

**ECTOMICORRIZAS EM GRÁPIA [*Apuleia leiocarpa* (Vogel) J.F. Macbride] E  
CANAFÍSTULA [*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert] *IN VITRO*<sup>1</sup>**

ECTOMYCORRHIZAL IN *Apuleia leiocarpa* (Vogel) J.F. Macbride AND  
*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert *IN VITRO*<sup>1</sup>

Robson Andreatza<sup>2</sup> Zaida Inês Antonioli<sup>3</sup> Lineu Trindade Leal<sup>4</sup>  
Carlos Moro Junior<sup>4</sup> Rodrigo Ferreira da Silva<sup>5</sup>

**RESUMO**

A associação de fungos ectomicorrízicos com essências florestais nativas pode ser uma alternativa para melhorar a adaptação e desenvolvimento de mudas em áreas reflorestadas do Estado do Rio Grande do Sul. O objetivo deste trabalho foi caracterizar e identificar associações ectomicorrízicas em plântulas de grápiá (*Apuleia leiocarpa*) e canafístula (*Peltophorum dubium*), em condições de laboratório. Quatro tratamentos de inoculação com isolados de fungos ectomicorrízicos foram utilizados para a grápiá: UFSM RA 2.8 (*Suillus* sp.), UFSM RA 3.6, UFSC-Pt116 (*Pisolithus microcarpus*), UFSC-Pt24 (*Pisolithus* sp.), além de um tratamento controle, sem fungo. Para a canafístula, foram utilizados quatro isolados: UFSM RA 2.8, UFSC-Pt116, UFSC-Sc 124 (*Scleroderma citrinum* Pers.) e UFSC-Pt24 (*Pisolithus* sp.) e um tratamento sem fungo. Em ambas as essências florestais foi utilizado delineamento inteiramente casualizado com sete repetições por tratamento. Para o desenvolvimento vegetal, avaliaram-se as seguintes variáveis: altura de planta, massa fresca da parte aérea e do sistema radicular, massa seca da parte aérea e presença de colonização ectomicorrízica. Observaram-se ectomicorrizas nas plântulas de grápiá inoculadas com o isolado UFSM RA 2.8 (*Suillus* sp.). Esse fungo também favoreceu o desenvolvimento das plântulas de grápiá, como a altura de plântulas e massa fresca e seca da parte aérea, embora não foi estatisticamente diferente aos demais isolados. As plântulas de canafístula apresentaram indícios de formação ectomicorrízica, como a presença do manto fúngico.

**Palavras-chave:** fungos ectomicorrízicos; *Suillus* sp.; espécie florestal nativa; associações ectomicorrízicas.

**ABSTRACT**

The ectomycorrhizal fungi association with native forest essences could be an alternative to improve the adaptation and the development of seedlings in reforested areas of Rio Grande do Sul State. The aim of this work was to identify and to characterize the ectomycorrhizal associations in *Apuleia leiocarpa* and *Peltophorum dubium* seedlings, under laboratory conditions. Four inoculation treatments with ectomycorrhizal isolates were used to *Apuleia leiocarpa*: UFSM RA 2.8 (*Suillus* sp.), UFSM RA 3.6, UFSC-Pt116 (*Pisolithus microcarpus*) and UFSC-Pt24 (*Pisolithus* sp.) and one uninoculated as control. For *P. dubium*, were used the isolates UFSM RA 2.8 UFSC-Pt116, UFSC-Sc124 (*Scleroderma citrinum* Pers.) and UFSC-Pt24 (*Pisolithus* sp.), and control. For both forest essences there were seven replicates per treatment. It was analyzed the following parameters: height of plants, fresh matter of shoots and roots, dry matter of

1. Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor. Parte do trabalho foi apresentado na FERTIBIO 2006.

2. Engenheiro Agrônomo, Doutor em Ciência do Solo, Pós-Doutorando do Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, CEP 97010-004, Av, Roraima 1000, Santa Maria (RS). Bolsista CNPq. robsonandreatza@yahoo.com.br

3. Bióloga, Dr<sup>a</sup>, Professora Adjunta do Departamento de Solos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, CEP 97105-900, Santa Maria (RS). Bolsista de Produtividade de Pesquisa do CNPq. zaida@ccr.ufsm.br

4. Engenheiro Agrônomo, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Universitário, CEP 97105-900, Santa Maria (RS).

5. Engenheiro Agrônomo, Dr., Professor Adjunto da Universidade Federal de Santa Maria, Campus de Frederico Westphalen, Linha 7 de Setembro, s/n, CEP 98400-000, Frederico Westphalen (RS).

