

**ASSOCIAÇÃO DE *Eucalyptus grandis* COM FUNGOS
ECTO E ENDOMICORRÍZICOS**

MARÍLIA FIGUEIRA REIS
Engenheira Florestal

Orientador: Prof. Dr. TASSO LEO KRÜGNER

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

P I R A C I C A B A
Estado de São Paulo - Brasil
Fevereiro - 1989

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Reis, Marília Figueira

Associação de Eucalyptus grandis com fungos ecto e endomicorrízicos
Piracicaba, 1989
69p. ilustr.

Diss.(Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Eucalipto - Micorriza - Inoculação 2. Eucalipto - Muda 3. Solo -
Microbiologia I. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP

CDD 634.9734
589.2

**ASSOCIAÇÃO DE *Eucalyptus grandis* COM FUNGOS
ECTO E ENDOMICORRÍZICOS**

MARÍLIA FIGUEIRA REIS

Aprovada em: 22.03.1989

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Tasso Leo Krüchner

ESALQ/USP

Prof. Dr. Mário Tomazello Filho

ESALQ/USP

Prof. Dra. Siu Mui Tsai

CENA/USP



Prof. Dr. TASSO LEO KRÜCHNER

Orientador

A meu pai Paulo Roberto,

com carinho e saudade.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Tasso Leo Krüger pela orientação e confiança.

À Professora Siu Mui Tsai pela coorientação e estímulo.

À FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela bolsa de estudos, críticas e sugestões valiosas no decorrer deste trabalho.

À Champion Papel e Celulose, através dos Engenheiros Benedito Vastano Jr. e Luiz Moro pelo apoio concedido nas coletas de material no campo.

À pesquisadora Elizabeth de Oliveira, Departamento de Solos da Escola Superior de Agricultura de Lavras, pela identificação de espécies de fungos formadores de MVA, dedicação e amizade.

À Sonia Cristina Peron e Edilberto Princi Portugal, laboratório de Microbiologia de Solos - CENA, pelos ensinamentos de técnicas de laboratório e manipulação de fungos formadores de MVA e valiosa amizade.

Aos funcionários da biblioteca do IPEF, sob coordenação da Sra. Marialice Metzker Poggiani, pela dedicação e apoio.

Ao Laboratório Central da Copersúcar, setor de Microbiologia e Microscopia pela execução das fotomicrografias.

Aos amigos Engenheiros Florestais: Araci Aparecida da Silva, Celina Ferraz do Valle, Celso Garcia Auer, Luís Eduardo Aranha Camargo, Roberto Chiaranda, Silas Zen, e Valderês Aparecida de Souza pelo estímulo e amizade essenciais no desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

À minha família pelo exemplo, pelos valores e princípios ensinados, especialmente à mãe Arésia Maria e à irmã Míriam, pelo apoio irrestrito, compreensão e estímulo.

À pequena Mariana, luz e pura energia me lançando sempre para a frente.

A outros tantos amigos, próximos e distantes, que voluntária ou involuntariamente tiveram seus nomes omitidos e foram tão importantes no meu aprimoramento pessoal e profissional durante este período de vida.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	viii
RESUMO	x
SUMMARY	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Aspectos gerais das associações micorrízicas	3
2.2. Benefícios produzidos pelas micorrizas	5
2.3. A absorção de fósforo	8
2.4. Especificidade e dependência	10
2.5. Micorrizas em essências arbóreas	15
2.6. Estudo de micorrizas em <i>Eucalyptus</i> spp	17
2.7. Ocorrência de MVA no Estado de São Paulo	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1. Levantamento em povoamentos de <i>Eucalyptus grandis</i> .	24
3.1.1. Localização dos povoamentos estudados	24
3.1.2. Época de amostragem	28
3.1.3. Procedimento de coleta de amostras	28
3.1.4. Avaliação das ectomicorrizas	29
3.1.5. Colonização das raízes por fungos formadores de MVA e quantidade de esporos	29
3.1.6. Identificação dos fungos formadores de MVA .	30
3.2. Experimento sobre a contribuição dos fungos formadores de MVA no desenvolvimento de <i>Eucalyptus</i> <i>grandis</i> em casa de vegetação	30

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1. Levantamento em povoamentos de <i>Eucalyptus grandis</i> .	33
4.1.1. Ectomicorrizas	33
4.1.2. Colonização das raízes por fungos formadores de MVA e quantidade de esporos	36
4.1.3. Identificação dos fungos formadores de MVA .	40
4.1.4. Caracterização dos esporos de espécies não descritas	44
4.1.5. Outras estruturas (não pertencentes à família Endogonaceae)	45
4.2. Experimento sobre a contribuição dos fungos formadores de MVA no desenvolvimento de <i>Eucalyptus</i> <i>grandis</i> em casa de vegetação	45
5. CONCLUSÕES	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
<p>1. Características das ectomicorrizas (ECM) e dos fungos formadores observados em <i>E. grandis</i>: a) aparência macroscópica da ectomicorriza branca; b) hifas septadas e possíveis escleródios da ECM preta vista ao microscópio estereoscópico (275x); c) corpos de frutificação de <i>Pisolithus tinctorius</i>; d) corpos de frutificação de <i>Scleroderma</i> sp ligados a grande quantidade de cordões miceliais e micorrizas brancas</p>	34
<p>2. Estruturas de fungos de MVA em raízes de <i>Eucalyptus grandis</i>. a) arbúsculos (1100x); b) vesículas (720x); c) hifas enveladas intracelulares (550x)</p>	38
<p>3. Algumas estruturas observadas durante a contagem de esporos presentes no solo dos talhões: a) esporo de <i>Acaulospora mellea</i> ligado a vesícula de origem (225x); b) esporo de <i>Gigaspora</i> sp 1 (75x); c) esporo de <i>Glomus deserticola</i> (300x); d) esporo de <i>Glomus occultum</i>; e) detalhe de ornamentação da parede do esporo séssil 1 (1100x); f) detalhe de ornamentação da parede de <i>Acaulospora</i> sp 1 (1100x); g) estrutura esférica associada à ECM preta, provável escleródio (300x)</p>	42

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1. Dados de precipitação e temperaturas médias mensais no período de amostragem compreendido entre julho/83 e julho/85	26
2. Resultados das análises química e granulométrica das amostras de solo dos talhões de <i>Eucalyptus grandis</i> localizados em São Simão/Altinópolis	27
3. Resultados das análises química e granulométrica das amostras de solo dos talhões de <i>Eucalyptus grandis</i> localizados em Mogi-Guaçu, SP	27
4. Quantidade de esporos/100 g solo de fungos formadores de MVA encontrados em talhões de <i>Eucalyptus grandis</i> nas regiões de São Simão/Altinópolis (SS/A) e Mogi-Guaçu (MG)	39
5. Espécies de fungos formadores de MVA encontrados na rizosfera das árvores de talhões de <i>Eucalyptus grandis</i> de diferentes idades, nas duas regiões (SS/A e MG)	41
6. Concentração de fósforo (%) na parte aérea de mudas de <i>Eucalyptus grandis</i> cultivadas durante seis meses em vasos inoculados com diferentes fungos formadores de MVA e fertilizados com dois níveis de fósforo	48

Tabela

Página

- | | | |
|----|--|----|
| 7. | Quantidade total de fósforo (gP x 100/vaso) na parte aérea de mudas de <i>Eucalyptus grandis</i> cultivadas durante seis meses em vasos inoculados com diferentes fungos formadores de MVA e fertilizados com dois níveis de fósforo | 49 |
| 8. | Quantidade de fósforo residual no solo (ppm P) após seis meses de cultivo, em mudas de <i>Eucalyptus grandis</i> inoculadas com diferentes fungos formadores de MVA e fertilizadas com dois níveis de fósforo .. | 50 |

ASSOCIAÇÃO DE *Eucalyptus grandis* COM FUNGOS ECTO E ENDOMICORRÍZICOS

Autor: MARÍLIA FIGUEIRA REIS

Orientador: Prof. Dr. TASSO LEO KRÜGNER

RESUMO

Este trabalho trata da avaliação da ocorrência de micorrizas em povoamentos de *Eucalyptus grandis*, em região de cerrado do Estado de São Paulo, e de experimento em casa de vegetação para avaliar a contribuição de fungos formadores de micorrizas vesicular-arbusculares (MVA) no desenvolvimento de plantas desta espécie. O levantamento de ectomicorrizas (ECM) e MVA em plantações envolveu oito talhões de *Eucalyptus grandis* de idades diferentes, localizados em São Simão, Altinópolis e Mogi-Guaçu. Foram realizadas três coletas, sendo uma em período chuvoso e duas em período seco. As ECM foram observadas em campo, nos mesmos pontos em que foram coletadas amostras de raízes e solo para o estudo das MVA em laboratório.

Os resultados indicaram a presença de três tipos de ECM, de acordo com sua coloração: amarelo-ouro (fungo associado *Pisolithus tinctorius*), branca (fungo

provavelmente associado *Scleroderma* sp); e preta (fungo provavelmente associado *Cenococcum geophilum*). Quanto a ocorrência de esporos de MVA no solo, o gênero *Acaulospora*, representado principalmente por *Acaulospora morrowae* e *Acaulospora mellea*, foi o mais abundante tanto em quantidade de esporos e frequência, como em número de espécies. Também foi encontrado o gênero *Glomus*, cuja espécie mais frequente foi *Glomus deserticola*, e *Gigaspora* que foi pouco frequente. Houve decréscimo na quantidade de esporos no solo durante os períodos secos em relação ao período chuvoso. A intensidade deste decréscimo variou com os talhões amostrados. Houve tendência de redução da variedade de espécies de MVA com o aumento da idade dos talhões na região de São Simão/Altinópolis. A infecção das raízes por MVA foi muito baixa, variando de 0-7%.

Em casa de vegetação, mudas de *Eucalyptus grandis* foram inoculadas com os fungos *Acaulospora morrowae*, *Acaulospora scrobiculata*, *Gigaspora margarita*, *Glomus clarum* e com uma mistura de esporos multiplicados a partir de amostras de solo provenientes dos talhões incluídos nos levantamentos de campo. O estudo foi feito em vasos contendo mistura de subsolo e areia, previamente adubados com 100 ppm de nitrogênio, 100 ppm de potássio e dois níveis de adubação fosfatada (30 e 60 ppm de P). Seis meses após a instalação do experimento, as mudas inoculadas com *Glomus clarum* e *Gigaspora margarita*, nos dois níveis de fósforo, foram as

únicas que apresentaram formação de micorrizas, embora com baixa percentagem de colonização das raízes. A testemunha sem inoculação não apresentou colonização das raízes. Verificou-se a presença ou não de esporos no substrato ao final do experimento, obtendo-se resultado positivo apenas para os tratamentos *Glomus clarum* (60 ppm P) e *Gigaspora margarita* (30 e 60 ppm P). Não houve diferença entre os tratamentos quanto a produção de biomassa, altura e diâmetro do colo das plantas, indicando que para as condições estudadas, não houve dependência de *Eucalyptus grandis* pela associação micorrízica vesicular-arbuscular.

ASSOCIATION OF *Eucalyptus grandis* WITH ECTO AND ENDOMYCORRHIZAE (VAM) FUNGI

Author: MARÍLIA FIGUEIRA REIS

Adviser: Prof. Dr. TASSO LEO KRÜGNER

SUMMARY

A survey of ectomycorrhizae (ECM) and vesicular-arbuscular mycorrhizae (VAM) was performed in plantations of *Eucalyptus grandis* established in São Simão, Altinópolis and Mogi-Guaçu, SP. Three samplings were done involving eight stands of different ages, one during the rainy season and two during the dry season. With respect to the ECM, three types were found, according to their colour: golden-yellow, formed by *Pisolithus tinctorius*; white, probably formed by *Scleroderma* sp and black, probably formed by *Cenococcum geophilum*. Three genera of VAM fungi were found in the soil samples: *Acaulospora*, *Glomus* and *Gigaspora*. *Acaulospora* was the most prevalent in terms of number of spores, frequency and number of species, *Acaulospora morrowae* and *Acaulospora mellea* being the most common ones. With respect to the genus *Glomus*, *Glomus deserticola* was the most frequent. There were no major differences among the stands studied with respect to the amount of spores in the soil.

There was a decrease in the amount of spores in the soil during the dry periods in relation to the rainy season. The intensity of this decrease varied with the stands sampled. There was also a tendency of reduction in the amount of species of VAM fungi with aging of the stands in the area of São Simão/Altinópolis. Root infection by VAM fungi was generally very low (0-7%).

