

**ESPÉCIES DE *Pisolithus* sp. NA PRODUÇÃO DE MUDAS DE *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden EM SOLO ARENOSO**

SPECIES OF *Pisolithus* sp. IN SEEDLINGS PRODUCTION OF *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden IN SANDY SOIL

Robson Andreazza<sup>1</sup> Zaida Inês Antonioli<sup>2</sup> Rodrigo Ferreira da Silva<sup>3</sup> Solon Jonas Longhi<sup>4</sup>

**RESUMO**

O objetivo do trabalho foi avaliar a ação de isolados de fungos ectomicorrízicos nativos de São Francisco de Assis, na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden, em solo arenoso, na presença de dois níveis de fósforo. O experimento foi instalado em casa de vegetação num bifatorial (4 x 2 x 3), três tratamentos de fungos ectomicorrízicos ( FSE– S, F1-RS e Pt Silv.1) e uma testemunha, dois níveis de fósforo (natural ou existente no solo (8 mg.kg<sup>-1</sup>) e adição de 30 mg.kg<sup>-1</sup> de fósforo), em três repetições. Avaliaram-se a massa verde da parte aérea e radicial, massa seca da parte aérea, altura de planta, diâmetro do colo, comprimento e área superficial específica radicial, colonização micorrízica e teores de nitrogênio, fósforo e potássio. A adição de fungos ectomicorrízicos nativos na produção de mudas apresentou resultados melhores do que os demais tratamentos aplicados, em solo arenoso.

**Palavras-chave:** fungo ectomicorrízico; fósforo; solo arenoso.

**ABSTRACT**

The aim of this work was to evaluate the action of isolated native ectomycorrhizal fungi native of São Francisco of Assis, in the production of *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden seedlings, in sandy soil, in the presence of two levels of phosphorus. The experiment was installed in greenhouse in a bifactorial design (4 x 2 x 3), three ectomycorrhizal fungi species (without fungi, FSE– S, F1-RS and Pt Silv. 1) and two levels of phosphorus (present naturally in the soil (8 mg.kg<sup>-1</sup>) and addition of 30 mg.kg<sup>-1</sup> of phosphorus), with three replications. It was determined the fresh matter of the shoot and root system, above ground dry matter, plant height, length and root specific surface area, mycorrhizal colonization, nitrogen, phosphorus and potassium level. The addition of native ectomycorrhizal fungi showed better results in eucalypt seedlings production than with other treatments in sandy soil.

**Key words:** ectomycorrhizal fungi; phosphorus; sandy soil.

**INTRODUÇÃO**

A ocorrência de areais na região central do Rio Grande do Sul, pode estar associada ao substrato de origem – arenítico, mapeado para a região sudoeste como formação Botucatu, com cobertura vegetal predominante de gramíneas (Suertegaray, 1998). A fragilidade natural desse solo, deriva de sua extrema dificuldade em compensar as perturbações impostas pelo meio ambiente, que pode ser notado pela falta de vegetação, baixa capacidade de fornecimento e retenção de nutrientes e alta susceptibilidade a erosão hídrica e eólica (Azevedo e Kaminski, 1990). Desta forma, este solo possui uma susceptibilidade natural a erosão, que contribui para sua degradação.

Vários grupos de organismos do solo podem auxiliar o estabelecimento de vegetações em áreas degradadas (Alves *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2003, Silva, 2002). Entre estes organismos destacam-se os fungos micorrízicos, que ao associar-se com as plantas, desenvolvem no solo, estruturas muito hábeis na absorção de água e nutrientes, os quais são posteriormente transferidos às plantas.

1. Técnico Agrícola, Acadêmico do Curso de Agronomia, Aluno Especial do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, CEP 97105-900, Santa Maria (RS). Bolsista de iniciação científica da FAPERGS. randreazza@mail.ufsm.br
2. Bióloga, Dr<sup>a</sup>., Professora do Departamento de Solos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, CEP 97105-900, Santa Maria (RS). zaida@ccr.ufsm.br
3. Engenheiro Agrônomo, MSc. em Ciência do Solo, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, CEP 97105-900, Santa Maria (RS). rofesil@bol.com.br
4. Engenheiro Florestal, Dr., Professor Titular do Departamento de Ciências Florestais, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, CEP 97105-900, Santa Maria (RS). longhiso@ccr.ufsm.br

Recebido para publicação em 11/11/2003 e aceito em 13/09/2004.

