

COMISSÃO III - BIOLOGIA DO SOLO

FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS PARA *PINUS* SPP. CULTIVADOS EM SOLOS SOB VEGETAÇÃO DE CERRADO⁽¹⁾

R. F. VIEIRA⁽²⁾ & J. R. R. PERES⁽²⁾

RESUMO

Este trabalho teve como objetivos determinar o teor de P para máximo efeito da simbiose entre *Pinus caribaea* var. *hondurensis* e o fungo *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch e selecionar, ao nível de P determinado no primeiro experimento, espécies ou isolados de fungos ectomicorrízicos eficientes para *Pinus*, para utilização em experimentos de campo. Realizaram-se dois experimentos em casa de vegetação em um latossolo vermelho-escuro, argiloso, de cerrado. No primeiro deles, aplicaram-se as doses seguintes de P: 0, 15, 30, 60, 120 e 240 ppm de P, que resultaram em 1,09, 1,83, 2,72, 5,50, 11,80 e 25,40 ppm de P extraível pelo método Mehlich 1. As percentagens de ectomicorrizas não foram afetadas pelo nível de P no substrato. O efeito da simbiose no crescimento das mudas, por outro lado, embora se manifestasse em todos os níveis de P, diminuiu de intensidade com o aumento das doses daquele elemento no substrato. A maior intensidade do efeito simbiótico ocorreu em 2,72 ppm de P extraível, nível esse escolhido para trabalhos de seleção de fungos ectomicorrízicos eficientes para *Pinus* spp. No segundo experimento, realizado no nível de P pré-selecionado, compararam-se sete isolados de fungos ectomicorrízicos no crescimento de *Pinus*. As percentagens de ectomicorrizas variaram entre os isolados. O micobionte exótico *Pisolithus tinctorius* 299 apresentou 84% de ectomicorrizas, enquanto, entre os outros fungos, a maior percentagem foi de 67%. A eficiência micorrízica na produção de matéria seca para as mudas inoculadas com o fungo *P. tinctorius* 299 foi de 538%, variando em torno de 110% para os outros três isolados, VP 8640, VP 8618 e VP 8646. Tais resultados demonstram a baixa eficiência das espécies de fungos ectomicorrízicos nativos do Cerrado em relação à espécie exótica *P. tinctorius*.

Termos de indexação: fungos ectomicorrízicos, simbiose, níveis de fósforo.

SUMMARY: ECTOMYCORRHIZAL FUNGI FOR *PINUS* SPP. CULTIVATED ON SOIL UNDER "CERRADO" VEGETATION

*The objective of this work was to determine the level of phosphorus for maximum symbiosis efficiency between *Pinus caribaea* var. *hondurensis* and the ectomycorrhizal fungal *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch, as well as to select at the P level determined in the first experiment, isolates or species of efficient ectomycorrhizal fungi for *Pinus* in order to be used in field experiments. Two experiments were carried out in the greenhouse in a Dark Red Oxisol originally under "cerrado" vegetation. The P levels applied in the first experiment were 0, 15, 30, 60, 120 and 240 ppm of P, which resulted in 1.09, 1.83, 2.72, 5.50, 11.80 and 25.40 ppm of P extracted by Mehlich 1. The percentages of ectomycorrhizal were not affected by P levels on the substrate. The effect of the symbiosis on seedlings growth decreased with the increasing levels of phosphorus on the substrate although it was detected for all P levels. The symbiotic ef-*

⁽¹⁾ Recebido para publicação em maio de 1989 e aprovado em janeiro de 1990.

⁽²⁾ Engenheiro-Agrônomo, EMBRAPA-CPAC, Caixa Postal 70.0023, 73300 Planaltina (DF).

fect was highest at the level of 2.72 ppm of extractable P, and this level was the one chosen for the selections of efficient ectomycorrhizal fungi on *Pinus* spp. In the second experiment, carried out with the pre-selected P level, seven isolates of ectomycorrhizal fungi were tested on *Pinus*. The percentages of ectomycorrhizae varied among the isolates. The exotic mycobiont *Pisolithus tinctorius* 299 showed 84% of ectomycorrhizae, whereas the native fungi from Cerrados VP 8640, VP 8618 and VP 8646, presented 52%, 67% and 44%, respectively. The other isolates either presented a very low percentage of ectomycorrhizal or formed no mycorrhizae on seedlings of *Pinus* sp. The mycorrhizal efficiency for *P. tinctorius* 299 on dry matter yield of seedlings was 538%, as compared to check seedlings, while for the other three isolates VP 8640, VP 8618 and VP 8646 that value was about 110%. These results demonstrated the low efficiency of species of ectomycorrhizal native fungi from Cerrado soils as compared to *P. tinctorius*.

Index terms: ectomycorrhizal fungi, symbiosis, phosphorus levels.

