

## SELEÇÃO DE GENITORES MONOCARIÓTICOS DO FUNGO SIMBIÓTICO *Pisolithus microcarpus* PARA ESTUDOS GENÉTICOS

Nilza de Lima Pereira Sales<sup>1</sup>, Sebastião Carlos da Silva Rosado<sup>2</sup>, Dulcinéia de Carvalho<sup>2</sup>  
e Anderson Marcos de Souza<sup>3</sup>

(Recebido: 23 de novembro de 2001; aceito: 20 de novembro de 2003)

**RESUMO:** O presente estudo teve o objetivo geral de definir uma estratégia de melhoramento genético do fungo ectomicorrízico *Pisolithus microcarpus* para a produção de inóculo comercial para mudas de *Eucalyptus*. Após o mapeamento da distribuição espacial e temporal das frutificações de *Pisolithus microcarpus* em duas unidades amostrais de sub-bosque de *Eucalyptus* spp., procedeu-se à coleta e à germinação de basidiósporos de seis frutificações para obter genitores monocarióticos *in vitro*. Após a caracterização e a determinação da compatibilidade sexual desses genitores, pôde-se gerar híbridos intra-específicos e definir um modelo aplicável à análise dialélica em fungos ectomicorrízicos heterotálicos e com sistema de compatibilidade sexual tetrapolar. O uso deste modelo permitiu estimar, para a característica de crescimento micelial, a magnitude da Capacidade Geral de Combinação associada a cada genitor monocariótico e da Capacidade Específica de Combinação entre os genitores monocarióticos de *Pisolithus microcarpus*. As estimativas dessas capacidades permitiram avaliar o potencial de uso de esporos ou de micélio na constituição de inóculos comerciais.

Palavras-chave: ectomicorriza, *Pisolithus*, análise dialélica, mating type, compatibilidade sexual, capacidade geral e específica de combinação,

## BREEDING OF MONOKARYOTICS GENITORS OF SYMBIOTIC FUNGUS *Pisolithus microcarpus* FOR GENETIC STUDIES

**ABSTRACT:** This research developed a strategy for genetic improvement of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus microcarpus* aiming at producing commercial inoculum for *Eucalyptus* seedlings. After mapping the spatial and temporal distribution of fruiting bodies in two experimental plots of a *Eucalyptus* understory, basidiospores were collected from six basidiomata and germinated to produce parental monokaryons isolates *in vitro*. After the identification of the sexual compatibility system of monokaryons, some compatibles parental isolates were crossed *in vitro* to produce hybrid dikaryotic progenies and to develop a model applicable to a diallell mating design. The diallell analyses were done for the trait of mycelia growth. The use of such model allowed the estimation of the values of General Combining Ability (GCA) of each parental monokaryons isolates and the values of Specific Combining Ability (SCA), for each one of the crossing system between parental monokaryons. These combining abilities showed the potential use of basidiospores to produce commercial inoculum.

Key words: Ectomycorrhizae, *Pisolithus*, diallell analyses, mating type, sexual compatibility, general and specific combining abilities.

<sup>1</sup> Doutoranda do Depto. de Fitopatologia/UFLA - C.P.3037 - CEP.37200-000— Lavras-MG- [nlpsales@bol.com.br](mailto:nlpsales@bol.com.br)

<sup>2</sup> Professor do Departamento de Ciências Florestais/UFLA - CEP.37200-000- C.P.37— Lavras-MG- [scrosado@ufla.br](mailto:scrosado@ufla.br); [dulce@ufla.br](mailto:dulce@ufla.br).

<sup>3</sup> Doutorando do Departamento de Ciências Florestais, UFLA – C.P. 3037 – CEP 37200-000, Lavras-MG

## 1 INTRODUÇÃO

As estratégias mais promissoras para aumentar a sobrevivência e a produtividade de árvores cultivadas em sítios de baixa qualidade incluem os programas de melhoramento genético de plantas e a utilização dos fungos simbióticos micorrízicos.