As micorrizas desempenham importante papel no estabelecimento de diversas espécies vegetais, proporcionando maior aumento na capacidade de absorção de nutrientes e água. Além disso os fungos ectomicorrízicos possuem várias espécies que podem colonizar diferentes espécies vegetais (Taylor, 2002). Em mudas de jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* Vell Fr. Allem.), a inoculação promoveu maior crescimento das plantas em relação às mudas não inoculadas (Chaves *et al.*, 1995). Em mudas de pinus, também se obteve efeito significativo da inoculação com fungos micorrízicos, na matéria seca da parte aérea e das raízes, na altura e no diâmetro do colo (Vieira e Peres, 1990). Esse incremento da massa seca, principalmente no sistema radicular, pode ser fator importante para o estabelecimento dessas espécies em solos degradados.

Plantas de pinus inoculadas com micorrizas ou recebendo fertilização com fósforo não mostraram diferença no crescimento e na concentração de fósforo no tecido, entretanto um satisfatório crescimento foi observado nas plantas inoculadas (McComb e Griffith, 1986). Em eucalipto, verificou-se, no nível mais baixo de fósforo (3,3 ppm de P extraível), que mudas inoculadas com fungos ectomicorrízicos apresentaram peso na massa seca 2,7 vezes maior do que o verificado para as mudas não inoculadas e, ainda, absorveram 5,3 vezes mais fósforo, 2,8 vezes mais potássio, 2,5 vezes mais nitrogênio e 3,5 vezes mais cálcio do que as não inoculadas (Vieira e Peres, 1988a). Assim, a inoculação com fungos micorrízicos é considerada prática muito importante para a sobrevivência e crescimento de algumas espécies de essências florestais.

Contudo, o efeito das ectomicorrizas tende a diminuir com o aumento do nível de disponibilidade de fósforo no solo (Vieira e Peres, 1990). A igualdade de crescimento, observada entre mudas inoculadas e as testemunhas sem inoculação, na presença de altos níveis de fósforo, tem sido relatada (Ruehle e Marx, 1977; Marx *et al.*, 1985). Esse comportamento tem sido atribuído a um provável dreno de fotossintatos do hospedeiro pelo fungo micorrízico (Smith e Read, 1997). Desse modo, os fungos ectomicorrízicos podem ser importante mecanismo para o desenvolvimento de espécies florestais em solo deficiente em fósforo.

O estabelecimento de espécies florestais micorrizadas pode ser uma alternativa viável para o aproveitamento de áreas degradadas, ou áreas que estão sujeitas a processos erosivos. A inoculação de mudas de espécies florestais, ainda no viveiro, pode ser uma alternativa para que o fungo possa ser levado a campo, com grande probabilidade de contribuir para o bom estabelecimento e desenvolvimento das plantas.

O objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência de isolados de fungos ectomicorrízicos nativos, oriundos de São Francisco de Assis, na produção de mudas de eucalipto, produzidas em solo arenoso com dois níveis de fósforo em casa de vegetação.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Solos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Santa Maria – RS, no período de janeiro a maio de 2001. O solo utilizado foi um Neossolo quartzarênico típico (Streck *et al.* 1999), com textura arenosa e baixa disponibilidade de fósforo (Tabela 1), ocorrente no município de São Francisco de Assis, na Depressão Central do Rio Grande do Sul. O solo foi coletado na região de campo nativo, na profundidade de 0 – 20 cm.

O solo foi seco ao ar, peneirado em malha de 4 mm, sendo adicionada mistura de carbonato de cálcio e carbonato de magnésio (relação molar 3/1) em quantidade equivalente a 1 tonelada de calcário por hectare, cuja finalidade foi elevar o pH acima de 5,5 e proporcionar adubação com cálcio e magnésio. O solo foi incubado por 30 dias, com umidade de aproximadamente 70% da capacidade de campo, para que o carbonato de cálcio e o carbonato de magnésio pudessem reagir no solo. Após este período, o solo foi novamente seco ao ar, destorroado e peneirado. Posteriormente, o solo foi fumigado em lona plástica com Brometo de Metila, na dose de 60 mL de fumigante para 100 kg de solo. O material ficou hermeticamente fechado durante 72 horas e, após 4 dias, o solo foi armazenado em sacos plásticos e disponibilizado para uso no experimento.

TABELA 1: Características gerais do solo utilizado no experimento em casa de vegetação. Santa Maria, RS, 2002.

