

DISTRIBUIÇÃO SAZONAL DE MICORRIZAS FORMADAS  
POR *Disolithus tinctorius* (PERS.) COKER & COUCH EM  
TALHÕES DE ESPÉCIES TROPICAIS DE *Dinus*

CARLOS MAURICIO PAGLIS

Orientador: Prof. Dr. TASSO L. KRÜGNER

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Fitopatologia.

PIRACICABA  
Estado de São Paulo - Brasil  
Fevereiro - 1986

A meus pais,  
WALDIR e ROSA,

A Dorô

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

- À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", especialmente ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade concedida para a realização deste curso;
- Ao Professor Dr. Tasso Leo Krügner, pelo apoio, ensinamentos e efetiva orientação;
- À CAPES, pela Bolsa de Estudos concedida através da Coordenadoria de Pós-Graduação da Escola Superior de Agricultura de Lavras, MG; sem a qual não seria possível a realização deste trabalho;
- À Champion Papel e Celulose S/A, nas pessoas do Engº Agrº Fernando Gutierrez Neto, Engº Florestal Carlos Alberto Guerreiro e Sr. José Amauri Tardiro, pela realização deste trabalho em seu Horto Florestal;
- Ao Engº Agrº Carlos Henrique Mattioli e ao colega Ariovaldo Miguel Carvalho, pelos trabalhos de análise estatística;
- Aos senhores Pedro da Silva e Agnaldo Vitti, pela valiosa colaboração nos trabalhos de campo;
- Aos colegas do curso, pela amizade;

Finalmente, a todos que direta ou indiretamente prestaram sua colaboração nas diversas fases do curso e desenvolvimento deste trabalho.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS .....	vi
LISTA DE FIGURAS .....	viii
RESUMO .....	ix
SUMMARY .....	xi
1. INTRODUÇÃO .....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	03
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	08
3.1. Caracterização da área experimental .....	08
3.1.1. Instalação do talhão experimental ..	09
3.2. Dados climáticos da região .....	13
3.3. Tratos culturais .....	13
3.4. Delineamento experimental .....	13
3.5. Amostragens .....	16
3.5.1. Modo de amostragem .....	16
3.5.2. Época de coleta do material amostra- do .....	17
3.6. Exame do material amostrado .....	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	19
4.1. Ectomicorrizas e fungos ectomicorrízicos ob- servados .....	19
4.2. Persistência do fungo micorrízico <i>P. tinc-</i> <i>torius</i> .....	24

	Página
4.3. Efeitos das variáveis estudadas .....	25
4.3.1. Influência da inoculação no viveiro e da época de amostragem no desenvol vimento das micorrizas .....	25
4.3.2. Influência das espécies de <i>Pinus</i> ..	28
5. CONCLUSÕES .....	32
6. LITERATURA CITADA .....	34
7. APÊNDICE .....	39

LISTA DE TABELAS

TABELA Nº		Página
01	Quantidade de ectomicorrizas das mudas de <i>Pinus oocarpa</i> , <i>P. caribaea</i> var. <i>hondurensis</i> e <i>P. kesiya</i> , por ocasião da instalação do experimento no campo .....	10
02	Análise química, para macro e micronutrientes, do solo da área experimental .....	11
03	Análise granulométrica do solo da área experimental .....	12
04	Percentagem de amostras com ectomicorrizas ativas formadas por outros fungos micorrízicos que não <i>Pisolithus tinctorius</i> , observados em dois tratamentos micorrízicos de viveiro, em quatro diferentes épocas .	20
05	Número total de frutificações dos diversos gênero de fungos micorrízicos coletados em quatro diferentes épocas .....	23
06	Percentagem de amostras com ectomicorrizas ativas de <i>Pisolithus tinctorius</i> , observados nos dois tratamentos micorrízicos de viveiro, em quatro diferentes épocas ....	26
07	Percentagem de amostras com ectomicorrizas ativas de <i>Pisolithus tinctorius</i> , observadas em três espécies de <i>Pinus</i> , em quatro diferentes épocas .....	28

## TABELA Nº

## Página

08	Percentagem de amostras com ectomicorrizas ativas de <i>Pisolithus tinctorius</i> , observadas em dois tratamentos micorrízicos, para três espécies de <i>Pinus</i> .....	29
----	---	----

LISTA DE FIGURAS

FIGURA Nº		Página
01	Dados anuais de temperatura média (°C) e precipitação total (mm), observados na área experimental, no período de 1981 à 1984 .....	14
02	Dados mensais de temperatura média (°C) e precipitação total (mm), observados na área experimental, no período de julho de 1984 à junho de 1985 .....	15
03	Percentagem de amostras com micorrizas <u>a</u> tivas de <i>Pisolithus tinctorius</i> , observada para dois tratamentos micorrízicos de viveiro em três espécies de <i>Pinus</i> ; em quatro diferentes épocas .....	30



DISTRIBUIÇÃO SAZONAL DE MICORRIZAS FORMADAS POR  
*Pisolithus tinctorius* (Pers.) Cocker & Couch EM TALHÕES  
DE ESPÉCIES TROPICAIS DE *Pinus*.

Autor: Carlos Mauricio Paglis

Orientador: Tasso Leo Krüger

RESUMO

O conhecimento das flutuações da população do fungo micorrízico e da associação micorrízica no decorrer do tempo, é de vital importância quando se pensa no manejo do fungo micorrízico em programas de inoculação. Foi estudada a persistência e a sazonalidade da associação entre *Pisolithus tinctorius* (Pt) e espécies tropicais de *Pinus* em talhões experimentais de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*, *P. oocarpa*, *P. kesiya*, 7 anos após serem implantados, numa área de cerrado no município de Brotas, SP, com mudas inoculadas e não inoculadas (testemunhas) com o referido fungo no viveiro.

Realizaram-se 4 avaliações (dezembro/84, março, maio e julho/85) com base na percentagem de amostras com micorrizas ativas.

Verificou-se que Pt ainda persistia no local, nos talhões de todas as espécies estudadas. Observou-se também indícios de sucessão na população dos fungos micorrízicos,

como *Scleroderma* sp, *Amanita* sp e *Rhizopogon* sp no local. As parcelas formadas com mudas inoculadas com Pt no viveiro apresentaram maior quantidade de micorrizas deste fungo em relação às parcelas testemunhas, originalmente sem Pt.

A quantidade das micorrizas de Pt, variou sazonalmente no povoamento. Verificou-se, também, que não houve efeito das espécies de *Pinus*, com relação à percentagem de amostras com micorrizas ativas nas 4 épocas.

SEASONAL DISTRIBUTION OF MYCORRHIZAE FORMED BY  
*Pisolithus tinctorius* IN STANDS OF TROPICAL PINE SPECIES

Author: Carlos Maurício Paglis

Adviser: Tasso Leo Krügener

SUMMARY

The fluctuations of the mycorrhizal fungal populations in time and space are important to be known when the manipulation of mycorrhizal fungi through artificial inoculation is performed.

It was studied in this paper the persistence and seasonal distribution of the association between *Pisolithus tinctorius* (Pt.) and tropical pine species in experimental stands of *Pinus caribaea* var. *hondurensis*, *P. oocarpa*, *P. kesiya*, 7 years after planting, in a "cerrado" area, in Brotas, SP formed with seedlings inoculated and non-inoculated with Pt.

Four evaluations were performed (December/84, March, May and July/85), by determining the percentage of samples with active mycorrhizae.