A melhoria da eficiência simbiótica desses fungos poderá, de forma complementar à seleção e ao melhoramento das espécies arbóreas, maximizar a utilização desses sítios. As associações micorrízicas são essenciais para as árvores, pois, em condições de deficiências hídricas e nutricionais, o parceiro fúngico melhora a absorção e o transporte de água e nutrientes do solo para as raízes da planta (Skinner e Bowen, 1974a, 1974b). Além desses benefícios, há significativo aumento da tolerância à acidez, à toxicidade por metais pesados, a temperaturas elevadas do solo (Marx, 1991) e também um expressivo aumento na resistência às doenças do sistema radicular (Kope et al. 1990).

Os atuais programas de melhoramento genético de árvores envolvem técnicas de polinização controlada em delineamentos de cruzamentos inter e intra-específicos que permitem estimar os parâmetros genéticos úteis à seleção de genitores (linhagens, variedades, clones etc.) e à produção de híbridos capazes de gerar sementes melhoradas. Entretanto, com relação aos programas de melhoramento genético de fungos micorrízicos, vários estudos ainda necessitam ser conduzidos para o entendimento da natureza e da magnitude dos efeitos genéticos na manifestação das características de interesse econômico e ambiental. Isso propiciará o nível de conhecimento científico necessário à produção de inóculos fúngicos eficientes em promover os benefícios associados à simbiose.

Alguns estudos conduzidos sobre os fungos ectomicorrízicos *Hebeloma* (Debaud et al, 1988; Gay e Debaud, 1987), *Laccaria*

*bicolor* (Kropp e Fortin, 1988) e *Pisolithus tinctorius* (Rosado, Kropp e Piché, 1994; Carvalho et al. 1997) evidenciaram a possibilidade de se obter genitores monocarióticos e suas progênes dicarióticas *in vitro*, demonstrando, portanto, a possibilidade de produção de inóculos comerciais efetivos na colonização das raízes das árvores, constituídos de híbridos intra-específicos.

O presente estudo teve os seguintes objetivos: i) produzir genitores monocarióticos por meio da germinação de esporos *in vitro*; ii) caracterizar a compatibilidade sexual de genitores monocarióticos para a geração de híbridos intra-específicos e iii) propor um modelo para estimar os efeitos da Capacidade Geral de Combinação (CGC), associada a cada genitor monocariótico e da Capacidade Específica de Combinação (CEC), entre genitores específicos de *Pisolithus microcarpus*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Germinação de esporos e obtenção de culturas monocarióticas monospóricas

Seis frutificações maduras foram coletadas em duas áreas distintas, cultivadas com *Eucalyptus* spp, em Itutinga, Minas Gerais. Após a extração dos basidiosporos de *Pisolithus microcarpus* estes foram germinados e culturas monocarióticas foram obtidas, conforme descrito por Kope e Fortin (1990).

### 2.2 Identificação dos grupos de compatibilidade sexual

Para identificar os grupos de compatibilidade sexual (mating types) das culturas monocarióticas, dez culturas provenientes de cada uma das seis frutificações foram tomadas aleatoriamente e pareadas entre si em meio sólido MMN (Max, 1969), usando o dispositivo de cruzamento em fatorial (10X10). Após quatro semanas, três quadrados

de aproximadamente 3,0 x 3,0 mm, contendo micélio crescido na interface das culturas pareadas, foram transferidos para novas placas com meio MMN. Após 10 dias, as colônias foram examinadas microscopicamente para constatar-se a presença de grampos de conexão, indicativos da dicarionização. Utilizou-se, para a caracterização dos *mating types*, a metodologia descrita por Rosado (1996).

Após a conclusão das observações microscópicas e reconhecimento dos *mating types* dessas 40 culturas, duas culturas compatíveis (capazes de formar um dcário) de cada uma das frutificações (total de 8 culturas monocarióticas) foram selecionadas para serem cruzadas. Duas outras culturas monocarióticas, catalogadas no Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, foram incluídas nestes cruzamentos para constituir um novo delineamento fatorial, perfazendo-se um total de 10 culturas monocarióticas.

### 2.3 Seleção de genitores monocarióticos e escolha do modelo para análise dialélica

Após o reconhecimento da compatibilidade sexual ou *mating types* deste novo delineamento, foram selecionadas, ao acaso, 6 culturas monocarióticas genitoras que, ao serem cruzadas entre si formaram um conjunto de culturas dicarióticas, definindo, dessa maneira, um delineamento de cruzamento em dialelo balanceado para a geração de culturas dicarióticas híbridas. A partir desse delineamento, definiu-se o modelo biométrico de Griffing (1956) para realizar as análises genéticas dos híbridos fúngicos gerados. Essas análises foram processadas com dados de crescimento micelial, por ser uma característica rápida e fácil de ser avaliada em fungos. Os dados foram obtidos conforme experimento a seguir.

