentou valores de altura, diâmetro de caule e massa seca em enxertos de limoeiro-cravo [*Citrus limonia* (L.) OSBECK].

A inoculação dos FMAs na produção de mudas de espécies florestais vem mostrando resultados promissores, como os relatos por Machinesk et al. (2009) verificou que mudas de peroba-rosa (*Aspidosperma polyneuron*) inoculadas com *Gigaspora margarita* e *Glomus clarum* proporcionaram aumento de 400 e 275 % na biomassa de raiz, respectivamente em relação ao controle. Assim como no presente experimento, aos 90 dias após a inoculação, as plantas micorrizadas apresentaram aumento de 80 % na biomassa de raízes em relação ao controle, o aumento da massa radicular foi ainda maior aos 180 dias após a inoculação, aumentou em 117 % a massa fresca de raízes.

O efeito da micorrização no aumento de massa de raízes varia com relação a espécie hospedeira e a espécie de FMA. Vários estudos apontam os benefícios da inoculação de mudas de espécies florestais, resultados expressivos foram relatados por Pouyú-rojas e Siqueira (2000), avaliando a resposta a micorrização de mudas de sete espécies florestais, verificaram que a inoculação proporcionou aumento elevado na produção de massa de raízes das mudas de essências florestais mesmo em condições subótimas de fertilidade, espécies como acoita-cavalo (*Luehea grandiflora*), colvínea (*Colvillea racemosa*), embaúba (*Cecropia pachystachya*) e fedegoso (*Senna macranthera*) aumentaram em 140; 425; 350 e 540 % o acúmulo de massa de raízes.

Aos 90 dias após a inoculação não foi observado efeito das doses de fósforo aplicadas no experimento. As doses de 0, 25, 50, 100 e 200 % da recomendação para a cultura da erva-mate, equivalem a 6; 7,5; 9; 12 e 24 mg de fósforo por dm⁻³, doses baixas, quando comparada

ao trabalho realizado por Ceconi et al. (2007) que testou doses de 8; 90; 180; 270; 360; 450; 540 e 630 mg de fósforo por kg de solo. Ceconi et al. (2007) constatou que 389 mg kg⁻¹ é a dose de fósforo que resulta em máxima eficiência para o acúmulo de biomassa de parte área na erva-mate, enquanto para a biomassa de raiz 362,5 mg kg⁻¹ foi a dose de máxima eficiência em um período de 300 dias de viveiro. A partir destes resultados é possível inferir que as dosagens testadas no presente experimentos são relativamente baixas e não expressaram influencia sobre as variáveis de biomassa aos 90 dias após a inoculação.

Entretanto, aos 180 dias após a inoculação, as doses de fósforo influenciaram no acúmulo de biomassa das mudas de erva-mate, corroborando com os resultados obtidos por Santin et al. (2017) que verificaram que o aumento das doses de fósforo influenciam no acúmulo de massa da matéria fresca e seca e em variáveis relativas ao crescimento, como altura e diâmetro caulinar de erva-mate. Contudo, a inoculação com os FMA reduz a necessidade de adubação fosfatada como verificado por Carneiro, Siqueira e Davide (2004), que avaliando dosagens de fósforo e presença de FMAs, verificaram que a inoculação propicia aumento do diâmetro, da área foliar e da matéria seca da parte aérea das mudas de embaúba (*Cecropia pachystachya* Trec) na fase de viveiro, tornando a adição de fósforo dispensável, na fase inicial.

Em experimento avaliando isolados de FMAs, Silva et al. (2017) verificaram que *Acaulospora colombiana* se destacou entre outros isolados e influenciou positivamente o vigor das mudas de cedro-australiano (*Toona ciliata* M.Roem var. *australis*) quando produzidas sob baixa disponibilidade de fósforo, comportamento semelhante foi verificado no presente experimento na avaliação realizada aos 180 dias após a inoculação, em que o fungo *A. colombiana* apresentou médias de massa fresca total e massa fresca de raiz, maior que o *R. clarus*, embora sem expressão de diferença estatística entre os simbiontes.

A melhoria no acúmulo de massa ocasionada pelos isolados de FMAs, provem da melhoria na nutrição das plantas, característica diretamente atrelada expansão da exploração do solo, ocasionado pela colonização dos fungos, que através das hifas extra-radiculares tem acesso a um conteúdo maior de nutrientes (BRUNDRETT, 2002).

Com base no incremento de massa pode-se inferir que as mudas de erva-mate micorrizadas também teriam vantagens quando levadas a campo, se estabelecendo com maior vigor e gerando maior produção de massa de folhas, elevando a produtividade dos ervais comerciais (SCHIAVO e MARTINS, 2002).