INTRODUÇÃO

Vários trabalhos têm demonstrado a importância da inoculação das mudas de *Pinus* spp. com fungos ectomicorrízicos para seu melhor crescimento e desenvolvimento no campo (Marx, 1977, e Marx et al., 1985). Esses fungos, porém, variam na sua habilidade para colonizar mudas de *Pinus* e na sua capacidade para atuar eficientemente na simbiose. Tal variação ocorre entre espécies diferentes de fungos ectomicorrízicos (Marx et al., 1978) e entre isolados de uma mesma espécie. Ford et al. (1985), após inocularem mudas de *P. taeda* L. com quatro espécies de fungos ectomicorrízicos, constataram que as mudas micorrizadas pelo fungo *Scleroderma aurantium* eram maiores e possuíam maior grau de colonização micorrízica. Marx (1981) encontrou grande variação entre isolados de *Pisolithus tinctorius* quanto à capacidade de formação de ectomicorrizas em mudas de *P. taeda* L.

O nível de fósforo no solo pode afetar tanto a taxa de colonização das mudas pelo fungo ectomicorrízico como a eficiência da associação simbiótica. A maioria dos estudos sobre este assunto visou determinar o nível de fósforo para máxima colonização, e não o nível desse elemento onde a eficiência da simbiose fosse a máxima; isso, todavia, é importante para utilizar em experimento de seleção de fungos ectomicorrízicos eficientes. Esse tipo de trabalho praticamente não existe para solos da região do Cerrado.

Este trabalho, portanto, tem como objetivos determinar o teor adequado de P extraível em um solo de Cerrado para maior eficiência da associação ectomicorrízica, visando à seleção de fungos, e avaliar o efeito de *P. tinctorius* e de seis fungos ectomicorrízicos isolados de plantios de *Pinus* do Cerrado no crescimento de mudas de *P. caribaea* var. *hondurensis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Efetuaram-se dois experimentos em casa de vegetação, utilizando-se solo coletado da camada de 0-20cm de um latossolo vermelho-escuro textura argilosa, no Centro de Pesquisa Agropecuária do Cerrado,

Brasília, DF. O solo foi passado em peneira de 2mm e autoclavado a 121°C por 60 minutos. A análise química e física indicou pH (H_2O) de 4,8, 1,40 meq de $Al^{3+}/100ml$, 0,50 meq de $Ca^{2+} + Mg^{2+}/100ml$, 1,09 ppm de P, 11 ppm de K, 53% de argila, 3% de silte, 36% de areia fina e 8% de areia grossa.

A adubação básica para os dois experimentos era constituída por 100 ppm de K (cloreto de potássio), 100 ppm de N (sulfato de amônio), 12,5mg/vaso de FTE BR 12 e 0,25g/vaso de calcário dolomítico (PRNT 100%). A umidade do solo foi mantida em 80% de sua capacidade de campo (28%).

Primeiro experimento — Utilizaram-se vasos de 1kg de solo. Uma combinação fatorial de seis níveis de fósforo e dois tratamentos de inoculação (*Pisolithus tinctorius* 299 e testemunha sem inoculação) foi distribuída em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Empregaram-se 0, 15, 30, 60, 120 e 240 ppm de P, na forma de superfosfato triplo, que resultaram em 1,09, 1,83, 2,72, 5,50, 11,80 e 25,40 ppm de P extraível pelo método Mehlich 1.

Semente de *P. caribaea* var. *hondurensis*, previamente desinfetadas com H_2O_2 a 30% por vinte minutos, foram pré-germinadas em areia esterilizada e transplantadas vinte dias após o semear, recobrindo, cada vaso, uma muda.

Para a produção do inoculante, deixou-se o fungo *P. tinctorius* 299 crescer por doze dias em placas-de-pétri contendo o meio Merlin-Norkrans modificado (MNM) (Marx, 1969). Ao término desse período, transferiram-se discos de 5mm de diâmetro, retirados das bordas das colônias, para a superfície de 2.000ml do meio MNM líquido, contidos em frascos-de-erlenmeyer de 4.000ml. O inóculo obtido ao fim de dezesseis dias de crescimento foi lavado com água destilada, fragmentado por cinco segundos no liquidificador com 1.000ml de água, acondicionado em erlenmeyer a 5°C por 24 horas e aplicado às plantas com uma seringa de 100ml (Vieira & Peres, 1989). Cada muda recebeu 20ml do inoculante. A primeira inoculação foi realizada dezesseis dias após o transplantio. Vinte e oito dias depois foi realizada uma segunda inoculação, para garantir a eficiência da mesma.

