

COMISSÃO III - BIOLOGIA DO SOLO

SELEÇÃO DE FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS EFICIENTES PARA *EUCALYPTUS GRANDIS*⁽¹⁾

R. F. VIEIRA⁽²⁾ & J. R. R. PERES⁽²⁾

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo selecionar isolados eficientes de *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch para inoculação em mudas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex-Maiden. O experimento foi conduzido em casa de vegetação em vasos contendo 2kg de um latossolo vermelho-escuro (LE), argilo-arenoso dos Cerrados. Dos níveis de P utilizados, 23 e 90 ppm, resultaram 3,3 e 13,4 ppm de P disponível. A percentagem de ectomicorrizas variou entre os isolados e entre os níveis de fósforo. No nível de 3,3 ppm de P disponível, as percentagens de ectomicorrizas foram altas para todos os isolados de *Pisolithus tinctorius*. Por outro lado, no nível mais elevado de P, houve uma variação significativa na percentagem de ectomicorrizas entre os isolados. O efeito positivo da simbiose entre fungos ectomicorrízicos e mudas de *Eucalyptus grandis* ficou bem evidenciado no nível mais baixo de fósforo. Tal efeito não foi observado no nível maior de P, apesar da alta percentagem de ectomicorrizas obtida com alguns isolados. Este trabalho reforça a necessidade de utilizar dois níveis de P nos trabalhos de seleção de fungos ectomicorrízicos eficientes para *Eucalyptus*.

Termos de indexação: Solo de cerrado, inoculação, níveis de fósforo.

SUMMARY: SELECTION OF EFFICIENT ECTOMYCORRHIZAE FUNGI FOR *EUCALYPTUS GRANDIS*

The objective of this research was to select efficient isolates of *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch for inoculation in *Eucalyptus grandis* W. Hill ex-Maiden seedlings. The experiment was conducted in the greenhouse in pots containing 2 kg of a Dark Red Latosol, clay-sand texture, which was originally under 'Cerrados' vegetation. Two levels of P (23 and 90 ppm) corresponding, respectively to 3.3 and 13.4 ppm of available P (Mehlich 1) were used. The percentage of ectomycorrhizae varied among isolates and P levels. For the treatment with 3.3 ppm of available P, the percentage of ectomycorrhizae was high in all isolates of *Pisolithus tinctorius*. There was a significant variation in the percentage of ectomycorrhizae in the highest P level. The positive effect of the symbiosis between the fungus and *Eucalyptus grandis* seedlings was more evident at the lowest P level. Such effect was not observed in the highest P level despite the high percentage of ectomycorrhizae obtained from some isolates. These results show the necessity of using two levels of P in selecting efficient fungi for *Eucalyptus grandis*.

Index terms: Cerrado soil, inoculation, phosphorus levels.

INTRODUÇÃO

A importância dos fungos ectomicorrízicos para o crescimento e desenvolvimento de mudas de *Pinus* spp. está bem documentada (Marks & Kozłowski, 1973; Marx et al., 1985). Para *Eucalyptus* spp., porém, embora experimentos em casa de vegetação tenham constatado a necessidade de inoculação das mudas em níveis baixos de P (Malajczuk et al., 1975; Soares, 1986; Vieira & Peres, 1988), não existem trabalhos demonstrando a adequabilidade da técnica para o melhor desempenho das mudas no campo.

Os fungos ectomicorrízicos são fisiológica e ecologicamente diversos, e uma forte variação ecotípica é encontrada entre isolados de uma mesma espécie (Trappe, 1977). Isolados de *Paxillus involutus*, por exemplo, variam na sua habilidade para formar ectomicorrizas em várias espécies de árvores (Laiho, 1970). Marx (1981) encontrou forte variação na capacidade de 21 isolados de *Pisolithus tinctorius* de formar ectomicorrizas em mudas de *Pinus taeda* L. Do mesmo modo, isolados de *Pisolithus tinctorius* utilizados por Molina (1979) variaram culturalmente na efetividade como inóculo ectomicorrízico e na sua capacidade de colonização das raízes de *Pinus contorta* Dougl.

(1) Recebido para publicação em março e aprovado em agosto de 1988.