7.2 ARQUITETURA E MORFOLOGIA RADICULAR

A inoculação com os isolados de FMAs exerceu influência no desenvolvimento radicular da erva-mate aumentando a massa e alterando componentes da morfologia radicular como; volume, tamanho, quantidade e distribuição de raízes, o que para Cooper (1981), as alterações morfológicas ocasionadas nas raízes, são resultados das alterações hormonais estimuladas pelos fungos micorrízicos. Semelhante aos resultados obtidos por Bressan e Vaconcellos (2002) apontam que *Glomus clarus* e *Glomus etunicatum* aumentaram o peso de raízes e alteraram a morfologia radicular de genótipos de milho.

A melhoria no balanço hormonal está atrelada ao estado nutricional do hospedeiro e com as relações hídricas, que aceleram o desenvolvimento vegetal (POSSE, 2004; BECARRA, CABELLO e CHIARINI, 2007). Plantas bem nutritas apresentam maior crescimento radicular, possibilitando o desenvolvimento de raízes maiores e mais vigorosas, expandindo a área de contato com a solução do solo, aumentando a absorção de nutrientes por interceptação radicular (BRUNDRETT, 2002).

Os benefícios das micorrizas no sistema radicular foram estudados por Locatelli et al. (2002), que verificaram que a presença de FMAs aumenta o comprimento e número de raízes em macieira. Outro efeito da presença de FMAs na arquitetura radicular é o aumento de ramificações, característica primordial na ancoragem e na absorção de nutrientes e água (BERTA, FUSCONI e TROTTA, 1993).

No presente trabalho aos 90 e 180 dias após a inoculação, os isolados de FMAs exerceu influencia na expansão do sistema radicular das mudas de erva-mate, aumentando comprimento radicular, volume de raízes, quantidade total de raízes (extremidades) e ramificações do aparato radicular. Plantas em simbiose investem proporcionalmente maior volume de massa no sistema radicular do que na parte aérea, como verificado por ZANDAVALLI et al. (2004), constaram que mudas de pinheiro araucária micorrizadas apresentavam raízes mais pesadas e vigorosas, quando comparadas ao controle.

A abrangência do sistema radicular, idade das raízes e liberação de exudatos influenciam na forma e na intensidade de colonização pelos FMAs (CAVAGNARO et al., 2001). Além das características visíveis como comprimento e quantidade de raízes, atributos internos, histológicos, como o formato celular, podem afetar a relação do FMA com o hospedeiro, alterando a forma de colonização e propagação das estruturas fungicas no interior das células vegetais (BRUNDRETT e KENDRICK, 1990).

7.3 COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA

A intensidade de colonização, proporção de fungo no interior da raiz, parece estar relacionada com a competitividade da espécie de FMA e a compatibilidade com a planta hospedeira (STÜRMER, 2004). A interação entre a espécie vegetal e isolado de FMA foi estudada por Gomide et al. (2009), que constaram que as características inerentes a espécies de FMA são fatores efetivos no estabelecimento da simbiose.

No presente trabalho os tratamentos com a adição de inóculo micorrízico obtiveram maiores freqüência de colonização nas raízes de erva-mate, superior a 35 % aos 90 dias de viveiro e próximas 50 % aos 180 dias, demonstrando a influência da quantidade de propágulos no ambiente e a relação com a taxa de infecção. Enfatizando a importância de pesquisas focadas no desenvolvimento de métodos que possam viabilizar a produção e aplicação do inóculo micorrízico na produção de mudas florestais e outras espécies lenhosas.

Com tudo é sabido que a alta disponibilidade de fósforo na solução inibe a colonização micorrízica arbuscular, tal modulação é determinada pelo estado nutricional do macro simbionte (CARNEIRO et al., 2004; SIQUEIRA et al., 2010). Os níveis de fósforo não exerceram influência sobre a freqüência e intensidade de colonização no presente ensaio, possivelmente por serem concentrações de fósforo medianas (6 a 24 mg/dm³) em relação aquelas utilizadas em pesquisas, como anteriormente mencionado. Em trabalhos conduzidos por Moreira, Baretta e Cardoso (2012) verificaram que a doses de fósforo de até 150 mg kg⁻¹ não afetaram a colonização e o número de esporos dos gêneros de FMA; *Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Entrophospora* e *Scutellospora*, na espécie hospedeira *Araucaria angustifolia*.