O experimento foi colhido decorridos 120 dias do transplantio. A parte aérea das plantas foi seca em estufa a 70°C por 72 horas, pesada e submetida à

análise química para determinar as concentrações de P, N, K, Ca e Mg. Na análise da parte aérea, empregou-se a digestão por via úmida, com ácido sulfúrico e água oxigenada (Tedesco, 1982). As concentrações de Ca e Mg foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica; a de K, por fotometria de chama; a de P, conforme o método de Murphy & Riley (1962) e, a de N, pelo de Bremner & Keeney (1965). O sistema radicular foi lavado, pesado e analisado quanto à percentagem de ectomicorrizas, avaliada visualmente. Os outros parâmetros analisados foram diâmetro do colo e altura das mudas. A eficiência micorrízica foi calculada, utilizando-se a seguinte fórmula:

$$(M - NM/NM) \times 100$$

onde M representa as mudas micorrizadas e NM, as não-micorrizadas. Na análise estatística dos dados, utilizou-se o teste de Duncan (Gomes, 1970).

Segundo experimento — Estudou-se a seleção de fungos ectomicorrízicos eficientes, utilizando, além da adubação básica citada, 30 ppm de fósforo. O plantio foi realizado em sacos plásticos escuros com capacidade para 400g de solo.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com oito tratamentos de inoculação (incluindo a testemunha) e cinco repetições. Os fungos empregados como inoculantes tiveram as seguintes procedências: VP 8617 e VP 8646 (*P. tinctorius*) coletados sob plantação de *Pinus* na região do Cerrado no DF; VP 8627 (*P. tinctorius*), coletado sob plantação de *Pinus* comercial na Floril, no Oeste da Bahia; VP 8614 (*Suillus* sp.) coletado sob plantação de *P. insularis* de dezesseis anos de idade na região do Cerrado no DF, VP 8618 (*Rhizopogon nigrescens*), coletado sob plantação de *P. insularis* de dezesseis anos de idade na região do Cerrado do DF; VP 8640 isolado de raízes de mudas inoculadas com acículas coletadas sob plantação de *Pinus* na região do Cerrado do DF e *P. tinctorius* 299, isolado de raízes de mudas inoculadas com o fungo

P. tinctorius 298 originalmente dos EUA. Para a produção do inoculante, deixaram-se os fungos crescer por quinze dias em placas-de-pétri contendo o meio MNM (Marx, 1969). Ao término desse período, transferiram-se dez discos de 10mm de diâmetro, retirados das bordas das colônias, para erlenmeyers de 500ml contendo 300ml de vermiculita, 10ml de pó de xaxim e 175ml de meio de cultura MNM líquido (Marx & Bryan, 1975), previamente esterilizados a 121°C por 40 minutos. Prepararam-se dois frascos para cada isolado. Após doze semanas de crescimento a 28°C, o inóculo foi removido dos frascos, colocado sobre peneiras cobertas com gase e lixiviado com água corrente. Removeu-se o excesso de água, apertando-se o inóculo com a gase. Os inoculantes foram colocados em sacos plásticos, armazenados a 5°C por 24 horas e misturados ao solo na proporção de 1:8 (v/v) antes do transplantio das mudas. As sementes de *P. caribaea* var. *hondurensis* foram pré-germinadas em bandejas com areia esterilizada e transplantadas vinte dias após a semeadura. Para que a diferença entre os isolados pudesse manifestar-se melhor, transferiram-se as mudas, ao final de dois meses e meio para vasos com capacidade para 1kg de solo.

O experimento foi colhido sessenta dias após o transplantio para os vasos, sendo os parâmetros de crescimento e a percentagem de ectomicorrizas determinados conforme descrito para o primeiro experimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito de diferentes níveis de P na resposta da planta à inoculação com o fungo *P. tinctorius* 299 e na percentagem de ectomicorrizas é apresentado no quadro 1. A taxa de ectomicorrizas foi alta em todos os níveis de fósforo aplicados; no tratamento com 1,09 ppm de P extraível, esta taxa foi de 74%. Nos outros níveis de P, as percentagens de ectomicorrizas variaram em torno de 90%, independentemente do nível daquele elemento no solo. Vários pesquisadores, como Marx et al. (1977) e Piché & Fortin (1982), mostraram uma relação inversa entre a disponibilidade de P e o desenvolvimento de raízes micorrizadas em espécies de *Pinus*. Essa relação não foi observada neste trabalho, onde um aumento na disponibilidade de P extraível no solo de 1,83 para 25,4 ppm não alterou as percentagens de ectomicorrizas das mudas. Resultados semelhantes a esses foram também obtidos por Hart et al. (1980), em mudas de *P. caribaea* var. *hondurensis* inoculadas com solo contendo fungos ectomicorrízicos.