Recebido para publicação em 13/04/2010 e aceito em 1/10/2010

shoots and roots and presence of ectomycorrhizal colonization. Ectomycorrhizas were observed in *Apuleia leiocarpa* seedlings inoculated with the isolate UFSM RA 2.8 (*Suillus* sp.). This fungus also improved seedlings growth, as height of plants, fresh and dry matter of shoots, although, it was not statistically different from the other isolates. Seedlings of *Peltophorum dubium* presented evidences of ectomycorrhizal formation, like the presence of a fungal mantle.

**Keywords:** Ectomycorrhizal fungi; *Suillus* sp.; native forest species; ectomycorrhizal association.

## INTRODUÇÃO

Espécies florestais nativas do Estado do Rio Grande do Sul, geralmente apresentam crescimento lento, e em muitos casos de reflorestamento, necessitam de ajustes nas condições de solo, água e nutrientes para melhorar o seu desenvolvimento. Desse modo, é necessária a elaboração de alternativas que promovam um crescimento mais rápido das essências florestais nativas do Estado. Nesse caso, os fungos micorrízicos apresentam grande potencial de uso por serem adaptados às mais diferentes condições ambientais. Dentre os fungos micorrízicos, os ectomicorrízicos podem ser eficientes pela facilidade de produção de inóculo, alta resposta na simbiose e aceitação pelos produtores.

As micorrizas são associações simbióticas mutualísticas entre fungos do solo e inúmeras plantas vasculares. Os fungos ectomicorrízicos quando se associam a um hospedeiro, deformam suas raízes e produzem estruturas próprias como formas digiformes nas raízes, manto fúngico e rede de Hartig, onde há a troca de metabólitos e nutrientes entre hospedeiro e fungo (BRUNDRETT et al., 1996; SMITH e READ, 1997; SCHWEIGER et al., 2002; GROSS et al., 2004).

Atualmente, a inoculação de espécies florestais utilizadas para o reflorestamento é limitada, onde a grande maioria dos estudos nesta área está concentrada com espécies de eucalipto e *pinus*, devido ao conhecimento sobre o comportamento destes fungos e hospedeiros no ambiente (BASEIA e MILANEZ, 2002; JONNARTH et al., 2003; GROSS et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2003; SOUZA et al., 2004; IMAMURA e YUMOTO, 2008; BOIS et al., 2009; ZHANG et al., 2010). Embora haja estudos sobre ectomicorrizas em plantas exóticas, essências florestais nativas necessitam ser investigadas quanto a este tipo de associação. Uma das explicações para a baixa ocorrência de associações ectomicorrízicas com essências florestais nativas pode ser atribuída pela grande especificidade dos fungos ectomicorrízicos, onde algumas espécies de fungos só podem se associar com algumas espécies

de hospedeiros (VOIGT et al., 2000). Este tipo de informação gera dificuldades na procura de inóculos viáveis à associação micorrízica entre hospedeiro e fungo, o que demonstra a necessidade de mais trabalhos buscando estas alternativas. Estudos de associações micorrízicas *in vitro* têm sido utilizados para a investigação (OLIVEIRA et al., 2003), onde os resultados são mais rápidos na investigação destas associações, tornando-se uma ferramenta útil para os demais trabalhos de caracterização.

A inoculação com fungos ectomicorrízicos pode favorecer a absorção de nutrientes, principalmente o fósforo (CHAVES et al., 1995; GALLOTTI, 2002; JONNARTH et al., 2003; SILVA et al., 2003a; SILVA et al., 2003b; ANDREAZZA et al., 2004; SOUZA et al., 2004), e também pode melhorar as condições de crescimento e sobrevivência em ambientes com excesso de sais (BOIS et al., 2009), ou problemas com deficiência de água como nas regiões de semiárido (DUPONNOISA et al., 2005). Associações com fungos ectomicorrízicos também podem afetar a biomassa microbiana e a diversidade da microbiota na rizosfera da planta hospedeira (ZHANG et al., 2010), propiciando um melhor crescimento ao hospedeiro. Com todos estes benefícios, a inoculação de essências florestais nativas pode se tornar uma importante ferramenta para o reflorestamento.

A grábia pertence à família Leguminosae, é uma planta florestal nativa que apresenta ampla distribuição geográfica no território brasileiro. Essa planta apresenta uma madeira de lei, pesada e muito durável (MATTOS, 2002). Contudo, devido à devastação intensa das matas e à falta de reposição através de reflorestamento, houve diminuição da população desta espécie (MATTOS e GUARANHA, 1983). A canafistula é uma espécie arbórea também pertencente à família Leguminosae. Sua madeira é moderadamente pesada e de longa durabilidade. É uma espécie heliófita, rústica, de crescimento rápido, ótima para composição de reflorestamentos mistos de áreas degradadas de preservação permanente (LORENZI, 1992). É uma espécie nativa, sendo considerada promissora por apresentar valor