TABLE 1: General characteristics of the soil used in the greenhouse experiment. Santa Maria, RS, 2002.

| pH 1:1 | Ca + Mg                           | Al  | H + Al | P                  | K    | MO  | Argila |
|--------|-----------------------------------|-----|--------|--------------------|------|-----|--------|
|        | Cmol <sub>c</sub> L <sup>-1</sup> |     |        | mg.L <sup>-1</sup> |      | %   |        |
| 5,0    | 0,7                               | 0,3 | 2,3    | 8,0                | 36,0 | 0,8 | 14     |

A adubação de correção para N e K foi realizada de acordo com recomendação da Rede Oficial de Laboratórios de Solos do RS e SC (ROLAS, 1995), sendo aplicado o equivalente a 50 kg.ha<sup>-1</sup> de N e 40 kg.ha<sup>-1</sup> de K para a cultura do eucalipto. O nitrogênio foi aplicado na forma de uréia e o potássio na forma de KCl.

### Obtenção, multiplicação e inoculação de fungos ectomicorrízicos

Na região central do estado do Rio Grande do Sul, foram utilizados no experimento dois isolados nativos (FSE-RS e F1-RS) e uma espécie oriunda do estado de Minas Gerais (Universidade de Viçosa), *Pisolithus* sp., denominada de Pt Silv.1.

O fungo FSE – RS foi coletado no município de São Francisco de Assis e o F1 – RS no município de Santa Maria, ambos do gênero *Pisolithus*. Em laboratório, foram processados utilizando-se técnicas assépticas para o isolamento e multiplicação das ectomicorrizas, conforme Brundrett *et al.* (1996). Para o isolamento destes fungos, foi realizada uma desinfecção com álcool 70% na superfície externa da frutificação do fungo. A frutificação foi aberta ao meio e retirada da parte interna, pequenos pedaços do fungo. Estes pedaços da frutificação, foram colocados em placa de Petri contendo o meio de cultivo MNM (Marx, 1969). Após o crescimento micelial do fungo, foram repicadas pequenas porções deste micélio para outra placa de Petri contendo meio de cultivo. Esse processo foi repetido várias vezes, com a finalidade de isolar o fungo micorrízico de contaminantes. Todo o material utilizado foi previamente esterilizado.

Para o crescimento e desenvolvimento, os fungos foram multiplicados em meio MNM (Marx, 1969). O meio foi preparado, esterilizado e colocado em torno de 20 ml de meio por placa de Petri. Das culturas estoques de fungos, retiraram-se discos de 10 mm de diâmetro contendo fungo e meio de cultivo, os quais foram repicados para as placas de Petri, contendo o meio MNM. Após, incubou-se, a 28°C, durante 20 dias, até obter um crescimento satisfatório dos fungos. A inoculação foi efetuada retirando-se discos de 10 mm de diâmetro das bordas do micélio dos fungos micorrízicos crescidos em placas de Petri e transferindo-os para os vasos de cultivo no momento do transplante das mudas (Brundrett *et al.*, 1996).

### Espécie florestal e isolados de fungos ectomicorrízicos

As sementes de *Eucalyptus grandis* (eucalipto) foram obtidas na Estação Experimental de Silvicultura de Santa Maria (FEPAGRO), Santa Maria, RS. As mudas foram inicialmente produzidas em substrato de areia esterilizada e, ao apresentarem duas folhas definitivas, cada uma foi transplantada para um vaso de cultivo.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema bifatorial (4 x 2), sendo quatro tratamentos de inoculação de diferente isolados de fungos ectomicorrízicos (Testemunha sem fungo; FSE-RS; F1-RS; Pt silv.1), dois níveis de fósforo e três repetições. Os níveis de fósforo foram nível natural do solo (8 mg . Kg<sup>-1</sup>) e adição de 30 mg . Kg<sup>-1</sup>.

A análise estatística foi efetuada através da análise de variância, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro, utilizando-se o programa estatístico SOC, desenvolvido pelo Núcleo Tecnológico para Informática NTIA/EMBRAPA (EMBRAPA, 1997). Os dados de porcentagem de colonização micorrízica, eficiência micorrízica e massa seca da parte aérea foram previamente transformados em raiz quadrada mais 0,5 por não seguirem distribuição normal.

Como unidade experimental, foram utilizados vasos de plástico com capacidade de 1 kg de solo. Estes vasos foram previamente lavados com hipoclorito de sódio 12%, para evitar possíveis contaminações. O solo utilizado em cada unidade experimental foi acondicionado em saco plástico de 1 kg para evitar a perda de umidade e nutrientes. Cultivou-se uma planta por vaso, resultando em 24 unidades experimentais.

### Condução do experimento

O experimento teve duração de cinco meses. Durante o experimento, foram realizadas irrigações diárias, por pesagem de cada vaso. A irrigação por pesagem foi realizada pesando todos os vasos e completando a diferença do peso com água até 1,2 kg. Adicionou-se 150 ml de água destilada, correspondente a 15% do peso do solo seco, aproximadamente 80% da capacidade de campo.