As culturas híbridas obtidas no cruzamento em dialelo foram repicadas para placas

de petri com meio MMN, incubadas em câmara de crescimento a 25<sup>0</sup>C, no escuro, durante 28 dias e arranjadas em um delineamento estatístico inteiramente casualizado, com 3 repetições para cada cultura. No final do período de incubação, obtiveram-se os dados de diâmetro da colônia, estimados pela média aritmética de diâmetros medidos em quatro eixos com distribuição equidistante ao longo do perímetro da colônia. Os dados obtidos foram submetidos à análise pelo modelo de Griffing (1956), utilizando o programa GENES (Cruz, 2001).

Modelo de Griffing:  $Y_{ij} = m + G_i + S_{ij} + e_{ij}$ ; sendo,  $Y_{ij}$  = média experimental;  $m$  = efeito da média geral;  $G_i$  = efeito da Capacidade Geral de Combinação (CGC) associados à  $i$  e  $j^{\text{ésima}}$  cultura monocariótica genitora;  $S_{ij}$  = efeito da Capacidade Específica de Combinação (CEC) entre as culturas monocarióticas genitoras  $i$  e  $j$ ;  $e_{ij}$  = erro aleatório médio, associado ao tratamento de ordem  $ij$ .

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Produção de genitores monocarióticos *in vitro*

O número de culturas monocarióticas obtidas pela germinação de esporos provenientes das seis frutificações amostradas foi de 17, 11 e 17 nas frutificações 3, 4 e 5 (parcela 1); e 15 culturas monocarióticas obtidas na frutificação 6 (parcela 2).

Os resultados da identificação dos grupos de compatibilidade, *mating types*, mostraram que a frutificação 6 (parcela 2) apresenta todos os quatro grupos de compatibilidade sexual apresentados pela literatura para o grupo *Pisolithus* (Kope e Fortin, 1990; Rosado, Kropp e Piché, 1994; Carvalho et al., 1997). Por outro lado, as frutificações 3, 4 e 5 (parcela 1) apresentaram apenas dois dos quatro grupos de compatibilidade.

### 3.2 Seleção de genitores monocarióticos e escolha do modelo para análise dialélica

A Tabela 1 mostra o cruzamento entre oito genitores monocarióticos escolhidos ao acaso, dentre o conjunto de culturas monocarióticas de cada frutificação, e de cada um dos dois locais de amostragem, mais os dois outros genitores monocarióticos (G 9 e G10) pertencentes à coleção de fungos ectomicorrízicos da UFLA. Observa-se que somente os cruzamentos entre as culturas monocarióticas provenientes das frutificações 3 e 4 foram incompatíveis. Estas frutificações ocorreram no solo em posições

muito próximas, indicando que se originaram de um mesmo micélio ou de micélios diferentes, porém, com um certo grau de parentesco. Isto sugere que, nestas frutificações, pelo menos um dos dois locais apresentaram o mesmo fator de compatibilidade sexual. Dessa forma, as culturas monocarióticas de uma das duas frutificações não participaram como genitoras, no delineamento de cruzamento em dialelo completo, para gerar as progênies dicarióticas.

A Tabela 2 apresenta um delineamento experimental em dialelo balanceado, em que os genitores G1, G5, G6, G8, G9 e G10 se cruzam para a geração de  $g(g-1)/2$  progênies dicarióticas, ou seja, 15.

**Tabela 1.** Delineamento de cruzamento em fatorial para reconhecimento da compatibilidade sexual entre culturas monocarióticas de diferentes frutificações e locais de amostragem.

*Table 1.* Design of factorial crossing system for recognition of sexual compatibility, among monokaryotic cultures from different basidiomata and sampling places.

