

**EFEITO DA INOCULAÇÃO COM ISOLADOS DE FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS
SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden**

EFFECT OF ECTOMYCORRHIZAL FUNGI ISOLATES INOCULATION IN
Eucalyptus grandis Hill ex Maiden SEEDLINGS DEVELOPMENT

Eduardo Lorensi de Souza¹ Zaida Inês Antonioli² Rafael Goulart Machado³
Daniel Pazzini Eckhardt⁴ Sabrina de Fátima Barbosa Dahmer⁵ Guilherme Karsten Schirmer⁶

RESUMO

No Estado do Rio Grande do Sul, os reflorestamentos de eucalipto têm se concentrado em solos com baixa fertilidade natural, e o desempenho dessas mudas poderá depender da formação da associação ectomicorrízica. Nesse trabalho, avaliou-se o efeito da inoculação dos isolados de fungos ectomicorrízicos UFSC-Pt116, UFSC-Pt188 e UFSC-SA9, individualmente e em mistura, sobre mudas de *Eucalyptus grandis*. As avaliações foram realizadas aos 30, 45, 60, 75 e 90 dias após sementeira. A inoculação individual do isolado fúngico ectomicorrízico UFSC-Pt116 promoveu maior altura e massa seca da parte aérea. As mudas inoculadas com mistura dos isolados fúngicos UFSC-Pt116 + UFSC-Pt188 + UFSC-SA9 acumularam maior quantidade de fósforo aos 90 dias. Para os teores de nitrogênio e potássio, e massa seca de raízes não mostrou diferença significativa entre os tratamentos.

Palavras-chave: eucalipto; ectomicorrizas; nutrição mineral.

ABSTRACT

In the Rio Grande do Sul state, where eucalyptus reforestation is common in low fertility soils, the seedling performance may depend on the ectomycorrhizal association. In this paper, the inoculation effects of UFSC-Pt116, UFSC-Pt188 and UFSC-SA9 ectomycorrhizal fungi isolates, individually and in mixture, on *Eucalyptus grandis* seedlings were evaluated. Evaluations were performed at 30, 45, 60, 75, and 90 days after sowing. The individual inoculation of UFSC-Pt116 isolate promoted highest height and aerial dry mass. The seedlings inoculated with the mixture UFSC-Pt116 + UFSC-Pt188 + UFSC-SA9 accumulated highest amounts of phosphorus at 90 days. The nitrogen and potassium concentrations, and root dry mass did not show significant differences among the treatments.

Keywords: eucalyptus; ectomycorrhizae; mineral nutrition.

1. Engenheiro Agrônomo, MSc., Doutorando do Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria (RS). Bolsista da CAPES. elorensi@yahoo.com.br
2. Bióloga, Dr., Professora Associada do Departamento de Solos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria (RS). Bolsista de Produtividade do CNPq. zantonioli@gmail.com
3. Engenheiro Agrônomo, Mestrando do Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre (RS). Bolsista da CAPES. rgoulartmachado@gmail.com
4. Engenheiro Agrônomo, Doutorando do Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria (RS). Bolsista da CNPq. daniel.pazzini@hotmail.com
5. Engenheira Agrônoma, Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria (RS). Bolsista da CAPES. sabrina_dahmer@hotmail.com
6. Engenheiro Agrônomo, Doutorando do Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre (RS). Bolsista da CAPES. skguilherme@gmail.com

Recebido para publicação em 28/10/2009 e aceito em 27/04/2011

INTRODUÇÃO

O eucalipto tem a característica de associar-se a fungos ectomicorrízicos (fECM) e arbusculares (fMA), que favorecem a sobrevivência e o crescimento das plantas (MARX, 1969). A importância das micorrizas foi evidenciada nas primeiras tentativas de introdução de espécies vegetais fora de seus *habitats* naturais, e na dificuldade encontrada nos reflorestamentos de regiões de solos degradados, onde não existiam fungos compatíveis com as espécies introduzidas (MARX e CORDELL, 1989). As ectomicorrizas promovem um incremento significativo da área de absorção radicular das plantas colonizadas, maximizando o aproveitamento de água e nutrientes, como o fósforo (P), o nitrogênio (N) e o potássio (K), e alguns micronutrientes não fungistáticos (MOLINA e TRAPPE, 1984; SMITH e READ, 1997; GLOWA et al., 2003). Estes fungos contribuem para o estabelecimento e desenvolvimento das plantas (SMITH e READ, 1997), mesmo em solos com baixos teores de nutrientes ou degradados (MOREIRA et al., 2002; SANTOS et al., 2008).

A presença destes fungos nas mudas de eucalipto favorece o estabelecimento e a sobrevivência das plantas no campo, pelo aumento na capacidade de absorção de nutrientes, aumento da longevidade de raízes, proteção contra patógenos, aumento no rendimento de massa seca e na absorção de fósforo (BARROS et al., 1978).

Considerando a baixa fertilidade dos solos que são usados para os reflorestamentos, é necessário que se adotem algumas alternativas viáveis econômica e ambientalmente corretas, para a produção de mudas saudáveis destinadas a áreas degradadas, como as que ocorrem na metade sul do Rio Grande do Sul. Uma dessas alternativas é o uso de fungos ectomicorrízicos (fECM) na produção de mudas de eucalipto, para aumentar a absorção de nutrientes e promover resistência ao ataque de patógenos, proporcionando maior sobrevivência dessas mudas em solos de baixa fertilidade.

No entanto, pouco se conhece sobre o comportamento destas quando inoculadas com misturas de isolados de fECM, e sobre os benefícios, ou prejuízos, que esta inoculação pode causar às plantas de eucalipto. Este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da inoculação de alguns isolados de fungos ectomicorrízicos, individualmente e em mistura, no desenvolvimento de plantas de *Eucalyptus grandis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Fungos micorrízicos

Os isolados de fungos ectomicorrízicos testados neste experimento foram cedidos pelo Laboratório de Ectomicorrizas do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). As espécies de fungos ectomicorrízicos utilizadas no presente trabalho foram: *Pisolithus microcarpus* (COOKE e MASSEE) Cunn. (UFSC-Pt 116 e UFSC-Pt 118), obtidos junto a espécies de *Eucalyptus* sp., e *Scleroderma flavidum* E. Et. E. (UFSC-SA9), simbionte de *Eucalyptus dunii* Maiden.