Transplanted 3-4 cm tall seedlings were inoculated with *Acaulospora morrowae*, *Acaulospora scrobiculata*, *Gigaspora margarita*, *Glomus clarum* and a mixture of spores obtained from the soil samples of the field survey, in order to test the dependency of *Eucalyptus grandis* to VAM. The experiment was carried under greenhouse conditions, in pots containing a mixture of subsoil and sand, to which 100 ppm of N, 100 ppm of K and two doses of P (30 and 60 ppm) were added. Six months after inoculation, only *Glomus clarum* and *Gigaspora margarita* formed mycorrhizae, although with low levels of infection, at both doses of P tested. Non inoculated seedlings did not show any infection by mycorrhizal fungi. Presence of spores was also verified at the end of the experiment, indicating their occurrence only for *Glomus clarum* (60 ppm P) and *Gigaspora margarita* (30 and 60 ppm P). There was no difference among the treatments with respect to the dry matter weight, height and stem diameter of the plants, indicating that *Eucalyptus grandis* is not dependent of VAM association under the conditions of the study.

1. INTRODUÇÃO

Objetivando-se produção madeireira satisfatória faz-se necessário assegurar a máxima produtividade das florestas em rotações sucessivas. Evidencia-se maior atenção às interações solo-raiz, à manutenção da produtividade do sítio e ao sistema radicular das árvores desde a sua formação em viveiro até a arquitetura no campo, distribuição no perfil do solo, capacidade de exploração do substrato, e relações com os organismos do solo.

Uma vez que as relações mutualísticas entre árvores e fungos são pouco conhecidas na região tropical, salvo algumas exceções, pretende-se com este trabalho adicionar dados ao conhecimento de *Eucalyptus grandis*, extensamente utilizado em atividades de florestamento e reflorestamento em regiões brasileiras de solos em geral muito pobres em nutrientes.

Sabe-se que o gênero *Eucalyptus* é capaz de se associar naturalmente a fungos formadores de ectomicorrizas (ECM) e de micorrizas vesicular-arbusculares (MVA). As

associações micorrízicas são importantes pela sua capacidade de aumentar a absorção de íons pouco móveis nos solos, principalmente de fosfato. Sendo o fósforo nutriente muito pouco disponível às plantas em solos tropicais, o estudo das micorrizas torna-se atraente dentro da ciência florestal no momento em que todos os esforços são necessários, com vistas à maximização da produção madeireira no país.

O presente estudo teve por objetivo avaliar a ocorrência natural dos fungos micorrízicos em talhões de *Eucalyptus grandis* de várias idades, em áreas de cerrado do Estado de São Paulo. Outro objetivo foi verificar a possível contribuição de MVA no crescimento de mudas de *Eucalyptus grandis* em condições de casa de vegetação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos gerais das associações micorrízicas

Pode-se definir micorriza como uma simbiose endofítica, biotrófica mutualística, prevalente na maioria das plantas vasculares crescendo em ecossistemas naturais e cultivados, espalhados por todo o globo terrestre. Esta associação é caracterizada pelo contato íntimo entre o fungo e a planta, pela perfeita integração morfológica e regulação funcional, e pela troca simultânea de metabólitos e nutrientes. As micorrizas representam o sistema de maior atividade fisiológica do órgão de absorção das plantas, e são constituídas pelo fungo e pela planta, que estão em íntima relação com o ambiente (clima e solo) (SIQUEIRA, 1986).

As MVA estão incluídas na ordem Endogonales, que consiste de uma única família - Endogonaceae, cujos gêneros formadores de MVA mais comumente encontrados são *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Glomus* e *Sclerocystis* (TRAPPE & SCHENCK, 1982).

As estruturas produzidas por fungos formadores de MVA dentro das raízes do hospedeiro incluem: sistema interno de hifas inter e intracelulares a partir dos pontos de penetração, contínuo a uma rede de hifas externas que se distribuem no solo e produzem os esporos individuais ou em grupos nas suas extremidades; arbúsculos intracelulares, prováveis pontos de troca de nutrientes entre os simbioses; e vesículas geralmente terminais às hifas internas, prováveis órgãos de armazenamento próprios do endófito (CARLING & BROWN, 1982; HAYMAN, 1983).

As ECM são caracterizadas: pela rede de Hartig, que se constitui do micélio intercelular do endófito no córtex da raiz externo à endoderme, região em que ocorrem as trocas de nutrientes entre os simbioses; pela manta micelial que é formada por uma trama de hifas externas à epiderme, que fornece as cores características das ECM; e por cordões miceliais e hifas externas que exploram o solo e vão formar os corpos de frutificação na superfície do mesmo (MARKS & FOSTER, 1973). Os fungos formadores de ECM são Basidiomicetos (26 famílias), alguns Ascomicetos (7 famílias) e poucos são Zygomycetos (duas espécies do gênero *Endogone*) (MILLER JR., 1982).

2.2. Benefícios produzidos pelas micorrizas

De maneira geral, árvores com micorrizas apresentam vantagens em relação às aquelas não micorrizadas, sendo capazes de melhor crescimento em solos pobres e maior tolerância a condições ambientais adversas (MARX, 1980; GIANINAZZI-PEARSON & GIANINAZZI, 1983).

Os efeitos benéficos mais conhecidos provenientes destas associações estão relacionados com a maior absorção de nutrientes do solo e a maior produção de biomassa vegetal. COOPER (1984) resumiu os resultados obtidos por vários pesquisadores e relatou que a absorção dos nutrientes iônicos pouco móveis ou praticamente imóveis no solo como HPO_4^- , NH_4^+ , Zn^{++} e Cu^{++} , é a mais favorecida, o que está intimamente relacionado ao desenvolvimento do micélio externo às raízes.

Nos ecossistemas florestais as micorrizas têm papel relevante na ciclagem de nutrientes, uma vez que se apresentam nas raízes finas, participam da biomassa a ser decomposta e da absorção de nutrientes liberados no processo de decomposição (FOGEL, 1980; JANOS, 1983).

ST. JOHN (1985) relatou que dentre os vários tipos de florestas amazônicas, onde a maioria das árvores forma associações micorrízicas, as que apresentam maior quantidade de MVA e ECM são aquelas estabelecidas sobre solos muito arenosos, talvez por sua pobreza nutricional dificultar

a sobrevivência até mesmo das espécies que possuem raízes finas e pêlos radiculares bem desenvolvidos.

WENT & STARK (1968) relataram que a serrapilheira na floresta tropical é material de espessura variável e inclui além de folhas, ramos, troncos, frutos lenhosos e galerias de cupins, raízes de absorção abundantemente colonizadas por fungos formadores de MVA. As poucas raízes de absorção mais profundas que penetram o solo não apresentam micorrizas na sua maioria. Parece haver um delicado equilíbrio entre solo e vegetação dentro da floresta primária, com fluxo de nutrientes em um ciclo fechado, cujo elo é constituído de micorrizas. Estas reciclarão nutrientes diretamente do material orgânico depositado para as raízes ativas com um mínimo de perdas para o solo. As micorrizas parecem não estar envolvidas na decomposição e liberação de nutrientes, sendo a sua distribuição espacial e a ramificação intensa na camada rica em material orgânico o mecanismo responsável pelo processo de absorção do fosfato e de outros íons na forma disponível às raízes e, portanto, às hifas (TINKER, 1975).

HEAP & NEWMAN (1980) abordaram a transferência interespecífica de ^{31}P através de conexões de hifas de MVA. Estas conexões, também observadas em cordões miceliais de ECM, permitiriam a troca de água e nutrientes entre árvores diferentes, ou entre árvores adultas e indivíduos jovens. As quantidades transferidas seriam suficientes à sobrevivência

destes últimos em circunstâncias de sombreamento e competição por nutrientes dentro da comunidade vegetal (WHITTINGHAM & READ, 1982; BROWNLEE et alii, 1983).

Com relação ao papel das micorrizas na resistência das plantas à deficiência de água no solo, BROWNLEE et alii (1983) observaram a diferenciação dos cordões miceliais de ECM em vasos condutores muito semelhantes aos componentes do xilema, capazes de conduzir água através de distâncias não alcançadas pelas raízes. SCHULTZ et alii (1979) associaram a ausência de murchamento diurno de mudas de *Liquidambar styraciflua* à formação de MVA. Comportamento semelhante foi registrado para plantas de soja micorrizadas que apresentaram maior capacidade de absorção de água que plantas não colonizadas, recuperando-se mais rapidamente da situação de estresse hídrico a que foram submetidas (SAFIR et alii, 1971).

As micorrizas desempenham também papel relevante na recuperação de ambientes degradados, onde plantas micorrizadas são encontradas naturalmente como colonizadoras destes substratos. KHAN (1978) relatou a presença de *Eucalyptus pilularis* e *Eucalyptus paniculata* com MVA colonizando naturalmente uma área de deposição de resíduos de carvão. Os eucaliptos apresentavam MVA e ECM simultaneamente. Sugere-se que plantas com MVA combinadas ou não com organismos fixadores de nitrogênio podem acelerar a recuperação destas áreas. Um estudo de ocorrência de

micorrizas em plantas não-leguminosas fixadoras de nitrogênio e pioneiras em ambientes degradados tais como florestas derrubadas, áreas mineradas e dunas, mostrou que a totalidade das 25 espécies estudadas estavam micorrizadas, acentuando a importância da associação tripla fungo micorrízico - microrganismo fixador de nitrogênio - planta, na colonização bem sucedida destes ambientes (ROSE, 1980).

2.3. A absorção de fósforo

O sistema micorrízico consiste de três componentes: solo, planta e fungo. A amplitude na qual a simbiose aumenta a absorção de fósforo é determinada pelos seguintes fatores: necessidade de fosfato pela espécie vegetal e sua capacidade inerente de extrair este nutriente do solo; pelo conteúdo de fósforo no solo; pelo grau de infecção micorrízica, que por sua vez depende do nível nutricional do vegetal e da adaptação do fungo ao solo e ao ambiente climático; e pela eficiência da espécie endofítica em incrementar o desenvolvimento das plantas. Esta eficiência, própria de cada endófito, está relacionada com o pH do solo, com a adição de fertilizantes e com a percentagem de infecção das raízes (MOSSE, 1981). No entanto, um alto grau de colonização nem sempre é necessário ao desenvolvimento mais acentuado das plantas (ZAMBOLIM et alii, 1982). Especialmente os endófitos indígenas, adaptados a

baixos níveis de fosfato, se mostram freqüentemente sensíveis a alterações da fertilidade dos solos (FURLAN et alii, 1983).

HAYMAN (1983) abordou os vários mecanismos fisiológicos, químicos e físicos, pelos quais as micorrizas vesicular-arbusculares atuam na absorção do fósforo. Fisiologicamente, as micorrizas permanecem ativas por mais tempo que as raízes comuns, e são capazes de absorver fosfato contra um alto gradiente de concentração P raiz/P solo, que supera a possibilidade de atuação dos pêlos absorventes. Os mecanismos químicos seriam de grande relevância se as micorrizas fossem capazes de solubilizar fontes insolúveis de fósforo, como por exemplo, fosfatos naturais, mas tal capacidade já foi comprovada não existir, através de experimentos com ^{32}P , sugerindo que as plantas micorrizadas têm acesso apenas a fontes de P também disponíveis às plantas sem micorrizas (BARROW et alii, 1977). Os mecanismos físicos constituem a principal maneira de atuação micorrízica com relação à absorção de fósforo: as hifas externas são capazes de absorver e translocar fosfatos solúveis para a planta através de distâncias que ultrapassam em muito a região de exaustão destes íons produzida pela atuação das raízes e pêlos absorventes. As hifas externas atuariam como um prolongamento do sistema radicular, constituindo uma superfície de absorção extensa e bem distribuída no solo, bastante eficiente em absorver os nutrientes e translocá-los para a planta hospedeira.

Diferentes isolados de fungos MVA podem diferir na sua capacidade de desenvolver o sistema externo de hifas independentemente das suas capacidades de colonizar o córtex radicular, o que pode acusar diferenças de crescimento nas plantas que apresentam mesma quantidade de infecção radicular (GRAHAM et alii, 1982).

2.4. Especificidade e dependência

Existem evidências que alguns endófitos se associam preferencialmente a determinadas espécies de plantas, e que alguns fungos são mais benéficos que outros em solos deficientes em fósforo. A capacidade de um isolado causar efeito no crescimento das plantas hospedeiras parece depender mais da sua interação com um solo particular em termos de pH, microrganismos presentes no solo e fungos micorrízicos indígenas, do que com um hospedeiro em particular (MOSSE, 1973 e 1975).

JANOS (1980) associando micorrizas e sucessão em florestas tropicais, supôs que os fungos MVA não apresentam especificidade, e que as plantas hospedeiras são incapazes de favorecer uma ou outra espécie de fungo, podendo-se encontrar um segmento de raiz colonizado por vários fungos simultaneamente. Dentro do mesmo aspecto, o autor considerou que num determinado tipo de solo poderia haver predominância de uma espécie de fungo MVA, não por

seleção direta do hospedeiro, mas sim, devido a uma maior capacidade de adaptação do endófito naquele ambiente em comparação com as outras espécies de fungos presentes no solo.