No quadro 1 são também apresentados os efeitos da inoculação com o fungo *P. tinctorius* 299 na matéria seca da parte aérea e das raízes e na altura e no diâmetro do colo das mudas de *Pinus*. Com exceção da matéria seca das raízes no nível de 25,40 ppm de P extraível e da altura das mudas nos níveis de 11,80 e 25,40 ppm de P extraível, houve um efeito significativo da inoculação em todos aqueles parâmetros, independentemente do nível de P aplicado. Tal efeito simbiótico, porém, foi mais pronunciado nas mudas cultivadas em vasos com 1,83, 2,72 e 5,50 ppm de P extraível, ocorrendo com maior intensidade para o acúmulo de matéria seca da parte aérea do que para os outros parâmetros avaliados. Nos níveis de 1,83 e 2,72 ppm de P extraível, as taxas médias de aumento dos parâmetros matéria seca da parte aérea e das raízes foram em torno de sete e quatro vezes, respectivamente, em relação às testemunhas. Nas mudas cultivadas em vasos com 5,50 ppm de P extraível, a inoculação produziu um aumento em torno de quatro e duas vezes, respectivamente, na produção de matéria seca da parte aérea e das raízes, em relação às mudas não inoculadas. Para os parâmetros altura e diâmetro do colo das mudas, esse aumento foi em torno de duas vezes para os três níveis de fósforo. Embora tenha sido considerável a resposta à inoculação das mudas crescendo a 1,09, 11,80 e 25,40 ppm de P extraível, sua amplitude foi inferior às obtidas pelas mudas nos outros três níveis de fósforo.

No quadro 2 encontram-se as quantidades de nutrientes acumulados na parte aérea das mudas de *P. caribaea* nos vários tratamentos. O maior efeito da simbiose na absorção de P pelas mudas de *Pinus* foi observado em 1,83, 2,72 e 5,50 ppm de P extraível. Nesses níveis, as mudas inoculadas absorveram 27, 28 e 15

vezes mais P, respectivamente, quando comparadas àquelas sem inoculação. Em 11,80 e 25,40 ppm de P extraível, a absorção de P pelas plantas inoculadas foi de, respectivamente, seis e três vezes à obtida pelas testemunhas; no menor nível de P, não se verificou diferença significativa. Do mesmo modo, houve também um aumento significativo na absorção de K, N, Ca e Mg pelas mudas micorrizadas, em relação às sem inoculação, em todos os tratamentos, excetuando-se para o K, Ca e Mg no menor nível de fósforo.

Verifica-se nesse quadro que, em todos os níveis de P no solo, à exceção de 1,09 ppm, houve maior concentração do elemento nas mudas inoculadas do que nas sem inoculação. Nos demais nutrientes, a inoculação só teve efeito na percentagem de N no menor nível de P e, na de K em 2,72 ppm de P extraível. Esses resultados indicam que o maior crescimento das mudas inoculadas, em todos os níveis de P, pode estar relacionado com a maior eficiência das mudas micorrizadas na absorção de fósforo; essa eficiência, porém,

Quadro 1. Matéria seca da parte aérea e das raízes, altura, diâmetro do colo e percentagem de ectomicorrizas de *P. caribea* var. *hondurensis* em resposta à inoculação com *P. tinctorius* 299 em seis níveis de fósforo aplicados em um latossolo vermelho-escuro sob vegetação de cerrado

Aplicado	Fósforo ppm	Tratamento de inoculação ⁽¹⁾	Matéria seca		Altura cm	Diâmetro do colo	Ectomicor- rizas ⁽²⁾
			Parte aérea g/vaso	Raiz			
0	1,09	SI	0,26b	8,70b	0,26b	1,34b	0
		Pt 299	0,83a	13,70a	0,71a	2,12a	74
15	1,83	SI	0,26b	10,10b	0,23b	1,42b	0
		Pt 299	1,83a	21,80a	1,04a	3,40a	84
30	2,72	SI	0,37b	11,50b	0,29b	1,70b	0
		Pt 299	2,46a	23,20a	1,18a	4,14a	90
60	5,50	SI	0,59b	13,10b	0,51b	2,13b	0
		Pt 299	2,60a	23,40a	1,36a	4,26a	87
120	11,80	SI	1,10b	17,90b	1,16a	2,58b	0
		Pt 299	2,57a	26,40a	1,14a	4,47a	87
240	25,40	SI	1,42b	21,0a	1,54a	3,18b	0
		Pt 299	3,06a	23,7a	1,51a	4,48a	90

(1) SI: Sem inoculação; Pt 299: *Pisolithus tinctorius* isolado 299. (2) Estimativa visual.