Os isolados utilizados foram escolhidos com base nos resultados obtidos por Souza (2003), Souza et al. (2008), Mello (2006) e Bonnassis (2007). Estes autores verificaram que esses isolados ectomicorrízicos apresentaram eficiência na acumulação de nutrientes e na promoção de crescimento das mudas de eucalipto.

As culturas puras desses fungos foram originalmente obtidas de carpóforos coletados em plantações de *Eucalyptus* spp. e, posteriormente, mantidas em laboratório, através de repicagens periódicas em meio de cultura Melin-Norkrans Modificado sólido (MNM) (MARX, 1969), em placas de Petri, na UFSC. Os isolados foram repicados e começaram a fazer parte do banco de fungos micorrízicos do Laboratório de Biologia e Microbiologia do Solo Professor Marcos Rubens Fries, da Universidade Federal de Santa Maria.

Produção de inóculo de fungos ectomicorrízicos

Os inóculos dos fECM foram obtidos, inicialmente, a partir da multiplicação e do crescimento das culturas, após 30 dias. Em seguida, foram feitas suspensões micelianas em 25 mL de meio de cultura MNM (MARX, 1969) líquido, em frascos de Erlenmeyer de 250 mL, a partir de discos obtidos das culturas puras, seguindo-se de incubação a 25°C, por mais 30 dias.

Após esse período, o inóculo foi fragmentado e suspenso em 200 mL de meio de cultura MNM líquido, em liquidificador, durante 5 segundos, e utilizado para inocular 500 mL de uma mistura com uma parte de vermiculita e quatro de turfa (v/v), mais 200 mL de meio MNM líquido, em frascos de 900 mL.

A mistura turfa-vermiculita foi previamente esterilizada em autoclave a 121°C, durante 60

minutos, por três dias consecutivos, antes da adição do meio MNM (MARX, 1969). Posteriormente, foi realizada a esterilização pelo período de 20 minutos, sob as mesmas condições de temperatura e pressão. Após, foram inoculados os isolados UFSC-Pt116, UFSC-Pt118 e UFSC UFSC-SA9. Os frascos foram mantidos em estufa a 25°C para o crescimento miceliano, durante 90 dias.

Substrato para as mudas de eucalipto

O substrato utilizado no presente trabalho foi composto por turfa comercial, produzida pela empresa Floresta S.A.[®] A composição do substrato foi de turfa, perlita, calcário aditivado com fertilizante natural, apresentando as seguintes características químicas: pH = 5,8; P = 14,4 mg.dm⁻³; K = 194 mg.dm⁻³; Al = 0, Ca = 25 cmol_c.dm⁻³, Mg = 4,7 cmol_c.dm⁻³, CTC = 30 cmol_c.dm⁻³, M.O. = 17% e saturação por bases = 90%.

O substrato foi previamente esterilizado em autoclave a 121°C, durante 60 minutos, três vezes consecutivas, com um intervalo de 24 horas entre cada esterilização, para eliminar possíveis contaminações por outros fungos. Após a esterilização, foi adicionada, neste substrato, uma solução nutritiva contendo os seguintes elementos: Mn, 0,15; Zn, 0,0375; Cu, 0,125; Mo, 0,05; B, 0,05 e Fe, 0,375 (mg kg⁻¹), baseados em Alves et al. (2001).

O nitrogênio (N) foi adicionado na forma de (NH₄)₂SO₄, no momento da semadura, conforme a recomendação do Manual de Adubação e de Calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO, 2004).

Sementes

As sementes de eucalipto foram obtidas no Viveiro Florestal da Universidade Federal de Santa Maria. Estas sementes foram pré-germinadas, durante cinco dias, em placa de Petri, numa incubadora microbiológica com fotoperíodo. Para isso, foram inicialmente desinfestadas em álcool 70% por 30 segundos, lavadas em água destilada, e transferidas para algumas placas de Petri contendo papel toalha e água destilada.

Inoculação dos fungos

Após três meses de crescimento do inóculo, foi feita a inoculação dos isolados *Pisolithus microcarpus* (UFSC-Pt116); *Scleroderma flavidum* (UFSC-SA9); e *Pisolithus microcarpus* (UFSC-Pt188), em vasos de PVC com capacidade para

1L, previamente desinfestados com solução de hipoclorito de sódio a 1%.

A inoculação foi feita no mesmo momento da semadura, colocando-se para isso, 10% (v/v) do inoculante fúngico em cada vaso, isoladamente ou em mistura. No caso das misturas, combinou-se o inóculo dos isolados de modo a se obter combinações de dois ou três isolados, em cada vaso de plantio. Além desses tratamentos, foi preparado um tratamento controle não inoculado, que recebeu os mesmos 10% (v/v) do substrato de inoculação. A homogeneização do inóculo foi feita manualmente, com uso de luvas descartáveis, sob condições assépticas. Cada vaso recebeu quatro sementes pré-germinadas de eucalipto, e em seguida completou-se a umidade do substrato nos vasos, até a capacidade de campo.

Desta forma, o experimento constou de oito tratamentos: Controle (não inoculado), UFSC-Pt116, UFSC-SA9, UFSC-Pt188, UFSC-Pt116 + UFSC-SA9, UFSC-Pt116 + UFSC-Pt188, UFSC-SA9 + UFSC-Pt188 e UFSC-Pt116 + UFSC-Pt188 + UFSC-SA9, em dez repetições, totalizando 80 unidades experimentais.

Após a inoculação e semadura, o experimento foi mantido em casa de vegetação por 90 dias e a capacidade de campo foi mantida, diariamente, com água destilada. Após 10 dias da emergência das plântulas, foi feito um desbaste, deixando-se duas plântulas por vaso, e após os 20 dias da emergência das plântulas, foi realizado um novo desbaste, deixando-se apenas uma muda de eucalipto por vaso.

Avaliações

Durante o período de crescimento, foram realizadas avaliações a cada 15 dias quanto à altura e ao diâmetro do caule. Aos 60 dias, após a semadura, foram coletadas cinco plantas de cada tratamento e analisadas quanto aos seguintes aspectos: altura, diâmetro do caule, massa seca das raízes, volume de raízes, associação micorrízica, massa seca da parte aérea e teores de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) na parte aérea das plantas. Com as outras cinco plantas foram realizadas as mesmas avaliações aos 90 dias.