Por outro lado, CALDEIRA (1981) estudou endomicorrizas em café, capim-gordura, limão-rosa e soja, e observou alguma afinidade entre plantas e endófitos para a formação de MVA. Tal afinidade ocorreu para todas as culturas estudadas, quando uma espécie de fungo era sempre responsável pela absorção mais acentuada de nutrientes e pelo maior crescimento das plantas de uma determinada cultura.

Estes aspectos mostram a necessidade de se avaliar a dependência das árvores de interesse pela associação micorrízica e de escolher entre os diferentes fungos aqueles mais adequados a cada essência arbórea, aproveitando-se as evidências de que fungos diferentes beneficiam diferentemente o desenvolvimento das plantas (LOPES, 1980; MOLINA, 1981). É de interesse portanto, a seleção prévia de espécies ou ecótipos de fungos sob condições definidas para cada cultura e estudos subseqüentes em condições de campo, quando os fungos inoculados estarão interagindo com os organismos pré-existentes no solo.

No caso de culturas perenes, mais atenção deveria ser dispensada à idade do hospedeiro, uma vez que estudos com ECM têm indicado associações preferenciais a cada

estágio de desenvolvimento do mesmo (MASON et alii, 1983; DAFT, 1983).

Neste aspecto, MALAJCZUK et alii (1982) atribuíram o sucesso do estabelecimento de povoamentos exóticos de eucaliptos e *Pinus radiata* em parte à capacidade destas árvores em formar ECM inicialmente com uma grande quantidade de fungos, que tendeu a diminuir e os fungos se tornarem mais específicos à medida que o povoamento amadurecia. Os autores acreditam que nos povoamentos naturais ocorre uma sucessão dos fungos simbiotes.

Normalmente se utiliza o crescimento ou a produção de biomassa das plantas micorrizadas em comparação com plantas não micorrizadas como uma maneira de medir os benefícios provenientes da associação micorrízica para uma determinada cultura. A quantidade destes benefícios indica a dependência da espécie em estudo com relação a associação. Gerdemann¹, citado em POPE et alii (1983), definiu a dependência das plantas pela associação micorrízica como o grau que a espécie vegetal é dependente da associação para atingir seu máximo crescimento ou produção em determinado nível de fertilidade do solo. MENGE et alii (1978) definiram numericamente a dependência como a razão entre pesos de

¹GERDEMANN, J.W. Vesicular-arbuscular mycorrhizae. In: TORREY, J.G. & CLARKSON, D.T. The development and function of roots. London, Academic Press, 1975. p.575-91.

matéria seca das plantas com micorrizas em relação a plantas sem micorrizas em um nível de fertilidade do solo determinado e expressa em percentagem.

A dependência de essências arbóreas pelas associações micorrízicas pode ser alterada por fatores como genótipo (SCHULTZ et alii, 1979), procedência (KORMANIK et alii, 1981), idade da árvore (MASON et alii, 1983), tipo de solo, disponibilidade de fósforo (SIQUEIRA et alii, 1984) e nitrogênio no solo (BROWN et alii, 1981) e espécies de fungos (POPE et alii, 1983). Esta dependência pode se expressar não só através da influência sobre o crescimento das mudas como também sobre outros processos fisiológicos como, por exemplo, a retenção foliar de modo a dilatar a estação de crescimento (KORMANIK, 1985), e a redução da mortalidade de mudas em viveiro (KORMANIK et alii, 1977).

A dependência das árvores pelas micorrizas está também relacionada com a morfologia das suas raízes, pois os benefícios provenientes da associação decorrem da exploração mais intensa do solo pelas hifas dos fungos micorrízicos (BOWEN, 1984).

BAYLIS (1975) se referiu a dois tipos morfológicos de raízes: graminóide e magnolióide. As raízes do tipo graminóide são finas, com diâmetro freqüentemente menor que 0,1 mm, muito ramificadas e com pêlos radiculares longos e abundantes. No outro extremo, as raízes do tipo magnolióide são grossas, com diâmetro raramente inferior a

0,5 mm, pouco ramificadas, e com pêlos absorventes curtos e pouco numerosos. Nesta categoria estão incluídos os gêneros *Magnolia*, *Liriodendron*, *Citrus*, *Podocarpus* e uma grande quantidade de gimnospermas de importância econômica e que respondem bem à colonização por fungos micorrízicos.

ST. JOHN (1980a) observando as características radiculares de espécies amazônicas, confirmou as descrições de BAYLIS (1975), observando que a ordem Magnoliales apresentava sistemas radiculares fortemente colonizados. Raízes do tipo magnolióide foram muito comuns na floresta tropical, em contraste com as raízes do tipo graminóide, praticamente ausentes. O tipo intermediário de raízes e o tipo graminóide apresentaram muito pouca ou nenhuma colonização micorrízica. Tais observações refletem o fato que o fungo simbiote repõe certas funções dos pêlos radiculares e das raízes finas, como a absorção de nutrientes minerais (BONFANTE-FASOLO, 1984).

De acordo com Heinrich¹, citado por BOWEN (1984), o gênero *Eucalyptus* geralmente apresenta sistema radicular denso, com raízes muito finas e ramificadas tendendo ao tipo morfológico graminóide.

¹HEINRICH, P.A. Australia, 1982. (Ph-D - University of Newcastle). (sem título)

2.5. Micorrizas em essências arbóreas

Os tipos de micorrizas mais encontrados em associação com árvores são as MVA e as ECM. Algumas espécies arbóreas pertencentes aos gêneros *Eucalyptus*, *Alnus*, *Betula*, *Populus*, *Quercus* e *Casuarina* podem apresentar MVA e ECM simultaneamente (ROSE, 1980; MALAJCZUK et alii, 1981; MALLOCH & MALLOCH, 1981; ROTHWELL et alii, 1983; MEJSTRIK & CUDLIN, 1983; NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 1984).

Apesar da colonização por um tipo de fungo micorrízico não excluir a possibilidade de infecção pelo outro, experimento em vasos com *Alnus rubra* mostrou que se o fungo ECM colonizava primeiro, a manta micelial formava uma barreira física à penetração do endófito MVA (ROSE, 1980).

Em geral, as ECM ocorrem de forma espontânea nas florestas de regiões temperadas mais homogêneas, e as MVA nas florestas tropicais úmidas, mais diversificadas floristicamente (PIROZINSKI, 1980; KHARBULI & MISHRA, 1982). Dentre as exceções que ocorrem nos dois casos, algumas são de interesse econômico. Este é o caso de *Liquidambar styraciflua* e *Juglans nigra*, formadoras de MVA na América do Norte. Também entre as exceções estão incluídas as famílias Caesalpiniaceae e Dipterocarpaceae e o gênero *Pinus*, formadores de ECM nas regiões tropicais do Hemisfério Sul (REDHEAD, 1982). No entanto, o maior interesse econômico despertado por espécies arbóreas que formam ECM nos trópicos

está relacionado com o reflorestamento de extensas áreas com espécies introduzidas de *Pinus* spp e *Eucalyptus* spp, que têm apresentado os mesmos fungos micorrízicos que ocorrem nas regiões de origem dessas espécies (MIKOLA, s.n.t.; YOKOMIZO, 1986).

A quantidade de observações sobre a ocorrência de micorrizas em essências arbóreas aumenta à medida que as florestas tropicais e os processos a ela inerentes se tornam mais conhecidos. ST. JOHN (1980b) observou 131 espécies de árvores de valor econômico ou ornamentais representando 49 famílias da Amazônia e todas apresentaram MVA. Também BONETTI et alii (1984) relataram 12 espécies leguminosas arbóreas amazônicas com MVA, sendo que a maior percentagem de colonização das raízes (90%) e a maior presença de nódulos de *Rhizobium* sp foi encontrado em *Cedrelinga catenaeformis*, espécie de rápido crescimento naquelas condições. GIANINAZZI-PEARSON & DIEM (1982) acentuaram a predominância das associações MVA nas florestas tropicais relatando vários estudos conduzidos na África Central e em regiões tropicais da Ásia concordantes neste aspecto.

HÖGBERG (1982) observou que entre 47 arbustos e árvores na Tanzânia, 40 formavam MVA, um formava ectendomicorriza e seis formavam ECM. O autor constatou que as espécies formadoras de ECM eram responsáveis pelo maior volume de madeira produzida na região.

Todas as árvores cujas raízes foram analisadas no levantamento realizado por THOMAZINI (1974) em região de cerrado dos municípios de Rio Claro e Corumbataí, Estado de São Paulo, apresentaram associações micorrízicas. As MVA foram as mais comuns e ocorreram ECM em apenas duas espécies arbóreas, nas famílias Myrtaceae e Caesalpinaceae.

2.6. Estudo de micorrizas em *Eucalyptus* spp

As ECM são as associações micorrízicas mais estudadas no gênero *Eucalyptus* (CHILVERS & PRYOR, 1965; THAPAR et alii, 1967; ASHTON, 1976; MUELL & ASHTON, 1976; MALAJCZUK & HINGSTON, 1981). Os resultados mostram que a dependência das suas espécies pela associação é variável.

PRYOR (1956) estudou eucaliptos do grupo *Renantherae*, posteriormente sub-gênero *Monocalyptus* (PRYOR & JOHNSON, 1971), que apresentavam problemas de adaptabilidade em regiões européias e observou diferenças significativas de altura entre os indivíduos que foram inoculados e os que não foram inoculados com o fungo ECM *Scleroderma flavidum*. Este estudo demonstrou a grande dependência deste grupo pela associação. Os mesmos tratamentos foram aplicados a *Eucalyptus bicostata*, grupo *Macrantherae*, o qual não sofreu colonização das raízes pelos fungos inoculados, nem apresentou problemas de desenvolvimento, não demonstrando dependência pelas ECM nas condições do estudo.

MALAJCZUK et alii (1982) compararam onze espécies de eucalipto provenientes de áreas geográficas distintas, quanto à capacidade de formar ECM com vários fungos. Esta foi aproximadamente a mesma em todas as espécies indicando ausência de especificidade fungo-hospedeiro dentro do gênero *Eucalyptus*. No entanto, fungos tipicamente formadores de ECM em *Pinus* não infectaram quaisquer espécies de eucalipto, o que ocorreu também no sentido inverso, demonstrando especificidade dos fungos ECM ao nível de gênero, mas não ao nível de espécie. No mesmo estudo, os diferentes eucaliptos variaram quanto a intensidade de colonização das raízes por um mesmo simbiote.

A compatibilidade entre fungos ECM e *Eucalyptus* spp foi estudada através de microscopia eletrônica por MALAJCZUK et alii (1984). Estes autores observaram diferenças morfológicas entre micorrizas formadas com fungos específicos do eucalipto e com fungos não específicos, normalmente associados a outras espécies arbóreas. Deposição de taninos e lises de hifas e células corticais radiculares foram relacionados com incompatibilidade fungo-hospedeiro.

SOARES (1986) estudou a associação entre *Eucalyptus grandis* e *Pisolithus tinctorius* com o objetivo de determinar o nível de fósforo no solo que favorecia a atividade da ECM, a partir dos 90 dias de idade das mudas e observou que em níveis baixos de fósforo no solo (até 8,6 ppm) a associação desempenhava importante papel no

crescimento e absorção de nutrientes pelas mudas de eucalipto, diminuindo com o aumento da concentração de P disponível.

A ocorrência de MVA em viveiros e a dependência dos eucaliptos por esta associação foram estudadas por MALAJCZUK et alii (1981) utilizando a inoculação do fungo *Glomus fasciculatum* em solo plantado com *Eucalyptus marginata* e *Eucalyptus diversicolor*. Os autores observaram a formação de MVA nestas espécies e também na leguminosa *Acacia pulchella*, normalmente presente no subbosque de povoamentos naturais destas duas espécies de eucaliptos na Austrália, o que pode ser fator importante na estabilidade destes ecossistemas florestais.

