

INFLUÊNCIA DE MATÉRIA ORGÂNICA NA FORMAÇÃO DE ECTOMICORRIZAS EM MUDAS DE PINUS POR PISOLITHUS TINCTORIUS E THELEPHORA TERRESTRIS¹

WAGNER BETTIOL² e TASSO LEO KRÜGNER³

RESUMO - Foram avaliados os efeitos de lodo de esgoto, esterco de curral, torta de filtro e acículas de *Pinus* incorporados ao solo nas concentrações de 10%, 30% e 50% (v/v) sobre a formação de ectomicorrizas em mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* inoculadas artificialmente com *Pisolithus tinctorius* e *Thelephora terrestris*. O esterco de curral e acículas de *Pinus* na concentração 10% não afetaram a formação de micorrizas, tanto por *P. tinctorius* quanto por *T. terrestris*, ao passo que as concentrações de 30% e 50% reduziram a simbiose. Lodo de esgoto em todas as concentrações inibiu a formação de micorrizas por ambos os fungos. Torta de filtro inibiu a associação das mudas de *P. caribaea* var. *hondurensis* com *T. terrestris* em todas as concentrações e nas de 30% e 50% para *P. tinctorius*.

Termos para indexação: lodo de esgoto, esterco de curral, torta de filtro, acículas de *Pinus*, *Pinus*, fungos.

INFLUENCE OF ORGANIC MATTER ON THE FORMATION OF ECTOMICORRHIZAE BY PISOLITHUS TINCTORIUS AND THELEPHORA TERRESTRIS WITH PINUS

ABSTRACT - The effects of sewage sludge, manure, filter cake and pine needle mulch, incorporated in the soil at the concentrations of 10%, 30% and 50% (v/v) on the formation of ectomycorrhizae by *Pisolithus tinctorius* and *Thelephora terrestris* with *Pinus caribaea* var. *hondurensis* seedlings were evaluated. Manure and pine mulch, at the concentration of 10%, did not affect the formation of mycorrhizae by *P. tinctorius* and *T. terrestris*, while at the higher concentrations they reduced the amount of mycorrhizae formed by both fungi. Filter cake inhibited the formation of mycorrhizae by *T. terrestris* at all concentrations, whereas for *P. tinctorius* it affected only at 30% and 50%. Sewage sludge had the strongest inhibitory effect, acting at all concentrations tested against both fungi.

Index terms: sewage sludge, corral manure, filter cake, pine needles, *Pinus*, fungi.

INTRODUÇÃO

O emprego de fungos micorrízicos em reflorestamento de *Pinus* pode ser realizado através de infecção artificial das mudas, no viveiro, com fungos específicos. Dentre estes, *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch e *Thelephora terrestris* Ehr. ex Fr., são destacados pela capacidade de adaptação em condições adversas, facilidade de cultivo em meio de cultura e disseminação eficiente (Marx & Bryan 1975, Marx 1975, 1976). Nas condições brasileiras, esses fungos vêm apresentando resultados satisfatórios para *Pinus caribaea* var. *hondurensis*, *P. oocarpa*, *P. kesiya* e *P. caribaea*

var. *bahamensis* (Krüger & Tomazello Filho 1980, Tomazello Filho & Krüger 1981).

A obtenção de mudas com máxima ou ótima quantidade de micorrizas, através da inoculação artificial com os fungos simbiossantes, depende, dentre outros fatores, das condições do substrato de crescimento das mudas. Um destes fatores, a matéria orgânica, além de pouco estudada, tem mostrado resultados controversos. Efeito estimulante de húmus na formação de micorrizas e no crescimento do hospedeiro tem sido demonstrado (Fassi et al. 1972, Slankis 1974). Lee (1981), no entanto, verificou que com o aumento da matéria orgânica havia redução na formação de micorrizas em *Pinus rigida* x *taeda*. Fassi et al. (1972) encontraram respostas diversas, verificando ora estímulo ora inibição na formação de micorrizas, dependendo da humificação da matéria orgânica. Berry & Marx (1977) relataram que altas dosagens de lodo de esgoto inibiram o desenvolvimento de micorrizas quando comparado com baixos teores, os quais estimularam a formação das micorrizas.