Após 60 e 90 dias de crescimento, as mudas foram retiradas dos vasos e separadas em raízes e parte aérea. A parte aérea foi colocada em estufa a 70 ± 1°C, para determinação da massa seca. A determinação da percentagem de colonização radicular foi feita pela técnica das interseções de

Giovanetti e Mosse (1980), modificado por Brundrett et al. (1996). Para determinação do teor de P e K nos tecidos das plantas, empregou-se a técnica descrita por Tedesco et al. (1995). O volume radicular foi determinado pelo método de deslocamento de água, adaptando-se metodologia utilizada para solos (EMBRAPA, 1997).

Os dados obtidos de altura, diâmetro do caule, massa seca das raízes, volume de raízes, colonização micorrízica, massa seca da parte aérea, teores de nitrogênio, fósforo e potássio, foram testados quanto a sua normalidade e submetidos à análise de variância e teste de médias (Tukey, 5%), utilizando-se dos procedimentos disponíveis no programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos 30, 45, 60, 75 e 90 dias após a emergência das plantas de eucalipto, estas apresentaram diferenças significativas quanto à altura (Figura 1). Aos 30 dias após a semeadura, o isolado UFSC-SA9 apresentou valores significativos com relação ao

controle, enquanto que aos 45 dias, com exceção da mistura UFSC-Pt116 + UFSC-SA9, todos os demais tratamentos inoculados proporcionaram maior altura de mudas que o controle. Aos 75 dias, os isolados UFSC-Pt116, UFSC-SA9, UFSC-Pt188 e a mistura UFSC-SA9 + UFSC-Pt188, também apresentaram um incremento no desenvolvimento das mudas. Aos 90 dias, provavelmente, as mudas já encontravam restrições quanto ao crescimento, devido a limitações de espaço nos vasos para crescimento do sistema radicular, e desta forma, o controle apresentou altura semelhante aos demais tratamentos, exceto ao UFSC-Pt 116, que foi superior (Figura 1). Os resultados demonstram que, para as condições em que as mudas foram avaliadas, a inoculação com ectomicorrizas proporcionou maior altura às mudas de eucalipto com relação às não inoculadas. As inoculações com os isolados em misturas não proporcionaram desenvolvimento significativo quanto à altura, com relação às inoculações com os isolados individualizados, não sendo o uso de misturas justificado pelo parâmetro altura de plantas (Figura 1).

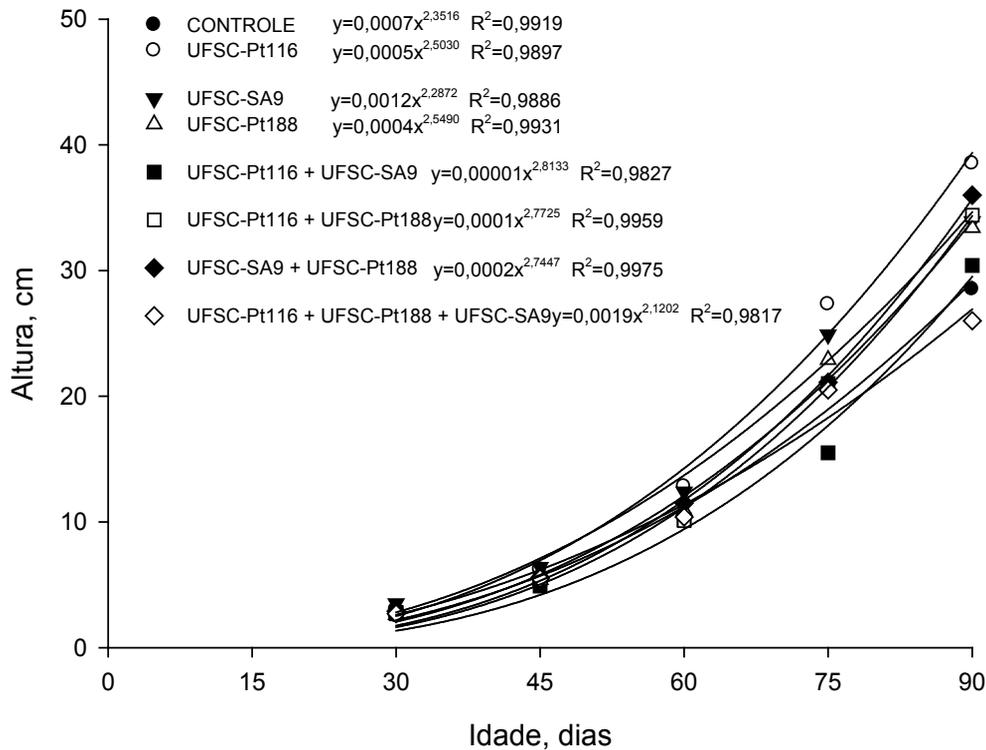


FIGURA 1: Altura das plantas de *Eucalyptus grandis* produzidas no substrato turfa, inoculadas ou não, com diferentes isolados de fungos ectomicorrízicos, individualmente ou em mistura, aos 60 e 90 dias após o plantio em casa de vegetação.

FIGURE 1: Height of *Eucalyptus grandis* produced in peat, or not inoculated with different isolates of mycorrhizal fungi alone or in combination, 60 and 90 days after planting in the greenhouse. Averages followed by same letters in columns do not differ significantly by Tukey test at 5%.

Nos resultados obtidos de diâmetro de caule das plantas, observaram-se diferenças estatísticas entre os tratamentos de inoculação individual e nas misturas de isolados ectomicorrízicos, apenas aos 90 dias de crescimento das mudas em casa de vegetação. As plantas inoculadas apresentaram maior diâmetro de caule, com exceção dos tratamentos com os isolados UFSC-Pt188 e UFSC-Pt116 + UFSC-Pt188 + UFSC-SA9, que apresentaram diâmetro de caule menor que o tratamento controle. O maior diâmetro foi encontrado em mudas inoculadas, individualmente, com o isolado UFSC-Pt116, sendo, aproximadamente, 31% superiores ao controle.

Os dados obtidos neste estudo são semelhantes aos de Souza (2003). Este autor considerou que as medidas de diâmetro de caule têm pouca utilidade para avaliar o efeito da inoculação nesta fase do desenvolvimento das plantas, pois, a resposta inicial da colonização micorrízica está associada ao aumento de captação e aproveitamento de água e nutrientes, tendo maior reflexo na produção de ramos e folhas. Assim, valores de massa seca são considerados as variáveis mais úteis para medir o efeito de tratamentos de inoculação micorrízica sobre o crescimento das mudas (MARX, 1980; MARX, 1991; SMITH e READ, 1997).