Alguns autores relatam que espécies de clímax como a erva-mate mostram menor necessidade de formar simbiose em relação a espécies de inicio de sucessão, que devido a rápida necessidade de desenvolvimento, aumenta a colonização nas raízes e produz melhorias na performance do hospedeiro (ZANGARO et al., 2000). A baixa taxa fotossintética de espécies de crescimento lento (clímax), gera a necessidade de um período maior de tempo para formar massa de hifas suficiente para aquisição de nutrientes, sendo esta variável dependente da disponibilização de carboidratos pela planta hospedeira (ZANDAVALLI et al., 2004).

7.4 RESPOSTA MICORRÍZICA

A erva-mate foi responsiva a inoculação com os isolados de *R. clarus* e *A. colombiana* apresentando respostas elevada aos 90 e 180 dias ($>80\%$), a resposta de crescimento foi igual entre os isolados de FMAs, as dosagens de fósforo também não exerceram influência sobre a resposta de crescimento.

A elevada resposta de crescimento da erva-mate pode ter relação com estágio de sucessão ecológica da espécie das florestais, que possui relação direta com necessidade micotrófica das espécies (ZANGARO et al., 2003). Embora a classificação das espécies não seja rígida, o papel que as espécies assumem na sucessão parece influenciar a resposta à inoculação micorrízica na fase de mudas: as espécies pioneiras apresentam maiores respostas em relação às espécies de clímax. Corroborando com Lacerda et al. (2011) constatou que as espécies pioneiras mostram maiores respostas à inoculação micorrízica quando comparadas a espécie de clímax. Nesse último grupo, os autores não obtiveram resposta a inoculação com FMA, durante os estágios iniciais de formação de mudas. Resultado contrastante aos observados neste experimento, onde a erva-mate, espécie de clímax, mostrou alta resposta micorrízica principalmente em solos com baixo aporte de fósforo.

As espécies de clímax, em geral apresentam sementes grandes e pesadas, característica correlacionada diretamente com a baixa necessidade micotrófica das espécies de final de sucessão, como comprovado por Zangaro et al. (2005), em contra ponto a erva-mate, apesar de espécie de clímax, possui sementes pequenas, de acordo com Duboc (2011) as sementes pesam entre 90-190 mg, semelhantes ao peso de espécies secundárias e 10x menor do que o peso de espécies de clímax (ZANGARO et al., 2005). Fato que pode explicar a alta resposta da erva-mate a inoculação com os isolados de *R. clarus* e *A. colombiana*.

Varias são as espécies de clímax que mostram-se responsiva a micorrização, como verificado por Moreira-Souza e Cardoso (2002) em experimento com *Araucaria angustifolia*, os autores concluíram que esta espécie florestal é micotrófica e possui dependência micorrízica em solos com baixos teores de fósforo. Resultados semelhantes foram encontrados em espécie frutíferas e lenhosas, como os obtidos por Balota, Machineski e Stenzel (2011) em teste com a acerola, em que a frutífera apresentou alta resposta a inoculação.

A erva-mate foi responsiva a inoculação com os isolados de *R. clarus* e *A. colombiana* apresentando respostas elevada aos 90 e 180 dias ($>80\%$), a resposta de crescimento foi igual

entre os isolados de FMAs, as dosagens de fósforo também não exercearam influência sobre a resposta de crescimento.

A elevada resposta de crescimento da erva-mate pode ter relação com estágio de sucessão ecológica da espécie das florestais, que possui relação direta com necessidade micotrófica das espécies (ZANGARO et al., 2003). Embora a classificação das espécies não seja rígida, o papel que as espécies assumem na sucessão parece influenciar a resposta à inoculação micorrízica na fase de mudas: as espécies pioneiras apresentam maiores respostas em relação às espécies de clímax. Corroborando com Lacerda et al. (2011) constatou que as espécies pioneiras mostram maiores respostas à inoculação micorrízica quando comparadas a espécie de clímax. Nesse último grupo, os autores não obtiveram resposta a inoculação com FMA, durante os estágios iniciais de formação de mudas. Resultado contrastante aos observados neste experimento, onde a erva-mate, espécie de clímax, mostrou alta resposta micorrízica principalmente em solos com baixo aporte de fósforo.

As espécies de clímax, em geral apresentam sementes grandes e pesadas, característica correlacionada diretamente com a baixa necessidade micotrófica das espécies de final de sucessão, como comprovado por Zangaro et al. (2005), em contra ponto a erva-mate, apesar de espécie de clímax, possui sementes pequenas, de acordo com Duboc (2011) as sementes pesam entre 90-190 mg, semelhantes ao peso de espécies secundárias e 10x menor do que o peso de espécies de clímax (ZANGARO et al., 2005). Fato que pode explicar a alta resposta da erva-mate a inoculação com os isolados de *R. clarus* e *A. colombiana*.