¹ Aceito para publicação em 9 de dezembro de 1985. Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor.

² Eng. - Agr., M.Sc., em Agron., Dep. de Fitopat., ESALQ/USP, Caixa Postal 9, CEP 13400 Piracicaba, SP.

³ Eng. - Agr., Prof. - Adjunto, Dep. de Fitopat., ESALQ/USP.

O presente trabalho teve por objetivo estudar o efeito de fontes (lodo de esgoto, esterco de curral, torta de filtro e acículas de *Pinus*) e doses de matéria orgânica sobre a formação de ectomicorizas em mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* pelos fungos *P. tinctorius* e *T. terrestris* e sobre o crescimento das mudas do hospedeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Pisolithus tinctorius (isolado nº 185) e *Thelephora terrestris* (isolado nº 201), cedidos pelo Dr. Donald H. Marx, foram colocados para crescimento durante 90 dias em frascos de 1 litro, contendo 700 ml de vermiculita do tamanho médio, 25 ml de esfagno seco em pó e 350 ml de solução nutritiva de Melin-Norkrans modificada por Marx-M.M.N. (Marx 1969). Para infestação do solo, o inóculo foi lavado em água corrente por dois ou três minutos, espremido e armazenado em sacos de plástico para transporte até a casa de vegetação.

O lodo de esgoto foi obtido na Estação de Recuperação das Qualidades das Águas de Vila Leopoldina, instalada no Município de São Paulo, SP. Nesta estação, o processo de tratamento é exclusivamente biológico, consistindo basicamente de decantação, desarenação, digestão e centrifugação. O esterco de curral foi proveniente do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP, o qual tinha permanecido por aproximadamente nove meses amontado em condições naturais. A torta de filtro foi cedida pela Usina São José, do Município de Rio das Pedras, SP, tendo sido armazenado ao relento durante três meses antes da sua utilização. As acículas de *Pinus* foram coletadas de um povoamento de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* com cerca de quinze anos, existente no Campus da ESALQ/USP. Para amostragem, foi retirada a camada superficial de acículas, coletando-se apenas o material em estado mais adiantado de decomposição. A composição química destas fontes de matéria orgânica está indicada na Tabela 1.

O solo empregado foi areia quartzosa com 0,21% de carbono, índice pH de 4,7, e os teores de fósforo (PO_4^{3-}), potássio (K^+), cálcio (Ca^{++}), magnésio (Mg^{++}), alumínio (Al^{+++}), e hidrogênio (H^+) 0,03; 0,04; 0,16; 0,38; 0,64 e 2,40 meq/100 g de terra respectivamente*.

Foram acrescentados 5 g de superfosfato simples para cada 1,5 litros da mistura solo-matéria orgânica, em seguida infestada com o inóculo na proporção 1/10 (v/v). Em seguida, a mistura foi transferida para vasos de barro com capacidade de 1,8 litros.

Após homogeneizado o solo com 10%, 30% e 50% (v/v) de cada matéria orgânica, a mistura foi fumigada sob lençol de plástico com a formulação comercial de brometo de metila (98% de brometo de metila + 2% de cloropicrina)

na base de $40 \text{ cm}^3/\text{m}^2$ (20 cm de espessura). Setenta e duas horas após a aplicação, o lençol de plástico foi removido para facilitar aeração, permanecendo sob ventilação natural por 48 horas.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados, num total de quatro blocos, no esquema fatorial 3 x 4 (doses x fontes de matéria orgânica).

A semeadura foi realizada em 21.01.83 com sementes de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*, procedentes de área de produção no município de Casa Branca, SP. Cada vaso recebeu 15 sementes, numa profundidade de, aproximadamente, 0,5 cm, sendo que após a emergência foram deixadas de sete a nove plantas por vaso.