A massa seca média da parte aérea das plantas de eucalipto obtida aos 60 dias mostrou que os tratamentos com maiores valores foram os inoculados com os isolados UFSC-Pt116 e UFSC-SA9, sendo que o primeiro apresentou 50%, e o segundo 66% mais massa seca em relação ao controle (Tabela 1). Aos 90 dias após a semeadura, o tratamento que se destacou em relação aos demais foi o inoculado individualmente com o isolado UFSC-Pt116, que apresentou 56% de massa seca da parte aérea a mais que o controle. Este aumento foi constante nos dois períodos avaliados, indicando um crescimento regular com desenvolvimento das mudas (Tabela 1).

Estes resultados demonstram a importância da inoculação de fungos micorrízicos no momento da formação das mudas, uma vez que esses podem melhorar a absorção de água e nutrientes e propiciar às plantas um maior acúmulo de massa seca. O crescimento da parte aérea das plantas foi maior dos 60 até os 90 dias de crescimento das plantas, estas obtiveram cerca de dez vezes a massa de quando tinham 60 dias de idade. Os resultados obtidos são semelhantes aos de Souza (2008), que observou que a inoculação com fungos micorrízicos promoveu maior acúmulo de massa seca na parte aérea de eucalipto.

TABELA 1: Massa seca da parte aérea e de raízes (mg planta⁻¹) das mudas de *Eucalyptus grandis*, não inoculadas e inoculadas com diferentes isolados de fungos ectomicorrízicos, individualmente ou em mistura, aos 30, 45, 60, 75 e 90 dias após a semeadura, em casa de vegetação.

TABLE 1: *Eucalyptus grandis* seedlings shoots and roots dry mass (mg plant⁻¹) non-inoculated and inoculated with several mycorrhizal fungi isolated or combine, at 30, 45, 60, 75 and 90 days after sowing in the greenhouse.

Tratamentos	Massa seca (mg)			
	Parte aérea		Raízes	
	Dias			
	60	90	60	90
Controle	264 c	3522 b	66 ab	833 a
UFSC-Pt116	396 ab	5510 a	87 a	1139 a
UFSC-SA9	438 a	4698 ab	71 ab	1403 a
UFSC-Pt188	311 bc	3562 b	65 ab	1254 a
UFSC-Pt116 + UFSC-SA9	177 d	3765 b	45 b	1060 a
UFSC-Pt116 + UFSC-Pt188	286 c	3472 b	41 b	1145 a
UFSC-SA9 + UFSC-Pt188	329 bc	3592 b	60 ab	1000 a
UFSC-Pt116 + UFSC-Pt188 + UFSC-SA9	267 c	3302 b	44 b	923 a
Média	308	3927	479	1094
CV (%)	12,5	19,4	24,5	25,8

Em que: Os valores são médias de 5 repetições. Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Quanto ao volume de raízes, observou-se que as plantas inoculadas com o isolado UFSC-Pt116 foram as que apresentaram maior volume de raízes aos 60 dias, seguidas pelas plantas dos tratamentos UFSC-SA9, UFSC-Pt188, UFSC-Pt116 + UFSC-SA9, UFSC-SA9 + UFSC-Pt188, UFSC-Pt116 + UFSC-Pt188 + UFSC-SA9, controle e UFSC-Pt116 + UFSC-Pt188. Salienta-se que os tratamentos com maior volume de raízes estão entre aqueles que envolvem a inoculação dos isolados, individualmente (Figura 2).

Aos 90 dias após a emergência, quando as mudas já tinham expressado boa parte do seu potencial de crescimento, os resultados observados em relação ao volume de raízes foram distintos. As plantas do tratamento com o isolado UFSC-SA9 foram as que se destacaram, tendo, aproximadamente, o volume de raízes 17% maior do que o controle. Nota-se ainda que as plantas inoculadas somente com o isolado UFSC-Pt188 apresentaram volume de raízes menor que os demais tratamentos ao fim do período experimental, inclusive menor que o controle (Figura 2). Segundo Ditengou e Lapeyrie (2000), fECM do gênero *Pisolithus* podem secretar hipaforina, a qual induz mudanças morfológicas em raízes de eucalipto. A incubação na presença de hipaforina causou um

decréscimo na taxa de alongação do ápice radicular às raízes de eucalipto (DITENGOU e LAPEYRIE, 2000). Em adição a isto, os autores afirmam que o ácido indol-acético tem efeito restaurador no ápice radicular, indicando um efeito antagonista da hipaforina nas mudanças morfológicas do sistema radicular.

Os isolados de fungos ectomicorrízicos colonizaram as raízes do eucalipto com diferentes graus de intensidade, variando com o tipo de mistura que foi inoculada nas plantas. Na primeira avaliação, aos 60 dias após a emergência das plântulas, foi verificado que as mudas que obtiveram os maiores taxas de colonização radicular foram as dos tratamentos UFSC-SA9 e UFSC-Pt116, com, aproximadamente, 16 e 13% respectivamente (Figura 3).

A colonização micorrízica foi maior nas raízes inoculadas individualmente pelos isolados UFSC-SA9 e UFSC-Pt116, com 19 e 17% de associação radicular, respectivamente (Figura 2). Os tratamentos inoculados com apenas um isolado apresentaram uma tendência para os maiores níveis de colonização, com exceção das plantas inoculadas com o isolado UFSC-Pt188, que ficaram com médias abaixo dos tratamentos contendo misturas de isolados (Figura 3).