ZAMBOLIM et alii (1982) estudaram a influência de seis espécies de fungos MVA do gênero *Glomus* sobre o crescimento e absorção de nutrientes por mudas de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus tereticornis* em casa de vegetação cultivadas em solo com 1 ppm P disponível e pH de 5,2. Foi observado que ao final de setenta e cinco dias o peso da matéria seca e a altura das plantas com micorrizas era o dobro daquelas sem micorrizas, que não receberam inoculação. A espécie *Glomus clarum* foi a que promoveu maior produção de matéria seca e a maior absorção de nutrientes nas duas espécies de eucalipto. As demais espécies: *Glomus intraradices*, *Glomus claroideum*, *Glomus monosporum*, *Glomus macrocarpum* e *Glomus constrictum*, forneceram resultados

diferentes para as duas espécies de eucaliptos, o que pareceu indicar uma especificidade entre hospedeiro e fungo simbiote. A eficiência na utilização dos nutrientes absorvidos (mg matéria seca/mg de nutriente) foi afetada pela espécie de fungo, indicando uma especificidade da associação simbiótica também neste aspecto. *Glomus intraradices* foi a espécie que promoveu maior aproveitamento dos nutrientes absorvidos para as duas espécies de eucaliptos. Não houve relação entre a percentagem de colonização das raízes e o crescimento das plantas.

Com o objetivo de verificar efeitos de espécies de fungos MVA sobre o desenvolvimento inicial de *Eucalyptus grandis*, em casa de vegetação, PEREIRA et alii (1987) testaram *Glomus clarum*, *Glomus macrocarpum*, *Gigaspora margarita*, *Gigaspora heterogama* e *Entrophospora colombiana*. Apenas *Glomus clarum* apresentou poucos pontos de colonização micorrízica, mas não influenciou o desenvolvimento das mudas.

Em mudas de *Eucalyptus grandis* inoculado com fungos ectomicorrízicos e/ou endomicorrízicos (MVA) foram verificados o crescimento e as quantidades de N, P, K, Ca, Mg, S e Zn, em casa de vegetação. Após quatro meses os autores observaram aumento dos parâmetros avaliados nos tratamentos de inoculação com fungos ectomicorrízicos, redução nos tratamentos com fungos endomicorrízicos e aumentos intermediários nos tratamentos com combinações de fungos MVA e ectomicorrízicos (CARVALHO & MUCHOVEJ, 1987).

SCHAWN (1984) pesquisando micorrizas em *Eucalyptus* spp na região de Viçosa (MG), verificou *Scleroderma* sp formando ECM com *Eucalyptus grandis*, e *Pisolithus tinctorius* associado a *Eucalyptus citriodora* e *Eucalyptus robusta*. Dentre os fungos MVA foram encontrados *Acaulospora scrobiculata*, *Glomus clarum* e *Glomus* sp.

ZAMBOLIM & BARROS (1982) relataram a ocorrência de MVA em povoamentos de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna* e *Eucalyptus citriodora*, com 2 a 8 anos de idade, na região de Viçosa (MG). Para as três espécies estudadas a colonização das raízes variou de 25% a 50% e foram encontrados 50 - 80 esporos/100 g de solo. Dos gêneros identificados, os esporos de *Acaulospora* e *Glomus* foram coletados em 100% e 30% das amostras respectivamente, e *Gigaspora* raramente foi encontrado.

2.7. Ocorrência de MVA no Estado de São Paulo

BONONI & TRUFEM (1983) realizaram levantamento para observar a ocorrência de MVA na Reserva Biológica de Mogi-Guaçu (SP), em região de cerrado. O estudo abrangeu espécies de plantas indígenas à região, arbóreas ou não. Foram identificadas espécies de fungos formadores de MVA entre os gêneros *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Glomus* e *Sclerocystis*. As espécies mais freqüentes quanto ao número de esporos foram *Gigaspora calospora*, *Gigaspora heterogama*,

Gigaspora nigra e *Gigaspora gilmorei*. Não se observou relação de especificidade fungo-hospedeiro, sendo comum vários tipos de esporos em uma única rizosfera. Houve variação na freqüência de esporos durante o ano, com maior número destas estruturas nas épocas quentes e úmidas. Na época seca houve predominância do gênero *Glomus*.

Um estudo posterior TRUFEM & BONONI (1985) realizaram coletas periódicas em culturas de algodão, arroz, cana-de-açúcar, berinjela, feijão, laranja, mandioca e milho no município de Mogi-Guaçu onde, anteriormente, havia vegetação do cerrado. As espécies de fungos MVA que ocorreram em maior número de esporos, associadas a todos os hospedeiros em qualquer época do ano foram: *Gigaspora heterogama*, *Gigaspora gilmorei*, *Gigaspora pellucida* e *Glomus macrocarpum*. O gênero *Gigaspora* foi predominante quanto ao número de espécies e de esporos, seguido dos gêneros *Glomus*, *Sclerocystis* e por último, *Acaulospora*, que esteve ausente em todas as coletas na cultura de berinjela, laranja, milho, com também nas rizosferas de bauínia e barbatimão remanescentes do cerrado. Sob o aspecto ecológico as espécies foram classificadas como: sem especificidade por hospedeiro e muito adaptadas às condições locais; com especificidade por hospedeiro e pouco poder competitivo; sem especificidade e pouco poder competitivo; e espécies de ocorrência rara.

LOPES et alii (1983) coletaram amostras de solo em sua maior parte argilo - arenosos de média fertilidade, na região central do Estado de São Paulo, sob cultivo de café há mais de 50 anos. Foram recuperados esporos dos gêneros *Acaulospora*, *Glomus*, *Gigaspora* e *Sclerocystis*, em 100%, 81%, 60% e 40% das amostras, respectivamente. A espécie mais comumente observada e que apresentou o maior número de esporos foi denominada A-1, pertencente ao gênero *Acaulospora*, ainda não descrita. As demais espécies observadas dentro do gênero *Acaulospora* foram *Acaulospora scrobiculata*, *Acaulospora laevis*, *Acaulospora spinosa* e duas espécies não descritas designadas como A-2 e A-3. As espécies *Gigaspora pellucida* e *Gigaspora gigantea* foram as mais comuns no gênero *Gigaspora*, que apresentou o menor número de esporos e espécies.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi subdividida em duas fases. A primeira correspondeu ao levantamento da ocorrência de micorrizas em plantações de eucalipto, em condições de campo. A segunda etapa consistiu de experimento em casa de vegetação, com o objetivo de se observar a contribuição de fungos formadores de MVA no desenvolvimento de mudas de *Eucalyptus grandis*.

3.1. Levantamento em povoamentos de *Eucalyptus grandis*

3.1.1. Localização dos povoamentos estudados

O levantamento de campo foi realizado em talhões de *E. grandis*, nos municípios de Altinópolis, São Simão e Mogi-Guaçu, de propriedade de Champion Papel e Celulose S/A, a latitudes de 21⁰08', 21⁰32', e 22⁰20' Sul, longitudes de 47⁰31', 47⁰23', e 46⁰57' Oeste, e altitudes de 680 m, 700 m e 630 m respectivamente.

O presente trabalho considerou duas regiões distintas para o estudo: a primeira compreende área dos municípios de Altinópolis e São Simão e a segunda, área do município Mogi-Guaçu. A primeira é caracterizada por areia quartzosa e a segunda por latossolo vermelho amarelo. Mogi-Guaçu é a região mais fértil e mais produtiva. *E. grandis* é a espécie que apresenta melhor crescimento nestas regiões (RODRIGUES et alii, 1986). Na Tabela 1 encontram-se os dados de precipitação e temperaturas médias mensais das duas regiões no período compreendido pelo estudo. Ocorre o agravamento das situações de deficiência hídrica entre os meses de abril e setembro, principalmente nos solos mais arenosos.

A época de implantação e as características químicas e granulométricas de solo dos talhões abrangidos no levantamento das ectomicorrizas e MVA, nas duas regiões, encontram-se nas Tabelas 2 e 3.

Em São Simão/Altinópolis a área total abrangida pelos talhões estudados foi de 144,53 ha, estabelecidos sobre vegetação original de cerrado. Na região de Mogi-Guaçu, os talhões VII e VIII foram implantados em área de reforma de *Eucalyptus* spp, ocupando área de 24,08 ha.

Tabela 1 - Dados de precipitação e temperaturas médias mensais no período de amostragem compreendido entre julho/83 e julho/85.

Ano	Região	Mogi-Guaçu		São Simão/Altinópolis	
		Temperatura média (°C)	Precipitação (mm)	Temperatura média (°C)	Precipitação (mm)
1983	julho	18	68,5	21	73,0
	agosto	17	-	20	-
	setembro	19	187,5	23	255,0
	outubro	21	151,5	24	199,0
	novembro	23	156,4	24	190,0
	dezembro ^{**}	23	382,9	25	357,0
1984	janeiro	25	161,9	27	83,0
	fevereiro [†]	26	13,9	28	49,0
	março	24	83,3	26	151,0
	abril	21	101,7	24	159,0
	maio	20	44,1	24	-
	junho	18	-	20	-
	julho	17	1,0	19	-
	agosto [†]	17	116,7	20	68,0
	setembro	18	77,7	22	118,0
	outubro	24	7,9	26	63,0
	novembro	24	130,5	24	198,0
	dezembro	23	314,0	24	294,0
1985	janeiro	23	258,7	25	370,0
	fevereiro	24	116,9	27	90,0
	março	23	133,2	24	235,5
	abril	22	169,3	24	94,0
	maio	17	24,2	20	14,0
	junho [†]	14	9,8	17	1,0
	julho ^{**}	14	2,8	18	-

[†] coleta em SS/A

^{**} coleta em MG

Fonte: Champion Papel e Celulose S/A.

Tabela 2 - Resultados das análises química e granulométrica das amostras de solo dos talhões de *Eucalyptus grandis* localizados em São Simão/Altinópolis.

Amostra (talhão)	Época de plantio	pH	% M.O.	ppm				e.mg/100 ml solo				Granulometria (%)		
				P	Al	K	Ca	Mg	Areia	Limo	Argila			
I	nov/83	4,70	1,24	13,39	1,12	0,06	0,22	0,11	93,2	0,9	5,9			
II	nov/83	6,20	1,07	10,62	0,04	0,03	0,52	0,18	93,7	2,1	4,2			
III	nov/82	5,75	1,62	19,88	0,68	0,03	0,14	0,02	91,0	1,8	7,2			
IV	fev/81	4,45	0,79	1,96	0,52	0,03	0,06	0,04	91,7	0,9	7,4			
V	mar/79	5,40	0,77	19,68	0,56	0,01	0,16	0,02	90,6	1,9	7,5			
VI	ago/76	5,40	0,91	22,24	0,54	0,03	0,05	0,02	92,8	1,4	5,8			

Tabela 3 - Resultados das análises química e granulométrica das amostras de solo dos talhões de *Eucalyptus grandis* localizados em Mogi-Guaçu, SP.

Amostra (talhão)	Época de plantio	pH	% M.O.	ppm				e.mg/100 ml solo				Granulometria (%)		
				P	Al	K	Ca	Mg	Areia	Limo	Argila			
VII	set/80	4,90	1,81	13,39	1,52	0,09	0,78	0,19	81,7	4,7	13,6			
VIII	fev/79	4,50	1,24	6,18	3,78	0,13	0,18	0,22	52,3	20,4	27,3			

3.1.2. Época de amostragem

As coletas em São Simão/Altinópolis ocorreram em fevereiro/84, período chuvoso, e em agosto/84 e junho/85, período seco. Em Mogi-Guaçu a coleta de período chuvoso ocorreu em dezembro/83 e de período seco em julho/85 (Tabela 1).

3.1.3. Procedimento de coleta de amostras

Foram realizadas três coletas de solo e raízes para avaliação de MVA e de ectomicorrizas. Dez pontos eram escolhidos aleatoriamente em cada talhão e as amostras tomadas nas linhas de plantio. Considerou-se até a profundidade de 20 cm, que continha a maior concentração de raízes finas, as quais eram prontamente depositadas em frascos de vidro com fixador álcool-formol-ácido acético (AFA) assim que coletadas, para garantir sua conservação. O solo era misturado formando uma única amostra por talhão e depositado em sacos plásticos. Após secagem ao ar, era guardado sob refrigeração para processamento posterior em laboratório.

Atentou-se para coletar raízes que realmente pertencessem aos eucaliptos, considerando-se a presença de ECM e as características morfológicas radiculares distintas de eventuais plantas invasoras.

3.1.4. Avaliação das ectomicorrizas

Em cada um dos pontos de coleta de amostras de raízes e solo, observou-se a presença ou não das ectomicorrizas, a sua coloração, e a intensidade de ocorrência, atribuindo-se notas variáveis entre zero e dez para cada local de observação e tomando-se a média destas como nota final para cada talhão. A nota dez correspondeu à ocorrência da ectomicorriza cobrindo toda a superfície radicular, a nota um ao mínimo detectável visualmente, e zero à ausência de ECM.

3.1.5. Colonização das raízes por fungos formadores de MVA e quantidade de esporos

Das raízes finas mantidas em AFA, tomou-se duas repetições de 0,5 g de cada amostra para clarificação e coloração de acordo com PHILLIPS & HAYMAN (1970), modificado pela substituição do lactofenol por lactoglicerol, e precedido de repouso das raízes em KOH 10% por aproximadamente 12 horas à temperatura ambiente. A determinação da percentagem de colonização seguiu o método da placa riscada (GIOVANETTI & MOSSE, 1980).