Em 21.05.83, as mudas foram retiradas dos vasos para avaliação da formação de micorizas. Esta foi feita com base na estimativa visual da percentagem de raízes laterais curtas que se apresentavam com ectomicorizas. Foi também determinado o peso da matéria seca das mudas para avaliação do seu crescimento.

RESULTADOS

De modo geral, as fontes de matéria orgânica testadas afetaram negativamente o desenvolvimento micorrízico pelos fungos *P. tinctorius* e *T. terrestris* nas mudas de *P. caribaea* var. *hondurensis* (Tabelas 2 e 3). O efeito mais drástico foi dado pelo lodo de esgoto para ambos os fungos e pela torta de filtro para *T. terrestris* somente.

A redução da quantidade de micorizas foi, também, de modo geral, diretamente proporcional à concentração da matéria orgânica aplicada. No entanto, à menor concentração testada (10%), o lodo de esgoto, para ambos os fungos, e a torta de filtro para *T. terrestris* somente, determinaram efeitos já pronunciados. Entre os dois fungos testados, o *T. terrestris* pareceu ser mais sensível aos efeitos da matéria orgânica do que o *P. tinctorius*.

Quanto ao crescimento das mudas, a torta de filtro foi inferior em relação às outras três fontes, que, de modo geral, tenderam a aumentar a biomassa, especialmente nas mudas infectadas com *P. tinctorius* (Tabelas 4 e 5).

DISCUSSÃO

De modo geral, no presente estudo, as matérias orgânicas reduziram significativamente a formação de micorizas por *P. tinctorius* e *T. terrestris* nas

* Análise do solo efetuada no Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes da ESALQ/USP.

TABELA 1. Caracterização química das matérias orgânicas testadas¹.

Determinações (base seca)	Lodo de esgoto	Esterco de curral	Torta de filtro	Acículas de <i>Pinus</i>
pH água	5,0	6,2	5,9	4,6
Matéria orgânica (%)	17,6	22,8	56,4	71,7
Carbono total (%)	9,8	12,6	31,3	39,8
Carbono oxidável (%)	6,4	9,3	25,0	32,2
Enxofre total (% S)	0,81	0,17	< 0,001	0,16
Nitrogênio total (% N)	0,42	0,74	0,73	0,91
Fósforo total (% P ₂ O ₅)	2,3	0,81	1,2	0,18
Potássio total (% K ₂ O)	0,37	0,42	0,69	0,09
Cálcio (% Ca)	1,8	0,73	1,5	1,1
Magnésio (% Mg)	0,67	0,27	0,21	0,14
Alumínio (% Al)	6,0	2,5	3,6	1,7
Chumbo (%)	0,084	0,0052	0,14	1,1
Ferro (%)	4,9	1,6	2,6	2,0
Cádmio (ppm)	8,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Cobalto (ppm)	20	1,5	3,0	9,5
Cobre (ppm)	1.274	46	85	26
Cromo (ppm)	565	15	15	5,0
Sódio (ppm)	600	450	150	-
Manganês (ppm)	510	365	619	800
Níquel (ppm)	570	4,5	3,0	1
Zinco (ppm)	2.948	90	100	115

¹ Análises realizadas no Laboratório de Análises Químicas do CEFER/IPT.

TABELA 2. Efeito de fontes e concentrações (v/v) de matéria orgânica na formação de micorrizas (%) por *Pisolithus tinctorius* em mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*.