Varias são as espécies de clímax que mostram-se responsiva a micorrização, como verificado por Moreira-Souza e Cardoso (2002) em experimento com *Araucaria angustifolia*, os autores concluíram que esta espécie florestal é micotrófica e possui dependência micorrízica em solos com baixos teores de fósforo. Resultados semelhantes foram encontrados em espécie frutíferas e lenhosas, como os obtidos por Balota, Machineski e Stenzel (2011) em teste com a acerola, em que a frutífera apresentou alta resposta a inoculação.

7.5 INFLUÊNCIA DA DOSE DE FÓSFORO NO SOLO

A erva-mate é considerada pouco exigente em fósforo e em fertilidade do solo de maneira geral (CARVALHO, 2003). A baixa exigência de fósforo pela cultura, possivelmente se deve a simbiose que a planta estabelece naturalmente com FMAs nativos (GAIAD e LOPEZ, 1996). Entretanto a erva-mate responde a altos níveis de adubação fosfatada como verificada por Santin et al. (2017) e por Ceconi et al. (2007) que observaram que a erva-mate foi responsiva ao P, mostrando crescimento e acúmulo de massa, até um teor de fósforo próximo 400 mg kg^{-1} de fósforo, valor elevado quando comparado a recomendação oficial para a erva mate 12 mg dm^{-3} solo e aos níveis de fósforo avaliados no presente experimento (6 a 24 mg dm^{-3}).

É importante ressaltar que altos níveis de fósforo podem inibir a simbiose (CARNEIRO, SIQUEIRA e DAVIDE, 2004). Os fungos micorrízicos contribuem com o aumento da absorção de fósforo ao metabolismo vegetal, melhorando o aproveitamento do nutriente presente no solo e consequentemente reduzindo a necessidade de adubação fosfatada, fica enfatizada a importância da inoculação micorrízica na produção de mudas de erva-mate, em decorrência da melhoria da extração do fósforo pelos FMAs, aumentando a produção nos ervais com baixo investimento em adubação.

8 CONCLUSÕES

- 1) A inoculação de mudas de erva-mate com os FMA isolados *R. clarus* e *A. colombiana* aumentaram o crescimento vegetal.
- 2) Os FMAs *Acaulospora colombiana* e *Rhizophagus clarus* induziram respostas semelhantes na planta hospedeira, ambos os isolados são eficientes para quando associados a erva-mate.
- 3) A utilização de inoculo de micorrízico na produção de mudas de erva-mate é uma alternativa para aumentar o vigor e futuramente a produção da cultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

ALEGRE, J.C.; VILCAHUAMÁN, L. J. M.; CORRÊA, G. **Geração da curva alométrica para avaliar as reservas de carbono em plantios de erva-mate, no sul do Brasil.** Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Colombo: EMBRAPA. 19 p. 2007.

ALLEN, Michel F. Modeling arbuscular mycorrhizal infection: is % infection an appropriate variable?.**Springer-Verlag**, 2001.

ALMEIDA, Danilo Sette. Alguns princípios de sucessão natural aplicados ao processo de recuperação. In: **Recuperação ambiental da Mata Atlântica** [online].3rd ed. rev. and enl. Ilhéus, BA: Editus, 2016, pp. 48-75. Disponível em: <<http://books.scielo.org/id/8xvf4/pdf/almeida-9788574554402-06.pdf>>. Acesso em: 24 de dezembro de 2018.

AUER, C. G.; GRIGOLETTI JUNIOR, A. **Associação de fungos com *Ilex* spp.** Colombo: EMBRAPA, 2002.

AUGÉ, R.M.; STODOLA, A.J.W.; TIMS, J.E.; SAXTON, A.M . Moisture retention properties of a mycorrhizal soil. **Plant Soil**, 2001.

BALOTA, E. L.; MACHINESKI, O.; STENZEL, N. M. C. Resposta da acerola à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em solo com diferentes níveis de fósforo. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 1, p.166-175, 2011.

BECERRA, A.; CABELLO,M.; CHIARINI, F. Arbuscular mycorrhizal colonization of vascular plants from the Yungas forests, Argentina. **Annals of Forest Science**, 2007.

BERBARA, R.L.L.; FRANCISCO, A.S.; FONSECA, H.M.A.C. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. In: FERNANDES, M.S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, 432 p. 2006.

BERGOTTINI, V.M.; HERVÉA,V.; SOSAC,D.A.; OTEGUID,M.B.; ZAPATAD,P.D.; JUNIER,P. Exploring the diversity of the root-associated microbiome of *Ilex paraguariensis* St. Hil. (Yerba Mate). **Applied Soil Ecology**, 2017.

BERTA, G.; FUSCONI, A.; TROTTA, A. VA mycorrhizal infection and the morphology and function of root systems. **Environmental and Experimental Botany**, v. 33, n. 1, p. 159-173, 1993.