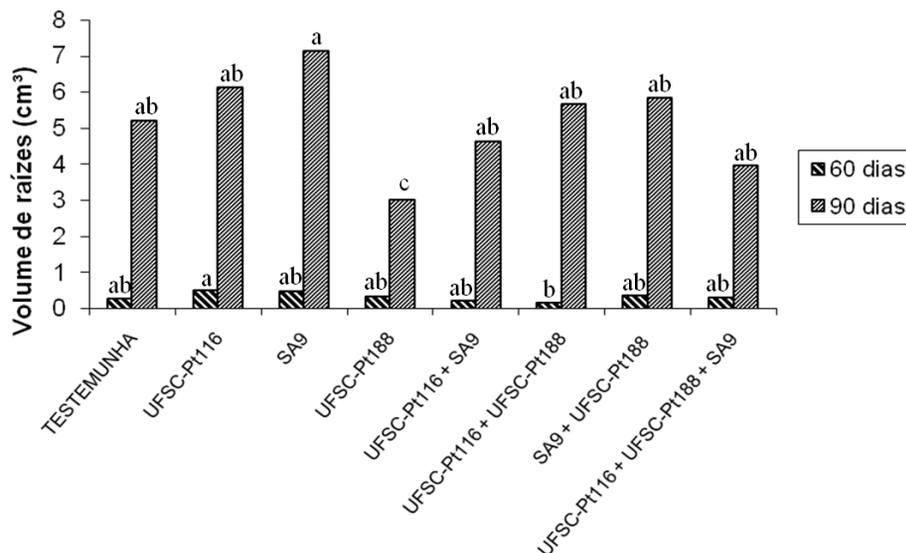


FIGURA 2: Volume de raízes das plantas de *Eucalyptus grandis* produzidas no substrato turfa, inoculadas ou não com diferentes isolados de fungos ectomicorrízicos, individualmente ou em mistura, aos 60 e 90 dias após o plantio em casa de vegetação. Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

FIGURE 2: Roots volume of *Eucalyptus grandis* produced in peat, or not inoculated with different isolates of mycorrhizal fungi alone or in combination, 60 and 90 days after planting in the greenhouse. Averages followed by same letters in columns do not differ significantly by Tukey test at 5%.

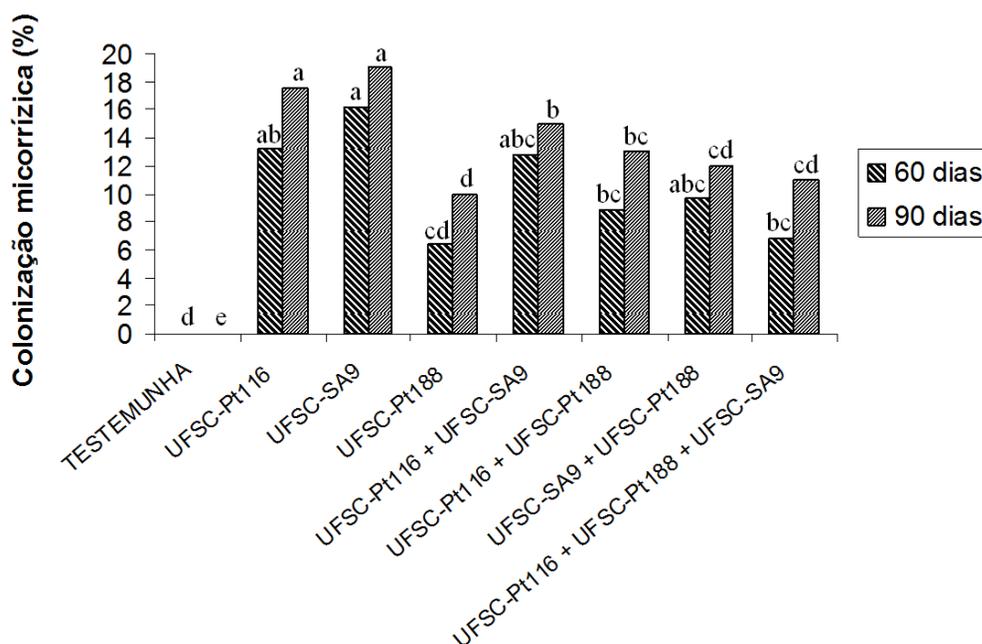


FIGURA 3: Colonização micorrízica nas plantas de *Eucalyptus grandis* produzidas no substrato turfa, inoculadas ou não com diferentes isolados de fungos ectomicorrízicos, individualmente ou em mistura, aos 60 e 90 dias após o plantio em casa de vegetação. Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

FIGURE 3: Mycorrhizal colonization in plants of *Eucalyptus grandis* produced in peat, inoculated or non-inoculated with different isolates of mycorrhizal fungi alone or in combination, 60 and 90 days after planting in the greenhouse. Averages followed by same letters in columns do not differ significantly by Tukey test at 5%.

Os percentuais de colonização são baixos quando comparados aos de Mello (2006), obtidos com mudas de *Eucalyptus grandis* em casa de vegetação, e trabalhando com o isolado UFSC-Pt116. É possível que na hora de fazer o procedimento de lavagem das raízes, logo após a sua coleta, tenha-se perdido parte das raízes mais finas das plantas, que são as que estão mais propícias à colonização ectomicorrízica. Isto poderia explicar o baixo percentual de colonização micorrízica, quando comparados aos dados de Mello (2006).

Também foram analisados os teores de nitrogênio, de fósforo e de potássio na parte aérea das plantas de eucalipto aos 60 e 90 dias de idade. Para o teor de N nos tecidos da parte aérea, constatou-se que o tratamento com a mistura de isolados UFSC-SA9 + UFSC-Pt188 proporcionou ganhos significativos no acúmulo de N em relação ao controle. Estas plantas acumularam em torno de 45 g kg⁻¹ de N em seus tecidos, enquanto que as plantas do tratamento controle acumularam 35 g kg⁻¹ de N nos primeiros 60 dias de experimento (Figura 4). Em seguida, com valores próximos, mas que diferem estatisticamente, vêm as plantas com os

isolados UFSC-Pt116, UFSC-Pt116 + UFSC-SA9, UFSC-Pt116 + UFSC-Pt188, UFSC-Pt116 + UFSC-Pt188 + UFSC-SA9, UFSC-SA9, UFSC-Pt188 e o controle. Observa-se que, para o acúmulo de N na parte aérea, as plantas que mais se destacaram foram aquelas com misturas de isolados, contrariando o que vinha ocorrendo nas variáveis anteriores. Aos 90 dias de experimento, verificou-se que os teores de N nos tecidos da parte aérea das plantas não variaram significativamente, mas manteve-se certa superioridade dos tratamentos com misturas de isolados (Figura 4). Todavia, houve uma redução dos 60 para os 90 dias, que pode ter ocorrido em virtude do rápido crescimento das plantas, que aos 90 dias eram cerca de 3 vezes maiores que aos 60 dias. Isto pode ter provocado um efeito de diluição do N nos tecidos das plantas, ocasionando uma menor concentração deste nutriente na parte aérea das plantas.