Fonte de matéria orgânica	Concentração (%) ¹			Médias
	10	30	50	
Testemunha (sem matéria orgânica)	68,5 ab			
Lodo de esgoto	A 15,7 de y A	B 1,9 e y B	B 1,4 e y B	6,3 B
Esterco de curral	73,8 a x A	26,0 cde xy B	5,5 e xy B	35,1 A
Torta de filtro	71,8 ab x A	22,4 cde xy A	14,8 de xy A	36,3 A
Acículas de <i>Pinus</i>	62,8 abc xy	43,5 abcd x	28,5 de x	44,9 A
Médias	56,0 X	23,5 Y	12,6 Y	

¹ Médias seguidas de mesma letra, médias de concentrações dentro de fontes com letras iguais sobre as mesmas, e médias de fontes dentro de concentrações com letras iguais sob as mesmas não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%). Para análise estatística, os dados foram transformados em $\arcsin \sqrt{\frac{P}{100} + 0,5}$, e os valores são médias de quatro repetições.

TABELA 3. Efeito de fontes e concentrações (v/v) de matéria orgânica na formação de micorrizas (%) por *Thelephora terrestris* em mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*.

Fonte de matéria orgânica		Concentração (%) ¹			Médias
		10	30	50	
Testemunha (sem matéria orgânica)	88,5 a	A	A	A	
Lodo de esgoto		12,4 de y A	2,3 de y B	0,8 e y B	5,2 C
Esterco de curral		63,8 ab x A	1,6 de y A	1,0 e y A	22,1 B
Torta de filtro		19,3 cde y A	4,8 de y AB	3,6 de y B	9,2 BC
Acículas de <i>Pinus</i>		63,0 ab x	39,5 bc x	23,0 cd x	41,8 A
Médias		39,6 X	12,1 Y	7,1 Y	

¹ Médias seguidas de mesma letra, médias de concentrações dentro de fontes com letras iguais sobre as mesmas, e médias de fontes dentro de concentrações com letras iguais sob as mesmas não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%). Para análise estatística, os dados foram transformados em $\arcsin \sqrt{\frac{P}{100} + 0,5}$, e os valores são médias de quatro repetições.

TABELA 4. Efeito de fontes e concentrações (v/v) de matéria orgânica sobre o peso da matéria seca total de mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* infectadas artificialmente com *Pisolithus tinctorius*.

Fonte de matéria orgânica		Concentração (%) ¹			Médias
		10	30	50	
Testemunha (sem matéria orgânica)	0,37 cd	A	A	A	
Lodo de esgoto		0,79 ab x A	0,80 ab x A	0,61 bc y A	0,73 A
Esterco de curral		0,83 ab x A	0,82 ab x A	0,65 ab y A	0,77 A
Torta de filtro		0,29 d y B	0,36 cd y A	0,32 d z A	0,32 B
Acículas de <i>Pinus</i>		0,66 ab x	0,91 ab x	0,94 a x	0,84 A
Médias		0,64 X	0,72 X	0,63 X	

¹ Médias seguidas de mesma letra, médias de concentrações dentro de fontes com letras iguais sobre as mesmas, e médias de fontes dentro de concentrações com letras iguais sob as mesmas não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%). Para análise estatística, os dados foram transformados em $\sqrt{X+0,5}$, e os valores são médias de quatro repetições.

TABELA 5. Efeito de fontes e concentrações (v/v) de matéria orgânica sobre o peso da matéria seca total de mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* infectadas artificialmente com *Thelephora terrestris*.

Fonte de matéria orgânica	Concentração (%) ¹			Médias
	10	30	50	
Testemunha (sem matéria orgânica)	0,41 abcd			
		g/muda		
	A	A	A	
Lodo de esgoto	0,54 ab	0,68 a	0,52 abc	0,58 A
	x	x	x	
	A	A	A	
Esterco de curral	0,46 abcd	0,58 ab	0,66 a	0,57 A
	x	x	x	
	A	A	A	
Torta de filtro	0,34 bcd	0,25 cd	0,22 d	0,27 B
	x	y	y	
	A	A	A	
Acículas de <i>Pinus</i>	0,50 abc	0,57 ab	0,65 a	0,57 A
	x	x	x	
Médias	0,46 X	0,52 X	0,51 X	