Para contagem dos esporos utilizou-se o método de peneiramento de GERDEMANN & NICOLSON (1963), seguido da técnica de centrifugação de frações de peneiramento do solo (OHMS, 1957).

3.1.6. Identificação dos fungos formadores de MVA

A identificação dos fungos formadores de MVA dos povoamentos de eucalipto incluídos neste estudo teve por base as características morfológicas dos esporos: suas dimensões, estrutura e espessuras das paredes, ornamentação e cor.

3.2. Experimento sobre a contribuição dos fungos formadores de MVA no desenvolvimento de *Eucalyptus grandis* em casa de vegetação

Mudas de *Eucalyptus grandis* produzidas a partir de sementes selecionadas de Mogi-Guaçu, foram semeadas em areia autoclavada e transplantadas para os vasos quando atingiram altura 3-4 cm. Utilizou-se vasos de plástico com dimensões de 22,5 cm de diâmetro x 19,0 cm de altura. O substrato constou de subsolo e areia na proporção de 1:2 em volume, previamente desinfestado com brometo de metila.

Foi realizada adubação básica prévia com 100 ppm de nitrogênio na forma de uréia, 100 ppm de potássio na forma de cloreto de potássio, e fósforo na forma de superfosfato simples em duas concentrações: 30 e 60 ppm, incorporados ao substrato. Optou-se por dois níveis de P

intermediários às necessidades do eucalipto na fase jovem, de modo a ampliar a chance de se obter infecção micorrízica, com base nos estudos de NOVAIS et alii (1982).

Os diferentes inóculos foram padronizados com relação ao número de esporos (200 esporos/planta) e aplicados junto às raízes de cada muda no momento do transplante.

As espécies de fungos utilizados foram *Acaulospora morrowae*, abundante nos povoamentos de eucalipto estudados; *Acaulospora scrobiculata* muito freqüente em solos de cultivos distintos no Estado de Minas Gerais, além de produzir grande número de esporos (OLIVEIRA, 1986); *Gigaspora margarita* que apresentou bons resultados no desenvolvimento do cafeeiro (LOPES, 1980); e *Glomus clarum*, que forneceu o melhor resultado no desenvolvimento de mudas de *Eucalyptus* spp (ZAMBOLIM et alii, 1982). Todos estes inóculos foram obtidos da coleção de fungos MVA da Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL), MG. Um outro tipo de inóculo consistiu de uma mistura de esporos recuperados dos solos dos povoamentos de *Eucalyptus grandis* incluídos neste estudo. Utilizou-se *Brachiaria decumbens* como planta-isca e multiplicadora das populações indígenas de esporos de fungos MVA.

Após seis meses mediu-se a altura e o diâmetro do colo de todos os indivíduos e determinou-se a dependência do *Eucalyptus grandis* com relação a associação, comparando-se o peso da matéria seca da parte aérea das plantas (MENGE et

alii, 1978). Estimou-se a quantidade de esporos presentes nos vasos ao final do experimento através de peneiramento a úmido do solo e centrifugação das frações de peneiramento (OHMS, 1957), seguindo-se a contagem dos esporos sob microscópio estereoscópico (GERDEMANN & NICOLSON, 1963). A percentagem de infecção das raízes foi avaliada em placa riscada sob microscópio estereoscópico (GIOVANETTI & MOSSE, 1980), após a clarificação e coloração de amostras de 0,5 g das mesmas (PHILLIPS & HAYMAN, 1970).

O delineamento experimental consistiu de blocos casualizados em fatorial de seis tratamentos de inoculação, dois níveis de adubação fosfatada, e quatro repetições (vasos), com três plantas/vaso.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Levantamento em povoamentos de *Eucalyptus grandis*

4.1.1. Ectomicorrizas

a) Região de Mogi-Guaçu

Ocorreram três tipos de ECM segundo a coloração: amarelo-ouro, sendo o fungo associado *Pisolithus tinctorius* de acordo com YOKOMIZO (1981); branca, sendo o fungo associado *Scleroderma* sp (Figura 1a) e preta, sendo o fungo provavelmente associado *Cenococcum geophilum* Fr. (Sin. *Cenococcum graniforme* (Sow.) Ferde. & Winge)(Figura 1b) (CHILVERS, 1968; MILLER JR., 1982).

Apenas no talhão VIII percebeu-se a ECM preta, anteriormente desconhecida em plantios de eucalipto no nosso país. A manta micelial desta ECM se restringia às extremidades das raízes. A observação sob microscópio ótico indicou a presença simultânea de hifas de MVA e desta ECM nos mesmos segmentos de raiz.

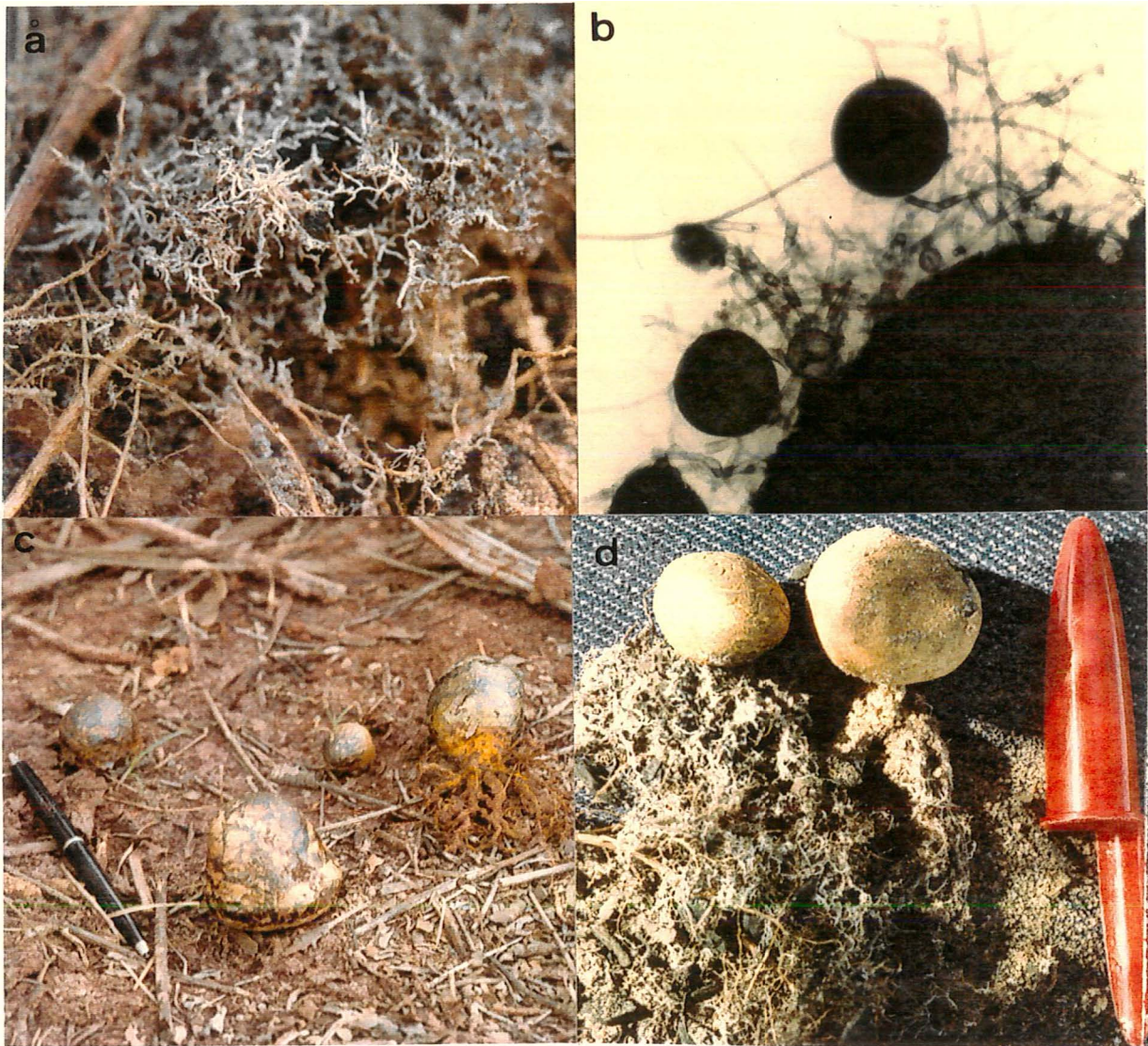


Figura 1 - Características das ectomicorrizas (ECM) e dos fungos formadores observados em *E. grandis*: a) aparência macroscópica da ectomicorriza branca; b) hifas septadas e possíveis escleródios da ECM preta vista ao microscópio estereoscópico (275x); c) corpos de frutificação de *Pisolithus tinctorius*; d) corpos de frutificação de *Scleroderma* sp ligados a grande quantidade de cordões miceliais e micorrizas brancas.

Não houve diferença perceptível na quantidade de ECM entre os períodos chuvoso e seco. Embora estivessem presentes na totalidade dos pontos observados nas duas épocas de levantamento, a intensidade de ocorrências das ECM foi muito baixa (notas entre 1 e 2).

b) Região de São Simão/Altinópolis

Distinguiu-se dois tipos de ECM: amarelo-ouro e branca, idem as de mesma coloração presentes na região de Mogi-Guaçu.

Foi comum observar a ECM branca intercalada com a ECM amarelo-ouro no mesmo segmento do órgão de absorção.

A intensidade de ocorrência de ECM foi média para todos os talhões no período seco e baixa no período chuvoso. Salvo algumas exceções como os talhões I e II, que não apresentaram ECM visível no período chuvoso quando tinham três meses de estabelecimento no campo; o talhão II com pequena intensidade de ECM na primeira coleta em época seca; e o talhão V, que estando em fase de rebrota não apresentou ECM no segundo levantamento em período seco, os demais talhões não indicaram relação entre estágio silvicultural e quantidade de micorrizas.

Em geral, as ECM e as raízes finas de absorção ocorriam entremeadas com a manta orgânica do solo, a qual

formava uma camada de espessura variável sobre o solo arenoso dos talhões. Estas observações estão em acordo com aquelas relatadas por ST. JOHN (1985) e WENT & STARK (1968) para florestas tropicais, e é possível que as micorrizas desempenhem papel relevante na ciclagem de nutrientes também das florestas de eucalipto.

Eventualmente encontrou-se corpos de frutificação de *Pisolithus tinctorius* e de *Scleroderma* sp nos talhões desta região (Figuras 1c e 1d).

4.1.2. Colonização das raízes por fungos formadores de MVA e quantidade de esporos

A percentagem de colonização das raízes foi muito baixa para as três coletas, variando de 0-7%, com exceção do talhão III com 20% e do talhão IV com 26%, ambos os valores na primeira coleta em período seco.

Esta baixa quantidade de infecção pode estar relacionada a uma maior rapidez de colonização por fungos ECM, que seriam mais competitivos nas condições de campo e ocupariam os sítios disponíveis de penetração antes dos esporos de fungos MVA completarem a fase de pré-infecção, reduzindo a possibilidade de colonização por estes últimos (ROSE, 1980).

Estes dados indicam que *Eucalyptus grandis* nas condições de campo estudadas não depende de MVA para absorver

nutrientes da solução do solo ou nutrientes recém liberados dos resíduos orgânicos com os quais se encontrava entremeada a maior quantidade das raízes de absorção. Esta observação pode estar relacionada com a própria conformação do sistema radicular do gênero *Eucalyptus* (BAYLIS, 1975; Heinrich³, citado em BOWEN, 1984).

As estruturas fúngicas observadas foram hifas inter e intracelulares, arbúsculos (Figura 2a), vesículas (Figura 2b), e células auxiliares características do gênero *Gigaspora*. Ocorreram hifas enoveladas intracelulares semelhantes às encontradas por LOPES (1980) em raízes de cafeeiro, e relatadas por KHARBULI & MISHRA (1982) em células radiculares de várias espécies arbóreas na Índia (Figura 2c).

A contagem de esporos no solo apresentou tendência de redução do número de esporos nos períodos secos em relação ao período chuvoso (Tabela 4), em concordância com os resultados de CALDEIRA (1981); BONONI & TRUFEM (1983); TRUFEM & BONONI (1985) E SCHAWN (1984).