A redução no teor de nitrogênio pode ser devido ao esgotamento deste mineral no substrato utilizado, já que a adubação nitrogenada foi feita apenas na semeadura, para simular o que ocorre nos viveiros florestais.

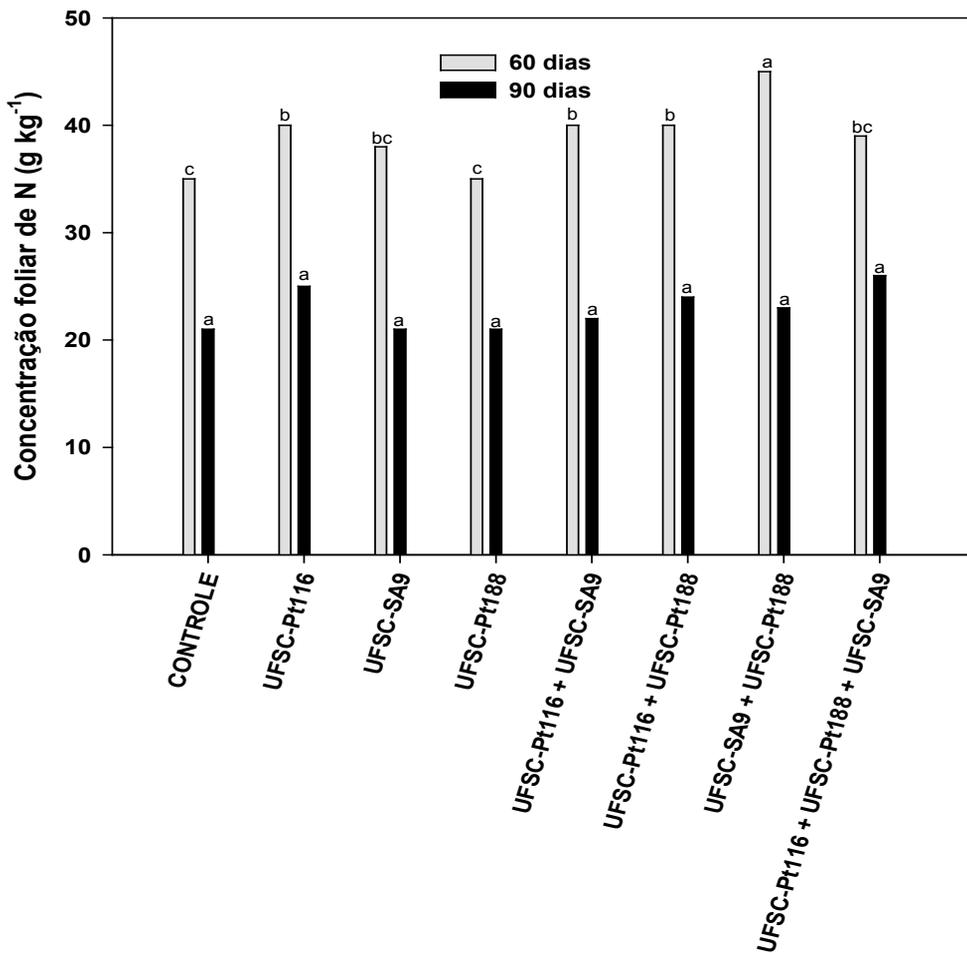


FIGURA 4: Teores de nitrogênio (N) na parte aérea das mudas de *Eucalyptus grandis* produzidas no substrato turfa, inoculadas e não inoculadas, com diferentes isolados de fungos ectomicorrízicos, individualmente ou em mistura, aos 60 e 90 dias após o plantio em casa de vegetação. Médias seguidas das mesmas letras nas barras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

FIGURE 4: Nitrogen (N) levels in *Eucalyptus grandis* seedlings shoots produced in the peat, inoculated and non-inoculated with different isolates of mycorrhizal fungi isolated or combined, 60 and 90 days after planting in the greenhouse. Averages followed by same letters in columns do not differ significantly by Tukey test at 5%.

Quanto ao teor de fósforo (P) na parte aérea, aos 90 dias verificou-se superioridade significativa das misturas UFSC-Pt116 + UFSC-SA9 e UFSC-Pt116 + UFSC-Pt188 + UFSC-SA9, 50% e 75% de acúmulo de P nos tecidos com relação ao controle, respectivamente. Verificou-se ainda que dos 60 para os 90 dias ocorreu uma queda nos teores de P nos tecidos, o que pode ter acontecido pelo esgotamento do P no substrato, já que esse não foi adicionado ao substrato na hora da semedura, ou também por efeito de diluição deste nutriente nos tecidos da planta, pois, aos 90 dias as plantas eram cerca de 3 vezes maiores que aos 60 dias. Estes resultados

corroboram com os obtidos por Souza (2008) que, trabalhando com eucalipto, verificou que as plantas inoculadas tiveram os maiores teores de fósforo acumulados nos tecidos (Figura 5).

Embora as taxas de colonização tenham sido baixas, os efeitos positivos no aumento do crescimento, massa seca e absorção de P são evidentes, demonstrando a eficiência de alguns isolados avaliados (Figura 5). É possível que a presença dos isolados no ambiente rizosférico tenha influenciado positivamente o crescimento das plantas. Muitos fungos têm mostrado capacidade de solubilizar fosfatos e de produzir substâncias

promotoras de crescimento (NARLOCH, 2002), favorecendo o crescimento e acúmulo de P pelas plantas.

Analisando-se os valores de K nos tecidos, não se verificou superioridade significativa das mudas inoculadas com relação ao controle (Figura 6).

Os resultados obtidos sugerem a possibilidade de inocular as mudas de *Eucalyptus*

grandis no viveiro, para que o fungo possa ser levado ao campo com grande probabilidade de contribuir para o bom estabelecimento e desenvolvimento das mudas. Diante da grande variabilidade ecotípica encontrada entre isolados de uma mesma espécie de fungo ectomicorrízico (TRAPPE e FOGEL, 1977), poderá haver um comportamento diferenciado entre os micossimbiontes, quando colocados em diferentes substratos e solos.