¹ Médias seguidas de mesma letra, médias de concentrações dentro de fontes com letras iguais sobre as mesmas, e médias de fontes dentro de concentrações com letras iguais sob as mesmas não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%). Para análise estatística, os dados foram transformados em $\sqrt{X+0,5}$, e os valores são médias de quatro repetições.

mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* (Tabelas 2 e 3). Isso pode ser atribuído a vários fatores: a) aumento da fertilidade do substrato, que pode ser desfavorável à infecção simbiótica (Marx et al. 1977, Maronek et al. 1982); b) suprimento desequilibrado de nutrientes (Allison 1973); c) liberação de alguns produtos do metabolismo dos organismos do solo e de compostos orgânicos resultantes da decomposição da matéria orgânica (Davey & Danielson 1968); d) presença de elementos inorgânicos tóxicos na matéria orgânica (Henderson 1960, Kendrick 1962); e) liberação de fenóis e outros compostos orgânicos, os quais podem ser absorvidos pelas plantas, afetando o desenvolvimento das mesmas e aumentando a sua resistência à infecção (Flaig 1977); e f) estímulo de competição com a população microbiana do solo.

No caso específico do lodo de esgoto, que proporcionou a mais acentuada inibição na formação de micorrizas, tal inibição pode estar associada à presença de elementos tóxicos em altas concentrações, como de cádmio, chumbo, cromo, níquel,

zinco, cobre, manganês e ferro, entre outros, em sua composição (Tabela 1). Alguns autores (Henderson 1960, Kendrick 1962) verificaram que vários desses elementos inibem o crescimento de fungos. Berry & Marx (1977) constataram que altas doses de lodo de esgoto aplicadas nas áreas reflorestadas proporcionavam bom desenvolvimento das mudas de *P. taeda*, porém inibiam a formação de micorrizas por *P. tinctorius*, e as menores doses, além do bom desenvolvimento das mudas, eram acompanhadas de boa formação de micorrizas. Bettiol (1984) confirmou o efeito prejudicial desta fonte sobre o crescimento micelial de ambos os fungos testados.

Embora em menor intensidade, as acículas de *Pinus* também inibiram a formação de micorrizas pelos fungos estudados. Bettiol (1984) verificou o efeito inibitório das acículas de *Pinus* no crescimento micelial de *P. tinctorius* e *T. terrestris*, a concentrações iguais ou superiores a 1% de extrato no meio de cultura. Este fato pode ser devido à presença de compostos fenólicos nas acículas, que são inibidores do desenvolvimento de fungos

(Chen & Buijtenen 1980). Portanto, quando presentes em altas concentrações, causam redução no potencial de inóculo, e com isso, na associação fungo-hospedeiro. Isto pode estar relacionado com a ausência de frutificações destes fungos em povoamentos florestais adultos que apresentam uma cobertura de acículas sobre o solo.

O efeito prejudicial das matérias orgânicas sobre as micorrizas pode ter sido compensado pelo seu efeito benéfico direto sobre o hospedeiro, através da melhoria das propriedades físicas e químicas do solo, pois, de um modo geral, houve tendência para maior desenvolvimento das mudas na presença de matéria orgânica, com exceção da torta de filtro (Tabelas 4 e 5).

Considerando-se a qualidade das mudas sob o aspecto do desenvolvimento micorrízico, pode-se concluir, pelos resultados obtidos, que a aplicação de matéria orgânica em concentrações relativamente altas no solo dos recipientes das mudas não teve vantagens para os fungos estudados. Por outro lado, embora a formação de micorrizas no solo sem matéria orgânica tenha sido boa (Tabelas 2 e 3), concentrações menores (abaixo de 10%) poderão propiciar efeito favorável. O efeito de baixas concentrações de matéria orgânica deve, pois, ser também investigado.