It was found that Pt was still present in the site, associated with all pine species studied. Other fungi

were also observed, through their fruiting bodies, such *Sclerotium* sp, *Amanita* sp and *Rhizopogon* sp. Plots of plants that were inoculated with Pt in the nursery showed a greater amount of micorrhizae of this fungus than the plots of non-inoculated ones.

The amount of Pt mycorrhizae varied with the time of evaluation. Active mycorrhizae were more frequent after periods of warmer and moister weather. There was no differential behaviour of the pine species with respect to the amount of Pt micorrhizae in the 4 dates of evaluation.

## 1. INTRODUÇÃO

Os efeitos dos fungos micorrízicos em várias espécies florestais, especialmente em coníferas, e sua importância no estabelecimento destes povoamentos em determinadas áreas foram relatadas em muitas partes do mundo (MARX, 1980; TRAPPE, 1977; MIKOLA, 1973).

Os aspectos ecológicos das associações micorrízicas bem como a distribuição de ectomicorrizas em florestas naturais ou implantadas pelo homem; estudos da rizosfera micorrízica, fatores que influenciam a distribuição dos corpos de frutificação no povoamento, sucessão micorrízica e características sazonais da associação, tem sido investigadas mais intensivamente somente nos últimos anos (BOWEN et alii, 1973).

Tais estudos são de grande importância quando se visa um melhor manejo do fungo micorrízico que se pretende introduzir em uma nova área. Neste aspecto, deve-se ter conhecimentos sobre a melhor espécie de fungo a ser introduziu

da para as características do local, persistência em função do estágio de sucessão micorrízica ocupado por esta espécie e capacidade de competir com outros microrganismos já existentes no solo do novo local. Como BOWEN (1965) preconiza, é importante ter todas informações possíveis antes que se adote qualquer medida que tenha como objetivo a utilização do fungo micorrízico em programas de inoculação evitando, deste modo, um possível fracasso nesta tentativa.

Até o presente momento, este tipo de estudo está restrito a espécies de coníferas temperadas e, pouco ou quase nada se sabe com relação a espécies tropicais, mais especificamente, aquelas pertencentes à família *Pinaceae*.

O presente trabalho, que inclui espécies tropicais de *Pinus* e o fungo *Pisolithus tinctorius*, teve como objetivos: (i) verificar a persistência do fungo nos povoamentos; (ii) estudar a sua variação sazonal; (iii) verificar se há efeito da espécie de *Pinus* quanto a variação sazonal e persistência do fungo e (iv) observar se mudas inicialmente com micorrizas têm comportamento diferencial, em relação a mudas sem micorrizas, vários anos após plantio no campo.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

As inúmeras respostas de diferentes fungos quanto a inoculação, sugerem que a influência simbiótica é determinada não somente pelas espécies e raças do fungo, mas depende das espécies do hospedeiro (LEVISOHN, 1960; MARX, 1980; FOGEL, 1983), fatores do próprio solo (SLANKIS, 1974) e condições ambientais (LEVISOHN, 1960; TRAPPE, 1977).

Do complexo ecológico que envolve o fungo micorrízico, um aspecto de grande importância, tem recentemente, despertado a atenção dos pesquisadores.

Estes, mostraram que a população do fungo, bem como a associação micorrízica por ele estabelecida com determinados hospedeiros, variam sazonalmente (ROBERTSON, 1954; SINCLAIR, 1974; HARVEY et alii, 1978; LAMB, 1979; LAST et alii, 1983; WILCOX, 1983).

Esta sazonalidade está, de certo modo, relacionada com o crescimento ativo das raízes. WILCOX (1983); relata que a atividade do sistema radicular varia no tempo e no espaço determinando assim, uma sazonalidade no seu desenvolvimento, fato este também verificado anteriormente por MOIR e BACHELARD (1969), BILAN (1971), ROBERTS (1976) e NAMBIAR (1983). Em algumas espécies, o crescimento da raiz na primavera parece ser iniciado pela atividade dos meristemas apicais localizados na parte aérea (WILCOX, 1983); já em outras espécies, o crescimento pode ocorrer independentemente desta atividade, não sendo observado nenhuma relação entre crescimento da raiz e atividade da parte aérea (LANGLOIS et alii, 1983).

Além desta característica, outros fatores, como temperatura do solo (SINCLAIR, 1974; ROBERTS, 1976; HARVEY et alii, 1978; LANGLOIS et alii, 1983), radiação solar (ROBERTS, 1976), teor de umidade do solo (ROBERTS, 1976; HARVEY et alii, 1978), afetam a atividade do sistema radicular e conseqüentemente a associação micorrízica por ele estabelecida.

SINCLAIR (1974), estudando o desenvolvimento de ectomicorrizas em um viveiro de *Pseudotsuga menziesii*, constatou que o número de micorrizas por grama de matéria seca da raiz aumentou durante maio e junho, e que este aumento oscilou na mesma proporção de aumento da biomassa da raiz.

Estas variações sazonais do sistema radicular



são ainda diferentes de acordo com a espécie florestal envolvida, entre indivíduos de uma mesma espécie e ainda quanto ao local de origem das espécies em estudo (MOIR e BACHELARD, 1969; FOGEL, 1983; WILCOX, 1983).

Ao contrário do que se possa esperar, o fungo micorrízico não cessa sua atividade durante os períodos de menor crescimento do sistema radicular. WILCOX (1983) demonstrou que há períodos intrasazonais que fazem com que a atividade do sistema radicular se mantenha, embora, em menor intensidade, assegurando assim a atividade do fungo por todo o ano. Estes ciclos intrasazonais estão intimamente relacionados com os ciclos alternados de umidade e seca nas camadas superficiais do solo.

Relatou-se também, que além dos períodos intrasazonais, a distribuição das raízes no perfil do solo, influencia e mantém a atividade dos fungos micorrízicos.

Das investigações efetuadas quanto a distribuição do sistema radicular de *Pinus* (ROBERTSON, 1954); MOIR e BACHELARD, 1969; BILAN, 1971; ROBERTS, 1976; SQUIRE et alii, 1978; NAMBIAR, 1983), obtiveram resultados consistentes que mostram uma maior concentração das raízes nas camadas superficiais do solo, presumivelmente onde a disponibilidade de água e nutrientes é mais elevada. Contudo, esta concentração diminui, a medida que o sistema radicular atinge as camadas mais profundas do solo.

Bowen, citado por SQUIRE et alii (1978), exami

nando a distribuição de raízes de *Pinus radiata* até a profundidade de 2 m, verificou que 52% a 84% das raízes estavam presentes na superfície de 0,25 m e que a quantidade de micorrizas também era maior nesta camada do solo, onde se encontrava o maior número de raízes, embora micorrizas também tenham sido observadas até a profundidade onde efetuou-se o estudo.

Outro fator importante, além das condições observadas nas camadas superficiais do solo, que deve ser levado em consideração quando se estuda a associação micorrízica, é a fração orgânica do solo. A contagem individual de ápices micorrízicos em raízes de amostras tomadas ao acaso em um povoamento de *Pseudotsuga menziesii/Larix occidentalis*, mostrou que seu maior número ocorria nesta fração do solo (HARVEY et alii, 1978). A camada de humus no solo foi o principal substrato para as ectomicorrizas durante todo o ano exceto durante julho e agosto, sendo que, durante este período mais seco, a maior atividade de ápices ectomicorrízicos ocorreu em restos de madeira em decomposição no solo. Isto porque, os níveis de umidade foram maiores neste tipo de substrato do que no humus no mesmo período. Deste modo, resíduos maiores em decomposição têm um papel crítico na preservação da atividade ectomicorrízica durante os períodos de limitada disponibilidade de água (HARVEY et alii, 1976, 1979).