	LOCAL 1 (Itutinga, MG)						LOCAL 2 (Itutinga, MG)		LOCAL 3 (Lavras, MG)	
	Frutificação 3		Frutificação 4		Frutificação 5		Frutificação 6		Frutif. 7	Frutif. 8
Genitores e MT	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> G <sub>1</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> G <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> G <sub>3</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>4</sub> G <sub>4</sub>	A <sub>5</sub> B <sub>5</sub> G <sub>5</sub>	A <sub>6</sub> B <sub>6</sub> G <sub>6</sub>	A <sub>7</sub> B <sub>7</sub> G <sub>7</sub>	A <sub>8</sub> B <sub>8</sub> G <sub>8</sub>	A <sub>1</sub> ·B <sub>1</sub> G <sub>9</sub>	A <sub>2</sub> ·B <sub>2</sub> G <sub>10</sub>
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub>		+	+	+	+	+	+	+	+	+
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub>			-	-	+	+	+	+	+	+
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub>				+	+	+	+	+	+	+
A <sub>2</sub> B <sub>4</sub>					+	+	+	+	+	+
A <sub>5</sub> B <sub>5</sub>						+	+	+	+	+
A <sub>6</sub> B <sub>6</sub>							+	+	+	+
A <sub>7</sub> B <sub>7</sub>		Cruzamentos recíprocos não realizados						+	+	+
A <sub>8</sub> B <sub>8</sub>									+	+
A <sub>1</sub> ·B <sub>1</sub>										+
A <sub>2</sub> ·B <sub>1</sub>										

Additional monokaryotic cultures from Lavras, MG, deposited at the Forest Breeding Laboratory. MT= Mating types of the monokaryotic cultures.

Culturas monocarióticas adicionais, provenientes de Lavras, MG e cadastradas no Laboratório de Melhoramento Florestal, MT = Mating types das culturas monocarióticas.

Escolheu-se o método de número 4, descrito em Cruz e Regazzi (1994), para análise do delineamento em dialelo. Neste método inclui-se a análise dos F1 e excluem-se os cruzamentos recíprocos, que não são possíveis de serem realizados em fungos basidiomicetos ectomicorrízicos, e também os autocruzamentos, pelo fato desses fungos serem heterotáticos.

As características fúngicas de importância econômica e ambiental, tais como as relacionadas à melhoria do estado nutricional das plantas, ao aumento da tolerância às condições adversas do meio e à síntese de fosfatase ácida e de outras substâncias estimuladoras do crescimento vegetal, podem ser geneticamente estudadas pelo modelo biométrico em dialelo proposto por Griffing (1956).

Este modelo permite avaliar o valor reprodutivo de cada cultura monocariótica genitora, bem como as interações entre elas, para formar progênes híbridas fúngicas superiores. A estimativa da CGC de cada um dos genitores monocarióticos permite a seleção daqueles que, quando cruzados aleatoriamente com qualquer outro genitor, produzem progênes híbridas com média superior à da população. Por outro lado, a estimativa da CEC permite a seleção de genitores específicos para cruzamentos controlados e a obtenção de progênes híbridas superiores. Assim, ambas as estimativas são necessárias para a definição da melhor estratégia de seleção para a implementação de programas de inoculações comerciais de mudas no viveiro.

**Tabela 2.** Delineamento de cruzamento em dialelo balanceado para a geração de culturas dicarióticas híbridas.

*Table 2. Design of balanced diallell crossing system for producing hybrid dikaryotic cultures.*

Genitores de <i>Pisolithus</i> <i>Microcarpus</i>	G1	G5	G6	G8	G9	G10
G1	X	D1	D2	D3	D4	D5
G5	-	X	D6	D7	D8	D9
G6	-	-	X	D10	D11	D12
G8	-	-	-	X	D13	D14
G9	-	-	-	-	X	D15
G10	-	-	-	-	-	X

A adaptação de modelos biométricos para análises genéticas em fungos basidiomicetos é uma prática considerada adequada e relativamente usual. O trabalho

que iniciou este tipo de adaptação foi conduzido por Simchen e Jinks (1964) em *Schizophillum commune*. Esta aplicação foi feita a partir do modelo North Carolina Design

II, proposto por Comstock e Robinson (1952). Posteriormente, este modelo foi aplicado em fungos ectomicorrízicos para a condução de estudos de componentes de variância em *Hebeloma cylindrosporum* (Gay e Debaud, 1987; Wagner, Gay e Debaud, 1988; 1989) e, mais recentemente, em *Pisolithus tinctorius* (Rosado, Kropp e Piché, 1994).