econômico comprovado, em função da qualidade da madeira e indicada para produção de madeira no Centro-Sul do Brasil (CARVALHO, 1998). Nesse âmbito, são necessários estudos para avaliar a compatibilidade e a eficiência da associação entre diferentes isolados de fungos ectomicorrízicos, a grápia e a canafístula. Considerando a carência de informações de pesquisa sobre a associação micorrízica em grápia e canafístula, o objetivo deste estudo foi caracterizar e identificar associações ectomicorrízicas em plântulas dessas espécies em condições de laboratório.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados de fungos ectomicorrízicos testados foram: UFSM RA 2.8 e UFSM RA 3.6, coletados na estação experimental da Fepagro Santa Maria-RS na área de ipê-amarelo (*Tabebuia chrysostricha*), pertencentes aos gêneros *Suillus* e *Scleroderma*, respectivamente. Utilizou-se também os isolados UFSC-Pt116, UFSC-Pt24 e UFSC-Sc124, oriundos da Coleção de Culturas de Fungos Ectomicorrízicos da Universidade Federal de Santa Catarina e pertencentes às espécies *Pisolithus microcarpus*, *Pisolithus* sp., e *Scleroderma citrinum*, respectivamente. O isolamento e multiplicação dos fungos seguiram metodologias de Brundrett et al. (1996). Os fungos foram multiplicados em meio MNM sólido (Melin-Norkrans Modificado) (MARX, 1969), a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , em placas de Petri, a partir de culturas matrizes em meio de mesma composição e mantidas sob as mesmas condições de temperatura.

As sementes de grápia e canafístula foram obtidas junto à Estação de Pesquisas Florestais da Fepagro - Santa Maria/RS. As sementes tiveram sua superfície esterilizada com hipoclorito de sódio 10% por 30 min. e 20 min, respectivamente, seguida por três lavagens consecutivas em água esterilizada. Posteriormente, as sementes foram imersas em álcool 70% por mais 30 min. Após este último tratamento, as sementes foram lavadas novamente por três vezes em água esterilizada.

Para a germinação três sementes previamente esterilizadas foram colocadas em placa de Petri contendo meio de germinação ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (500  $\mu\text{M}$ ),  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (3  $\mu\text{M}$ ), 7,5g/L de Ágar,  $2\text{g L}^{-1}$  de glicose, pH 5,7). Em seguida, as sementes foram incubadas a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 7 dias. Após germinação, as sementes foram transferidas para meio MNM sólido (15 g de Ágar por litro de meio) em *erlenmeyers* com capacidade de 250 mL, contendo 60 mL de meio.

Antes da colocação das sementes, um disco de papel celofane transparente, previamente fervido durante 8 horas para retirar o excesso de compostos de enxofre, tinha sido colocado na superfície do meio, conforme recomendações de Chilvers et al. (1986).

Uma vez as plântulas no interior dos frascos, os fungos ectomicorrízicos foram inoculados. Para isso, colocaram-se três discos de 10 mm de diâmetro de cada isolado de fungo ectomicorrízico (BRUNDRETT et al., 1996). Para as plântulas grápia utilizaram-se os isolados UFSC-Pt24, UFSC-Pt116, UFSM RA 2.8, e UFSM RA 3.6. Já para canafístula, foi substituído o isolado UFSM RA 3.6, pelo isolado UFSC-Sc124. Nos dois casos, um tratamento testemunha, sem inoculação, também foi preparado. Os tratamentos foram dispostos em um delineamento inteiramente casualizado, com sete repetições.

O experimento foi conduzido em câmara de crescimento com fotoperíodo de 12 h, a uma temperatura de  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ . Após 19 dias do início do experimento, para aumentar a quantidade de inóculo e aproximar o fungo ectomicorrízico das raízes das plântulas, realizou-se uma segunda inoculação, colocando-se três discos de cultura. O experimento teve duração de 33 dias para grápia e 39 dias para canafístula. Durante esse período, realizou-se um rodízio dos frascos, duas vezes por semana, atendendo às exigências do delineamento experimental. Este visou eliminar possíveis diferenças quanto à incidência de luz, temperatura e sombreamento.

As plântulas foram coletadas e analisadas quanto às seguintes variáveis: altura de planta, massa fresca da parte aérea e do sistema radicular, massa seca da parte aérea e presença de colonização ectomicorrízica.

A altura de plântula foi medida utilizando-se uma régua graduada de 20 cm de comprimento. Esta variável foi obtida entre a distância do colo da planta e a extremidade das últimas axilas foliares. Para a estimativa da massa fresca da parte aérea e do sistema radicular e da massa seca da parte aérea, as plantas foram cortadas na altura do colo e, em seguida, pesou-se em balança analítica, a parte aérea para determinação do peso da massa fresca. Em seguida, a parte aérea foi posta a secar em sacos de papel, à temperatura de  $65^\circ\text{C}$ , até atingir peso constante, obtendo-se, desta forma, o peso da massa seca.