O rodízio dos vasos foi realizado semanalmente, atendendo às exigências do delineamento, com o objetivo de eliminar possíveis diferenças quanto à incidência de luz solar, temperatura e sombreamento. Com a finalidade de amenizar os efeitos das altas temperaturas, colocou-se sombrite com 30% de sombreamento a uma altura de 1m dos vasos. No período mais quente do dia, foram ligados os aspersores da casa de vegetação, diminuindo, assim, a temperatura no interior da casa.

Após 20 dias da germinação, aplicou-se solução nutritiva de Long Ashton, contendo N, K, Mg, Ca, Fe e micronutrientes (Hewitt, 1966), três vezes por semana, durante a condução do experimento. Aplicou-se também 60 mg/kg de nitrogênio, na forma de uréia, divididos em duas aplicações, aos 45 e 90 dias após o transplante da muda.

### Parâmetros analisados

Os parâmetros analisados foram altura da planta, diâmetro do colo, massa verde da parte aérea e radicial, massa seca da parte aérea, comprimento e área superficial específica radicular, colonização micorrízica, teores de nitrogênio, fósforo e potássio. A altura de planta foi medida no momento da coleta, utilizando-se uma régua graduada de 50 cm de comprimento. Para a medida de diâmetro de colo, foi utilizado um paquímetro digital.

Os resultados de massa verde da parte aérea, do sistema radicial e massa seca da parte aérea foram obtidos com o corte rente ao solo. Em seguida, foi pesada a parte aérea, caracterizando o peso da massa verde da parte aérea. Após, as plantas foram colocadas em sacos de papel, identificadas e levadas à estufa a 65°C, onde permaneceram até atingirem o peso constante, efetuando-se a pesagem da massa seca da parte aérea. As raízes foram separadas do solo, lavadas com água destilada, secas em papel toalha, sendo então determinado o peso da massa verde radicial. Para a análise do comprimento radicial, utilizou-se uma amostra de 0,2 g de raízes cortadas em 1cm e distribuiu-se em uma placa quadriculada de 1 x 1 cm. Em seguida, contou-se o número de intersecções das raízes com as linhas da placa. O comprimento e área superficial específica do sistema radicular foi estimado seguindo-se o método de Tennant (1975).

As amostras para determinação da porcentagem de raízes colonizadas por fungos ectomicorrízicos foram coletadas por ocasião da colheita do experimento. As raízes das plantas foram separadas do solo, através de peneiras e lavadas com água destilada. Depois, retirou-se uma amostra de 0,1 g de raízes, as quais foram cortadas em 1cm e armazenadas em solução com álcool comercial a 50%. No laboratório, estas raízes foram submetidas ao processo de clareamento e coloração. Para isso, foi obtida uma amostra de 0,1g de raízes imersa em solução de KOH 10%, a 80°C, durante 1 hora e 30 minutos. Após, lavou-se com água e depois as raízes foram colocadas em HCl 0,1N durante 2 minutos, sendo, a seguir, lavadas com água e colocadas em Trypan Blue (corante) a 80° C por 30 minutos. Posteriormente, foram lavadas novamente com água e armazenadas em lactoglicerol, conforme Brundrett *et al.* (1996). A avaliação da porcentagem de colonização micorrízica (CM) foi estimada pelo método da placa quadriculada (Giovannetti e Mosse, 1980).

Para a análise química, foi utilizada a massa seca da parte aérea. Esta foi moída em moinho tipo facas, passada em peneira de 2 mm e depois submetida à análise química para determinar as concentrações de N, P e K. Na análise da parte aérea empregou-se a digestão por via úmida com água oxigenada e ácido sulfúrico, segundo metodologia descrita por Tedesco e Gianello (1996). As concentrações de N foram determinadas pelo método de Bremner e Keeney (1965); a de P, conforme o método de análise de Murphy e Riley (1962); e a de K, por fotometria de chama.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nos parâmetros, como massa seca da parte aérea, altura, área superficial específica, teores de nitrogênio, potássio (Tabela 2) e porcentagem de colonização radicial (Tabela 3), sofreram interação entre as espécies de fungos e níveis de fósforo utilizados, sendo que o teor de fósforo na planta não mostrou interação significativa ( $F = 0,2184$ ). Os fungos ectomicorrízicos eficientes para eucalipto devem ser selecionados em doses baixas de fósforo, porque é somente nesse nível que o efeito simbiótico é observado durante a fase de mudas (Silva, 2002). Na análise estatística para massa verde da parte aérea ( $F = 2,3682$ ), diâmetro de colo ( $F = 0,7892$ ) (Tabela 3) e teor de fósforo no tecido (Tabela 2), observou-se que não houve interação significativa entre as espécies de fungos e os níveis de disponibilidade de fósforo no solo.