Os dados do crescimento micelial das culturas dicarióticas híbridas foram submetidos à análise de variância, conforme o modelo biométrico em dialelo completo anteriormente descrito.

Os resultados da análise de variância são apresentados na Tabela 3. Observa-se que houve diferenças significativas entre as culturas híbridas, entre as CGC dos genitores monocarióticos e entre as CEC dos diferentes cruzamentos. Também observa-se que o coeficiente de variação (CV) experimental foi baixo (11,02%), revelando alta precisão experimental. O alto valor do CV genotípico (22,81%), comparado com o CV experimental, e os níveis de significância da CGC e CEC indicam a possibilidade de se alcançar ganhos genéticos significativos pela seleção de geni-

tores com os maiores valores de CGC e/ou de cruzamentos específicos com os maiores valores de CEC. Os valores de CGC de cada genitor e de CEC são apresentados na Tabela 4. Observa-se que o genitor G5 foi o que teve o maior valor de CGC (7,5), o que significa que, independente do outro genitor com quem ele cruzar, produzirá culturas híbridas com média superior à da população. Neste caso, poder-se-á optar pela produção de inóculo constituído por esporos, desde que um dos genitores seja G5. Observa-se também que a maior CEC foi alcançada pelo cruzamento entre os genitores G6 e G9 (7,4), seguida pelo cruzamento entre os genitores G5 e G8 (4,9). Neste caso, estes cruzamentos específicos produzirão média superior à da população e o inóculo poderá ser constituído de esporos, porém, provenientes de frutificações geradas a partir destes cruzamentos específicos realizados em condições controladas em laboratório. Nestas situações de inóculos constituídos por esporos destacam-se as vantagens de facilidade de operação e custo de produção de inóculo em escala comercial.

**Tabela 3.** Análise de variância do crescimento micelial das culturas dicarióticas híbridas de *Pisolithus microcarpus*

**Table 3.** Variance analysis of mycelia growth of *Pisolithus Microcarpus* hybrid cultures.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Culturas híbridas	14	1672,93	119,50	13,89**
C.G.C.	5	948,51	189,70	22,05**
C.E.C.	9	724,42	80,59	9,36**
Resíduo	30	258,00	8,6	
Média geral	26,62mm			
CV experimental = 11.02%		CV genotípico = 22.81%		

\*\* : Teste de F com efeito significativo ( $p < 0,01$ ), considerando genitores com efeito fixo.

\*\* : F test with a significant effect ( $p < 0,01$ ), considering parents with a fixed effect.

**Tabela 4.** Matriz de médias e estimativas da Capacidade Geral de Combinação (CGC) e Capacidade Específica de Combinação (CEC) obtidas pela análise dialélica do crescimento micelial das culturas dicarióticas híbridas de *Pisolithus microcarpus*.

**Table 4.** Matrix of means of the General Cross Ability (GCC) and Specific Cross Ability (SCC) obtained by the diallelic analysis of the mycelia growth of *Pisolithus microcarpus* dikaryotic hybrid cultures.

Genitores	G1 (-0.4) *	G5 (7.5)	G6 (0.5)	G8 (-4.0)	G9 (-1.5)	G10 (-2.1)
G1	X	36,0 (2,3)**	26,0 (-0,7)	23,7 (1,5)	21,7 (-3,1)	24,3 (0,2)
G5	-	X	26,0 (-8,6)	35,0 (4,9)	30,3 (-2,3)	35,7 (3,7)
G6	-	-	X	25,7 (2,6)	33,0 (7,4)	24,3 (-0,7)
G8	-	-	-	X	17,3 (-3,8)	15,3 (-5,2)
G9	-	-	-	-	X	25,0 (2,0)
G10	-	-	-	-	-	X

(\*) Valores da Capacidade Geral de Cruzamento de cada genitor

(\*\*) Valores da Capacidade Específica de Cruzamento entre os genitores

(\*) Values of the General Cross Ability of each parental

(\*\*) Values of the Specific Cross Ability between parental

#### 4 CONCLUSÕES

A partir de esporos coletados de frutificações amostradas no campo foi possível obter genitores monocarióticos *in vitro* para proceder estudos genéticos de fungos ectomicorrízicos.

A caracterização e a determinação da compatibilidade sexual de genitores monocarióticos permitiram produzir híbridos intra-específicos e definir um modelo aplicável à análise dialélica em fungos ectomicorrízicos heterotáticos e com sistema de compatibilidade sexual tetrapolar.