³HEINRICH, P.A. Australia, 1982. (Ph-D - University of Newcastle). (sem título)

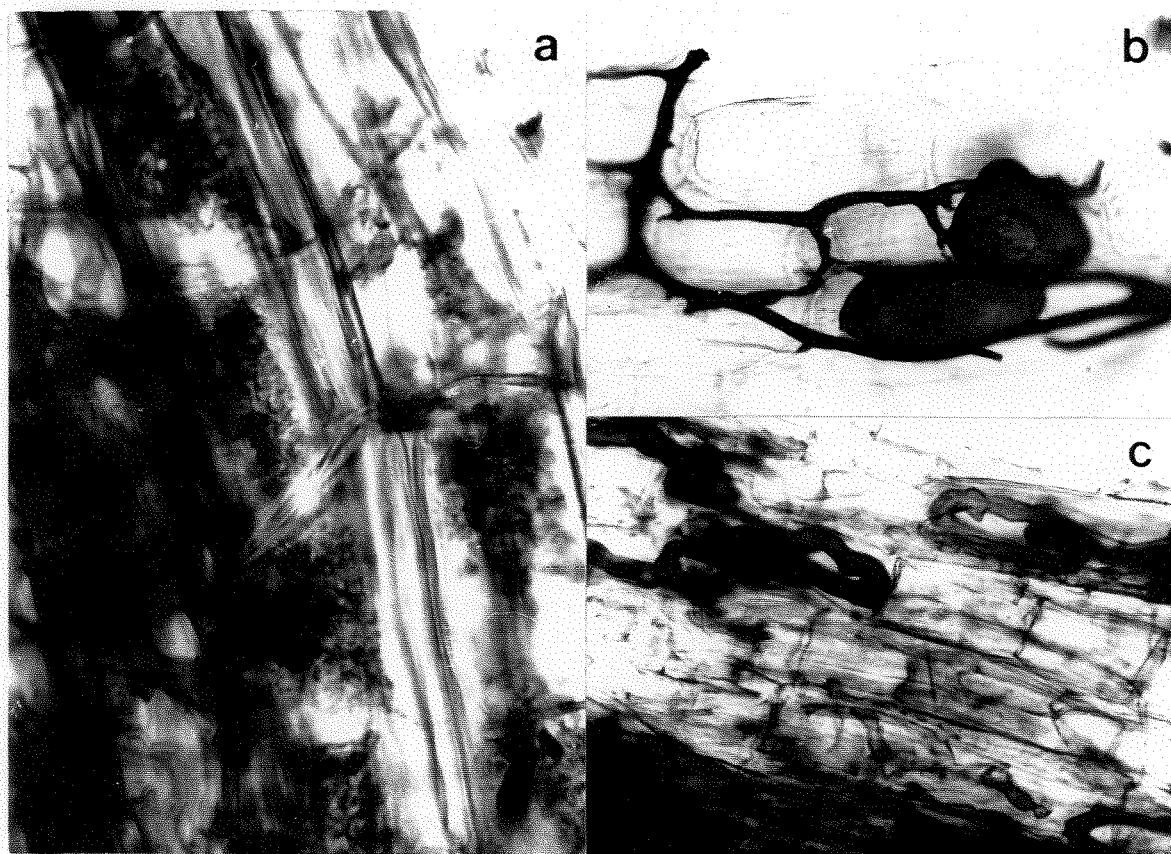


Figura 2 - Estruturas de fungos de MVA em raízes de *Eucalyptus grandis*. a) arbúsculos (1100x); b) vesículas (720x); c) hifas enoveladas intracelulares (550x).

Tabela 4 - Quantidade de esporos/100 g solo de fungos formadores de MVA encontrados em talhões de *Eucalyptus grandis* nas regiões de São Simão/Altinópolis (SS/A) e Mogi-Guaçu (MG).

Período	Data de coleta	Talhões SS/A					Talhões MG		Média	
		I	II	III	IV	V	VI	VII		VIII
Chuvoso	fev./84 (SS/A)	496	776	90	440	110	110	440	132	286
	dez./83 (MG)									
Seco	ago./84 (SS/A)	120	74	70	82	84	100	-	-	-
	- (MG)									
Seco	jun./85 (SS/A)	134	90	10	58	50	44	184	96	140
	jul./85 (MG)									

4.1.3. Identificação dos fungos formadores de MVA

As espécies de fungos encontradas nos levantamentos de campo nas duas regiões estão apresentadas na Tabela 5.

Dentre as espécies de fungos observadas, as mais abundantes foram *Acaulospora mellea* (Figura 3a) e *Acaulospora morrowae* constituindo normalmente mais de 50% da quantidade total de esporos presentes nas amostras, seguidas de *Acaulospora laevis* ausente apenas nos talhões V e VI, e de *Acaulospora* sp 1. As espécies *Acaulospora appendicula*, *Acaulospora spinosa* e *Acaulospora trappei* foram as menos freqüentes e ocorreram em pequeno número de esporos. Portanto, o gênero *Acaulospora* predominou sobre os demais tanto em freqüência, como em número de esporos.

A predominância de esporos deste gênero parece ser uma tendência nos solos de pH ácido, como observado por ZAMBOLIM & BARROS (1982), LOPES et alii (1983) e CALDEIRA et alii (1983), embora haja observações discordantes em estudos no próprio cerrado do Estado de São Paulo, em região bem próxima àquela abrangida pelo presente estudo, quando o gênero *Gigaspora* predominou sobre os demais (BONONI & TRUFEM, 1983 e TRUFEM & BONONI, 1985). A abundância de *Acaulospora mellea* e *Acaulospora morrowae* parece reforçar o resultado de LOPES et alii (1983), uma vez que a espécie denominada A-1 por estes autores parece se compor de esporos destas duas espécies, que foram descritas por SCHENCK et alii (1984) posteriormente ao referido trabalho.

Tabela 5 - Espécies de fungos formadores de MVA encontrados na rizosfera das árvores de talhões de *Eucalyptus grandis* de diferentes idades, nas duas regiões (SS/A e MG).

Espécies	Amostras (talhões)*								
	SS/A								MG
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
<i>Acaulospora appendicula</i> Spain, Sieverding & Schenk	-	+	-	-	-	-	-	+	-
<i>Acaulospora laevis</i> Gerd. & Trappe	+	+	+	+	-	-	-	+	+
<i>Acaulospora mellea</i> Spain & Schenck	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Acaulospora morrowae</i> Spain & Schenck	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Acaulospora spinosa</i> Walker & Trappe	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Acaulospora trappei</i> Ames & Linderman	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Acaulospora</i> sp 1	+	-	-	+	+	+	+	-	+
<i>Gigaspora gigantea</i> (Nicol & Gerd.) Gerd. & Trappe	-	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Gigaspora</i> sp 1	-	-	+	+	+	-	-	-	-
<i>Gigaspora</i> sp 2	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Glomus deserticola</i> Trappe, Bloss & Menge	+	+	+	+	+	-	-	+	+
<i>Glomus fasciculatum</i> (Thax.) Gerd. & Trappe	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Glomus occultum</i> Walker	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Esporo sésil 1	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Esporo sésil 2	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Número de espécies diferentes	7(8)**	7	6	8	5	3(4)**	7	6	

* + = presente; - = ausente.

** O número entre parênteses corresponde à quantidade de espécies se considerada a presença de pelo menos uma espécie de *Gigaspora* spp comprovada pela ocorrência de células auxiliares em lâminas de raízes coradas.

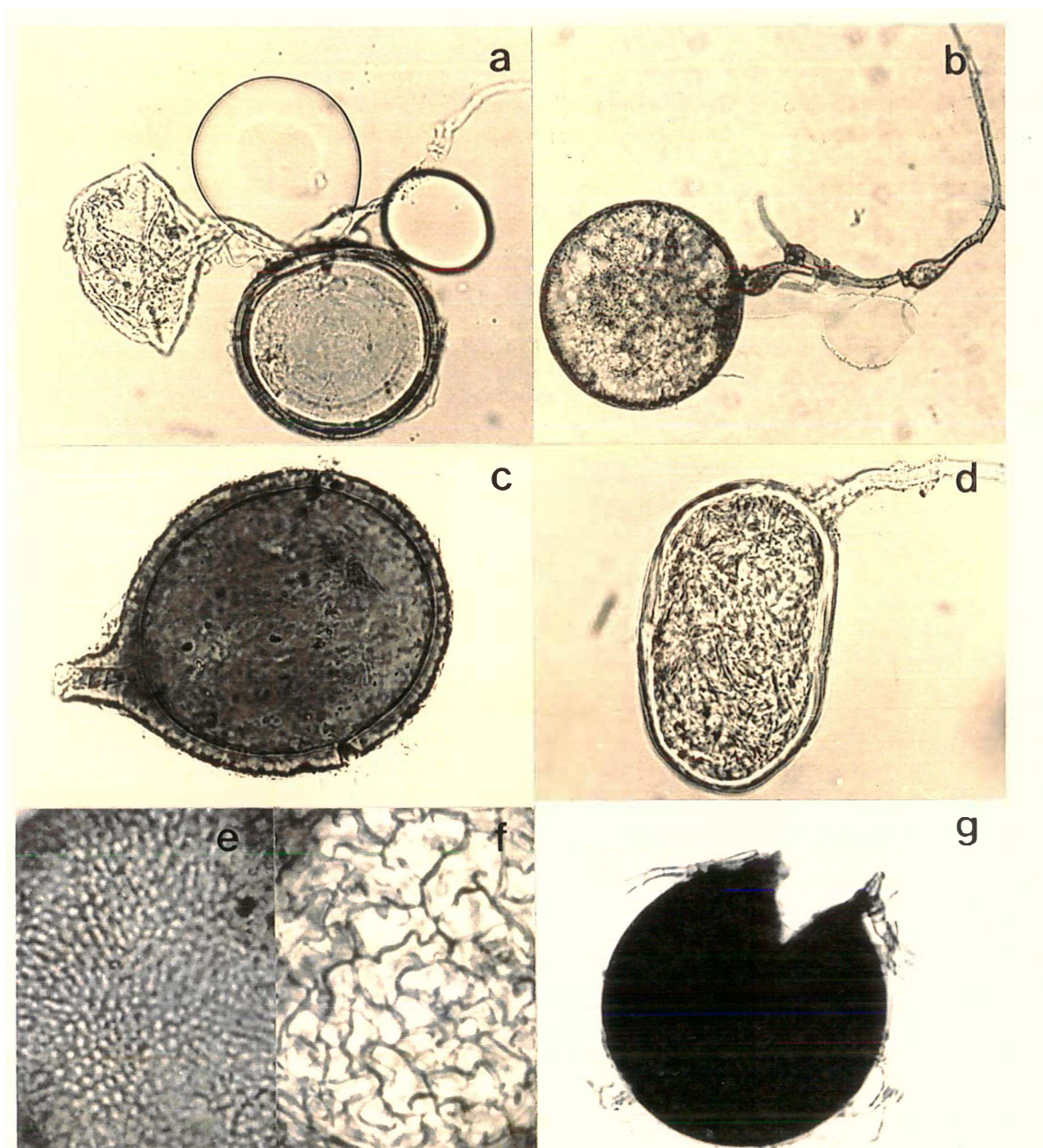


Figura 3 - Algumas estruturas observadas durante a contagem de esporos presentes no solo dos talhões: a) esporo de *Acaulospora mellea* ligado a vesícula de origem (225x); b) esporo de *Gigaspora sp 1* (75x); c) esporo de *Glomus deserticola* (300x); d) esporo de *Glomus occultum*; e) detalhe de ornamentação da parede do Esporo sésseil 1 (1100x); f) detalhe de ornamentação da parede de *Acaulospora sp 1* (1100x); g) estrutura esférica associada à ECM preta, provável escleródio (300x).

O gênero *Gigaspora* esteve presente em todas as amostras procedentes de São Simão, exceto na amostra II. Apesar de não ter ocorrido na forma de esporos nos talhões I e VI (Tabela 5), este gênero foi representado por células auxiliares típicas, presentes nas lâminas semi-permanentes de esporos e/ou em lâminas de raízes coloridas. Ocorreram tipos diferentes de células auxiliares, o que comprova a presença de espécies diferentes de *Gigaspora* sp nos talhões amostrados. O número de esporos observados deste gênero foi reduzido e não ocorreu em Mogi-Guaçu, diferentemente das observações de BONONI & TRUFEM (1983) e TRUFEM & BONONI (1985).

O gênero *Glomus* representado por três espécies, foi freqüente apenas como *Glomus deserticola* (Figura 3c), a única espécie observada na região de São Simão/Altinópolis. Este gênero mostrou tendência a uma maior variedade de espécies nos talhões de Mogi-Guaçu.

A não observação de vestígios de vesícula junto aos esporos sésseis 1 e 2 conduz à possibilidade de tais estruturas pertencerem ao gênero *Acaulospora* ou *Entrophospora*.

Houve tendência de redução na diversidade de espécies de MVA com a idade mais avançada dos talhões na região de São Simão/Altinópolis. O pequeno número de talhões estudados em Mogi-Guaçu não permitiu conclusões para este local.