TABELA 2: Massa seca da parte aérea, massa verde radicial, altura, comprimento radicular, área superficial específica (ASE) e teores de nitrogênio potássio e teor de fósforo no tecido de mudas de eucalipto inoculadas com diferentes espécies de fungos ectomicorrízicos em dois níveis de fósforo, produzidas em solo arenoso. Santa Maria, RS, UFSM, 2002.

TABLE 2: Fresh matter of the shoot and the root system, above ground dry matter, plant height, root length and specific surface area (ASE), phosphorus and potassium level in the green matter of inoculated eucalypt with different ectomycorrhizal fungi, with two level of phosphorus, in sandy soil. Santa Maria, RS, UFSM, 2002.

| Tratamentos | Massa verde radicial (g)  |            |                        |           | Altura (cm)         |           |
|-------------|---------------------------|------------|------------------------|-----------|---------------------|-----------|
|             | P1**                      | P2         | P1                     | P2        | P1                  | P2        |
| Testemunha  | 1,49 cB                   | 2,67 aA    | 4,66 aA                | 6,92 aA   | 23,00 bB            | 37,33 abA |
| FSE – RS*   | 1,87 bcB                  | 3,43 aA    | 7,79 aA                | 7,52 aA   | 23,83 bB            | 39,83 abA |
| F1 – RS     | 2,91 aA                   | 2,91 aA    | 8,08 aA                | 5,30 aA   | 33,00 aA            | 32,50 aA  |
| Pt Silv.1   | 2,54 abB                  | 3,62 aA    | 6,13 aA                | 7,97 aA   | 24,00 bB            | 39,83 aA  |
| CV %        | 13,35                     |            | 16,69                  |           | 8,28                |           |
|             | Comprimento radicial (cm) |            | ASE (cm <sup>2</sup> ) |           |                     |           |
|             | P1                        | P2         | P1                     | P2        |                     |           |
| Testemunha  | 5512,86 aA                | 8095,73 aA | 323,57 bB              | 889,07 aA |                     |           |
| FSE – RS*   | 7802,56 aA                | 6644,07 aA | 871,90 aA              | 760,60 aA |                     |           |
| F1 – RS     | 7614,32 aA                | 6745,36 aA | 877,48 aA              | 691,57 aA |                     |           |
| Pt Silv.1   | 5543,07 aA                | 5228,42 aA | 653,58 abA             | 668,18 aA |                     |           |
| CV %        | 15,23                     |            | 18,45                  |           |                     |           |
|             | Nitrogênio (mg/planta)    |            | Potássio (mg/planta)   |           | Fósforo (mg/planta) |           |
|             | P1                        | P2         | P1                     | P2        |                     |           |
| Testemuha   | 13,69 bA                  | 21,46 aA   | 22,74 aA               | 25,52 aA  | 1,74 b              |           |
| FSE – RS*   | 23,77 aA                  | 30,30 aA   | 23,66 bB               | 40,3 aA   | 2,28 ab             |           |
| F1 – RS     | 33,07 aA                  | 24,98 aA   | 31,69 bcA              | 35,17 aA  | 3,64 a              |           |
| Pt Silv.1   | 30,13 aA                  | 26,46 aA   | 26,10 cB               | 43,19 aA  | 2,99 ab             |           |
| CV %        | 6,21                      |            | 6,83                   |           | 32,64               |           |

Em que: Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha dentro de cada variável, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; \* = FSE-RS, *Pisolithus* sp.; F1-RS, *Pisolithus* sp.; Pt silv.1, *Pisolithus* sp; \*\* = P1 nível natural de fósforo no solo com 8 mg.Kg<sup>-1</sup>, P2 solo com 30 mg.Kg<sup>-1</sup> de fósforo.