BORGES, A.C.P.; DARTORA, N.; RIL, F.T.; GONÇALVES, I.L.; VALDUGA, A.T. Evaluación del contenido de cafeína en la oxidación en hojas de *Ilex paraguariensis* St. Hil, **Rev. Cienc. Tecno**, 2013.

BRESSAN, W.; VASCONCELLOS, C.A. Alterações morfológicas no sistema radicular do milho induzidas por fungos micorrízicos e fósforo. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 37, n. 4, p. 509-517, abr. 2002.

BRONDANI, G. E.; ARAUJO, M.A.; WENDLING, I.; KRATZ,D. Enraizamento de Miniestacas de Erva-Mate sob Diferentes Ambientes. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n.57, p.29-38, 2008.

BRUNDRETT, M.; BOUGHER, N.; DELL, B.; GROVE, T.; MALAJCZUK,N. **Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture**. Editora (Australian Centre for International Agricultural Research). 374pg, 1996.

BRUNDRETT, M. C. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. **New Phytologist**, 2002.

BRUNDRETT, M.C ; KENDRICK, B. The roots and mycorrhizae of herbáceos woodland plants. II. Structural aspects of morphology. **New Phytologist**, 1990.

CAMARA SETORIAL DA CADEIA PRODUTIVA DA ERVA-MATE, 2015. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/erva-mate/anos-anteriores/apresentacao-erva-mate.pdf>>. Acesso em 22 de jun. 2018

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; DAVIDE, A. C. Fósforo e inoculação com fungos micorrízicos arbusculares no estabelecimento de mudas de embaúba (*Cecropia pachystachya* Trec). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, p.119-125, 2004.

CARRASCO, Pablo Garcia. **Produção de mudas de espécies florestais de restinga, com base em estudos florísticos e fitossociológicos, visando a recuperação de áreas degradadas, em ilha comprida – SP**. 2003. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2003.

CARVALHO, P. H. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 1039 p.

CAVAGNARO, T.R.; GAO,L.L.; SMITH,F.A.; SMITH, S.E. Morphology of arbuscular mycorrhizas as influenced by fungal identity. **New Phytologist**, 2001.

CECONI, D.E.; POLETTO, I.; LOVATO, T.; MUNIZ, M.F.B. Exigência nutricional de mudas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) à adubação fosfatada. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 17, n. 1, p. 25-32, jan-mar, 2007.

CEOLA, Gessiane. **Biogeografia e diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em cenários contrastantes de uso do solo e de regime hídrico**. 2015. Tese (doutorado) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2015.

COOPER, K. M.; TINKER, P. B .Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. **New Phytol**, 1981.

CORDAZZO, C. V.; STÜRMER, S. L. Ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em panicum racemosum (p. beauv.) spreng (poaceae) em dunas costeiras do extremo sul do Brasil. **Atlântica**, Rio Grande, 2007.

CQFS-RS/SC - Comissão de Química e Fertilidade do Solo. **Manual de calagem e adubação para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 11.ed. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo – Núcleo Regional Sul. 376p. 2016.

CUNHA, A. O.; ANDRADE, L. A.; BRUNO, R. L. A.; SILVA, J. A. L.; SOUZA, V. C. Efeitos de substratos e das dimensões dos recipientes na qualidade das mudas de Tabebuia impetiginosa (Mart. ex D. C.) Standl. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 29, n. 4, p. 507-516, 2005.

DANIEL, O. **Erva-mate:** sistema de produção e processamento industrial, Dourados, MS ,UEMS, 288P. 2009.

DORNELES, R.C. SEAB – **Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento DERAL** - Departamento de Economia Rural. 2014.

DUBOC, E. **Erva-mate : parâmetros para seleção de planta matriz e área de coleta de sementes** .Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados, 2011.

FERNANDES, M. F.; RUIZ, H.A.; NEVES, J.C.L.; MUCHOVEJ, R.M.C. Crescimento e absorção de fósforo em plantas de *eucalyptus grandis* associadas a fungos micorrízicos em diferentes doses de fósforo e potenciais de água do solo. **R. Bras. Ci. Solo**, 1999.

FLOSS, Paulo Afonso. **Variações genéticas entre populações naturais de *Ilex paraguaiensis* st. Hil. (erva-mate) avaliados em Chapecó-SC e três barras- SC.** 1994. Dissertação (Mestre em ciências florestais) - ESALQ, Piracicaba, 1994.

FOWLER, J. A. P.; STURION, J. A. Aspectos da formação do fruto e da semente na germinação de erva-mate. Colombo: EMBRAPA, 2000. 5 p. (Comunicado Técnico, 45).