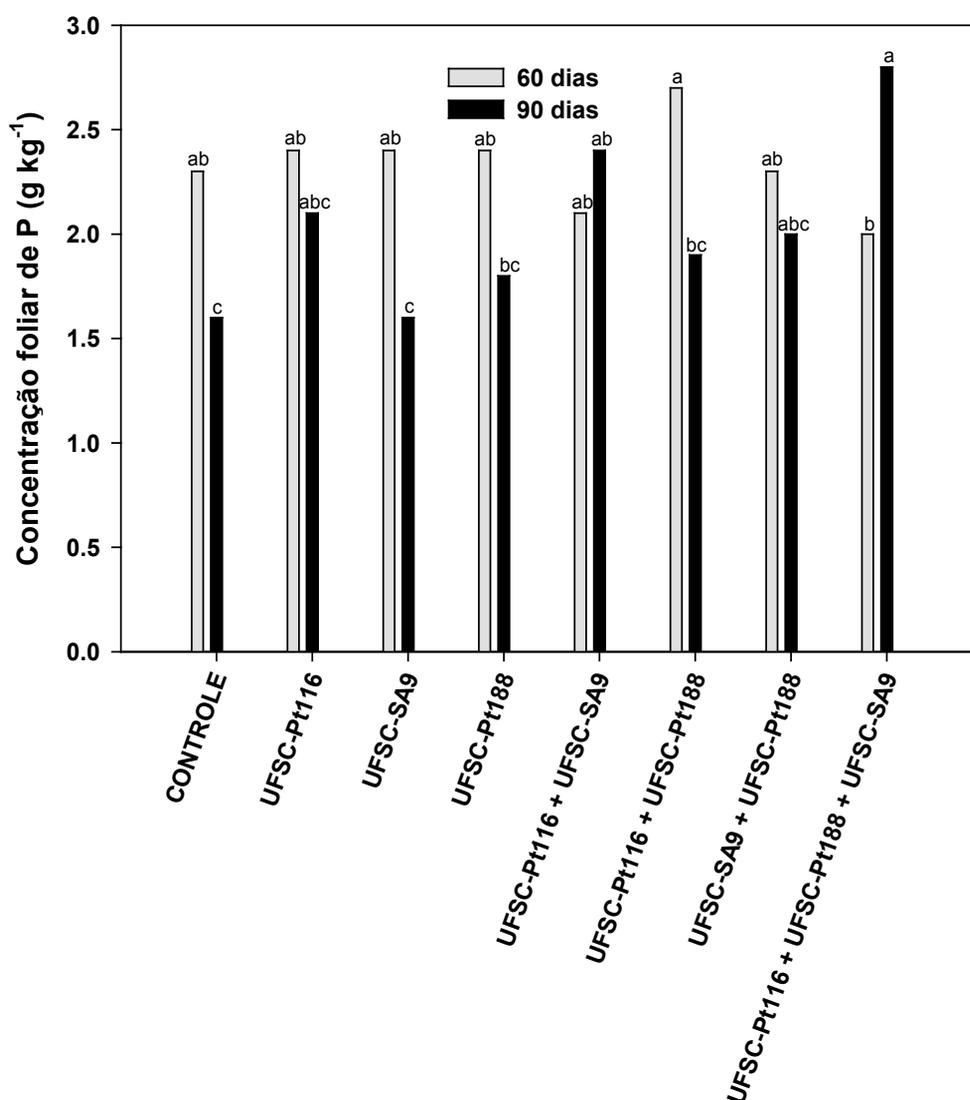


FIGURA 5: Teores de fósforo (P) na parte aérea das mudas de *Eucalyptus grandis* produzidas no substrato turfa, inoculadas e não inoculadas com diferentes isolados de fungos ectomicorrízicos, individualmente ou em mistura, aos 60 e 90 dias após o plantio em casa de vegetação. Médias seguidas das mesmas letras nas barras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

FIGURE 5: Phosphorus (P) levels in *Eucalyptus grandis* seedlings shoots produced in the peat, inoculated and non-inoculated with different isolates of mycorrhizal fungi isolated or combined, 60 and 90 days after planting in the greenhouse. Averages followed by same letters in columns do not differ significantly by Tukey test at 5%.