A resposta da planta, quanto à massa seca da parte aérea e altura de planta (Tabela 2), variou em função dos níveis de fósforo no solo e da espécie de inóculo utilizada. Contudo, o fungo F1-RS apresentou maior média de massa seca da parte aérea e altura de planta, nos dois níveis de fósforo estudados; no entanto isso não ocorreu em todas as variáveis. Comportamento diferenciado entre fungos micorrízicos em dois níveis de fósforo foi observado por outros autores (Vieira e Peres, 1988a; Vieira e Peres, 1988b) e tem sido atribuído à habilidade do fungo em se associar à planta em determinada faixa de disponibilidade de fósforo do solo (Vieira e Peres, 1988a). Embora tenha ocorrido diferença significativa na massa seca da parte aérea e na altura de planta quando não aplicado fósforo, essa diferença não foi observada nos parâmetros massa

verde radicial e comprimento radicial (Tabela 2). Os fungos nativos da região de São Francisco de Assis – RS são muito eficientes simbioticamente e apresentam um melhor efeito na produção de mudas de eucalipto no nível natural de fósforo no solo (Silva *et al.*, 2003).

TABELA 3: Massa verde da parte aérea, diâmetro do colo e colonização micorrízica (CR) em mudas de eucalipto inoculadas com diferentes fungos ectomicorrízicos, produzidos em solo arenoso. Santa Maria, RS, UFSM, 2002.

TABLE 3: Fresh matter of the shoot, colon diameter and mycorrhizal colonization (CR) in inoculated eucalypt with different ectomycorrhizal fungi, in sandy soil. Santa Maria, RS, UFSM, 2002.

| Tratamentos | Massa verde parte aérea | Diâmetro do colo | CR %    |          |
|-------------|-------------------------|------------------|---------|----------|
|             | g                       |                  | mm      | P1**     |
| Testemunha  | 5,99 b                  | 3,53 c           | 0,00bA  | 0,00bA   |
| FSE-RS*     | 7,16 bc                 | 3,67 bc          | 52,51aA | 34,68aA  |
| F1-RS       | 8,16 b                  | 4,03 ab          | 52,28aA | 24,81aB  |
| Pt Silv.1   | 7,41 bc                 | 3,98 ab          | 36,40aA | 17,04abA |
| CV %        | 12,75                   | 6,04             | 30,37   |          |

Em que: Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha dentro de cada variável, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; \* = FSE-RS, *Pisolithus* sp.; F1-RS, *Pisolithus* sp.; Pt silv.1, *Pisolithus* sp.; \*\* = P1 nível natural de fósforo no solo com 8 mg.Kg<sup>-1</sup>, P2 solo com 30 mg.Kg<sup>-1</sup> de fósforo.

Na área superficial específica radicial e no teor de nitrogênio da massa seca da parte aérea (Tabela 2), o fungo micorrízico somente foi benéfico para as mudas de eucalipto na dose mais baixa de fósforo. No nível mais alto de fósforo o efeito da micorrização não foi evidente. Ao que parece, a partir de determinado nível de disponibilidade de fósforo no solo, observa-se uma ausência de efeitos das ectomicorrizas no crescimento das plantas (Vieira e Peres, 1988a; Moreira e Siqueira, 2002). Esse efeito parece estar relacionado a um provável dreno de fotossintatos do hospedeiro pelo fungo micorrízico, na presença de altos níveis de disponibilidade de fósforo.

Não houve diferença na percentagem de colonização micorrízica (Tabela 3) entre os fungos inoculados, nos dois níveis de fósforo. Entretanto, no nível baixo de disponibilidade de fósforo, a média de colonização foi em torno de 47% e, no nível mais alto de disponibilidade de fósforo, a média de colonização foi de 25%. Nota-se uma redução de 59% na colonização, no nível mais alto de disponibilidade de fósforo. Esse efeito negativo do fósforo no estabelecimento da colonização micorrízica em mudas de eucalipto, mostrando que existe uma relação inversa entre a disponibilidade de fósforo no solo e a taxa de colonização micorrízica (Marx, 1977). Os resultados obtidos no experimento, também mostram uma tendência de redução na taxa de colonização radicial a medida que a disponibilidade de fósforo no solo aumenta. Isso ficou comprovado pelo comportamento do fungo F1-RS, que apresentou média de colonização radicial significativamente inferior no nível alto de disponibilidade de fósforo.

Ao analisar o efeito dos fungos ectomicorrízicos sobre a massa verde da parte aérea, diâmetro do colo (Tabela 3) e teores de fósforo no tecido (Tabela 2), nota-se que a presença do fungo foi positiva em relação ao benefício transferido à muda de eucalipto em simbiose. A inoculação com o fungo F1 - RS foi a que proporcionou maior massa verde da parte aérea, apresentando também a tendência de maior diâmetro do caule e, juntamente com o fungo Pt silv.1 e FSE - RS, maior teor de fósforo na massa seca da parte aérea das mudas de eucalipto (Tabela 2). Grazzioti *et al.* (2001) observaram que cada espécie de fungo tem uma resposta em níveis diferentes de elementos químicos, e Tagu *et al.* (2002) explicam que cada espécie de ectomicorriza tem uma resposta diferente às variáveis parâmetros e as condições do meio ambiente as quais é exposta.