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

Baseado na variação existente entre os fungos micorrízicos, Trappe (1977) enfatiza a necessidade de selecionar isolados de fungos para utilização em larga escala. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito simbiótico de seis isolados de *P. tinctorius* coletados na região dos Cerrados do Distrito Federal e em Viçosa (MG), no crescimento de *E. grandis*, para posterior utilização como inoculante em experimento de campo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação empregando-se vasos contendo 2kg de subsolo de um latossolo vermelho-escuro (LE) dos Cerrados. O solo seco foi passado em peneira de 2mm e autoclavado a 121°C por 60 minutos. Sua análise química e física indicou pH (H_2O) = 5,1; 0,92 meq de Al^{3+} /100ml; 0,36 meq de $Ca^{2+} + Mg^{2+}$ /100ml; 1,0 ppm de P, 4 ppm de K, 46% de argila, 6% de silte, 41% de areia fina e 7% de areia grossa. Na extração do P e K, usou-se a solução de Mehlich 1 (HCl 0,05N + H_2SO_4 0,025 N) e o Al e $Ca + Mg$ foram extraídos por KCl 1N.

A adubação básica foi constituída de 100 ppm de K (cloreto de potássio), 100 ppm de N (nitrato de amônio) e 20mg de FTE BR-12/vaso. Foi usado 0,5g/vaso de calcário dolomítico (PRNT 100%), para fornecer Ca e Mg como nutrientes. O N foi utilizado parceladamente aos 39, 62, 72 e 82 dias após o transplante. A umidade do solo foi mantida em 80% de sua capacidade de campo (28% de umidade).

Uma combinação fatorial de dois níveis de P e sete tratamentos de inoculação foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os níveis de P adotados foram 23 e 90 ppm de P na forma de superfosfato triplo, em pó. Os fungos usados como inoculantes tiveram as seguintes procedências: Pt 851, Pt 852, Pt 853 e Pt 854, isolados de basidiocarpo coletado sob plantação de *E. tereticornis* de dois anos de idade, na região dos Cerrados do DF; Pt 868, isolado de basidiocarpo coletado sob plantação de *E. citriodora* na mesma região, e Pt 82-1, coletado sob plantação de *Eucalyptus* sp. na região de Viçosa (MG).

Para a produção do inoculante, os fungos, crescidos em meio de cultura líquido, foram batidos no liquidificador e aplicados às plantas com uma seringa de 100ml (Vieira & Peres, 1988).

As sementes de *E. grandis*, previamente desinfestadas com H_2O_2 a 30% por dois minutos, foram semeadas em areia esterilizada. O transplante para os vasos ocorreu quando as plântulas apresentavam quatro folhas definitivas. A inoculação foi realizada decorridos dezessete dias do plantio, utilizando-se 10ml do inóculo. Uma segunda inoculação foi efetuada quinze dias após a primeira para garantia da infecção.

O experimento foi colhido noventa dias depois do transplante. A parte aérea das plantas foi seca em estufa a 70°C por 72h, pesada e analisada quimicamente para P, N, K, Ca e Mg. Na análise da parte aérea, empregou-se a digestão por via úmida, com ácido sulfúrico e água oxigenada. As concentrações de K, Ca e Mg foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica e a de P, conforme o método de Murphy & Riley (1962). O N foi determinado pelo método de Bremner & Keeney (1965). O

sistema radicular foi lavado, pesado e analisado quanto à percentagem de ectomicorizas.

Para avaliar essa percentagem, subamostras retiradas das raízes de cada planta foram lavadas e coradas com azul-de-algodão. Na quantificação, cem pedaços de raízes variando de 1 a 2cm foram retirados de cada amostra e montados em lâmina (Kormanik & McGraw, 1982). Na avaliação, observou-se a estrutura das raízes ao microscópio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a seleção de fungos ectomicorrízicos, foram usados dois níveis de P, conforme Vieira & Peres (1988). Segundo esses autores, os fungos ectomicorrízicos eficientes para *Eucalyptus* devem ser selecionados em doses baixas de P porque, durante a fase de muda, o efeito simbiótico somente é observado nesse nível. Entretanto, para a produção de mudas no viveiro, esse nível é baixo, devendo o fungo ser também capaz de micorrizar em um nível mais alto de fósforo. O fato de no viveiro as plantas não se beneficiarem das micorizas nesse nível de P não implicaria uma não-resposta das mudas após o transplante para o campo, onde normalmente o nível de P é baixo. Diante da grande variabilidade ecotípica encontrada entre isolados da mesma espécie de fungo ectomicorrízico (Trappe, 1977), poderá haver isolados que, apesar de eficientes no nível baixo de P, não micorrizem em um nível mais alto.