FREITAS, S. S. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. In: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental.** Campinas: Instituto Agronômico, 2007. p. 1-20.

GAIAD, S.; LOPES, E.S. **Ocorrência de micorriza vesicular-arbuscular em erva mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.).** Colombo: EMBRAPA, 1986. 21-29p.

GOMIDE, P.H.O.; SANTOS, J.G.D.; SIQUEIRA, J.O.; SOARES, C.R. Diversidade e função de fungos micorrízicos arbusculares em sucessão de espécies hospedeiras. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.44, n.11, p.1483-1490, nov. 2009.

HODGE, A. Microbial ecology of the arbuscular mycorrhiza. **Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 32, n. 2, p. 91-96, 2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção da extração vegetal e da silvicultura**, ano base 2015, v. 30. 2016. 44 p. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 28 de outubro de 2016.

INSTITUTO NACIONAL DE LA YERBA MATE (INYM)- **Anuario 2013**. Disponível em: <<https://www.inym.org.ar/publicaciones/anuarios/>>. Acesso em 10 de agosto de 2018.

INVAM - International culture collection of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. Disponível em: <<http://invam.caf.wvu.edu>>. Acesso em: 8 de fev. de 2012.

JACQUES, Rosângela Assis. **Caracterização química da erva mate (*Ilex paraguariensis*): Aplicação de diferentes processos de extração e influencia das condições climáticas de plantio sobre a composição química.** 2005. Tese (Doutorado em química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

JOHRI, K.; OELMÜLLER, R.; DUA, M.; , YADAV, V.; KUMAR, M.; TUTEJA,N.; VARMA,A.; BONFANTE,P.; PERSSON, B.L.; STROUD, R.M. Fungal association and

utilization of phosphate by plants: success, limitations, and future prospects. **Frontiers in microbiology**, 2015.

KAGEYAMA, P. Y.; BRITO, M. A.; BAPTISTON, I. C. Estudo do mecanismo de reprodução das espécies da mata natural. In: KAGEYAMA, P. Y. **Estudo para implantação de matas ciliares de proteção na bacia hidrográfica do Passa cinco visando a utilização para abastecimento público**: Relatório de Pesquisa. Piracicaba, FEALQ, 1986. p.103- 228.

KOSKE, R. E.; GEMMA, J. N. A modified procedure for staining roots to detect mycorrhizas. **Mycological Research**, New York, v. 92, parte 4, p. 486-505, 1989.

KRATZ, D.; PIRES, P.P.; STUEPP, C.A.; WENDLING, I. Produção de mudas de erva-mate por miniestaqueia em substratos renováveis. **FLORESTA**, Curitiba, PR, v. 45, n. 3, p. 609 - 616, 2015.

LOCATELLI, L.M.; VITOVSKI, C.A.; LOVATO, P.E.. Sistema radicular de porta-enxertos micropropagados de macieira colonizados com fungos micorrízicos arbusculares. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 37, n. 9, p. 1239-1245, set. 2002.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil:** nativas e exóticas. 2a ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 90-91 p.

LUZ, A.C.; BORSCZ, I.; MARENKO,L.; KLEINUBING, L.S.; ROSA, R.W. **Manual para elaboração de trabalhos acadêmicos da UDESC: tese, dissertação, trabalho de conclusão de curso e relatório de estágio.** Universidade do Estado de Santa Catarina, Florianópolis, 4. Ed, 2013.

MACHINESKI, O.; BALOTA, E.L.; COLOZZI FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; SOUZA, J.R.P. Crescimento de mudas de peroba rosa em resposta à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares. **Ciência Rural**, v.39, n.2, 2009.

MELLONI, R.; NOGUEIRA, M.A.; FREIRE, V.F.; CARDOSO, E.J.B.N. Fósforo adicionado e fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e nutrição mineral de limoeiro-cravo (*Citrus limonia* (L). Osbeck). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.24, p.767- 775, 2000.

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA (MAG). Disponível em: <<http://www.mag.gov.py/index.php/publicaciones>>. Acesso em: 22 de julho de 2018.

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

MOREIRA, M.; BARETTA, D.; CARDOSO, E. J. B. N. Doses de fósforo determinam a prevalência de fungos micorrízicos arbusculares em *Araucaria angustifolia*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 22, n. 4, p. 813-820, 2012.

MOREIRA-SOUZA, M.; CARDOSO, E.J.B.N. Dependência micorrízica de *Araucaria angustifolia* (bert.) o. ktze. sob doses de fósforo. **R. Bras. Ci. Solo**, 2002.

NEWMAN, E.I. Mycorrhizal links between plants: their functioning and ecological significance. **Adv. Ecol. Res.**, 18:243-270, 1988.