BETTIOL (1984), trabalhando com os fungos *Pisolithus tinctorius* e *Thelephora terrestris*, verificou que o teor de matéria orgânica no solo até determinadas concen-

trações, dependendo da fonte de matéria orgânica (lodo de esgoto, esterco de curral, torta de filtro e acículas de *Pinus*), não afeta a formação micorrízica, porém, ultrapassados os limites destas concentrações reduz significativamente a formação das micorrizas.

De um modo geral, a atividade do fungo ectomicorrízico e de sua associação com raízes de planta superiores durante o ano, está sujeita as condições prevalentes de temperatura, umidade, teor de matéria orgânica no solo, além da, fertilidade, pH e aeração do solo, exsudados radiculares, hormônios e efeito da rizosfera (SLANKIS, 1974).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Caracterização da área experimental

Os dados do presente trabalho foram coletados no município de Brotas, São Paulo, em uma área experimental de espécies tropicais de *Pinus*, instalada em 1978, visando o estudo da sobrevivência e crescimento de mudas de *Pinus oocarpa*, *Pinus caribaea* var. *hondurensis* e *Pinus kesiya* com micorrizas formadas por *Thelephora terrestris*, *Pisolithus tinctorius* e outros fungos (TOMAZELLO FILHO, 1980).

A vegetação circundante a este experimento corresponde a um plantio de *Eucalyptus saligna* e *E. grandis* efetuado em 1978.

A área apresenta um solo caracterizado como Latossolo Vermelho Amarelo, epieutrófico, textura média, suave ondulado, fase cerrado, cuja análise química e granulométrica encontram-se respectivamente nas tabelas 2 e 3. O mu-

nicípio de Brotas está a uma altitude de 620-660 m em relação ao nível do mar.

### 3.1.1. Instalação do talhão experimental

Para a instalação do experimento no campo, foram utilizadas mudas de *Pinus oocarpa*, *P. caribaea* var. *hondurensis* e *P. kesiya*, produzidas no viveiro do Departamento de Silvicultura da ESALQ, Piracicaba, SP.

No viveiro, as mesmas receberam dois tratamentos micorrízicos, os quais foram: (i) infestação artificial do solo com micélio de *Pisolithus tinctorius* e (ii) sem infestação do solo.

Estas mudas foram ainda comparadas, a nível de campo, com um terceiro tipo de tratamento; o qual consistiu de mudas produzidas de forma rotineira no viveiro, apresentando 35-40% das raízes laterais curtas com micorrizas formadas por inóculo natural de fungos não identificados; este tratamento foi denominado de testemunha comercial (TOMAZELLO FILHO, 1980).

Decorridos sete meses após receberem os tratamentos micorrízicos no viveiro, foi feita uma avaliação do sistema radicular para verificar a formação de ectomicorrizas (Tabela 1) e, nestas condições as mudas foram levadas para o campo e plantadas em fevereiro de 1978.

Tabela 1. Quantidade de ectomicorrizas (%) <sup>1/</sup> das mudas de *Pinus oocarpa*, *P. caribaea* var. *hondurensis* e *P. kesiya*, por ocasião da instalação do experimento no campo. Os valores são médias de três repetições <sup>2/</sup>; TOMAZELLO FILHO (1980).

Espécies de <i>Pinus</i>	Tratamento micorrízico do viveiro	Micorrizas formadas por:			Total
		<i>Pisolithus tinctorius</i>	<i>Thelephora terrestris</i>	Fungos não determinados	
<i>Pinus oocarpa</i>	<i>P. tinctorius</i>	47,5 a	0,6 a	20,2 a	68,2 ab
	Testemunha (sem infestação artificial)	0,0 b	20,2 b	31,6 a	51,8 cd
<i>Pinus caribaea hondurensis</i>	<i>P. tinctorius</i>	33,0 a	4,7 d	28,0 a	65,7 abc
	Testemunha (sem infestação artificial)	0,0 b	35,7 c	31,9 a	67,6 abc
<i>Pinus kesiya</i>	<i>P. tinctorius</i>	42,4 a	0,0 a	24,6 a	67,0 ad
	Testemunha (sem infestação artificial)	0,0 b	27,5 bc	21,3 a	48,8 bc

<sup>1/</sup> Avaliada visualmente com base na percentagem de raízes que apresentaram-se com micorrizas.

<sup>2/</sup> Em cada coluna, médias seguidas de uma mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey.

Tabela 2. Análise química <sup>1/</sup>, para macro e micronutrientes, do solo da área experimenta-  
tal..

P	MO	pH	K	Ca	Mg	H+Al	S	T	Cu	Fe	Mn	Zn
µg/cm <sup>3</sup>	%	em CaCl <sub>2</sub>	meq/100 cm <sup>3</sup>									
25,0	1,21	5,25	0,05	2,18	0,77	2,63	3,00	5,63	0,096	60	-	0,13
ppm												

<sup>1/</sup> Efetuada pelo Departamento de Química, Setor de Química Analítica, da ESALQ/USP.

Tabela 3. Análise granulométrica <sup>1/</sup> do solo da área experimental.

		Análise mecânica (mm), (%)				
		Areia muito grossa	Areia média	Areia fina	Areia muito fina	Argila
(2 - 1)	(1-0,5)	(0,5-0,25)	(0,25-0,10)	(0,10-0,005)	(2,0-0,005)	0,002 emH <sub>2</sub> O
0,4	3,5	14,0	24,8	2,3	45,0	15,1 8,0

<sup>1/</sup> Efetuada pelo Departamento de Solos, da ESALQ/USP.



### 3.2. Dados climáticos da região

Para o presente trabalho foram coletados dados climáticos referentes a temperatura, bem como os índices pluviométricos dos meses de janeiro de 1980 a junho de 1985. Estes dados foram obtidos junto ao posto meteorológico do Horto onde o experimento foi instalado (Figuras 1 e 2).

### 3.3. Tratos culturais

Foram feitas no experimento, duas gradagens; em 1978 e em 1979.

Por ocasião do primeiro levantamento efetuado no presente trabalho, foi feita uma limpeza do experimento com roçadeira, visando facilitar o acesso a área.

### 3.4. Delineamento experimental

No experimento original, o delineamento estatístico foi o de blocos ao acaso com cinco repetições. Cada repetição consistiu de parcelas retangulares, com quinze plantas cada uma, no espaçamento de 2 m entre as plantas na linha e de 3 m entre linhas.