Todos os isolados de *P. tinctorius* testados formaram micorizas com o *E. grandis* nos dois níveis de P utilizados. A percentagem de ectomicorizas, porém, variou entre os isolados e entre os níveis de P (Quadro 1). No nível de 3,3 ppm de P extraível por Mehlich 1 (23 ppm de P aplicado), as percentagens de ectomicorizas de todos os isolados de fungos utilizados foram altas. Os isolados Pt 851 e Pt 82-1 apresentaram as maiores percentagens de ectomicorizas, ou seja, 76,3 e 75,8 respectivamente. Nas mudas inoculadas com os isolados Pt 852, Pt 853, Pt 854 e Pt 868, as percentagens de ectomicorizas foram de 59,0; 66,3; 70,0 e 66,3 respectivamente. Essas variações não foram, porém, significativamente diferentes entre si. As mudas testemunhas sem inoculação não formaram ectomicorizas nesse nível de fósforo.

No nível mais elevado de P, isto é, 13,4 ppm de P extraível (90 ppm de P aplicado), houve uma variação significativa na percentagem de ectomicorizas entre os isolados. Os isolados Pt 852, Pt 82-1 e Pt 868 tiveram uma percentagem de ectomicorizas de 65,3; 59,0 e 43,0% respectivamente, enquanto para os isolados Pt 853, Pt 851 e Pt 854, elas foram de 35,8; 34,4 e 10,8, respectivamente, bem abaixo da observada no nível de 3,3 ppm de P extraível. Esse comportamento diferenciado de isolados da mesma espécie de fungo em função do nível de P tem sido pouco divulgado na literatura. Por outro lado, é bem conhecido que a partir de determinado teor de P no solo a percentagem de ectomicorizas diminui significativamente (Mulette, 1976; Soares, 1986; Marx et al. 1977).

No quadro 1, encontram-se, além das percentagens de ectomicorizas, os dados de matéria seca da parte aérea e das raízes e altura das plantas nos dois níveis de P em resposta à inoculação com seis isolados de *P. tinctorius*. No nível mais baixo de P, com exceção do isolado Pt 854, as mudas apresentaram em média um peso 2,7 vezes maior do

que o verificado para as mudas não-inoculadas, evidenciando a grande dependência do *Eucalyptus* aos fungos ectomicorrízicos. O menor aumento no peso da matéria seca da parte aérea com o isolado Pt 854 (1,9 vez), mesmo com uma percentagem de ectomicorrizas alta (70), indica menor eficiência desse isolado quando comparado com os demais.

No nível de 13,4 ppm de P extraível, apesar de variarem de 10,7 a 65,3, as percentagens de ectomicorrizas não se relacionaram com as variações obtidas nos pesos de matéria seca da parte aérea e das raízes e da altura de planta. Como se pode observar no quadro 1, de modo geral, os pesos de matéria seca da parte aérea das mudas inoculadas foram menores do que o da testemunha (mudas sem inoculação). Tal efeito pode ser atribuído a um dreno de fotossintatos do hospedeiro pelo fungo micorrízico nesse nível de fósforo (Harley, 1978). Tal fato, muito comum em mudas de *Pinus* spp. (Marx et al., 1985), não implicaria uma não-resposta das mudas à inoculação após o transplante para o campo.