OLIVEIRA, S.V.O.; WAQUILI, P;D. Dinâmica de produção e comercialização da erva-mate no Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n.4, p.750-756, abr, 2015.

PAGLIOSA, C. M.; VIEIRA, M. A.; PODESTÁ, R.; MARASCHIN, M.; ZENI, A. L. B.; AMANTE, E. R.; AMBONI, R. D. M. C. Methylxanthines, phenolic composition, and antioxidant activity of bark from residues from mate tree harvesting (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 173-178, 2010.

POUYÚ-ROJAS, E.; SIQUEIRA, J.O. Micorriza arbuscular e fertilização do solo no desenvolvimento pós-transplante de mudas de sete espécies florestais. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.35, n.1, p.103-114, 2000.

RACANICCI, Aline M C; DANIELSEN, Bente; SKIBSTED, Leif H. Mate (*Ilex paraguariensis*) as a source of water extractable antioxidant for use in chicken meat. **European Food Research and Technology**, v. 227, n. 1, p. 255-260, 2008.

RAMOS, Alessandro Couto. **Papel da dinâmica do fluxo de prótons na sinalização das diferentes fases da interação micorrízica arbuscular**. 2005. Tese (doutorado). Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2005.

REDECKER, D., A. SCHÜBLER, H. STOCKINGER, S. STÜRMER, J. MORTON, C. WALKER. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomeromycota*). **Mycorrhiza**, 2013.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E.L.; BARROS, N.F. FONTES, L.L. ALMEIDA, I.C.; NEVES, J.C.L.; WENDLING, I. Manejo de colheita e adubação fosfatada na cultura da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em fase de produção. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 27, n. 3, p. 783-797, jul.-set. 2017.

SANTOS, Carlos Henrique Barbosa. **Crescimento de mudas frutíferas sob ação de microrganismos promotores de crescimento.** 2017. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017.

SCHIAVO, J.A.; MARTINS, M.A. Produção de mudas de goiabeira (*psidium guajava l.*), inoculadas com o fungo micorrízico arbuscular *glomus clarum*, em substrato agro-industrial. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 24, n. 2, p. 519-523, agosto 2002.

SILVA, E. T. da; BICCA NETO, H.; FOLTRAN, B. N. Materiais de cobertura na produção de mudas de erva-mate (*Ilex paraguariensis St. Hill*). **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 8, n. 1, p. 103-109, 2007.

SILVA, E.P.; FERREIRA, P.A.A.;FURTINI-NETO, A.E.; SOUSA, C.R.F. Micorrizas arbusculares e fosfato no desenvolvimento de mudas de cedro-australiano. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 27, n. 4, p. 1269-1281, out.-dez, 2017.

SIMARD, S.W.; JONES,M.D.; DURALL, D.M.; PERRY, D.A.; MYROLD,D.D.; MOLINA,R. Reciprocal transfer of carbon isotopes between ectomycorrhizal *Betula papyrifera* and *Pseudotsuga menziesii*. **New Phytol.** 137, p.529-542. 1997.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Org.) **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 3.ed Porto Alegre, Florianópolis: UFRGS/ UFSC, 2001.

SIQUEIRA, J.O. ; SOUZA, F. A. ; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. 2010.

SIQUEIRA, J. O.; COLOZZI-FILHO, A.; OLIVEIRA, E. Ocorrência de micorrizas vesicular-arbusculares em agro e ecossistemas do estado de minas gerais. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, 1989.

SOUZA, P.V.D.; AGUSTÍ, M.; ABAD, M.; ALMELA, V. Desenvolvimento vegetativo e morfologia radicular de citrange carizzo afetado por ácido indolbutírico e micorrizas arbusculares. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 249-255, 2000.

SOUZA, R.; PEREIRA, M.G.; GIÁCOMO, E.M.R.S.; MENEZES, L.F.T. Produção de mudas micorrizadas de *Schinus terebinthifolius* Raddi. Em diferentes substratos. **FLORESTA**, Curitiba, v.33, 2009.

STÜRMER, S.L. efeito de diferentes isolados fúngicos da mesma comunidade micorrízica no crescimento e absorção de fósforo em soja e trevo vermelho. **R. Bras. Ci. Solo**, 2004.

STURION, J. A. **Produção de mudas e implantação de povoamentos com erva-mate.** Curitiba, EMBRAPA-CNPF, 1988. (Circular Técnica, 17).

STURION, J.A.; RESENDE, M.D.V. de. **Melhoramento genético da erva-mate.** Colombo: Embrapa Florestas, 2010. 274p.