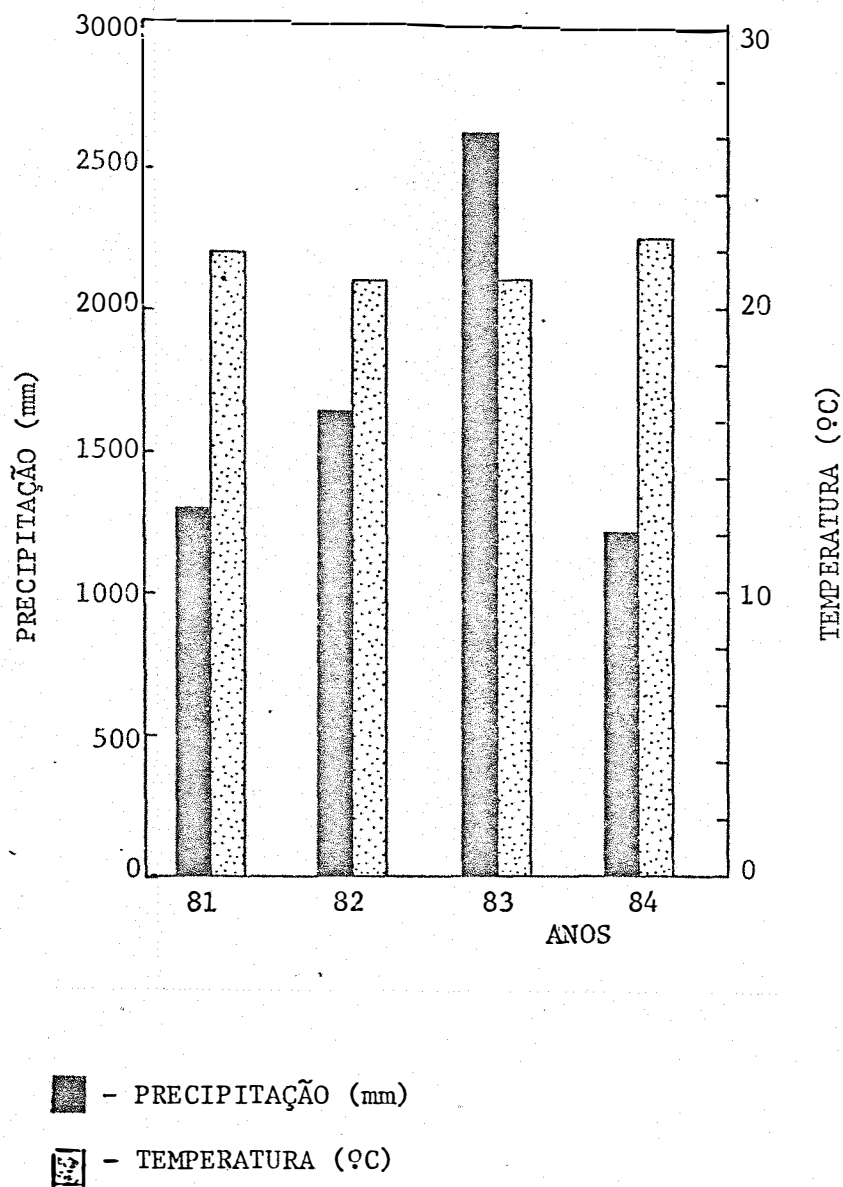


Figura 1. Dados anuais de temperatura média (°C) e precipitação total (mm), observados na área experimental, no período de 1981 a 1984.

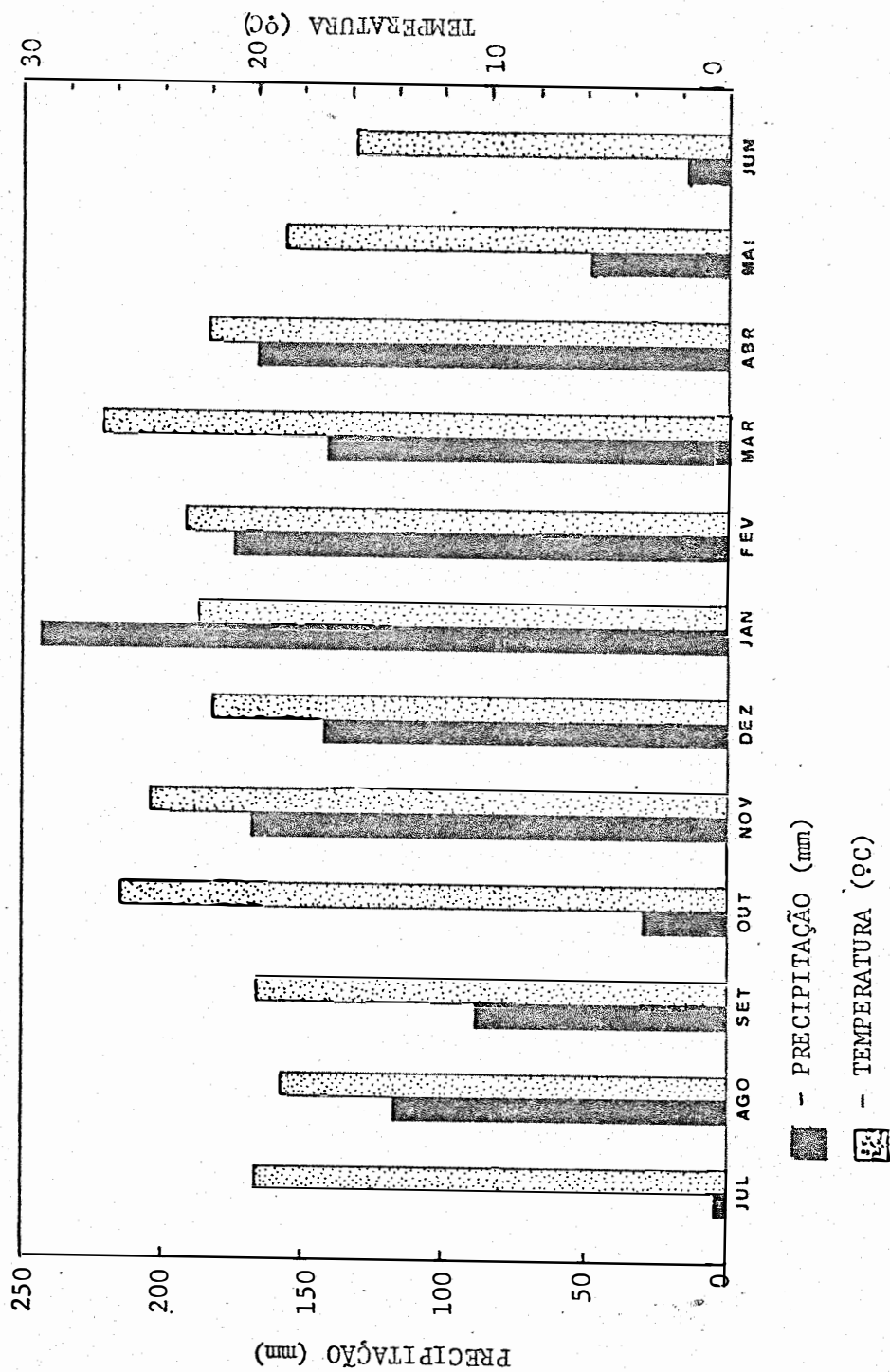


Figura 2. Dados mensais de temperatura média (°C) e precipitação (mm), observados na área experimental, no período de julho de 1984 a junho de 1985.

De acordo com os objetivos em estudo, optou-se pela análise estatística na qual se utilizam parcelas subdivididas, onde as épocas de amostragem constituem as parcelas; as espécies, as subparcelas e os tratamentos micorrízicos, as subsubparcelas.

### 3.5. Amostragens

Das plantas existentes em cada parcela experimental original, somente as três plantas centrais foram consideradas para estudo. Eliminaram-se a primeira e terceira linhas, bem como a primeira e última planta da segunda linha de cada parcela, para efeito de bordadura.

Sendo assim, das três plantas centrais examinadas, foram amostrados quatro pontos distintos, variando a amostragem de uma distância de 0,6 a 0,8 m a partir do caule de cada planta. No total, 12 amostras foram tomadas para cada subparcela.