As raízes, depois de liberadas dos restos de meio e de micélio, foram pesadas para determinação

do peso da massa fresca radicular. Em seguida foram armazenadas em álcool 50% para posterior análise de colonização ectomicorrízica. A avaliação da colonização ectomicorrízica foi efetuada em duas etapas. Na primeira etapa, foi feita uma identificação visual da raiz, observando-se a morfologia radicular para identificação de alterações morfológicas, que possivelmente seriam resultado da colonização por fungos ectomicorrízicos, (BRUNDRETT et al., 1996). Na segunda etapa, foram obtidos, manualmente, cortes histológicos transversais do sistema radicular das plântulas, para observação das estruturas fúngicas internas. Posteriormente, as secções transversais foram observadas em microscópio óptico para a determinação da presença de estruturas como manto fúngico e rede de Hartig do fungo ectomicorrízico (BRUNDRETT et al., 1996).

Os resultados de altura de plantas, massa fresca da parte aérea e radicular e massa seca da parte aérea foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, considerando-se os níveis de significância maiores que 95% ( $p < 0,05$ ), utilizando-se, para isso, o programa estatístico SOC, desenvolvido pelo Núcleo Tecnológico para Informática NTIA/ EMBRAPA (EMBRAPA, 1997).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença de associação ectomicorrízica em plântulas de grápia e canafístula é apresentada na Tabela 1. Observou-se que apenas o isolado UFSMRA 2.8 formou ectomicorrizas com a grápia e a canafístula dentre todos os isolados estudados. O isolado UFSM RA 2.8 é um fungo de crescimento rápido, alcançando o ponto de repicagem com 15 dias, quando os demais isolados utilizados nesse experimento, precisam de 20 a 30 dias (ANDREAZZA, 2006). Essa velocidade de crescimento, quando comparada aos demais isolados testados, pode ter favorecido à colonização micorrízica.

A formação de ectomicorrizas nas raízes de grápia pelo fungo UFSM RA 2.8 foi caracterizada pela presença de um manto fúngico ao redor dos segmentos radiculares colonizados (Figura 1B) e da rede de Hartig no interior do córtex radicular (Figura 1C). Esses resultados são inéditos, pois não há relatos na literatura da ocorrência de ectomicorrizas em grápia em ambiente natural (FRIONI et al., 1999, ZANGARO et al., 2002), o que pode estar associado a alguns fatores ambientais, como solo, pouco inóculo

TABELA 1: Presença (+) ou ausência (-) de associação ectomicorrízica em plântulas de grápia e canafístula inoculadas com fungos ectomicorrízicos *in vitro*.

TABLE 1: Presence (+) or absence (-) of ectomycorrhizal association in grapia and canafistula seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi “*in vitro*”.

Fungo isolado	Grápia	Canafístula
Sem fungo	-	-
UFSM RA 2.8	+	+
UFSC-Pt116	-	-
UFSM RA 3.6	-	*
UFSC-Pt24	-	-
UFSC-Sc124	*	-

\* Fungos não inoculados com a espécie florestal.

no ambiente, temperatura e microbiota. Outros pesquisadores como Voigt, (1996); Voigt et al. (2000) defendem a ideia de que há uma especificidade entre os fungos ectomicorrízicos e seus hospedeiros. Desse modo, trabalhos em condições controladas podem fornecer informações mais precisas a respeito da possível capacidade de formar ectomicorrizas entre as espécies florestais nativas do Rio Grande do Sul.

As observações nas plântulas de canafístula evidenciaram associação micorrízica com o isolado UFSM RA 2.8, pela formação do manto fúngico (Figura 2B) e a rede de Hartig (Figura 2C). A presença dessas estruturas é considerada evidência da simbiose ectomicorrízica (SMITH e READ, 1997; GROSS et al., 2004; SCHWEIGER et al., 2002). Esse resultado é importante para o setor florestal, pois pode contribuir para melhorar o crescimento das mudas de canafístula. Essa planta apresenta crescimento lento durante a formação da muda no viveiro e poderia ser favorecido pela inoculação de fungos ectomicorrízicos compatíveis e capazes de promover o crescimento das plantas.