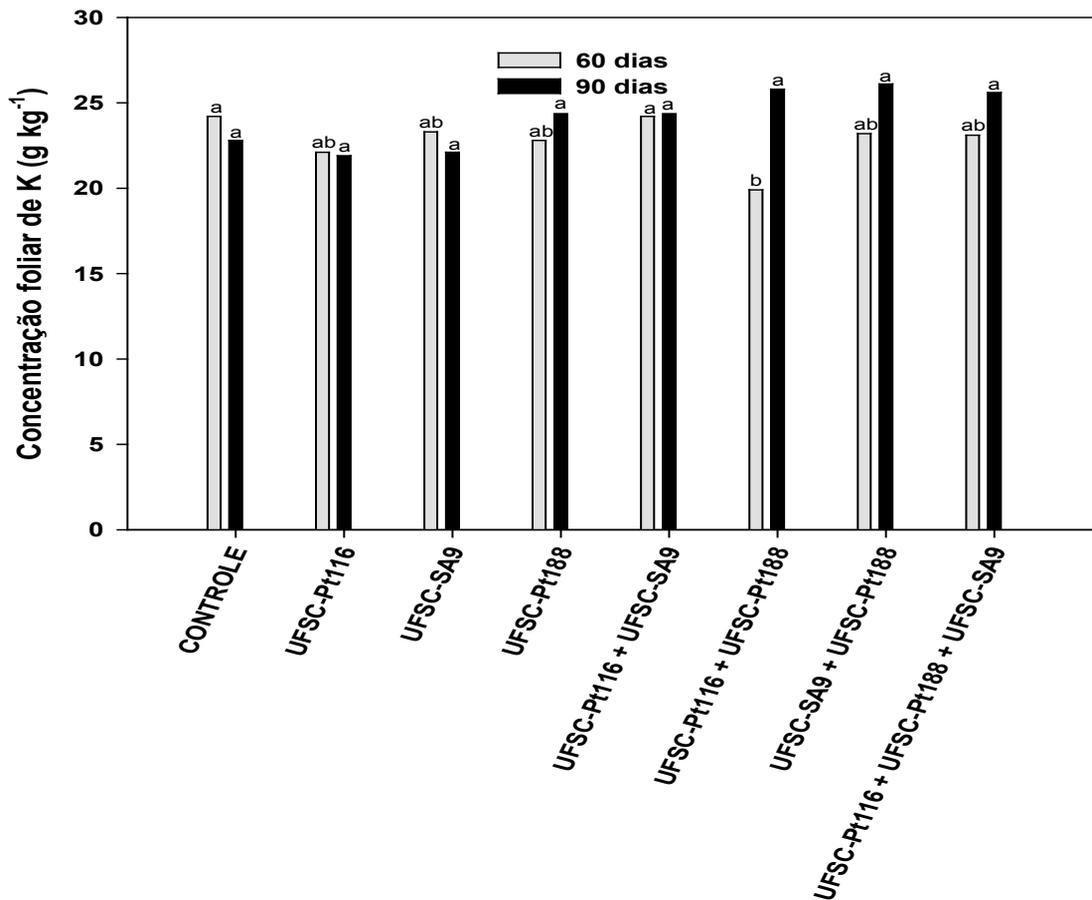


FIGURA 6: Teores de potássio (K) na parte aérea das mudas de *Eucalyptus grandis* produzidas no substrato turfa, inoculadas e não inoculadas com diferentes isolados de fungos ectomicorrízicos, individualmente ou em mistura, aos 60 e 90 dias após o plantio em casa de vegetação. Médias seguidas das mesmas letras nas barras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

FIGURE 6: Potassium (K) levels in *Eucalyptus grandis* seedlings shoots produced in the peat, inoculated and non-inoculated with different isolates of mycorrhizal fungi isolated or combined, 60 and 90 days after planting in the greenhouse. Averages followed by same letters in columns do not differ significantly by Tukey test at 5%.

CONCLUSÃO

A inoculação com o isolado fúngico ectomicorrízico UFSC-Pt116 promoveu maior altura e massa seca da parte aérea de mudas de *Eucalyptus grandis*.

As mudas de eucalipto inoculadas com misturas dos isolados de fungos ectomicorrízicos UFSC-Pt116 + UFSC-Pt188 + UFSC-SA9 apresentaram maior concentração de fósforo aos 90 dias.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao Programa de

Pós-graduação em Ciência do Solo (PPGCS) da Universidade Federal de Santa Maria, ao Conselho Nacional de Pesquisa e Tecnologia (CNPq), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a FAPERGS pelo apoio financeiro a este trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, J. R. et al. Efeito de inoculante ectomicorrízico produzido por fermentação semi-sólida sobre o crescimento de *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 2, p. 307-313, fev. 2001.
- BARROS, N. F.; BRANDI, R. M.; REIS, M. S.

- Micorriza em eucalipto . Uma revisão sobre a morfologia, a fisiologia e os efeitos mútuos da associação fungo-planta. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 2, n. 2, p. 130-140, maio/ago. 1978.
- BONNASSIS, P. A. P. **Caracterização de isolados fúngicos ectomicorrízicos na promoção do crescimento e na colonização radicular de *Eucalyptus dunnii* Maiden**. 2007, 68 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.
- BRUNDRETT, M. et al. **Working with mycorrhizas in forestry and agriculture**. Canberra: ACIAR, 1996, 374 p. (Monograph, 32).
- DITENGOU F. A.; LAPEYRIE F. Hypaphorine from the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* counteracts activities of indole-3-acetic acid and ethylene but not synthetic auxins in eucalypt seedlings. **Molecular Plant-Microbe Interactions** v. 13, p. 151-158, 2000.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro, 1997, 212 p.
- FERREIRA, D. F. **Sistemas de análises estatística para dados balanceados**. Lavras: UFLA/DEX/SISVAR, 2000. 145 p.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytology**. Lancaster, v. 84, p. 489-500, Mar. 1980.
- GLOWA, K. R.; AROCENA, J. M.; MASSICOTTE, H. B. Extraction of potassium and/or magnesium from selected soil minerals by *Piloderma*. **Geomicrobiology Journal**, New York, v. 20, n. 2, p. 99-111, Mar. 2003.
- MARX, D. H. Ectomycorrhizal fungus inoculations: a tool for improving forestation practices. In: P. MIKOLA (Ed.) **Tropical Mycorrhiza Research**. Oxford: Pub. Clarendon Press, p. 13-71, 1980.
- 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, n. 2, p. 153-163, Feb. 1969.
- MARX, D. H. The practical significance of ectomycorrhizae in Forest establishment. In: THE MARCUS WALLENBERG FOUNDATION SYMPOSIUM, 7., 1991, Stockolm. **Proceedings...** Wallenberg Foundation, 1991, p. 54-90.
- MARX, D. H.; CORDELL, C. E. The use of specific ectomycorrhizal to improve artificial forestation practices. In: WHIPPS, J. M.; LUMSDEN, R. D. (eds). **Biotechnology of fungi for improving plant growth**. New York: Academic Press, 1989. p. 1-25.
- MELLO, A. H. **Ocorrência, caracterização e eficiência de fungos micorrízicos em *Eucalyptus grandis* e *Acácia mearnsii***. 2006, 236 f. Tese (Doutorado em ciência do Solo)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.
- MOLINA, R.; TRAPPE, J. M. Mycorrhiza management in bareroot nurseries. In: DURYEA, M. L.; LANDIS, T. D. (eds). **Forestry nursery manual: production of barerrot seedlings**. Lancaster, 1984, p. 211-213.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2002. 626 p.
- NARLOCH, C. **Interação microrganismos solubilizadores de fosfatos - fungos ectomicorrízicos e o crescimento de *Pinus taeda* L**. 2002, 171 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.
- SANTOS, J. D. E. et al. Eficiência de fungos micorrízicos arbusculares isolados de solos de áreas de mineração de bauxita no crescimento inicial de espécies nativas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 141-150, jan./fev. 2008.
- SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. London: Academic Press, 1997, 605 p.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO. COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 10. ed. Porto Alegre: SBCS, Comissão de Química e Fertilidade do Solo, 2004. 394 p.
- SOUZA, L. A. B. et al. New isolates of ectomycorrhizal fungi and the growth of eucalyptus. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 2, p. 35-241, fev. 2008.
- SOUZA, L. A. B. **Seleção de fungos ectomicorrízicos eficientes para promoção do crescimento de *Eucalyptus dunnii* Maiden**. 2003, 117 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.
- TEDESCO, M. J. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2 ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174 p.
- TRAPPE, J. M.; FOGEL, R. D. Ecosystematic functions of mycorrhizae. In: The bellow ground ecosystem: A synthesis of plant-associated process. **Rang Science**, v. 26, n. 3, p. 205-244, 1977.