#### 3.5.1. Modo de amostragem

Inicialmente fez-se a retirada de toda a camada de acículas existente, tomando-se o devido cuidado de não arrastar junto a camada de humus presente no solo. Tal procedimento foi realizado para cada planta individualmente.

Após o exame da amostra retirada, todo material coletado com excessão das raízes examinadas, foi repos- to no mesmo local e a camada de acículas recolocada no lugar da qual foi retirada.

Isto foi realizado com o intuito de preservar ao máximo as condições do local amostrado, mantendo-se assim as condições para as posteriores amostragens.

Cada amostra foi retirada com o auxílio de uma enxada de plantio com as dimensões de 8 x 12 cm à uma profun- didade aproximada de 10 cm.

### 3.5.2. Época de coleta do material amostrado

Foram realizadas amostragens em 4 épocas dis- tintas, tendo as mesmas um intervalo aproximado de 2 meses entre si.

A primeira amostragem foi realizada no dia 10 de dezembro de 1984, seguindo-se as demais em, 04 de março, 06 de maio e 06 de julho de 1985.

### 3.6. Exame do material amostrado

Para cada amostra coletada separou-se o solo, acículas em decomposição ou não, raízes de outras plantas, e segmentos de raízes pertencentes ao sistema radicular de *Pinus* spp.

Dos segmentos de raízes de *Pinus* spp., efetuou-se a avaliação visual das raízes laterais curtas com micorrizas. Para esta avaliação (qualitativa), foram somente consideradas as micorrizas ativas, segundo HARVEY et alii (1976), não havendo a possibilidade de identificar as micorrizas inativas, bem como de quantificá-las.

Cada amostra com os segmentos examinados, recebeu o sinal positivo (+) ou negativo (-), em ficha própria para avaliação, caso apresentassem ou não, o fungo em estudo, *Pisolithus tinctorius*. Amostras que não continham nenhum segmento de raiz e amostras com segmentos de raízes sem apresentarem micorrizas também receberam o sinal negativo.

Outros fungos micorrízicos encontrados em associação com o sistema radicular de *Pinus* spp., além do *Pisolithus tinctorius*, foram observados e descritos quanto à cor da manta fúngica e modo de ramificação.

Além das raízes laterais curtas com micorrizas foram quantificadas e identificadas as frutificações de possíveis fungos formadores de micorrizas existentes em cada parcela.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### 4.1. Ectomicorrizas e fungos ectomicorrizicos observados

As ectomicorrizas encontradas nas amostras foram separadas em dois grupos diferentes.

No primeiro grupo, observou-se as micorrizas formadas por *Pisolithus tinctorius*, que macroscopicamente apresentaram-se com coloração pardo-amarelada, hábitos de ramificação variando entre simples, bifurcado e coralóide com cordões miceliais de cor pardo-escuro.

No segundo grupo, as micorrizas apresentaram uma manta de cor branca, com hábitos de ramificação bifurcado a coralóide, sem cordões miceliais. Há possibilidades destes tipos de micorrizas serem formadas por *Scleroderma* sp., uma vez que foram encontrados inúmeros corpos de frutificação desse fungo no povoamento estudado, durante as amostragens (Tabela 5). Na tabela 4 é apresentada a porcentagem destas micorri-

zas, que foi muito baixa, e a qual não possibilitou uma análise estatística adequada. Pode-se, no entanto, perceber que no mês de maio houve uma maior percentagem destas, tanto nos tratamentos com *Pisolithus tinctorius*, como nas testemunhas. Verificou-se também que houve uma tendência destas micorrizas apresentarem-se em maior percentagem no tratamento com *Pisolithus tinctorius* do que na testemunha.

Tabela 4. Percentagem de amostras com ectomicorrizas ativas formadas por outros fungos micorrízicos que não *Pisolithus tinctorius*, observados em dois tratamentos micorrízicos de viveiro, em 4 diferentes épocas.

Épocas	Tratamento micorrízico de viveiro	
	<i>P. tinctorius</i>	Testemunha (sem incubação)
Dezembro/84	3,33 <sup>1/</sup>	1,1
Março/85	1,66	0,55
Maio/85	4,44	2,22
Julho/85	1,11	0
Médias	2,63	0,97

<sup>1/</sup> Média das 3 espécies de *Pinus*, em cinco repetições cada. Cada repetição é formada por 12 amostras.

Durante as amostragens para verificação da percentagem de amostras com micorrizas ativas de *Pisolithus tinctorius*



*torius*, foram coletadas várias frutificações de outros fungos micorrízicos. Verificou-se o aparecimento de 4 gêneros além do *Pisolithus tinctorius*; destes, predominaram os gêneros *Scleroderma* sp. e *Rhizopogon* sp.

Estes dois gêneros foram facilmente identificados pelas características macroscópicas das frutificações:

- *Scleroderma* sp: esporóforos de 20-80 mm de diâmetro, podendo algumas vezes atingir até 140 mm; globosos, perídio liso nos estádios iniciais, amadurecendo rapidamente e originando escamas dispostas em toda sua superfície, nos estádios mais avançados torna-se duro e coriáceo; cor variando de branco até amarelo escuro conforme o estágio de desenvolvimento. A gleba no início é esbranquiçada e dura; a medida que vai amadurecendo torna-se violácea com nuances de claro e escuro; quando completamente madura torna-se pulverulenta e de cor verde-oliváceo a cinza escuro. Seu amadurecimento inicia-se do centro para a periferia (GUZMÁN, 1970).

- *Rhizopogon* sp.: frutificações globosas com cerca de 15-20 mm de diâmetro; perídio liso, sem escamas, não coriáceo; e como característica marcante uma delgada trama de rizomorfias recobrimdo todo perídio; sua cor varia de branco, quando do início do desenvolvimento, até pardo-claro quanto mais desenvolvida for a frutificação. A gleba apresenta-se de cor branca até verde-oliváceo quando madura e, ao contrário do gênero *Scleroderma* sp., a gleba neste caso tem um aspecto esponjoso (KENNETH e SMITH, 1968; AINSWORTH et alii, 1973).

Segundo MILLER (1982), *Scleroderma* sp. e *Rhizopogon* sp. pertencem respectivamente às ordens *Sclerodermatales* e *Hymenogastrales*; ambas *Gasteromycetes* pertencentes à classe dos *Basidiomycetes*

Além destes fungos verificaram-se exemplares dos gêneros *Amanita* sp. e *Suillus* sp. (Tabela 5), os quais também são tidos como micorrízicos (MILLER, 1982).

Do total das frutificações observadas, verificou-se que 14,63%, 26,83%, 56,1% e 2,44% foram respectivamente distribuídas nos meses de dezembro, março, maio e julho. Nota-se que a maior percentagem de frutificações foram coletadas no mês de maio.

O aparecimento destes gêneros está fundamentado no que se chama de sucessão micorrízica. À medida que um determinado gênero surge em uma população de plantas, sua presença se dará até que esta população se modifique e force sua saída do complexo ecológico já formado; dando assim lugar a outro gênero que fará parte do novo complexo (MASON et alii, 1983).

Vários autores demonstraram que há um padrão para o surgimento dos fungos micorrízicos no povoamento com o decorrer do tempo (FLEMING, 1983; MASON et alii, 1983). Dividem-se assim em dois grupos: os chamados fungos de estágios iniciais, que surgem quando o povoamento é jovem e; os de estágios finais, que aparecem com o avanço da idade do povoamento. Isto é explicado por alguns pesquisadores como sendo

Tabela 5. Número total de frutificações dos diversos gêneros de fungos micorrízicos coletados em quatro diferentes épocas.