REFERÊNCIAS

- ALLISON, F.E. Soil organic matter and its role in crop production. London, Elsevier Scientific, 1973. 637p.
- BERRY, C.R. & MARX, D.H. Growth of loblolly pine seedlings in strip-mined kaolin spoil as influenced by sewage sludge. *J. Environ. Qual.*, 6:379-81, 1977.
- BETTIOL, W. Influência de algumas fontes de matéria orgânica na formação de ectomicorrizas em mudas de *Pinus caribaea* Morelet var. *hondurensis* Barret & Golfari pelos fungos *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch e *Thelephora terrestris* Ehr. & Fr. Pracicaba, ESALQ, 1984. 79p. Tese Mestrado.
- CHEN, C.C. & BUIJTENEN, J.P. van. Chemogenetic study of phenolic compounds extracted from loblolly pine (*Pinus taeda* L.) needles. *Silvae Genet.*, 29:205-8, 1980.
- DAVEY, C.B. & DANIELSON, R.M. Soil chemical factors and biological activity. *Phytopathology*, 58:900-8, 1968.
- FASSI, B.; JODICE, R. & DRIESSCHE, R. van den. Matière organique et mycorrhizes dans le développement des semis de *Pinus strobus*. *Allionia*, 18: 13-22, 1972.
- FLAIG, W. Progress in soil biochemistry in relation to plant production. s.l., Univ. of Tokyo, 1977. 35p.
- HENDERSON, M. The influence of trace elements on the metabolism of aromatic compounds by soil fungi. *J. Gen. Microbiol.*, 23:307-13, 1960.
- KENDRICK, W.B. Soil fungi of a copper swamp. *Can. J. Microbiol.*, 8:639-47, 1962.
- KRÜGNER, T.L. & TOMAZELLO FILHO, M. Efeitos dos fungos ectomicorrízicos *Pisolithus tinctorius* e *Thelephora terrestris* e de fertilização mineral no crescimento e sobrevivência de *Pinus caribaea* var. *bahamensis* em condições de campo, no litoral sul da Bahia. *IPEF*, 21:41-51, 1980.
- LEE, K.J. Correlation between ectomycorrhizal formation in *Pinus* and organic matter, nitrogen, phosphorus contents and acidity in the forest soil. In: INTERNATIONAL UNION OF FORESTRY RESEARCH ORGANIZATIONS WORLD CONGRESS, 17., Ibaraki, Japão, 1981. Proceedings. Ibaraki, s.ed., 1981. v.2, p.83-7.
- MARONEK, D.M.; HENDRIX, J.W. & CORNELIUS, P.L. Slow release fertilizers optimize mycorrhizal development in container-grown pine seedlings inoculated with *Pisolithus tinctorius*. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 107:1104-10, 1982.
- 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*, 59:153-63, 1969.
- MARX, D.H. Mycorrhizae and establishment of trees on stripmined land. *Ohio J. Sci.*, 75:289-97, 1975.
- MARX, D.H. Use of specific mycorrhizal fungi on tree roots for forestation of disturbed lands. In: CONFERENCE ON FORESTATION OF DISTURBED AREAS, Birmingham, 1976. Proceedings. s.l., s.ed., 1976. p.47-65.
- MARX, D.H. & BRYAN, W.C. Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine seedlings in fumigated soil infested with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius*. *For. Sci.*, Washington, 21: 245-54, 1975.
- MARX, D.H.; HATCH, A.B. & MENDICINO, J.F. High soil fertility decreases sucrose content and susceptibility of loblolly pine roots to ectomycorrhizal infection by *Pisolithus tinctorius*. *Can. J. Bot.*, 55: 1569-74, 1977.
- SLANKIS, V. Soil factors influencing formation of mycorrhizae. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 12:437-57, 1974.
- TOMAZELLO FILHO, M. & KRÜGNER, T.L. Formação de ectomicorrizas e crescimento de mudas de *Pinus oocarpa*, *P. caribaea* var. *hondurensis* e *P. Kesiya* em solo de recipientes infestado artificialmente com *Thelephora terrestris* e *Pisolithus tinctorius*. *Summa Phytopathol.*, 7:73-85, 1981.