Este modelo poderá ser aplicável a outras variáveis, para, assim, propiciar uma melhor constituição de inóculos, ou seja, utilizando estruturas fúngicas sexuadas (esporos) ou estruturas vegetativas (micélio).

#### 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, D.; ROSADO, S.C.S.; SOUZA, A. M.; OLIVEIRA, A.F. Produção de culturas

monocarióticas e compatibilidade sexual intra-e interpopulacional para o fungo ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker e Couch. **Cerne**, Lavras, v.3, n.1, p.143-160, 1997.

COMSTOCK, R. E.; ROBINSON, H. F. Estimation of overage dominance of genes. In: **Heterosis** (Ed. J. W. Gowen), pp. 494-516. Iowa State College Press, Iowa State. USA, 1952.

CRUZ, C.D. Programa GENES. Versão Windows. Editora UFV. Viçosa, MG. 2001.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético**. Viçosa. UFV. Imprensa Universitária, 1994. 390 p.

DEBAUD, J. C., GAY, G., PREVOST, A., LEI, J.; DEXHEIMER, J. Ectomycorrhizal ability of genetically different homokaryotic and dikaryotic mycelia of *Hebeloma cylindrosporum*. **New Phytologist**, London, v.108, p.323-328, 1988.

GAY, G.; DEBAUD, J. C. Genetic study on indole-3-acetic acid production by ectomycorrhizal *Hebeloma* species: Inter- and intraspecific

variability in homo- and dikaryotic mycelia. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v.26, p.141-146, 1987.

GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal Biology Science**, East Melbourne, v.9, p.463-493, 1956.

KOPE, H. H.; FORTIN, J. A. Germination and comparative morphology of basidiospores of *Pisolithus arhizus*. **Mycologia**, New York, v.82, p.350-357, 1990.

KOPE, H. H., TSANTRIZOS, Y.S., FORTIN, J. A.; OGILVIE, K. K. *p*-Hydroxybenzoylformic acid and (R)-(-)-*p*-hydroxymandelic acid, two antifungal compounds isolated from liquid culture of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus arhizus*. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.37, p.258-264, 1990.

KROPP, B. R.; FORTIN, J.A. The incompatibility system and relative ectomycorrhizal performance of monokaryons and reconstituted dikaryons of *Laccaria bicolor*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.66, p.289-294, 1988.

MARX, D. H. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infection. I Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic infection fungi and soil bacteria. **Phytopathology**, Lancaster, v.59, p.153-163, 1969.

MARX, D. H. **Forest Application of the Ectomycorrhizal Fungus *Pisolithus tinctorius***. The Marcus Wallenberg Prize, Stockholm, 1991.

ROSADO, S. C. S.; KROPP, B. R. e PICHÉ, Y. Genetics of ectomycorrhizal symbiosis. II. Fungal variability and heritability of ectomycorrhizal traits. **New Phytologist**, New York, v.126, p.111 – 117, 1994.

ROSADO, S.C.S. Genética quantitativa aplicada em fungos ectomicorrízicos. In: SIQUEIRA, J.O., ed. **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras/DCS e DCF. p.101-133, 1996.

SIMCHEN, G.; JINKS, J. L. The determination of dikaryotic growth rate in the basidiomycete *Schizophyllum commune*: a biometrical analysis. **Heredity**, v.19, p.629-649, 1964.

SKINNER, M. F.; BOWEN, J. A. The uptake and translocation of phosphate by mycelial strands of pine mycorrhizas. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.6, p.53-56, 1974a.

SKINNER, M. F.; BOWEN, J. A. The penetration of soil by mycelial strands of ectomycorrhizal fungi. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.6, p.437-457, 1974b.

WAGNER, F., GAY, G.; DEBAUD, J. C. Genetical variability of glutamate dehydrogenase activity in monokaryotic and dikaryotic mycelia of the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v.28, p.566-571, 1988.

WAGNER, F., GAY, G.; DEBAUD, J. C. Genetical variation of nitrate reductase activity in mono- and dikaryotic populations of ectomycorrhizal fungus, *Hebeloma cylindrosporum* Romagnési. **New Phytologist**, New York, v.113, p.259-264, 1989.