Em condições naturais há relatos da ocorrência de associações endomicorrízicas com plantas de grápia e canafístula, mas não há relatos destas plantas se associarem com fungos ectomicorrízicos nestas condições (ANDREAZZA, 2006; ANDREAZZA et

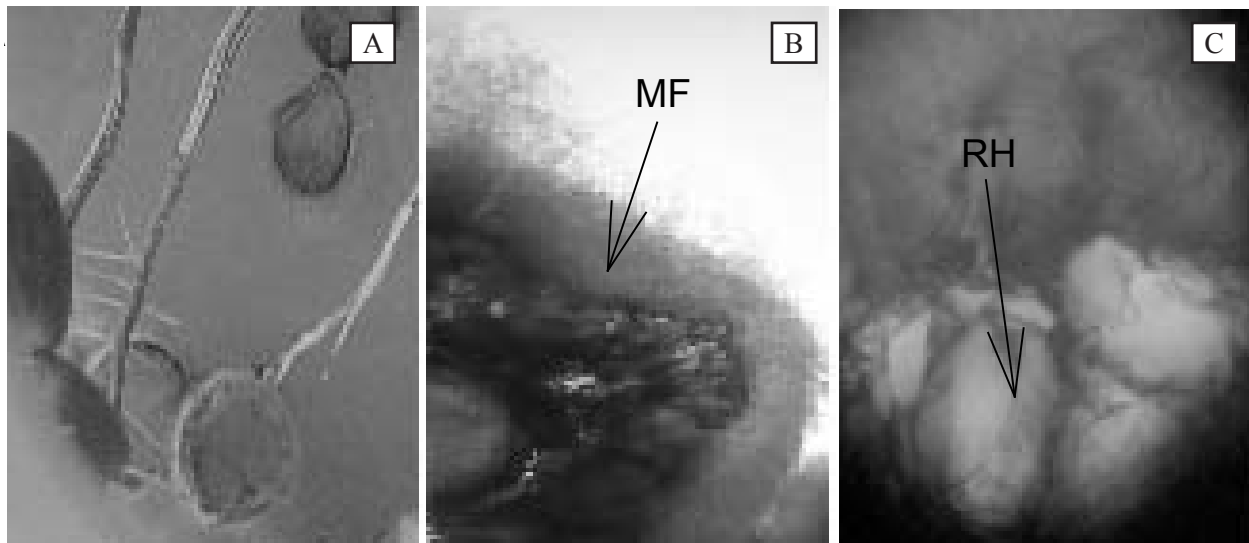


FIGURA 1: Associação ectomicorrízica do isolado UFSM RA 2.8 e plântulas de grápia em cultivo *in vitro*: fungo associado com as raízes (A); manto fúngico ectomicorrízico – MF (B); rede de Hartig – RH (C).

FIGURE 1: Ectomycorrhizal association between UFSM RA 2.8 isolate and grápia seedlings “*in vitro*”: fungus associated with the roots (A); ectomycorrhizal mantle (B); Hartig net (C).

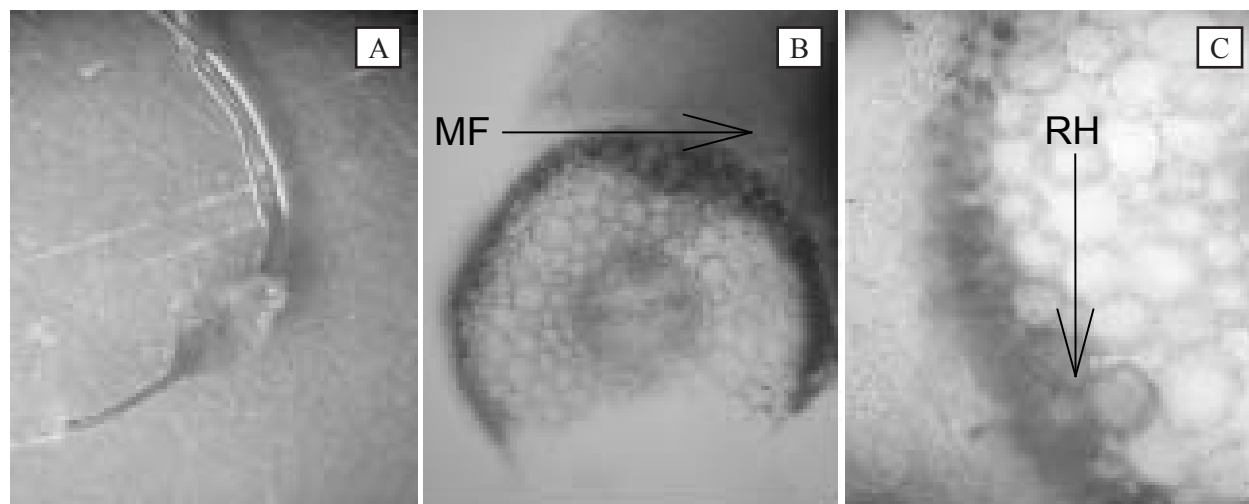


FIGURA 2: Associação ectomicorrízica do isolado UFSM RA 2.8 e plântulas de canafístula em cultivo *in vitro*: fungo associado com as raízes (A); manto fúngico ectomicorrízico - MF (B); rede de Hartig - RH (C).