Os valores na mesma coluna, dentro de cada tratamento de fósforo, seguidos de letras iguais, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%

Quadro 2. Concentração e quantidade de macronutrientes acumulados na parte aérea das mudas de *P. caribea* var. *hondurensis* em resposta à inoculação com *Pisolithus tinctorius*, em seis níveis de fósforo aplicados em um latossolo vermelho-escuro sob vegetação de cerrado

Aplicado	Fósforo ppm	Tratamento de inoculação ⁽¹⁾	%				mg/planta					
			P	K	N	Ca	Mg	P	K	N		
0	1,09	SI	0,04a	1,63	1,98	0,29	0,15	0,10a	3,94a	4,78b	0,70a	0,36a
		Pt 299	0,05a	1,27	2,92	0,20	0,13	0,44a	10,47a	24,14a	1,70a	1,09a
15	1,83	SI	0,04b	1,12	2,21	0,28	0,15	0,10b	2,96b	5,85b	0,74b	0,39b
		Pt 299	0,14a	1,30	2,48	0,18	0,18	2,68a	25,58a	48,40a	3,50a	3,56a
30	2,72	SI	0,04b	0,80	2,91	0,18	0,15	0,17b	3,02b	10,83b	0,66b	0,55b
		Pt 299	0,18a	1,42	2,19	0,19	0,16	4,70a	38,07a	56,67a	5,11a	4,14a
60	5,50	SI	0,07b	1,30	3,07	0,25	0,15	0,37b	6,97b	16,31b	1,33b	0,79b
		Pt 299	0,20a	1,35	2,22	0,21	0,17	5,56a	37,24a	60,89a	5,71a	4,64a
120	11,80	SI	0,08b	1,33	2,64	0,22	0,15	1,00b	16,25b	31,84b	2,57b	1,88b
		Pt 299	0,26a	1,41	2,53	0,20	0,17	6,09a	33,06a	59,38a	4,61a	3,90a
240	25,40	SI	0,20b	1,59	2,80	0,22	0,19	3,0b	25,48b	44,19b	3,55b	3,09b
		Pt 299	0,19a	1,43	2,41	0,21	0,20	9,06a	44,67a	75,77a	6,48a	6,35a

(1) SI: Sem inoculação; Pt 299: *Pisolithus tinctorius* isolado 299.

Os valores na mesma coluna, dentro de cada tratamento de fósforo, seguidos de letras iguais, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%.

variou com o nível de P presente no substrato, tendo atingido o máximo de 250 e 350%, respectivamente, em relação às mudas testemunhas, nos níveis de 1,83 e 2,72 ppm de P extraível. Como se pode observar na figura 1, a maior eficiência micorrízica na produção de matéria seca (índice que traduz a contribuição percentual das micorrizas para esse acúmulo) ocorreu também nesses dois níveis de P.

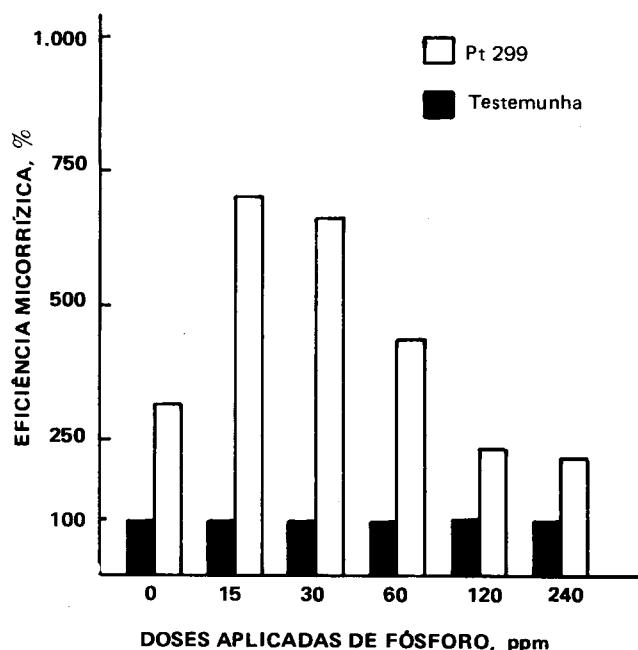


Figura 1. Eficiência micorrízica na produção de matéria seca de mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* inoculadas com o fungo *Pisolithus tinctorius* 299 (Pt 299).

Considerando os resultados obtidos nos níveis de 1,83 e 2,72 ppm de P extraível, para trabalhos que visem à seleção de fungos ectomicorrízicos eficazes, deverá ser utilizado um nível baixo de fósforo. Devido à maior produção de matéria seca, o nível de 2,72 ppm de P extraível seria mais adequado do que o nível de 1,83 ppm, pois facilitaria a avaliação dos parâmetros de crescimento.

Efetuou-se um segundo experimento no sentido de selecionar fungos ectomicorrízicos eficientes para *Pinus caribaea* var. *hondurensis*, para serem posteriormente testados a nível de campo. Para esta seleção, foi escolhido o nível de P selecionado no primeiro experimento.