Nos resultados dos teores de P (Tabela 2), observa-se que os fungos ectomicorrízicos foram benéficos para a absorção desse elemento. A absorção de P tem sido apontada como principal efeito da micorriza, influenciando diretamente no vigor da planta e apresentando maior tolerância a diversos estresses ambientais, como temperaturas elevadas (Schenck e Schroeder, 1974), deficiência hídrica (Mosse *et al.*, 1981), extremos de pH (Safir e Duniway, 1982) e proteção contra agentes patogênicos (Marx, 1970). Tendo

em vista o efeito observado nesse experimento, verifica-se que a introdução dos fungos ectomicorrízicos na produção de eucalipto pode ser uma alternativa promissora para o estabelecimento dessa espécie florestal em solo arenoso. No entanto, atenção deve ser dada à espécie de fungo ectomicorrízico utilizada na inoculação.

O nível de fósforo que melhor beneficiou as mudas de eucalipto nos parâmetros de massa verde da parte aérea, diâmetro do caule e teor de fósforo no tecido foi o nível 2, ou melhor, com adição de fósforo (Tabela 4).

TABELA 4: Massa verde da parte aérea, diâmetro do colo e teor de fósforo de mudas de eucalipto produzidas em solo arenoso em dois níveis de fósforo. Santa Maria, RS, UFSM, 2002.

TABLE 4: Green matter of the shoot, colon diameter and phosphour level of eucalypt seedlings produced in two levels of phosphours in sandy soil. Santa Maria, RS, UFSM, 2002.

| Tratamentos            | Massa verde parte aérea (g) | Diâmetro do caule (mm) | Fósforo (mg/planta) |
|------------------------|-----------------------------|------------------------|---------------------|
| 8 mg.Kg <sup>-1</sup>  | 7,16 b                      | 3,40 b                 | 2,01 b              |
| 30 mg.Kg <sup>-1</sup> | 8,78 a                      | 4,39 a                 | 3,76 a              |
| CV %                   | 12,75                       | 6,04                   | 32,64               |

Em que: Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## CONCLUSÕES

A inoculação com fungos ectomicorrízicos nativos de São Francisco de Assis foi eficiente na produção de mudas de *Eucalyptus grandis*.

O isolado nativo F1 – RS teve o melhor desempenho em relação aos demais isolados de fungos ectomicorrízicos na produção de mudas de eucalipto.

## AGRADECIMENTOS

À FAPERGS (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul), pelo financiamento do trabalho; ao Sr. Nelson H. Abiatti, Diretor da FEPAGRO, Santa Maria, RS, pelas sementes doadas e auxílio técnico; ao Sr. Nelsí Salbego, pela disponibilização de sua propriedade, em São Francisco de Assis, RS.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, L.; MENDONZA, E.A.; SILVA FILHO, G.N. microrganismos solubilizadores de fosfatos e o crescimento de pinus e eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 26, p. 939-947, 2002.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, L.; MENDONZA, E.A.; SILVA FILHO, G.N. microrganismos solubilizadores de fosfatos e o crescimento de pinus e eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 26, p. 939-947, 2002.

AZEVEDO, A.; KAMINSKI, J. Considerações sobre os solos dos campos de areia no Rio Grande do Sul. **Ciência e Ambiente**, v. 11, p. 65-70, 1990.

BREMNER, J.M.; KEENEY, D.R. Steam distillation methods for determination of ammonia, nitrate and nitrite. **Anal. Chem. Acta.**, Amsterdam, v.32, p.485-495, 1965.

BRUNDRETT, M.; BOUGHER, N.; DELL, B.; GROVE, T.; MALAJCZUK, N. **Working with mycorrhizas in forestry and agriculture**. Canberra: ACIAR, 1996. 400 p.

CHAVES, L.F.C. *et al.* Crescimento de mudas de Jacaranda-da-Bahia (*Dalbergia nigra* (Vell) Fr. Allem.) em resposta a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares em diferentes níveis de fósforo no solo. **Revista Árvore**, v.19, n.1. p 32-49, 1995.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa Tecnológica em Informática para Agricultura. **Ambiente software NTIA**, versão 4.2.2: manual do usuário - ferramental estatístico. Campinas, 1997.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, Cambridge, v.84, n.3, p.489-500, 1980.

GRAZZIOTTI, P.H.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.; CARVALHO, D. Efeito de Zn, Cd e Cu no comportamento de fungos ectomicorrízicos em meio de cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, p. 831-837, 2001.