FIGURE 2: Ectomycorrhizal association between UFSM RA 2.8 isolate and canafístula seedlings “*in vitro*”: fungus associated with the roots (A); ectomycorrhizal mantle (B); Hartig net (C).

al., 2008). Contudo, os resultados do presente estudo sugerem que essas espécies têm potencial de formar associações micorrízicas com ectomicorrizas, desde que disponha de fungos compatíveis e de condições ambientais adequadas. Essas informações abrem a perspectiva de exploração desses fungos para promover a sobrevivência e o crescimento das mudas

a campo.

Neste estudo, a inoculação de fungos ectomicorrízicos aumentou a altura, a massa fresca e a massa seca da parte aérea de plântulas de grápia (Tabela 2). No tratamento com o fungo UFSM RA 2.8 as plantas apresentaram maior altura média, maior peso de massa fresca e de massa seca da parte

aérea do que as plantas do tratamento sem fungo. Entretanto, não houve diferenças significativas entre os tratamentos com inoculação em relação à variável altura. Isto demonstra que a associação e formação de ectomicorriza foram eficientes para a plântula de grábia, embora, haja uma necessidade maior no estudo destas associações em outras condições para a melhor caracterização destas associações, como em condições de casa de vegetação e a campo. Para a massa fresca radicular não houve diferença significativa entre o tratamento com o fungo UFSM RA 2.8 e o tratamento sem fungo. Na massa fresca da parte aérea, o tratamento com o isolado UFSM RA 2.8 não se diferenciou dos tratamentos com os isolados UFSC-Pt116 e UFSC-Pt24. Na variável massa seca da parte aérea, os tratamentos com os isolados UFSM RA 3.6, UFSC-Pt116 e UFSC-Pt24 não se diferenciaram do tratamento testemunha sem fungo (Tabela 2). Pelos resultados desse trabalho, o fungo UFSM RA 2.8 é o mais indicado para a

inoculação de plantas de grábia.

Alguns autores comprovaram que a colonização das plantas pode levar algumas horas e estar atuando simbioticamente por alguns dias (MALAJCZUK et al., 1990; HORAN et al., 1988). Embora tenha sido encontrada evidência de colonização ectomicorrízica em plântulas de canafistula (Figura 2), não houve diferença significativa em nenhuma das variáveis analisadas (Tabela 3). Os efeitos dos fungos ectomicorrízicos na produção e desenvolvimento das plântulas de canafistula não foram evidenciados. É possível que o período experimental não tenha sido suficiente para a expressão desses efeitos. Sabe-se que quando as plantas são cultivadas sob condições de alta fertilidade ou de condições insuficientes de luminosidade os efeitos benéficos da associação micorrízica não se manifestam (BRUNDRETT et al., 1996; SMITH e READ, 1997; ROJAS e SIQUEIRA, 2000; SILVA et al., 2003a; SILVA et al., 2003b). Períodos mais

TABELA 2: Altura de plântulas, massa fresca radicular (MFR), massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA), de plântulas de grábia inoculadas com fungos ectomicorrízicos.

TABLE 2: Plant height, root fresh matter (MFR), shoot fresh matter (MFPA) and shoot dry matter (MSPA) of grapia seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi.

Fungo Isolado	Altura ----- cm -----	MFR	MFPA ----- g -----	MSPA
Sem fungo	4,53 b	0,1194 a	0,4642 b	0,1128 b
UFSM RA 2.8	6,48 a	0,1653 a	0,5998 a	0,1435 a
UFSC-Pt116	6,20 ab	0,1286 a	0,4898 ab	0,1208 ab
UFSM RA 3.6	5,94 ab	0,1298 a	0,4609 b	0,1057 b
UFSC-Pt24	5,88 ab	0,1617 a	0,5067 ab	0,1102 b
CV%	16,26	27,33	12,52	11,69

Em que: Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna são estatisticamente iguais entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

TABELA 3: Altura de plântulas, massa fresca radicular (MFR), massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA) de plântulas de canafistula inoculadas com fungos ectomicorrízicos.

TABLE 3: Plant height, root fresh matter (MFR), shoot fresh matter (MFPA) and shoot dry matter (MSPA), of canafistula seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi.

Fungo Isolado	Altura ----- cm -----	MFR	MFPA ----- g -----	MSPA
Sem fungo	3,22 a	0,0173 a	0,1813 a	0,0401 a
UFSM RA 2.8	3,50 a	0,0288 a	0,1922 a	0,0488 a
UFSC-Pt24	3,92 a	0,0417 a	0,2026 a	0,0634 a
UFSC-Pt116	4,25 a	0,0389 a	0,2194 a	0,0580 a
UFSC-Sc124	3,04 a	0,0431 a	0,1697 a	0,0422 a
CV%	22,88	37,89	39,92	48,49

Em que: Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna são estatisticamente iguais entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

longos de crescimento devem ser testados, assim como outras condições ambientais, trabalhos em casa de vegetação e posteriormente com mudas inoculadas a campo.