4.1.4. Caracterização dos esporos de espécies não descritas

Os seguintes tipos de esporos foram caracterizados:

- *Acaulospora* sp 1 (106-175 μm) marrom avermelhado, parede com padrão sinuoso, conforme caracterizado como A3 por LOPES et alii (1983) (Figura 3f).

- *Gigaspora* sp 1 (231 x 243-256 x 279 μm) amarelo marrom, duas paredes, sendo a interna (5 μm) constituída de lâminas e a externa hialina (1 μm), aderidas com bulbo (38-40 μm) amarelo claro, conectado ao esporo por poro sem septo, com mancha escura próxima ao bulbo (Figura 3b).

- *Gigaspora* sp 2 (60 μm) amarelo claro, parede com três lâminas e bulbo de 12,4 μm .

- Esporo séssil 1 (99 μm) marrom claro, esférico, parede espessa com espinhos uniformes, distantes 3,5 μm entre si e altura de 2,3 μm . Foi observado apenas um esporo (Figura 3e).

- Esporo séssil 2 (60-122 μm) amarelo claro, esférico, parede com espinhos agrupados convergindo para um mesmo ponto, 10-15 μm de altura.

4.1.5. Outras estruturas (não pertencentes à família Endogonaceae)

1) Estrutura esférica (56-63 μm), marrom avermelhada, com protuberâncias arredondadas e sinuosas (4-7 μm).

2) Estrutura esférica, preta, que apresentou ou não hifas septadas, liberou gotícula de lipídio ao ser pressionada, e se mostrou associada à ectomicorriza preta, constituindo-se provavelmente de escleródio (Figura 3g).

4.2. Experimento sobre a contribuição dos fungos formadores de MVA no desenvolvimento de *Eucalyptus grandis* em casa de vegetação

Para o parâmetro produção de biomassa não houve diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. A altura média alcançada pelas plantas foi de 85,0 cm, variando entre 64,3-95,3 cm e o diâmetro médio do colo foi de 9,1 mm variando entre 7,4-11,1 mm.

O tratamento de inoculação com *Glomus clarum* na dose de 60 ppm de P e com *Gigaspora margarita* na dose de 30 e 60 ppm de P foram os únicos que apresentaram esporos no substrato ao final do período de duração do experimento,

embora em pequeno número. O tratamento testemunha não apresentou esporos em todas as repetições.

Nos tratamentos *Gigaspora margarita* 30 e 60 ppm P a quantidade de colonização das raízes foi muito pequena, caracterizada pela presença de algumas hifas e células auxiliares apenas. Os tratamentos *Glomus clarum* 30 e 60 ppm P apresentaram percentagem média de infecção abaixo de 5% para a concentração de 30 ppm P e de 13,7% para 60 ppm P, sendo observadas hifas e vesículas. O tratamento testemunha manteve-se sem MVA.

Este resultado concorda, em parte, com o observado por PEREIRA et alii (1987), quando *Glomus clarum* apresentou alguns pontos de colonização, *Gigaspora margarita* não colonizou as raízes e o gênero *Acaulospora* não foi testado.

Da mesma forma, PEREIRA et alii (1987) não observaram influência de espécies de fungos MVA sobre o desenvolvimento inicial de *E. grandis*, em contraste com ZAMBOLIM et alii (1982) que observaram efeitos positivos e CARVALHO & MUCHOVEJ (1987), que observaram efeitos inibidores dos parâmetros de crescimento.

A análise da quantidade de fósforo na parte aérea das planta indicou efeito significativo ($P = 0,05$) para *Glomus clarum* 30 ppm P, superior aos demais tratamentos com 30 ppm P, que não diferiram entre si (Tabelas 6 e 7). No entanto, se a percentagem de P na parte aérea das plantas de

cada tratamento for comparada com os teores de P no solo ao fim do experimento (Tabela 8), observar-se-á uma correlação estatística positiva ($R = 0,84$; $P = 0,05$) entre os teores de P na parte aérea das plantas e os teores de P contidos no solo. Ou seja, no tratamento *Glomus clarum* 30 ppm P a absorção foi maior porque o teor de P no solo também foi maior que nos demais tratamentos que receberam a mesma dose de P, por razões não conhecidas.

Portanto, nas condições do presente estudo, no que se refere a substrato, ambiente e espécies de endófitos, *Eucalyptus grandis* não foi dependente de MVA, uma vez que se desenvolveu de forma satisfatória, sem sintomas de deficiência visíveis. Observou-se também a sua independência de ECM nestas condições, pois não houve contaminação das plantas por fungos ectomicorrízicos.

Tabela 6 - Concentração de fósforo (%) na parte aérea de mudas de *Eucalyptus grandis* cultivadas durante seis meses em vasos inoculados com diferentes fungos formadores de MVA e fertilizados com dois níveis de fósforo.

Fungos	Doses de P (ppm)	
	30	60
<i>Glomus clarum</i>	0,118a	0,116a
<i>Gigaspora margarita</i>	0,073b	0,098a
Testemunha (sem inoculação)	0,079b	0,095a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%). Os valores são médias de quatro vasos (repetições).

Tabela 7 - Quantidade total de fósforo (gP x 100/vaso) na parte aérea de mudas de *Eucalyptus grandis* cultivadas durante seis meses em vasos inoculados com diferentes fungos formadores de MVA e fertilizados com dois níveis de fósforo.

Fungos	Doses de P (ppm)	
	30	60
<i>Glomus clarum</i>	6,06a	5,97a
<i>Gigaspora margarita</i>	3,55b	4,38ab
Testemunha (sem inoculação)	3,46b	4,53ab

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%). Os valores são médias de quatro vasos (repetições).

Tabela 8 - Quantidade de fósforo residual no solo (ppm P) após seis meses de cultivo, em mudas de *Eucalyptus grandis* inoculadas com diferentes fungos formadores de MVA e fertilizadas com dois níveis de fósforo.

Fungos	Doses de P (ppm)	
	30	60
<i>Glomus clarum</i>	29,5a	34,3a
<i>Gigaspora margarita</i>	9,8b	22,7a
Testemunha (sem inoculação)	14,1ab	25,8a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%). Os valores são médias de quatro vasos (repetições).

5. CONCLUSÕES

1) Foram encontradas ectomicorrizas (ECM) e micorrizas vesicular-arbusculares (MVA) nos povoamentos de *Eucalyptus grandis* nas regiões estudadas.

2) Entre os fungos formadores de ECM foram constatados *Pisolithus tinctorius*, associado a um tipo de micorriza amarelo-dourado; *Scleroderma* sp provavelmente associada a um tipo de micorriza branca e provavelmente *Cenococcum geophilum*, associado a uma micorriza preta.

3) Entre os fungos formadores de MVA foram encontrados os gêneros *Acaulospora*, *Gigaspora* e *Glomus*. O gênero *Acaulospora* foi o mais frequente e apresentou a maior quantidade de esporos e de espécies, seguido dos gêneros *Gigaspora* e *Glomus*. *Acaulospora mellea* e *Acaulospora morrowae* ocorreram em todos os talhões, constituindo normalmente mais da metade da quantidade total de esporos presentes nas amostras de solo.

4) Ocorreu variação na quantidade de esporos de MVA entre período seco e chuvoso, sendo maior no período chuvoso, mas não foi possível determinar diferenças entre locais e idades.

5) A percentagem de colonização das raízes por fungos MVA foi muito baixa (0-7%) em quaisquer dos períodos de coleta e observou-se hifas inter e intracelulares, arbúsculos, vesículas e células auxiliares dentre as estruturas fúngicas.

6) *Eucalyptus grandis* não foi dependente de MVA sob as condições estudadas de casa de vegetação, em dois níveis de fertilização fosfatada (30 e 60 ppm de P) e a percentagem de colonização das raízes foi muito baixa, quando ocorreu.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHTON, D.H. Studies on the mycorrhizae of *Eucalyptus regnans* F. Muell. Australian Journal of Botany, Melbourne, 24: 723-41, 1976.
- BARROW, N.J.;MALAJCZUK, N.; SHAW, T.C. A direct test of the ability of vesicular-arbuscular mycorrhiza to help plants take up fixed soil phosphate. The New Phytologist, Cambridge, 78: 269-76, 1977.
- BAYLIS, G.T.S. The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., ed. Endomycorrhizas. London, Academic Press, 1975. p.373-90.
- BONFANTE-FASOLO, P. Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. In: POWELL, C.L. & BAGYARAJ, D.J., ed. VA Mycorrhiza. Boca Raton, CRC, 1984. p.5-33.

BONETTI, R.; OLIVEIRA, L.A.; MAGALHÃES, F.M.M. População de *Rhizobium* spp e ocorrência de micorrizas VA em cultivos de essências florestais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 19(ed. especial): 137-42, 1984.

BONONI, V.L.R. & TRUFEM, S.F.B. Endomicorrizas vesículo-arbusculares do cerrado da reserva biológica de Mogi-Guaçu, SP., Brasil. *Rickia*, São Paulo, 10: 55-84, 1983.

BOWEN, G.D. The roots and the use of soil nutrients. In: BOWEN, G.D. & NAMBIAR, E.K.S. *Nutrition of plantation forests*. London, Academic Press, 1984. p.147-75.

BROWN, R.W.; SCHULTZ, R.C.; KORMANIK, P.P. Response of vesicular-arbuscular endomycorrhizal sweetgum seedlings to three nitrogen fertilizers. *Forest Science*, Washington, 27(2): 413-20, 1981.

BROWNLEE, C. The structure and function of mycelial systems of ectomycorrhizal roots with special reference to their role in forming interplant connections and providing pathways for assimilate and water transport. *Plant & Soil*, The Hague, 71: 433-43, 1983.

CALDEIRA, S.F. Observações sobre a associação de endomicorrizas com café, capim-gordura, limão-rosa e soja. Viçosa, 1981. 40p. (MS - Universidade Federal de Viçosa).

CALDEIRA, S.F.; CHAVES, G.M.; ZAMBOLIM, L. Observações de micorriza VA em diferentes espécies de plantas. *Revista Ceres*, Viçosa, 30(167): 19-24, 1983.

CARLING, D.E. & BROWN, M.F. Anatomy and physiology of VA and nonmycorrhizal roots. *Phytopathology*, St. Paul, 72(8): 1108-9, 1982.

CARVALHO, E.F. & MUCHOVEJ, R.M.C. Comportamento de mudas de *Eucalyptus grandis* na presença de fungos endo e ectomicorrízicos. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 2., São Paulo, 1987. Programa e Resumos. São Paulo, 1987. p.3.

CHILVERS, G.A. Some distinctive types of eucalypt micorrhiza. *Australian Journal of Botany*, Melbourne, 16: 49-70, 1968.

CHILVERS, G.A. & PRYOR, L.D. The structure of eucalypt mycorrhizas. *Australian Journal of Botany*, Melbourne, 13: 245-59, 1965.

- COOPER, K.M. Physiology of VA mycorrhizal associations. In: POWEL, C.L. & BAGYARAJ, D.J. VA Mycorrhiza. Boca Raton, CRC, 1984. p.155-80.
- DAFT, M.J. The influence of mixed inocula on endomycorrhizal development. Plant & Soil, The Hague, 71: 331-38, 1983.
- FOGEL, R. Mycorrhizae and nutrient cycling in natural forest ecosystems. The New Phytologist, Cambridge, 86: 199-212, 1980.
- FURLAN, V.; FORTIN, J.A.; PLENCHETTE, C. Effects of different vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on growth of *Fraxinus americana*. Canadian Journal of Forest Research, Ottawa, 13(4): 589-92, 1983.
- GERDEMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. Transaction British of Mycological Society, 46(2): 235-44, 1963.
- GIANINAZZI-PEARSON, V. & DIEM, H.G. Endomycorrhizae in the tropics. In: DOMMERGUES, Y.R. & DIEM, H.G., ed. Microbiology of tropical soils and plant productivity. The Hague, Martinus Nijhoff/Dr. N. Junk, 1982. p.209-51.

GIANINAZZI-PEARSON, V. & GIANINAZZI, S. The physiology of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots. *Plant & Soil*, The Hague, 71: 197-209, 1983.

GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular micorrhizal infection in roots. *The New Phytologist*, Cambridge, 84: 489-500, 1980.

GOMES, J.M. Métodos de aplicação de adubo em diferentes solos para a produção de mudas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. *Revista Árvore*, Viçosa, 6(1): 53-63, 1982.

GRAHAM, J.H.; LEONARD, R.T.; MENGE, J.A. Membrane-mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *Plant Physiology*, Lancaster, 68: 548, 1981.