O quadro 3 mostra o efeito de vários fungos no crescimento e na percentagem de ectomicorrizas das mudas de *Pinus*; tal percentagem variou entre os fungos. Para os isolados Pt 299, VP 8640, VP 8618, VP 8646 e VP 8627, as taxas de ectomicorrizas foram de 84, 52, 67, 44 e 7% respectivamente. Os isolados VP 8614 e VP 8617 não formaram ectomicorrizas. Segundo Marx (1981), na seleção de fungos ectomicorrízicos para utilização em escala comercial, um fator a considerar seria a capacidade do fungo de sobreviver às várias etapas da produção do inoculante; VP 8614 e VP 8617 podem não ter sobrevivido a tais manuseios.

Quadro 3. Matéria seca da parte aérea, altura, diâmetro do colo e percentagem de ectomicorrizas em mudas de *P. caribaea* var. *hondurensis* inoculadas com diferentes fungos ectomicorrízicos

Isolados de fungos ectomicorrízicos	Matéria seca da parte aérea g/vaso	Altura cm	Diâmetro do colo	Ectomicorrizas ⁽¹⁾ %
Pt 299	1,85a	17,30a	3,58a	84a
VP 8640	0,69b	13,90b	2,44b	52c
VP 8618	0,64bc	11,20c	2,16bc	67b
VP 8646	0,49bcd	8,70cd	1,78cd	44c
VP 8617	0,43cd	9,24cd	1,70d	0d
VP 8614	0,36d	7,88d	2,30b	0d
VP 8627	0,34d	7,00d	1,60d	7d
Testemunha	0,29d	6,60d	1,80cd	0d

(1) Estimativa visual.

Os valores na mesma coluna, seguidos de letras iguais, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%.

As mudas inoculadas com o fungo Pt 299 produziram 6,40, 2,68, 2,89 e 3,77 vezes mais matéria seca que as testemunhas e as inoculadas com os fungos VP 8640, VP 8616 e VP 8646 respectivamente. Isso indica menor eficiência dos fungos nativos dos Cerrados, quando comparados à espécie exótica *P. tinctorius*. Do mesmo modo, as mudas inoculadas com Pt 299 tiveram maior altura e apresentaram maior diâmetro do colo que todos os outros tratamentos.

O quadro 4 indica as quantidades de nutrientes acumulados pelas mudas de *Pinus* inoculadas com os fungos Pt 299, VP 8640, VP 8618 e VP 8646. Os outros isolados não aparecem, uma vez que não colonizaram as mudas de *Pinus*. As inoculadas com o fungo Pt 299 absorveram em torno de 28 vezes mais P, cinco vezes mais N, oito vezes mais K, quatro vezes mais Ca e cinco vezes mais Mg do que as mudas testemunhas. As mudas inoculadas com os isolados VP 8640, VP 8618 e VP 8646 absorveram, em média, sete, duas e duas vezes mais P, N e K respectivamente do que as não inoculadas. Para esses três isolados, as quantidades de Ca e Mg acumuladas na parte aérea das mudas de *Pinus* não diferiram daquelas obtidas pelas testemunhas.

Conforme discutido no primeiro experimento, somente as concentrações de P da parte aérea das mudas inoculadas foram maiores que as obtidas pelas mudas sem inoculação (Quadro 4). As concentrações de N e K não diferiram entre o tratamento testemunha e alguns dos inoculados, e as de Ca e Mg foram maiores nas mudas sem inoculação. Esse aumento na eficiência de absorção de P tem sido sugerido por alguns autores como a causa principal do maior crescimento das mudas micorrizadas. Segundo Reid et al. (1983), as percentagens de N e P em mudas de *P. contorta* inoculadas com *P. tinctorius* e *S. granulatus* sugerem que o P, e não o N, poderá ser responsável pela acentuada resposta das mudas à inoculação com os fungos micorrízicos. Em um trabalho realizado por Hart et al. (1980), embora os autores não discorram sobre as principais

causas do maior crescimento das mudas inoculadas, observou-se que as mudas micorrizadas de *P. caribaea* var. *hondurensis* foram significativamente maiores que as testemunhas e apresentaram maior concentração de fósforo na parte aérea, o que não ocorreu com os outros nutrientes. Do mesmo modo, Vieira & Peres (1989) observaram que o maior crescimento das mudas de *Eucalyptus grandis* no menor nível de P utilizado pelos autores, foi em função da maior eficiência na absorção de P pelas mudas micorrizadas.

Nos resultados do segundo experimento, porém – Figura 2 – a eficiência micorrízica do fungo VP 8646, na produção de matéria seca da parte aérea das mudas de *Pinus*, foi bem inferior à obtida com o Pt 299, embora a concentração de P nas mudas inoculadas com ambos os fungos não diferisse significativamente. Tal fato nos leva a considerar que o maior crescimento das mudas de *Pinus* micorrizadas é mais do que uma função da maior eficiência na absorção de fósforo. Por outro lado, deve-se também considerar que o fungo VP 8646 é um *Pisolithus tinctorius* coletado em plantas de *Pinus* na área do Cerrado, onde praticamente inexiste a

espécie. Tal plantio é, contudo, circundado pelos de eucalipto, onde a incidência de basidiocarpos de *P. tinctorius* é grande; este fungo, na verdade, pode ser um simbionte de eucalipto, incapaz, portanto, de manter uma simbiose perfeita com as espécies de *Pinus*. Embora Malajczuk et al. (1982) citassem que o fungo *P. tinctorius* de eucalipto não infectasse mudas de *Pinus*, tal fato foi conseguido em condição de laboratório por Vieira⁽³⁾.