Espécies	Nº de frutificações			
	Dezembro	Março	Maior	Julho
<i>Amanita</i> sp.	-	-	2	-
<i>Pisolithus tinctorius</i>	3	1	1	-
<i>Rhizopogon</i> sp.	2	1	5	-
<i>Scleroderma</i> sp.	1	7	15	1
<i>Suillus</i> sp.	-	2	-	-
Total	6	11	23	1

decorrente das mudanças de pH e aumento do teor de matéria orgânica do solo (MASON et alii, 1983); já outros acreditam que esta característica está ligada ao teor de nutrientes no solo (DIGHTON et alii, 1981). No caso do gênero *Scleroderma* sp, têm-se outros povoamentos de *Pinus* na região, nos quais, constatou-se a presença deste fungo e que poderia ser disseminado para a área experimental.

Cabe ressaltar ainda que conforme é apresentado na Tabela 1, as mudas (incluindo-se aquelas tidas como testemunha comercial) foram levadas para o campo já com uma percentagem

de fungos micorrízicos não identificados e que poderiam ter agido como fonte de inóculo, podendo assim ser explicado o surgimento destes outros gêneros de fungos no povoamento.

#### 4.2. Persistência do fungo micorrízico

##### *Pisolithus tinctorius*

Na área experimental estudada verificou-se que o fungo, *Pisolithus tinctorius*, persistiu no local por 7 anos após sua introdução. As plantas examinadas exibiram em seu sistema radicular elevada percentagem de raízes colonizadas por este fungo.

Trabalhos efetuados em outros países, mostraram que o fungo micorrízico *Pisolithus tinctorius* ocorre no primeiro ou segundo ano após sua introdução (MARX et alii, 1977). Alguns pesquisadores demonstraram que após cinco anos da introdução deste fungo no povoamento, não foram encontradas frutificações ou mesmo suas micorrizas (GROSSNIKLE e REID, 1983).

Notou-se que a área examinada, apresentou uma camada de acículas em estágios iniciais de decomposição. Esta mesma camada não foi observada em determinados locais dentro do povoamento; já, para outros pontos examinados, apresentou-se mais decomposta. Esta diferença de material em decomposição encontrada pode ter contribuído para um baixo teor de matéria orgânica no solo.

Sendo assim, com o posterior aumento do teor de matéria orgânica no solo da área experimental, que pode reduzir as micorrizas formadas por *Pisolithus tinctorius* (BETTIOL, 1984); além do surgimento de outros fungos micorrízicos e paralização completa dos tratos culturais, é possível que o fungo *Pisolithus tinctorius* venha a ser substituído no povoamento, dando lugar assim a outros fungos micorrízicos. Dentre estes, o gênero *Scleroderma* sp. poderá ter papel importante na sucessão, uma vez que foi observado em plantios de *Pinus* adjacentes com idade de quinze e vinte e cinco anos.

#### 4.3. Efeitos das variáveis estudadas

##### 4.3.1. Influência da inoculação no viveiro e da época de amostragem no desenvolvimento das micorrizas

Nos períodos amostrados sempre houve predominância de micorrizas do tipo *Pisolithus tinctorius* nos tratamentos de viveiro com *Pisolithus tinctorius* sobre a testemunha; sendo notada uma diferença sempre estatisticamente significativa entre eles (Tabela 6; Apêndice 1).

Houve uma menor percentagem de micorrizas ativas no mês de dezembro, percentagem esta que tendeu a elevar-se nos meses de março e maio, onde atingiu seu pico, declinando em seguida no mês de julho (Figura 3).

Tabela 6. Percentagem de amostras com ectomicorrizas ativas de *Pisolithus tinctorius*, observadas nos dois tratamentos micorrízicos de viveiro; em quatro diferentes épocas.

Épocas	Tratamento micorrízico		Médias
	<i>P. tinctorius</i>	Testemunha (não inoculada)	
Dezembro/84	54,19 <sup>1/</sup>	31,61	42,89 b
Março/85	62,12	44,05	53,09 ab
Maiio/85	71,13	52,02	61,58 a
Julho/85	52,51	44,00	48,26 b
Médias	59,98 A	42,92 B	51,45

<sup>1/</sup> Média das 3 espécies de *Pinus*, com 5 repetições cada.

Cada repetição é formada por 12 amostras

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Para análise estatística os dados foram transformados em arco seno  $\sqrt{x/100}$

Os resultados aqui observados e comparados com dados obtidos por outros pesquisadores (ROBERTSON, 1954; SINCLAIR, 1974; HARVEY et alii, 1976; 1978, 1979; LAMB, 1979); demonstraram haver uma sazonalidade na percentagem de micorrizas ativas.

Esta sazonalidade pode aqui ser observada em

função das condições climáticas encontradas na área do experimento. Na figura 2, verifica-se que há períodos cíclicos de aumento e queda de temperatura, bem como variações periódicas da precipitação.

Sabe-se que estes dois fatores influenciam a temperatura e umidade do solo e; que por sua vez afetam diretamente a atividade do fungo micorrízico (THEODOROU e BOWEN, 1971; SLANKIS, 1974), bem como a atividade do sistema radicular (BILAN, 1971; DEANS, 1979; LANGLOIS et alii, 1983).

Assim, quando essas condições são desfavoráveis, a porcentagem de micorrizas ativas tende a ser menor, quando comparada com outros períodos mais favoráveis, propiciando deste modo que a população do fungo micorrízico, bem como a micorriza por este estabelecida varie cíclicamente durante o ano.

Analizando-se ainda a figura 2, verifica-se que houve uma menor precipitação e uma queda de temperatura no mês de maio, justamente onde foi encontrada a maior porcentagem de micorrizas ativas formadas por *Pisolithus tinctorius*.

Estes resultados parecem contraditórios, porém, verifica-se que desde o mês de janeiro até abril de 1985 os níveis de precipitação foram maiores do que o observado no mês de maio.

Deste modo, um efeito acumulativo de umidade no solo aliado às maiores temperaturas observadas nos meses que precederam o mês de maio; podem ter contribuído para uma

gradativa colonização do sistema radicular por *Pisolithus tinctorius*, explicando-se assim, os resultados aqui obtidos.

#### 4.3.2. Influência das espécies de *Pinus*

Verificou-se que não houve diferenças estatisticamente significativas (Apêndice 1) no comportamento das espécies de *Pinus*, com relação à percentagem de amostras com micorrizas ativas nas quatro diferentes épocas (Tabela 7).

Tabela 7. Percentagem de amostras com ectomicorrizas ativas de *P. tinctorius*, observadas em três espécies de *Pinus*, em quatro diferentes épocas.

Épocas	Espécies			Médias
	<i>P. caribaea</i>	<i>P. oocarpa</i>	<i>P. kesiya</i>	
Dezembro/84	44,74 <sup>1/</sup>	38,03	46,19	42,89 b
Março/85	52,07	51,80	55,39	53,09 ab
Maiio/85	61,64	53,49	65,60	61,58 a
Julho/85	49,41	45,91	49,45	48,26 b
Médias	51,90 A	48,31 A	54,16 A	51,45

<sup>1/</sup> Média de 2 tratamentos micorrízicos de viveiro, com 5 repetições cada. Cada repetição é formada por 12 amostras.

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Para análise estatística os dados foram transformados em arco seno  $\sqrt{x/100}$ .