GRAHAM, J.H.; LINDERMAN, R.G.; MENGE, J.A. Development of external hiphae by different isolate of mycorrhizal *Glomus* spp in relation to root colonization and growth of Troyer citrange (*Poncirus foliata* x *Citrus sinensis*). *The New Phytologist*, Cambridge, 91(2): 183-9, 1982.

- HAYMAN, D.S. The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. *Canadian Journal of Botany*, Ontario, 61(3): 944-63, 1983.
- HEAP, A.J. & NEWMAN, E.I. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhizas on Phosphorus transfer between plants. *The New Phytologist*, Cambridge, 85: 173-9, 1980.
- HÖGBERG, P. Mycorrhizal association in some woodland and forest trees and shrubs in Tanzania. *The New Phytologist*, Cambridge, 92(3): 407-15, 1982.
- JANOS, D.P. Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica*, St. Louis, 12(supl.): 56-64, 1980.
- JANOS, D.P. Tropical mycorrhizas, nutrient cycles and plant growth. In: SUTTON, S.L.; WHITMORE, T.C.; CHADWICK, A.C. *Tropical rain forest: ecology and management*. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1983. p.327-45.
- KHAN, A.G. Vesicular-arbuscular mycorrhizas in plants colonizing black wastes from bituminous coal mining in the Illawarra region in New South Wales. *The New Phytologist*, Cambridge, 81: 53-63, 1978.

- KHARBULI, P.P. & MISHRA, R.R. Survey of mycorrhizal association in some trees of North-eastern India. *Acta Botanica Indica*, Meerut, 10(2): 192-95, 1982.
- KORMANIK, P.P. Effects of phosphorus and vesicular-arbuscular mycorrhizae on growth and leaf retention of black walnut seedlings. *Canadian Journal of Forest Research*, Ottawa, 15(4): 688-93, 1985.
- KORMANIK, P.P.; BRYAN, W.C.; SCHULTZ, R.C. Influence of endomycorrhizae on growth of sweetgum seedlings from eight mother trees. *Forest Science*, Washington, 23(4): 500-5, 1977.
- KORMANIK, P.P.; BRYAN, W.C.; SCHULTZ, R.C. Effects of three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on sweetgum seedlings from nine mother trees. *Forest Science*, Washington, 27(2): 327-35, 1981.
- LOPES, E.S. Eficiência e especificidade das associações micorrízicas do tipo vesicular-arbuscular em gramíneas e leguminosas forrageiras, e no cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Piracicaba, 1980. 111p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).

- LOPES, E.S. Occurrence and distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in coffee (*Coffea arabica* L.) plantations in central São Paulo state, Brazil. *Turrialba, Turrialba*, 33(4): 417-22, 1983.
- MALAJCZUK, N. & HINGSTON, F.J. Ectomycorrhizae associated with Jarrah. *Australian Journal of Botany*, Melbourne, 29: 453-62, 1981.
- MALAJCZUK, N.; LINDERMAN, R.G.; KOUGH, J.; TRAPPE, J.M. Presence of vesicular-arbuscular mycorrhizae in *Eucalyptus* spp and *Acacia* sp, and their absence in *Banksia* sp after inoculation with *Glomus fasciculatus*. *The New Phytologist*, Cambridge, 87: 567-72, 1981.
- MALAJCZUK, N.; MOLINA, R.; TRAPPE, J.M. Ectomycorrhiza formation in *Eucalyptus*. I. Pure culture synthesis, host specificity and mycorrhizal compatibility with *Pinus radiata*. *The New Phytologist*, Cambridge, 91(3): 467-82, 1982.
- MALAJCZUK, N.; MOLINA, R.; TRAPPE, J.M. Ectomycorrhiza formation in *Eucalyptus*. II. The ultrastructure of compatible and incompatible mycorrhizal fungi and associated roots. *The New Phytologist*, Cambridge, 96(1): 43-53, 1984.

- MALLOCH, D. & MALLOCH, B. The mycorrhizal status of boreal plants: species from northeastern. *Canadian Journal of Botany*, Ontario, 59: 2167-72, 1981.
- MARKS, G.C. & FOSTER, R.C. Structure, morphogenesis and ultrastructure of ectomycorrhizae. In: MARKS, G.C. & KOZLOWSKI, T.T. *Ectomycorrhiza their ecology and physiology*. New York, Academic Press, 1973. p.2-35.
- MARX, D.H. Role of mycorrhizae in forestation of surface mines. Lexington, USDA Forest Service, 1980. p.109-16.
- MASON, D.A. The concept of succession in relation to the spread of sheating mycorrhizal fungi on inoculated tree seedling growing in unsterile soils. *Plant & Soil*, The Hague, 71: 247-56, 1983.
- MEJSTRIK, V.K. & CUDLIN, P. Mycorrhiza in some plant desert species in Algeria. *Plant & Soil*, The Hague, 71: 363-6, 1983.
- MENGE, J.A.; JOHNSON, E.L.V.; PLATT, R.G. Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes. *The New Phytologist*, Cambridge, 81: 553-9, 1978.

- MIKOLA, P. Importance of micorrhiza in tropical soils. In: *Rhizosphere Biology*. p.97-105. s.n.t.
- MILLER JR., O.K. Taxonomy of ecto and ectendomycorrhizal fungi. In: SCHENCK, N.C. *Methods and principles of mycorrhizal research*. St. Paul, The American Phytopathological Society, 1982. p.91-101.
- MOLINA, R. Ectomycorrhizae specificity in the genus *Alnus*. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, 59(3): 325-34, 1981.
- MOSSE, B. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, 11: 170-96, 1973.
- MOSSE, B. Especificity of vesicular-arbuscular mycorrhizas. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B. *Endomycorrhizas*. London, Academic Press, 1975. p.469-84.
- MOSSE, B. Vesicular-arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture. Hawaii. Institute of Tropical Agriculture and Human Resources, 1981. 94p. (Research Bulletin, 194).

MUELL, F. & ASHTON, D.H. Studies on the mycorrhizae of *Eucalyptus regnans*. *Australian Journal of Botany*, Melbourne, 24: 723-41, 1976.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Casuarinas: nitrogen-fixing trees for adverse sites. Washington, National Academic Press, 1984. 118p.

NOVAIS, R.F. Níveis críticos de fósforo no solo para eucalipto. *Revista Árvore*, Viçosa, 6(1): 29-37, 1982.

OHMS, R.E. A flotation method for collecting spores of phycomycetous mycorrhizal parasite from soil. *Phytopathology*, St. Paul, 47(12): 751-2, 1957.

OLIVEIRA, E. Taxonomia da Endogonaceae. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 1., Lavras, 1985. *Anais*. Lavras, Escola Superior de Agricultura de Lavras/FAEPE, 1986. p.100-19.

PEREIRA, J.M.; OLIVEIRA, E.; SOUZA, P. Efeitos de micorrizas vesicular-arbusculares sobre o desenvolvimento de mudas de *Eucalyptus grandis*. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 2., São Paulo, 1987. *Programa e Resumos*. São Paulo, 1987. p.3.

PHILLIPS, I.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular micorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transaction of the British Mycological Society*, London, 55: 158-61, 1970.

PIROZYNSKI, K.A. Interactions between fungi and plants through the ages. *Canadian Journal of Botany*, Ontario, 59(10): 1824-7, 1980.

POPE, P.E. The mycorrhizal dependency of four hardwood tree species. *Canadian Journal of Botany*, Ontario, 61: 412-7, 1983.

PRYOR, L.D. Ectotrophic mycorrhiza in *Renantherous* spp of *Eucalyptus*. *Nature*, London, 177: 587-8, 1956.

PRYOR, L.D. & JOHNSON, L.A.S. A classification of the *Eucalyptus*. Canberra, The Australian National University, 1971. 102p.

REDHEAD, J.F. Ectomycorrhizae in the tropics. In: DOMMERGUES, Y.R. & DIEM, H.G. *Microbiology of tropical soils and plant productivity*. The Hague, Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk, 1982. p.253-69.

RODRIGUES, L.C.; VASTANO JR., B.; SILVA, A.P. Manejo e melhoramento de florestas de *Eucalyptus* em areias quartzozas na região nordeste do estado de São Paulo. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 5., Olinda, 1986. *Revista Silvicultura* edição especial. São Paulo, SBS, 1987. 41: 104-10.

ROSE, S.L. Mycorrhizal associations of some actinomycete nodulated Nitrogen fixing plants. *Canadian Journal of Botany*, Ontario, 58(13): 1449-54, 1980.

ROTHWELL, F.M.; HACSKAYLO, E.; FISHER, D. Ecto and endomycorrhizal fungus associations with *Quercus imbricaria* L. *Plant & Soil*, The Hague, 71: 309-12, 1983.

SAFIR, G.R.; BOYER, J.S.; GERDEMANN, J.W. Mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. *Science*, Washington, 172: 581-3, 1971.

SCHWAN, K.R.F. Caracterização, incidência e ecologia de micorrizas em viveiro e florestas de *Eucalyptus* spp, na região de Viçosa, Minas Gerais. Viçosa, 1984. 55p. (MS - Universidade Federal de Viçosa).

- SCHENCK, N.C. Several new unreported vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (Endogonaceae) from Colombia. *Mycologia*, Lancaster, 76(4): 685-99, 1984.
- SCHULTZ, R.C. Vesicular-arbuscular mycorrhiza influence growth but not mineral concentrations in seedlings of eight sweetgum families. *Canadian Journal of Forest Research*, Ontario, 9: 218-23, 1979.
- SIQUEIRA, J.O. Micorrizas: forma e função. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 1., Lavras, 1985. *Anais*. Lavras, Escola Superior de Agricultura de Lavras/FAEPE, 1986. p.5-32.
- SIQUEIRA, J.O.; HUBBELL, D.H.; VALLE, R.R. Efeito do fósforo na formação da simbiose micorrízica vesicular-arbuscular. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 19(12): 1465-74, 1984.
- SOARES, I. Níveis de fósforo no desenvolvimento de ectomicorrizas por *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch e no crescimento de mudas de eucalipto. Viçosa, 1986. 51p. (MS - Universidade Federal de Viçosa).

- ST. JOHN, T.V. Root size, root hair and mycorrhizal infection: re-examination of Baylis's hypothesis with tropical trees. *The New Phytologist*, Cambridge, 84: 483-7, 1980a.
- ST. JOHN, T.V. Uma lista de espécies de plantas tropicais brasileiras naturalmente infectadas com micorriza vesicular arbuscular. *Acta Amazônica*, Manaus, 10(1): 229-34, 1980b.
- ST. JOHN, T.V. Mycorrhizae. In: PRANCE, G.T. & LOVEJOY, T.E. *Key environments: Amazonia*. Oxford, Pergamon, 1985. p.277-83.
- THAPAR, H.S.; SING, B.; KAKSHI, B.K. Mycorrhizae in *Eucalyptus*. *Indian Forester*, Dehra Dun, 93(11): 756-9, 1967.
- THOMAZINI, L.I. Mycorrhiza in plants of the "Cerrado". *Plant & Soil*, The Hague, 41: 707-11, 1974.
- TINKER, P.B. Soil chemistry of phosphorus and mycorrhizal effects on plant growth. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B. *Endomycorrhizas*. London, Academic Press, 1975. p.353-67.

- TRAPPE, J.M. & SCHENCK, N.C. Taxonomy of the fungi forming endomycorrhizae. In: SCHENCK, N.C. Methods and principles of mycorrhizal research. St. Paul, The American Phytopathological Society, 1982. p.1-9.
- TRUFEM, S.F.B. & BONONI, V.L.R. Micorrizas vesículo-arbusculares de culturas introduzidas em áreas de cerrado. *Rickia*, 12: 165-87, 1985.
- WENT, F.W. & STARK, N. Mycorrhiza. Bioscience, Washington, 18: 1035-9, 1968.
- WHITTINGHAM, J. & READ, D.J. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems. III. Nutrient transfer between plants with mycorrhizal interconnections. *The New Phytologist*, Cambridge, 90: 277-84, 1982.
- YOKOMIZO, N.K.S. Associação micorrízica de *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch com espécies de *Eucalyptus*. Piracicaba, 1981. 54p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- YOKOMIZO, N.K.S. Micorrizas em essências florestais. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 1., Lavras, 1985. *Anais*. Lavras, Escola Superior de Agricultura de Lavras/FAEPE, 1986. p.212.

ZAMBOLIM, L. & BARROS, N.F. Constatação de MVA em *Eucalyptus* spp na região de Viçosa, MG. *Revista Árvore*, Viçosa, 6(1): 95-7, 1982.

ZAMBOLIM, L; BARROS, N.F.; COSTA, L.M. Influência de micorrizas do tipo VA no crescimento e absorção de nutrientes por mudas de *Eucalyptus* spp. *Revista Árvore*, Viçosa, 6(1): 64-73, 1982.