Considerando-se a baixa eficiência dos fungos ectomicorrízicos do Cerrado principalmente em relação à espécie *P. tinctorius* 299, um programa de seleção de fungos deve ser realizado no sentido de melhorar a performance das mudas de *Pinus* após o seu transplantio para o campo. Algumas das espécies testadas neste experimento podem ter sido introduzidas nos Cerrados através de plantios de mudas inoculadas com acículas provenientes de outras regiões. Estes fungos podem não ter-se adaptado às novas condições de clima e solo da região do Cerrado ou serem mesmo de baixa eficiência, quando comparado ao *P. tinctorius* 299.

A obtenção de fungos ectomicorrízicos capazes de colonizar raízes de *Pinus* em níveis elevados de P (conforme verificado para o Pt 299 no primeiro experimento) é uma característica altamente desejável, se se considerar o alto nível deste elemento normalmente utilizado nos viveiros para produção de mudas de *Pinus* (Carvalho et al., 1983). A colonização pelo fungo ectomicorrízico na fase de viveiro, porém, não estaria obrigatoriamente associada a um grande efeito da simbiose no crescimento da planta para obtenção de uma adequada resposta a nível de campo (Marx et al., 1985). Após o transplantio das mudas, outros fatores, como a adubação, poderiam influenciar mais na resposta das mudas à inoculação do que o seu crescimento no viveiro em função da simbiose (Vieira & Peres)^{(4),(5)}.

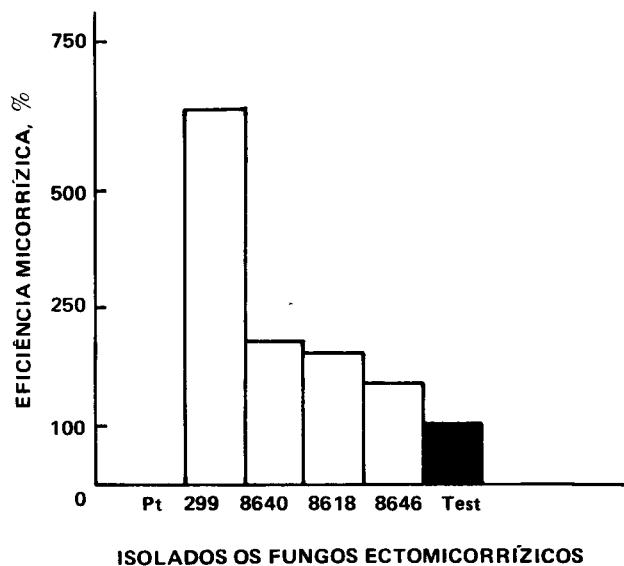


Figura 2. Eficiência micorrízica na produção de matéria seca de mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*.

(3) R.F. VIEIRA. Síntese "in vitro" de micorrizas em mudas de *Pinus* sp. utilizando-se vários isolados de *P. tinctorius*. Em preparo.

(4) R.F. VIEIRA & J.R.R. PERES. Efeito da inoculação de mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* com o fungo *P. tinctorius*, em dois níveis de adubação em um solo sob vegetação de Cerrados. Em preparo.

(5) R.F. VIEIRA & J.R.R. PERES. Seleção de fungos ectomicorrízicos para *Pinus* spp. cultivados em um solo sob vegetação de Cerrado. Brasília, Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados, 1989. Pesquisa em andamento.

Quadro 4. Concentração e quantidade de macronutrientes acumulados na parte aérea das mudas de *P. caribaea* var. *hondurensis* inoculadas com diferentes fungos ectomicorrízicos

Isolados de fungos ectomicorrízicos	P	N	K	Ca	Mg	P	N	K	Ca	Mg
	%	mg/planta								
Pt 299	0,21a	2,70b	1,54a	0,24b	0,22b	3,93a	48,68a	26,45a	4,34a	4,15a
VP 8640	0,13b	3,00b	1,35b	0,21b	0,19b	0,88b	20,00bc	9,46b	1,38b	1,30b
VP 8618	0,13b	3,41a	1,20b	0,24b	0,20b	0,85b	21,80b	7,75bc	1,55b	1,28b
VP 8646	0,20a	3,50a	1,40b	0,20b	0,19b	0,98b	16,88c	7,13bcd	1,15b	0,93b
Testemunha	0,05c	2,77b	1,21d	0,40a	0,32a	0,14c	9,51d	3,42d	1,13b	0,90b

Os valores na mesma coluna, seguidos de letras iguais, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%.