Quanto ao tratamento micorrízico de viveiro, notou-se que não houve efeito da espécie de *Pinus* na quantidade de micorrizas de *Pisolithus tinctorius*. Somente no primeiro tratamento, *P. tinctorius*, houve uma tendência de *Pinus kesiya*, apresentar uma maior percentagem de micorrizas ativas, embora estatisticamente as espécies terem sido consideradas iguais (Tabela 8).

Tabela 8. Percentagem de amostras com ectomicorrizas ativas de *Pisolithus tinctorius*, observadas em dois tratamentos micorrízicos, para três espécies de *Pinus*.

Espécies	Tratamento micorrízico		Médias
	<i>P. tinctorius</i>	Testemunha (não inoculada)	
<i>P. caribaea</i> <i>hondurensis</i>	57,48 <sup>1/</sup>	46,31	51,89 a
<i>P. oocarpa</i>	56,82	36,79	48,30 a
<i>P. kesiya</i>	65,66	42,66	54,16 a
Médias	59,98 A	42,92 B	51,45

<sup>1/</sup> Média de 4 épocas de amostragens, com 5 repetições cada. Cada repetição é formada por 12 amostras.

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Para análise estatística os dados foram transformados em arco seno  $\sqrt{x/100}$ .

Para as três espécies separadamente, os tratamentos micorrízicos mostraram-se estatisticamente diferentes, sendo que as plantas com *Pisolithus tinctorius*, são sempre superiores quando comparadas com a testemunha não inoculada inicialmente no viveiro (Figura 3).

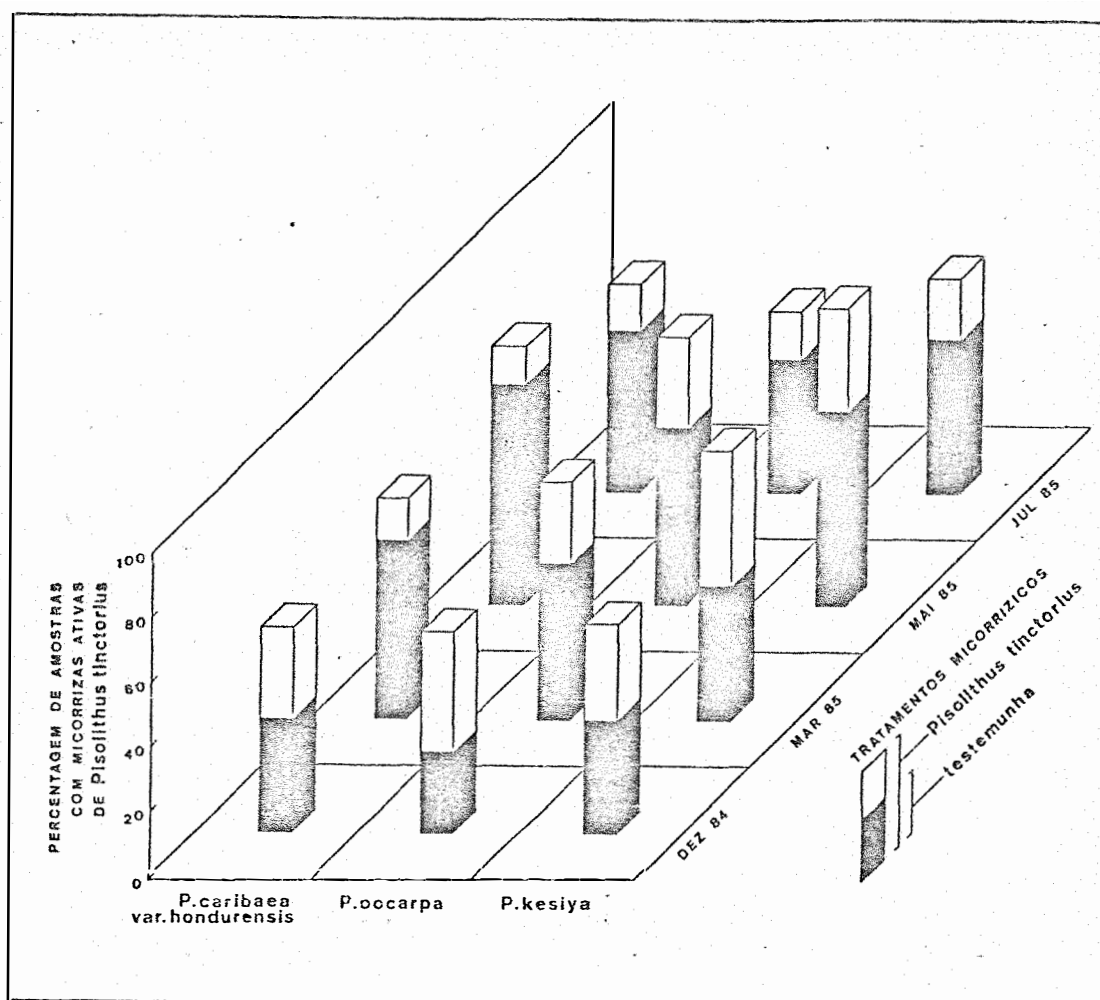


Figura 3. Percentagem de amostras com micorrizas ativas de *Pisolithus tinctorius*, observada para dois tratamentos micorrízicos de viveiro em 3 espécies de *Pinus*; em quatro diferentes épocas.

## 5. CONCLUSÕES

Tendo em vista os resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que:

1. As plantas das três espécies de *Pinus* estudadas, que foram inoculadas com *Pisolithus tinctorius*, apresentaram, mesmo após sete anos desta operação, elevada percentagem de raízes colonizadas por este fungo, sem variações estatisticamente significativas entre si.

2. A distribuição das micorrizas formadas pelo fungo micorrízico *Pisolithus tinctorius*, variou sazonalmente no povoamento de *Pinus* em estudo.

3. As mudas inoculadas com *Pisolithus tinctorius* quando comparadas com as testemunhas não inoculadas, apresentaram-se 7 anos após com uma maior percentagem de

micorrizas ativas, mesmo o fungo tendo se disseminado por toda a área através dos anos.

## 6. LITERATURA CITADA

AINSWORTH, G.C.; F.K. SPARROW e A.S. SUSMAN, 1973. The fungi an advanced treatise. IV B. A Taxonomic Review with Keys: Basidiomycetes and Lower fungi. New York, Academic Press, Editora, p.442.

BETTIOL, W., 1984. 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.) Cocker & Couch e *Telephora terrestris* EHR. ex Fr. Piracicaba, ESALQ/USP. 78p. (Dissertação de Mestrado).

BILAN, M.V., 1971. Some aspects of tree root distribution. In: HACSKAYLO, Ed., ed. Mycorrhizae: Proceedings of the First North American Conference on Mycorrhizae. Washington, USDA Forest Service, p.69-80.

BOWEN, G.D., 1965. Mycorrhiza inoculation in forestry practice. Australian Forestry, Canberra, 29: 231-237.