TRINDADE, A.V.; FARIA, N. G.; ALMEIDA, F. P.. Uso de esterco no desenvolvimento de mudas de mamoeiro colonizadas com fungos micorrízicos. **Pesq. Agropec.bras.**, Brasília, 2000.

TROUVELOT, A.; KOUGH, J.L.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Mesure du taux de mycorhization VA d'un système radiculaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. (Ed.). Mycorrhizae: physiology and genetics. Dijon: **Institut National de la Recherche Agronomique**, 1986. p.217-221.

URUPEMA (Prefeitura Municipal de Urupema). Aspectos geográficos. Disponível em .<<http://urupema.sc.gov.br/cms/pagina/ver/codMapaItem/103618>> Acesso em: 09/05/2018.

VALDUGA, E.; De FREITAS, R. J. S.; REISSMANN, C. B.; NAKASHIMA, T. Caracterização química da folha de *Ilex paraguariensis* St. Hil. e de algumas espécies utilizadas na adulteração do mate. **B.CEPPA**, v.15, n.1, p.25-36, 1997.

VEIGA, R.S.L.; JANSA,J.; FROSSARD, E.; HEIJDEN, M.G.A.V.D. Can Arbuscular Mycorrhizal Fungi Reduce the Growth of Agricultural Weeds?. **PLoS ONE**, 2011 .

VIERHEILIG, Horst et al. Inkandvinegar, a simplestainingtechnique for arbuscular-mycorrhizalfungi. **Applied an denvironmental microbiology**, v. 64, n. 12, p. 5004-5007, 1998.

WANG, W.X.; ZHANG, F.; CHEN, Z.L.; LIU, J.; GUO, C.; HE, J.D.; ZOU, Y.N.; WU, Q.S. Responses of phytohormones and gas exchange to mycorrhizal colonization in trifoliolate orange subjected to drought stress. **Archives of Agronomy and Soil Science**, 2016.

WENDLING, I.; BONADINI, X. **Produção de mudas de erva-mate.** In: WENDLING, I.; SANTIN, D. Propagação e nutrição de erva-mate. Embrapa Florestas, 2015. 195p.

WENDLING, I.; GUASTALA, D.; DOMINGOS, D. M. Substratos para Produção de Mudas de Erva-Mate em Tubetes Plásticos. **Bol. Pesq. Fl.**, Colombo, n. 52, p. 21-36 , 2006.

WENDLING, I.; BRONDANI, G.E.; BIASSIO, A.; DUTRA, L.F. Vegetative propagation of adult *Ilex paraguariensis* trees through epicormic shoots. **Acta Scientiarum. Agronomy** Maringá, v. 35, n. 1, p. 117-125, 2013.

WENDLING, I.; GUASTALA, D.; DEDECEK, R. Características físicas e químicas de substratos para produção de mudas de *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 209-220, 2007.

WENDLING, I.; SANTIN, D. **Produção e nutrição de erva-mate.** EMBRAPA, 2014.

WENDLING, I.; SOUZA JUNIOR, L. Propagação vegetativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) por miniestaquia de material juvenil. In: Anais Congresso Sul-americano da erva-mate. **Congresso Sul-americano da erva-mate.** Chapecó, 2003. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/104714/1/PropagacaoVegetativa.pdf>>. Acesso em 22 de dezembro 2018.

WENDLING, I.; STURION,J.A. STUEPP, C.A. REIS,C.A.F.; RAMALHO, M.A.P.; RESENDE, M.D.V. Early selection and classification of yerba mate progénies. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.53, n.3, p.279-286, 2018.

POSSE, Yáska Matielli. **Degradação da cafeína através dos processos oxidativos avançados fenton e fotofenton.** 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia química)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016.

ZAMPIER, Ana Cláudia. **Avaliação dos níveis de nutrientes, cafeína e taninos após adubação mineral e orgânica e sua relação com a produtividade na erva mate (*Ilex paraguariensis* St Hil.).** 2001. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.

ZANGARO, W. Mycorrhizal response and successional status in 80 woody species from south Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v.19, p.315-324, 2003.

ZANGARO, W.; NISHIDATE, F.R.; CAMARGO, F.R.S. ROMAGNOLI, G.G.; VANDRESSEN, J. Relationships among arbuscular mycorrhizas, root morphology and seedling growth of tropical native woody species in southern Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, 2005.

ZANGARO, W.; BONONI, V. L. R.; TRUFEN, S.B. Mycorrhizal dependency, inoculum potential and habitat preference of native woody species in South Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge. CERNE, 2002

ZANGARO, W.; NISIZAKI, S.M.A.; DOMINGOS, J.C.B.; NAKANO, E.M. Mycorrhizal response and successional status in 80 woody species from south Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, 2003.