Estudos com essências florestais nativas do Estado do Rio Grande do Sul e fungos ectomicorrízicos devem ser desenvolvidos, devido a pouca disponibilidade de informação sobre essa relação e ao efeito benéfico que esses fungos podem proporcionar às plantas inoculadas. Esses estudos devem visar ao levantamento de dados para avaliar a utilização destes fungos e da especificidade entre hospedeiro e fungo ectomicorrízico. Há trabalhos que mostram o efeito benéfico da inoculação de espécies florestais nativas como plantas de *Nothofagus dombeyi*, nativa da região dos Andes, onde a inoculação com fungos ectomicorrízicos (*Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch), proporcionou melhor desenvolvimento destas plantas através de mecanismos fisiológicos e bioquímicos (ALVAREZ et al., 2009). Tal fato reforça a necessidade de mais trabalhos nessa área.

## CONCLUSÕES

O isolado de fungo ectomicorrízico UFSM RA 2.8 *Suillus* sp. forma associações mutualísticas com a grápia e mostra indícios de formação de ectomicorrizas com plântulas de canafístula em cultivo *in vitro*, bem como, promove o crescimento das plântulas de grápia. Este tipo de informação abre um novo rumo para estudos de associação micorrízica com essências florestais nativas, visando à melhor adaptação e crescimento destas plantas.

## AGRADECIMENTOS

À Fepagro Floresta (Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária) de Santa Maria – RS, pela ajuda e fornecimento da área para a realização da pesquisa; à Profa. Vetúria Lopes de Oliveira, Laboratório de Ectomicorrizas, UFSC, Florianópolis, SC, pela revisão do manuscrito e fornecimento de fungos; ao Sr. Paulo Pedrollo funcionário da Fepagro, pela ajuda e auxílio técnico no campo; ao Sr. Antônio Carlos Bassaco, Laboratorista do Departamento de Solos pela ajuda nas coletas; aos Srs. Pedro Bonnassis e Luiz Borges, Laboratório de Ectomicorrizas, UFSC, Florianópolis, SC, pela orientação e ajuda na identificação e corte das raízes. À FAPERGS, CNPq e CAPES pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVAREZ, M. et al. Effect of ectomycorrhizal colonization and drought on reactive oxygen species metabolism of *Nothofagus dombeyi* roots. **Tree Physiology**, Victoria, v. 29, p. 1047-1057, 2009.
- ANDREAZZA, R. et al. Espécies de *Pisolithus* sp. na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden em solo arenoso. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 14, p. 51-60, 2004.
- ANDREAZZA, R. **Associação de fungos ectomicorrízicos com espécies florestais nativas do estado do rio grande do sul**. 2006. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.
- ANDREAZZA, R. et al. Ocorrência de associação micorrízica em seis essências florestais nativas do Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 18, n. 3, p. 339-346, 2008.
- BASEIA, I. G.; MILANEZ, A.I. *Rhizopogon* (Rhizopogonaceae): hypogeous fungi in exotic plantations from the state of São Paulo, Brazil. **Acta botânica brasílica**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 55-59, 2002.
- BOIS, G. et al. Ectomycorrhizal fungi affect the physiological responses of *Picea glauca* and *Pinus banksiana* seedlings exposed to an NaCl gradient. **Tree Physiology**, Victoria, v. 26, p. 1185-1196, 2009.
- BRUNDRETT, M., BOUGHER, N.; DELL, B. **Working with mycorrhizal in forestry and agriculture**. Canberra : ACIAR, 1996. 400 p.
- CARVALHO, P. E. R. Espécies nativas para fins produtivos. In: CARVALHO, P. E. R. **Espécies não tradicionais para plantios com finalidades produtivas e ambientais**. Colombo : EMBRAPA CNPF, 1998. p. 103-125.
- 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**, Viçosa, v. 19, p. 32-49, 1995.
- CHILVERS, G.A.; DOUGLASS, P.A.; LAPEYRIE, F.F. A paper-sandwich technique for rapid synthesis of ectomycorrhizas. **New Phytologist**, Oak Ridge, v. 103, p. 397-402, 1986.
- DUPONNOISA, R. et al. Inoculation of *Acacia holosericea* with ectomycorrhizal fungi in a semiarid site in Senegal: growth response and influences on the mycorrhizal soil infectivity after 2 years plantation. **Forest Ecology and Management**, Victoria, v. 207, p. 351-362, 2005.

- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa Tecnológica em Informática para Agricultura. **Ambiente software NTIA**, versão 4.2.2: manual do usuário - ferramental estatístico. Campinas, 1997.
- FRIONI, L.; MINASIAN, H.; VOLFOVICZ, R. Arbuscular mycorrhizae and ectomycorrhizae in native tree legumes in Uruguay. **Forest Ecology and Management**, Victoria, v. 115, p. 41-47, 1999.
- GALLOTTI, G. J. M. Importância da micorrização em viveiros de *Pinus* spp. **Revista Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 15, p. 60-61, 2002.
- GROSS, E.; CASAGRANDE, L. I. T.; CAETANO, F. H. Ultrastructural study of ectomycorrhizas on *Pinus caribaea* Morelet. var. *hondurensis* Barr. & Golf. seedlings. **Acta botanica brasílica**, São Paulo, v. 18, n.1, p. 1-7, 2004.
- HORAN, D. P.; CHILVERS, C. A.; LAPEYRIE, F. F. Time sequence of the infection process in *eucalyptus*. **New Phytologist**, Buxton, v. 109, p. 451-458, 1988.
- IMAMURA, A.; YUMOTO, T. Dynamics of fruit-body production and mycorrhiza formation of ectomycorrhizal ammonia fungi in warm temperate forests in Japan. **Mycoscience**, Chiba, v. 49, p. 42-55, 2008.
- JONNARTH, U. A.; GÖRANSSON, A.; FINLAY, R. D. Growth and nutrient uptake of ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* seedlings in a natural substrate treated with elevated Al concentrations. **Tree Physiology**, Victoria, v. 23, p. 157-167, 2003.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa, Plantarum, 1992. 352 p.
- MALAJCZUK, N.; LAPEYRIE, F.; GARBAYE, J. Infectivity of pine and eucalypt isolates of *Pisolithus tinctorius* on roots of *Eucalyptus urophylla* *in vitro*. **New Phytologist**, Buxton, v. 114, p. 627-631, 1990.
- 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. **Phytopathologist**, New York, v. 59, p. 153-163, 1969.
- MATTOS, N. F.; GUARANHA, J. **Contribuição ao estudo da grápia - *Apelúia iuiocwpa* (Vog.) Macbride**. Porto Alegre: Instituto de Pesquisas de Recursos Naturais Renováveis "AP", 1983. 25p. (Boletim Técnico. 12).
- MATTOS, R.B. **Características qualitativas e possibilidade de ganho de fuste em espécies euxilóforas nativas da região central do Rio Grande do Sul**. 2002. 91 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2002.
- OLIVEIRA, P. et al. Sustained *in vitro* root development obtained in *Pinus pinea* L. inoculated with ectomycorrhizal fungi. **Forestry**, Dumfriesshire, v.76, n. 5, p. 579-587, 2003.
- ROJAS, E.P.; SIQUEIRA, J.O. Micorriza arbuscular e fertilização do solo no desenvolvimento pós-transplante de mudas de sete espécies florestais. **Revista Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 103-114, 2000.
- SCHWEIGER, P.F.; ROUHIER, H.; SODERSTROM, B. Visualisation of ectomycorrhizal rhizomorph structure using laser scanning confocal microscopy. **Mycological Research**, Maryland Heights, v. 106, n. 3, p. 349-354, 2002.
- SILVA, R. F.; ANTONIOLLI, Z. I.; ANDREAZZA, R. Efeito da inoculação com fungos ectomicorrízicos na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* Hill ex. Maiden em solo arenoso. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 13, p. 33-42, 2003a.
- SILVA, R. F. et al. Fungos ectomicorrízicos no desenvolvimento de mudas de *Eucalyptus grandis* Hill ex. Maiden. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 19, p. 9-17, 2003b.
- SMITH, S.; READ, D. **Mycorrhizal Symbiosis**. London : Academic Press, 1997. 605 p.
- SOUZA, L. A. B.; FILHO, G. N. S.; OLIVEIRA, V. L. Eficiência de fungos ectomicorrízicos na absorção de fósforo e na promoção do crescimento de eucalipto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 4, p. 349-355, 2004.
- VOIGT, E. L. **Compatibilidade de isolados fúngicos ectomicorrízicos provenientes de *Eucalyptus* e de *Pinus* em relação a *Eucalyptus dunnii* Maiden *in vitro***. 1996. 33 p. Monografia (Ciências Biológicas). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1996.
- VOIGT, E. L.; OLIVEIRA, V. L.; RANDI, A. M. Mycorrhizal colonization and compounds accumulation on roots of *Eucalyptus dunnii* Maiden inoculated with ectomycorrhizal fungi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 1905-1910, 2000.
- ZANGARO, W. et al. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas nativas da bacia do Rio Tibagi, Paraná. **Revista Cerne**, Lavras, v. 8, p. 77-87, 2002.
- ZHANG, H. H. et al. Effects of inoculation with ectomycorrhizal fungi on microbial biomass and bacterial functional diversity in the rhizosphere of *Pinus tabulaeformis* seedlings. **European Journal of Soil Biology**, Amsterdam, v. 46, p. 55-61, 2010.