Nos quadros 2 e 3 são apresentados as quantidades e os teores de nutrientes acumulados na parte aérea das mudas de *E. grandis* nos vários tratamentos. No menor nível de P (3,3 ppm de P extraível), as mudas inoculadas absorveram em média por vaso 5,3 vezes mais P, 2,8 vezes mais K, 2,5 vezes mais N, 3,5 vezes mais Ca e 2,9 vezes mais Mg do que as não-inoculadas. Com exceção do isolado Pt 854, não houve diferença significativa na absorção de nutrientes entre os demais isolados.

Com relação ao maior nível de P (13,4 ppm de P extraível), não houve aumento nas quantidades acumuladas de nutrientes na parte aérea das mudas em função da inoculação, quando comparado ao tratamento testemunha.

A eficiência micorrízica é um índice que traduz a contribuição percentual das micorrizas para o acúmulo de

matéria seca da parte aérea, ou de outro parâmetro de crescimento, em relação às mudas testemunhas, sem inoculação. Como se pode ver no quadro 4, a eficiência micorrízica no menor nível de P para o parâmetro acúmulo de matéria seca na parte aérea das mudas de eucalipto, foi alta para todos os isolados, variando de 87,66 a 189,32%.

A maior eficiência micorrízica na produção de matéria seca da parte aérea das mudas, no menor nível de P, pode estar associada à maior eficiência de absorção de fósforo pelas mudas inoculadas, uma vez que as percentagens de K, N, Ca e Mg não diferiram das da testemunha para a maioria dos isolados (Quadro 3). Esses dados não coincidem com os de Vieira & Peres (1988): num mesmo nível de P aplicado, houve também um aumento na eficiência de absorção do N e do Ca pelas mudas de *E. grandis* inoculadas com o fungo *P. tinctorius*.

No maior nível de P, a maior eficiência na absorção de P somente ocorreu para as mudas inoculadas com os isolados Pt 851, Pt 852 e Pt 853, mesmo assim com uma amplitude bem inferior à obtida no menor nível de fósforo. As mudas inoculadas com os isolados Pt 854, Pt 868 e Pt 82-1, embora apresentassem maior índice de eficiência na absorção de P em relação à testemunha, não mostraram variação na concentração de P na parte aérea entre este tratamento e os inoculados. Apesar da maior eficiência na absorção de P pelas mudas inoculadas com alguns isolados, não houve contribuição das micorrizas no acúmulo de matéria seca da parte aérea; as micorrizas, contrariamente ao ocorrido no menor nível de P, ou causaram um decréscimo no peso da matéria seca da parte aérea ou não produziram nenhum efeito, sendo igual às mudas testemunhas, sem inoculação.

Conforme foi dito, dos isolados estudados, o Pt 854 e o Pt 82-1 apresentaram boa taxa de infecção nos dois níveis de fósforo. Os isolados Pt 851 e Pt 853, apesar de terem sido

Quadro 1. Pesos de matéria seca da parte aérea e das raízes, altura e percentagem de ectomicorrizas de *Eucalyptus grandis* em resposta à inoculação com seis isolados de *Pisolithus tinctorius* em dois níveis de fósforo aplicados em um LE de cerrado⁽¹⁾

Fósforo aplicado	Fósforo disponível	Isolados	Peso da matéria seca		Altura	Ectomicorrizas
			Parte aérea	Raízes		
ppm			g/vaso		cm/planta	%
23	3,3	Pt 851	5,70A	1,30AB	33,63A	76,34A
		Pt 852	5,76A	1,50AB	33,83A	59,00B
		Pt 853	5,96A	1,30AB	37,03A	66,30AB
		Pt 854	3,87B	1,60A	34,23A	70,00AB
		Pt 868	4,77A	1,40AB	33,75A	66,25AB
		Pt 82-1	5,80A	1,57A	39,60A	75,75A
		Testemunha	2,06C	0,67BC	23,95B	0,00C
90	13,4	Pt 851	6,20c	1,20b	40,00b	34,34b
		Pt 852	7,24bc	1,65b	38,85b	65,25a
		Pt 853	6,75bc	1,85ab	35,05b	35,85b
		Pt 854	8,52a	1,95a	42,27ab	10,75c
		Pt 868	9,26a	2,40a	49,87a	43,00b
		Pt 82-1	8,03ab	2,10a	47,37a	59,00a
		Testemunha	9,26a	2,67a	45,17ab	0,00d