- BOWEN, G.D. e C. THEODOROU, 1973. Growth of ectomycorrhizal fungi around seeds and roots. In: MARKS, G.C. e T.T. KOZLOWSKI, Coord. Ectomicorrhizae their Ecology and Physiology, New York, Academic Press, Editora, p.107-150.
- DEANS, J.D., 1979. Fluctuations of the soil environment and fine root growth in a young sitka spruce plantation. Plant and Soil, The Hague, 52(2): 195-208.
- DIGHTON, J.; A.F. HARRISON e P.A. MASON, 1981. Is the mycorrhizal succession on trees related to nutrient uptake? Journal Science of Food and Agriculture, Oxford, 32(6): 59-60.
- FLEMING, L.V., 1983. Succession of mycorrhizal fungi on birch: infection of seedlings planted around mature trees. Plant and Soil, The Hague, 71: 263-267.
- FOGEL, R., 1983. Root turnover and productivity of coniferous forests. Plant and Soil, The Hague, 71: 75-85.
- GROSSNIKLE, S.C. e C.P.P. REID, 1983. Ectomicorrhiza formation and root development patterns of conifer seedlings on a high-elevation mine site. Canadian Journal of Forestry Research, Toronto, 13(6): 1145-1158.
- GUZMÁN, G., 1970. Monografía del género *Scleroderma* Pers. emend. FR. Darwiniana, Buenos Aires, 16(1/2): 233-407.
- HARVEY, A.E.; M.J. LARSEN e M.F. JURGENSEN, 1976. Distribution of ectomycorrhizae in a mature Douglas-fir/Larch forest soil in Western Montana. Forest Science. Washington, 22(4): 393-398.
- HARVEY, A.E.; M.F. JURGENSEN e M.J. LARSEN, 1978. Seasonal distribution of ectomicorrhizae in a mature Douglas-fir/Larch forest soil in Western montana. Forest Science, Washington, 24(2): 203-208.

- HARVEY, A.E.; M.J. LARSEN e M.F. JURGENSEN, 1979. Comparative distribution of ectomycorrhizae in soils of three Western Montana forest habitat types. Forest Science, Washington, 25(2): 350-358.
- KENNETH, A.H. e A.H. SMITH, 1968. Some new species and distribution records of *Rhizopogon* in North America. Canadian Journal of Botany, Ottawa, 46: 881-899.
- LAMB, R.J., 1979. Factors responsible for the distribution of micorrhizal fungi of *Pinus* in eastern Australian. Australian Forest Research, Melbourne, 9(1): 25-34.
- LANGLOIS, C.G.; L. GODBOUT e J.A. FORTIN, 1983. Seasonal variation of growth and development of the roots of five second year conifer species in the nursery. Plant and Soil, The Hague, 71: 55-62.
- LAST, F.T.; P.A. MASON; J. WILSON e J.W. DEACON, 1983. Fine roots and sheathing mycorrhizae: their formation, function and dynamics. Plant and Soil, The Hague, 71: 9-21.
- LEVISOHN, I., 1960. Physiological and ecological factors influencing the effect of mycorrhizal inoculation. New Phytologist, Cambridge, 59: 42-51.
- MARX, D.H., 1980. Ectomycorrhizal fungus inoculations: a tool for improving forestation practices. In: MIKOLA, P., ed. Tropical Mycorrhiza Research, Oxford, Clarendon Press, p.13-71.
- MARX, D.H.; W.C. BRYAN e C.E. CORDELL, 1977. Survival and growth of pine seedlings with *Pisolithus* ectomycorrhizae after two years on reforestation sites in North Carolina and Florida. Forest Science, Washington, 23: 363-373.



- MASON, P.A.; J. WILSON; F.T. LAST e C. WALKER, 1983. The concept of succession in relation to the spread of sheathing mycorrhizal fungi on inoculated tree seedlings growing in unsterile soils. Plant and Soil, The Hague, 71: 247-256.
- MIKOLA, P., 1973. Application of mycorrhizal symbiosis in forestry practice. In: MARKS, G.C. e T.T. KOZLOWSKI, Co-ord. Ectomicorrhizae their Ecology and Physiology, New York, Academic Press, Editora, p.383-411.
- MILLER, O.K., 1982. Taxonomy of ecto-and ectendomycorrhizal fungi. In: SCHENK, N.C., Ed. Methods and Principles of Mycorrhizal Research. St. Paul, The American Phytopathological Society, p.91-101.
- MOIR, W.H. e E.P. BACHELARD, 1969. Distribution of fine roots in three *Pinus radiata* plantations near Canberra, Australia. Ecology, Durhan, 50(4): 658-662.
- NAMBIAR, E.K.S., 1983. Root development and configuration in intensively managed radiata pine plantations. Plant and Soil, The Hague, 71: 37-47.
- ROBERTS, J., 1976. A study of root distribution and growth in a *Pinus sylvestris* L. (scots pine) plantation in East Anglia. Plant and Soil, The Hague, 44: 607-621.
- ROBERTSON, N.F., 1954. Studies on the mycorrhizae of *Pinus sylvestris*. I. The pattern of development of mycorrhizal roots and its significance for experimental studies. New Phytologist, Cambridge, 53(2): 253-283.
- SINCLAIR, W.A., 1974. Development of ectomicorrhizae in a Douglas-fir nursery: I. Seasonal characteristics. Forest Science, Washington, 20(1): 51-56.

- SLANKIS, V.; 1974. Soil factors influencing formation of mycorrhizae. Annual Review Phytopathology, Palo Alto, 12: 437-457.
- SQUIRE, R.O.; G.C. MARKS e F.G. CRAIG, 1978. Root development in a *Pinus radiata* D. DON plantation in relation to site index, fertilizing and soil bulk density. Australian Forest Research, Melbourne, 8(2): 103-114.
- THEODOROU, C. e G.D. BOWEN, 1971. Influence of temperature on the mycorrhizal associations of *Pinus radiata* D.DON. Australian Journal of Botany, Melbourne, 19: 13-20.
- TOMAZELLO FILHO, M., 1980. Influência dos fungos ectomicorrízicos *Thelephora terrestris* EHR. Ex. FR. e *Pisolithus tinctorius* no desenvolvimento de espécies tropicais de *Pinus*. Piracicaba, ESALQ/USP, 116p. (Tese de Doutorado).
- TRAPPE, J.M., 1977. Selection of fungi for ectomicorrhizal inoculation in nurseries. Annual Review Phytopathology, Palo Alto, 15: 203-222.
- WILCOX, H.E., 1983. Fungal parasitism of woody plant roots from mycorrhizal relationships to plant disease. Annual Review Phytopathology, Palo Alto, 21: 221-242.

7. APÊNDICE

Apêndice 1. Análise de variância dos dados coletados na área experimental, durante 4 épocas diferentes; para dois tratamentos micorrízicos de viveiro em 3 espécies de *pinus*.

Causa da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	N.M.S. %
Blocos	4	2243,8724	560,9681	2,63 ns	8,631
Épocas (Ep)	3	5656,0915	1885,3638	8,87 **	0,226
Resíduo (a)	12	2550,5247	212,5437		
Espécies (Es)	2	697,0056	348,5028	3,17 ns	5,513
Interação Ep x Es	6	165,2491	27,5415	0,25 ns	95,527
Resíduo (b)	32	3510,1682	109,6927		
<i>Pisolithus</i> (Pi)	1	8739,7818	8739,7818	43,67 **	0,000
Interação Ep x Pi	3	815,5050	271,8350	1,35 ns	26,674
Interação Es x Pi	2	698,0191	349,0095	1,74 ns	18,570
Interação Ep x Es x Pi	6	562,1469	93,6911	0,46 ns	82,843
Resíduo (c)	48	9605,4686	200,1139		
TOTAL	119	35243,8334			

- Dados transformados em arco seno  $\sqrt{x/100}$ .

C.V. parcela = 28,33%

C.V. subparcela = 20,35%

C.V. subsubparcela = 27,49%