- HEWITT, E. Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. **Commonwealth Agricultural Bureaux**. Faruham Royal. UK, 1966.
- MARX, D.H.; HEDIN, A.; TOE IV, S.F.P. Field performance of *Pinus caribaea* var. *hondurensis* seedlings with specific ectomicorrhizae and fertilizer after three years on a savanna site in Liberia. **For. Ecol. Mang.**, Amsterdam, v.13, p.1-25, 1985.
- MARX, D.H. Tree host range and world distribution of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*. **Canadian Journal of Microbiology**, v.23, n.1, p.217-223, 1977.
- MARX, D.H. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. V. Resistance of mycorrhizae to infections mycelium of *Phytophthora cinnamomi*. **Phytopathology**, Saint. Paul, v.61, p.1472-1473, 1970.
- MARX, D.H. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. **Phytopathology**, Saint. Paul, v.59, p.153-163, 1969.
- MCCOMB, A.; GRIFFITH, J. Growth stimulation and phosphorus absorption of mycorrhizal and nonmycorrhizal northern white pine and Douglas fir seedlings in relation to fertilizer treatment. **Plant Physiology**, v. 21, p. 11-17, 1986.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras: Editora UFLS, 2002. p. 625.
- MOSSE, B.; STRIBLEY, D.P.; LETACON, F. Ecology of mycorrhizae end mycorrhizal fungi. **Adv. Microbial Ecol.**, v.5, p.137-210, 1981.
- MURPHY, J.; RILEY, J.P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Anal. Chem. Acta.**, Amsterdam, v.27, p.31-36, 1962.
- ROLAS. **Recomendações de adubação e de calagem para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 3.ed. Passo Fundo: SBCS - Núcleo Regional Sul, Comissão de Fertilidade do Solo - RS/SC, 1995.
- RUEHLE, J.L.; MARX, D.H. **Developing ectomycorrhizae on containerized pine seedlings**. 1977. (USDA Forest Serv. Res. Note SE-242).
- SAFIR, G.R.; DUNIWAY, J.M. Evaluation of plant response to colonization by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: SCHENCK, N.C. (Ed.). **Methods and principles of mycorrhizal research**. St. Paul: American Phytopathological Society, 1982. p.77-80.
- SILVA, R.F. **População de fungos micorrízicos e influência de ectomicorrizas na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* e *Pinus elliottii* em solo arenoso**. 2002. 105p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2002.
- SILVA, R.F.; ANTONIOLLI, Z.I; ANDREAZZA, R. Efeito da inoculação com fungos ectomicorrízicos na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* W. ex. MAIDEN em solo arenoso. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.13, n.1, p.33-42, 2003.
- SUERTEGARAY, D.M.A. **Deserto Grande do Sul - controvérsia**. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1998. 109p.
- SCHENCK, N.C.; SCHROEDER, V.N. Temperature response of *Endogone* mycorrhiza on soybean roots. **Mycology**, Madison, v.69, n.3, p.600-605, 1974.
- SMITH, S.; READ, D. **Mycorrhizal symbiosis**. London: Academic Press, 1997. 605 p.
- STRECK, E. V.; KAMPT, N. et al. Atualização da classificação taxonomica das unidades de mapeamento do levantamento de reconhecimento dos solos do estado do Rio Grande do Sul. **Informativo da EMATER/RS**, v. 16, n. 5, 1999.
- TAYLOR, A.F.S. Fungal diversity in ectomycorrhizal communities: sampling effort and species detection. **Plant and Soil**, v. 244, p. 19-28, 2002.
- TAGU, D.; LAPEYRIE, F.; MARTIN, F. The ectomycorrhizal symbiosis: genetics and development. **Plant and Soil**, v. 244, p. 97-105, 2002.
- TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1996. 188p.

TENNANT, D. A test of a modified liwe intersect method of estimating root lengh. **Journal of Ecology**, v.63, p.995-1001, 1975.

VIEIRA, R.F.; PERES, J.R. Seleção de fungos ectomicorrízicos eficientes para *Eucalyptus grandis*.. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n. 12, p. 231-135, 1988a.

VIEIRA, R.F.; PERES, J.R. Determinação do teor de fósforo no solo para máxima eficiência da associação ectomicorrízica em *Eucalyptus grandis*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n. 12, p. 237-241, 1988b.

VIEIRA, R.F.; PERES, J.R. Fungos ectomicorrízicos para *Pinus* spp. cultivados em solos sob vegetação de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n. 14, p. 33-39, 1990.