⁽¹⁾ Os valores na mesma coluna, em cada nível de fósforo, seguidos de letras iguais, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%.

eficientes no nível mais baixo de P e apresentarem uma percentagem de ectomicorizas alta (76,3 e 66,3), ela baixou para 34,3 e 35,8 respectivamente no nível de 13,4 ppm de P extraível. Esses resultados reforçam a necessidade de utilizar dois níveis de P nos trabalhos de seleção de fungos eficientes. Se fosse usado neste experimento somente o nível onde se detecta a diferença na eficiência dos fungos (3,3 ppm de P extraível), os isolados Pt 851 e Pt 853 poderiam ser selecionados erroneamente, uma vez que

poderiam não infectar suficientemente as mudas em um nível de P mais alto onde elas são normalmente produzidas.

CONCLUSÕES

1. A eficiência simbiótica entre as mudas de *Eucalyptus grandis* e o fungo *Pisolithus tinctorius* somente se verificou no nível baixo de fósforo.

Quadro 2. Quantidade de macronutrientes acumulada na parte aérea das mudas de *Eucalyptus grandis* em resposta à inoculação com seis isolados de *Pisolithus tinctorius* em dois níveis de fósforo aplicados em um LE de cerrado⁽¹⁾

Fósforo aplicado	Fósforo disponível	Isolados	P	K	N	Ca	Mg
ppm			g/vaso				
23	3,3	Pt 851	4,94B	68,58AB	86,88A	67,31AB	15,95AB
		Pt 852	5,94A	75,85A	80,95AB	81,05A	18,19A
		Pt 853	6,14A	73,36A	85,32A	58,74AB	17,26A
		Pt 854	3,59C	58,98B	68,00B	47,43B	12,23B
		Pt 868	5,34AB	72,13A	75,26AB	58,19AB	14,27AB
		Pt 82-1	5,51AB	72,84A	80,90A	63,83AB	17,37A
		Testemunha	0,98D	25,10C	32,32C	18,63C	5,41C
90	13,4	Pt 851	7,22a	72,45c	84,90ab	84,51d	16,08c
		Pt 852	7,02a	79,30bc	81,74b	97,63d	16,19c
		Pt 853	7,22a	76,44bc	86,39ab	104,91cd	18,09bc
		Pt 854	7,21a	83,01ab	87,83ab	132,95abc	21,43ab
		Pt 868	7,71a	90,71a	88,14ab	138,34ab	24,62a
		Pt 82-1	7,20a	76,95bc	91,30ab	112,25bcd	20,02b
		Testemunha	6,96a	89,98a	95,97a	147,11a	24,35a

⁽¹⁾ Os valores na mesma coluna, em cada nível de fósforo, seguidos das mesmas letras, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%.

Quadro 3. Concentração de macronutrientes na parte aérea das mudas de *Eucalyptus grandis* em resposta à inoculação com seis isolados de *Pisolithus tinctorius* em dois níveis de fósforo aplicados em um LE de cerrado⁽¹⁾

Fósforo aplicado	Fósforo disponível	Isolados	P	K	N	Ca	Mg
ppm			%				
23	3,3	Pt 851	0,09B	1,20B	1,52AB	1,18ABC	0,28A
		Pt 852	0,10AB	1,35B	1,41B	1,41A	0,32A
		Pt 853	0,10AB	1,23B	1,45B	0,99BC	0,29A
		Pt 854	0,09B	1,54A	1,80A	1,24AB	0,32A
		Pt 868	0,12A	1,53A	1,64AB	1,23ABC	0,30A
		Pt 82-1	0,10B	1,29B	1,43B	1,11ABC	0,31A
		Testemunha	0,05C	1,24B	1,62AB	0,91C	0,27A
90	13,40	Pt 851	0,12a	1,18a	1,38a	1,35a	0,26a
		Pt 852	0,10bc	1,11abc	1,13ab	1,34a	0,23a
		Pt 853	0,11ab	1,16ab	1,33a	1,52a	0,27a
		Pt 854	0,09cd	0,98bc	1,04ab	1,57a	0,26a
		Pt 868	0,09cd	0,98bc	0,95b	1,51a	0,27a
		Pt 82-1	0,09cd	0,97bc	1,14ab	1,41a	0,25a
		Testemunha	0,08d	0,96c	1,04ab	1,59a	0,26a

⁽¹⁾ Os valores na mesma coluna, em cada nível de fósforo, seguidos das mesmas letras, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%.