CONCLUSÕES

1. Para a seleção de espécies de fungos ectomicorrízicos eficientes, deve-se utilizar um nível de fósforo baixo, ou seja, em torno de 2,72 ppm de P extraível.
2. O nível de fósforo no substrato não afetou a formação de micorrizas pelo fungo *Pisolithus tinctorius* 299 nas mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*.
3. O efeito da simbiose no hospedeiro, embora se manifestasse em todos os níveis de P, diminuiu de intensidade com o aumento do nível de P no substrato.
4. Os fungos ectomicorrízicos isolados na região do Cerrado são de baixa eficiência simbiótica em relação ao *Pisolithus tinctorius*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o valioso auxílio na instalação e condução dos experimentos ao Técnico de Laboratório Valter Lopes, ao Auxiliar de Laboratório José de Moraes e ao Operário de Campo Alair Neves.

LITERATURA CITADA

- BREMNER, J.M. & KEENEY, D.R. Steam distillation methods for determination of ammonia, nitrate and nitrite. *Anal. Chem. Acta*, Amsterdam, 32:485-495, 1965.
- CARVALHO, J.G.; CASTRO, H.A. de: YAMADA, I. & SPELTZ, G.E. Nutrição mineral de Pinus. In: HAAG, H.P., ed. Nutrição mineral de Eucaliptus, Pinus, Araucaria e Gmelina no Brasil. Campinas, Fundação Cargill, 1983. cap. 2., p.71-134.
- FORD, V.L.; TORBERT JR., J.L.; BURGER, J.A. & MILLER, O.K. Comparative effects of four mycorrhizal fungi on loblolly pine seedlings growing in a greenhouse in a Piedmont soil. *Pl. Soil*, Dordrecht, 83:215-221, 1985.
- GOMES, F.P. Curso de estatística experimental. Piracicaba, Universidade de São Paulo, 1970. 430p.
- HART, P.B.S.; WINDDOWSON, J.P.; WATTS, H.M. & CHUCHOU, M. Response of *Pinus caribaea* var. *hondurensis* seedlings to mycorrhizal inoculum, phosphorus and pH. *Aust. For. Res.*, Camberra, 10:389-396, 1980.
- MALAJCZUK, N.; MOLINA, R. & TRAPPE, J.M. Ectomycorrhiza formation in Eucalyptus. I. Pure culture synthesis, host specificity and mycorrhizal compatibility with *Pinus radiata*. *New Phytol.*, London, 91:467-482, 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. *Phytopathol.*, St. Paul, 59:153-163, 1969.
- MARX, D.H. The role of mycorrhizae in forest production. TAPPI - Conference Papers, Annual Meeting February 14-16, Atlanta, GA, 1977. p.151-161.
- MARX, D.H. Variability in ectomycorrhizal development and growth among isolates of *Pisolithus tinctorius* as affected by source, age and reisolation. *Can. J. For. Res.*, Ottawa, 11:168-174, 1981.
- MARX, D.H. & BRYAN, W.C. Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine seedlings in fumigated soil infested with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius*. *Forest Sci.*, Washington, 21:245-254, 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.*, Ottawa, 55:1569-1574, 1977.
- MARX, D.H.; HENDIN, A. & TOE IV, S.F.P. Field performance of *P. caribaea* var. *hondurensis* seedlings with specific ectomycorrhizae and fertilizer after three years on a savanna site in Liberia. *For. Ecol. Manag.*, Amsterdam, 13:1-25, 1985.
- MARX, D.H.; MORAIS, W.G. & MEXAL, J.G. Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine seedlings in fumigated and nonfumigated nursery soil infested with different fungal symbionts. *Forest Sci.*, Washington, 24:193-203, 1978.
- MURPHY, J. & RILEY, J.P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chem. Acta*, Amsterdam, 27:31-36, 1962.
- PICHÉ, Y. & FORTIN, J.A. Development of mycorrhizal extramatrical mycelium and sclerotia on *Pinus strobus* seedlings. *New Phytol.*, London, 91:211-220, 1982.
- REID, C.P.P.; KIDD, F.A. & EKWEBELAM, S.A. Nitrogen nutrition, photosynthesis and carbon allocation in ectomycorrhizal pine. *Pl. Soil*, Dordrecht, 71:415-432, 1983.
- TEDESCO, M.J. Extração simultânea de N, P, K, Ca e Mg em tecidos de plantas por digestão por H_2O_2 - H_2SO_4 . Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1982. 23p. (Informativo interno, 1)
- VIEIRA, R.F. & PERES, J.R.R. Seleção de fungos ectomicorrízicos eficientes para Eucalyptus grandis. *R. bras. Ci. Solo*, Campinas, 12(3):231-235, 1989.