Quadro 4. Eficiência micorrízica na produção de matéria seca e na concentração de fósforo na parte aérea das mudas de *Eucalyptus grandis* em resposta à inoculação com seis isolados de *Pisolithus tinctorius* em dois níveis de fósforo aplicados em um LE de cerrado⁽¹⁾

Fósforo aplicado	Fósforo disponível	Isolados	Matéria seca da parte aérea	Concentração de P na parte aérea
ppm			%	
23	3,3	Pt 851	176,70	80
		Pt 852	179,61	100
		Pt 853	189,32	100
		Pt 854	87,66	80
		Pt 868	131,55	140
		Pt 82-1	81,55	100
		Testemunha	0,00	0
90	13,4	Pt 851	-33,05	50
		Pt 852	-21,82	25
		Pt 853	-27,11	38
		Pt 854	-8,00	13
		Pt 868	0,00	13
		Pt 82-1	-13,29	13
		Testemunha	0,00	0

(1) Eficiência micorrízica = $(M - NM/NM) \times 100$, onde: M = mudas micorrízicas; NM = mudas não micorrízicas.

2. Os fungos ectomicorrízicos estudados infectaram diferentemente as mudas nos dois níveis de fósforo estudados.

3. Os resultados obtidos comprovam a necessidade de utilização de dois níveis de fósforo para seleção de fungos eficientes para *Eucalyptus* spp.

AGRADECIMENTOS

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

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.
- HARLEY, J.L. Ectomycorrhizas as nutrient absorbing organs. *Proc. Roy. Soc., London*, 203:1-21, 1978.
- KORMANIK, P.P. & MCGRAW, A.C. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. In: SCHENCK, N.C., ed. *Methods and principles of mycorrhizal research*. St. Paul, The American Phytopathological Society, 1982. p.37-45, cap. 4.
- LAIHO, O. *Paxillus involutus* as a mycorrhizae symbiotic of forest trees. *Acta For. Fenn.*, Helsinki, 106:1-73, 1970.
- MALAJCZUK, N.; MCCOMB, A.J. & LONERAGAN, J.F. Phosphorus uptake and growth of mycorrhizae and uninfected seedlings of *Eucalyptus calophylla*. *Aust. J. Bot.*, Victoria, 23:231-238, 1975.
- MARKS, G.C. & KOZLOWSKI, T.T. (Editors). *Ectomycorrhizae their ecology and physiology*. New York, Academic Press, 1973. 444p.
- 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.; 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.; HEDIN, A. & TOE IV, S.F.P. Field performance of *Pinus Caribaea* var. *hondurensis* seedlings with specific ectomycorrhizae and fertilizer after three years on a savanna site in Liberia. *For. Ecol. and Manag.*, Amsterdam, 13:1-25, 1985.
- MOLINA, R. Ectomycorrhizal inoculation of containerized Douglas fir and lodgepole pine seedlings with six isolates of *Pisolithus tinctorius*. *Forest Sci.*, Washington, 25:585-590, 1979.
- MULETTE, K.J. Studies of eucalypt mycorrhizas. I. A method for mycorrhiza induction in *Eucalyptus gummiifera* (Gaertn. & Hoche.) by *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch. *Aust. J. Bot. Victoria*, 24:193-200, 1976.
- 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.
- SOARES, I. Níveis de fósforo no desenvolvimento de ectomicorizas por *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch e no crescimento de mudas de eucalipto. Viçosa, Imprensa Universitária, UFV, 1986. 51p. (Tese de Mestrado)
- TRAPPE, J.M. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 15:203-222, 1977.
- VIEIRA, R.F. & PERES, J.R.R. Definição do teor de fósforo no solo para máxima eficiência da associação ectomicorrízica em *Eucalyptus grandis*. *R. bras. Ci. Solo*, Campinas, 12:237-241, 1988.