MARIA FLORIANA ESTEVES DE ABREU

INFLUÊNCIA DE **Pisolithus tinctorius** (PERS) COKER & COUCH NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE **Pinus** NA PRESENÇA DE **Rhizoctonia solani** KUHN, SOB DIFERENTES NÍVEIS DE FÓSFORO.

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitossanidade, para obtenção do título de «MESTRE».

Orientador Prof. Mário Sobral de Abreu

MINAS GERAIS - BRASIL

MARIA FLORIANA ESTEVES DE ABREU

Cat

INFLUÊNCIA DE **Pisolithus tinctorius** (PERS) COKER & COUCH NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE **Pinus** NA PRESENÇA DE **Rhizoctonia solani** KUHN, SOB DIFERENTES NÍVEIS DE FÓSFORO.

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitossanidade, para obtenção do título de «MESTRE».

Orientador

al de Abreu

Adubação fosfat Ectomicorrizas. I. Escola Super

LAVRAS MINAS GERAIS - BRASIL 1994 Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Catalogação Classificação da Biblioteca Central da ESAL

Abreu, Maria Floriana Esteves de.

Influência de Pisolithus tinctorius (PERS) COKER COUCH no desenvolvimento de mudas de Pinus na presença Rhizoctonia solani KUHN, sob diferentes níveis de fósforo/ Maria Floriana Esteves de Abreu. Lavras: ESAL, 1994.

46 p.: il.

Orientador: Mário Sobral de Abreu Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura de Lavras. Bibliografia.

1. Pisolithus tinctorius - Pinus - Efeito. 2. Pinus -Adubação fosfatada. 3. Pinus - Doenças fúngicas. 4. Pinus-Ectomicorrizas. 5. Rhizoctonia solani - Pinus - Efeito. I. Escola Superior de Agricultura de Lavras. II. Título.

> CDD-589.22 -634.9751

MARIA FLORIANA ESTEVES DE ABREU

INFLUENCIA DE *Pisolithus tinctorius* (PERS) COKER & COUCH NO

DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE *Pinus* NA PRESENÇA DE

Rhizoctonia solani KUHN, SOB DIFERENTES NIVEIS DE FOSFORO.

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura de Lavras, como parte das exigências do curso de Metrado em Agronomia, área de concentração em Fitossanidade, para obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 05 de abril de 1994

José da Cruz Machado

Sáya Maria C. Souza

Prof. Mário Sobral de Abreu (ORIENTADOR)

Ao meu pai. João

Aos meus irmãos, João

Mauro. Márcio, Maciel,

Marçal, Neide, Cristina

e Marley.

A minha mãe, Emília

e minha irmã, Marleni,

que não estão mais

nessa vida

mas, continuam dentro de

nós através de seus exemplos

de amor, compreensão, fé e

humildade.

OFEREÇO

Ao meu marido

Mário e a

minha filhinha

Vivian

AGRADECIMENTOS

A Deus.

A Escola Superior de Agricultura de Lavras, à CAPES e à FAPEMIG pela oportunidade oferecida para a realização desse trabalho.

Ao meu marido Mário Sobral de Abreu pela brilhante orientação, amor e dedicação.

Ao professor Tasso Léo Krugner por ter cedido gentilmente a cultura de *Pisolithus tinctorius*.

A professora Janice Guedes de Carvalho pela grande colaboração nos cálculos da dosagem dos nutrientes.

Ao professor Vicente de Paulo Campos pela grande contribuição.

Ao professor José da Cruz Machado e à pesquisadora Sára Maria C. Souza pelas valiosas sugestões.

Ao Sr. João e Srª Dalva Natividade pela hospitalidade e amizade.

A amiga Maria Auxiliadora E. Natividade pelo apoio e amizade.

As laboratoristas e amigas Ana e Heloísa Leite pela grande cooperação.

Ao Antônio pela colaboração nos trabalhos fotográficos.

A colega e amiga Liliana, à Cida e Gina pela colaboração na montagem do experimento.

Ao Gilvan e Conceição pelo apoio e amizade.

A Denise pela colaboração no que se refere à parte estatística.

Aos funcionários da Biblioteca Central pela atenção e cooperação.

Aos colegas de curso pela amizade e agradável convivência.

Ao Mário Henrique, Carla e Andrês pelo agradável convívio fraterno.

A todos aqueles que de algum modo tenham contribuído para a realização desse trabalho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Maria Floriana Esteves de Abreu, filha de João Batista da Silva Esteves e Emília Pereira Esteves, nasceu em Alfenas, Estado de Minas Gerais, no dia 24 de dezembro de 1960.

Em dezembro de 1985, recebeu o título de Engenheiro Florestal pela Universidade de Alfenas em Alfenas-MG.

Em março de 1990, iniciou o curso de Mestrado em Fitossanidade na Escola Superior de Agricultura de Lavras-MG.

SUMARIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMO	ix
SUMMARY	хi
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Tombamento de mudas ("damping-off") em essências florestais	3 7 13
3 MATERIAL E MÉTODOS	18 18 18 19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5 CONCLUSÕES	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	34
APÉNDICE	39

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Percentagem (%) de micorrizas em mudas de Pinus,	
	na presença e ausência de Rhizoctonia solani.	
	ESAL, Lavras-MG, 1993	24
2	Altura (cm) de mudas de Pinus micorrizadas, na	
	presença e ausência de Rhizoctonia solani. ESAL,	
	Lavras-MG, 1993	27
2.1	Altura de mudas de <i>Pinus</i> não micorrizadas na	
	presença e ausência de Rhizoctonia solani. ESAL,	
	Lavras-MG, 1993	28
3	Peso seco (g) de mudas de <i>Pinus</i> micorrizadas,	
	na presença e ausência de Rhizoctonia solani.	
	ESAL, Lavras-MG, 1993	29
3.1	Peso seco (g) de mudas de Pinus não micor-	
	rizados, na presença e ausência de	
	Rhizoctonia solani. ESAL, Lavras-MG, 1993	30

F	i	a	u	r	а	
-	-	-	•	_	•	

_	-		•		
р	-	~	-	*	0
r	a	u	_	11	a
_	_	_	_		_

4	Indice médio d	e doença (%)	de mudas de <i>Pinus</i>	3
	micorrizadas e	não micorri	izada <mark>s, na presença de</mark>	a
	Rhizoctonia so	lani. ESAL,	Lavras-MG, 1993	. 32

RESUMO

ABREU, Maria Floriana E. de. Influência de *Pisolithus tinctorius* (Pers) Coker & Couch no Desenvolvimento de Mudas de *Pinus* na Presença de *Rhizoctonia solani* Kuhn, sob Diferentes Níveis de Fósforo. Lavras: ESAL, 1994. 57p. (Dissertação-Mestrado em Fitossanidade).*

Estudou-se em condições de casa de vegetação influência da ectomicorriza Pisolithus tinctorius em mudas Pinus caribae e Pinus oocarpa na presença e ausência do patógeno Rhizoctonia solani sob três dosagens de superfosfato simples. O inóculo do fungo micorrízico foi misturado na camada superficial recipiente, e em seguida semeou-se três sementes recipiente. Dois e três meses após a semeadura procedeu-se a inoculação de Rhizoctonia solani. Oito meses após a semeadura fez-se a avaliação da incidência de doença. A avaliação final ensaio foi feita aos nove meses após a semeadura considerando características de altura, peso seco percentagem e de ectomicorrizas. Pelos resultados obtidos observou-se valores maiores e significativos de altura das mudas de Pinus caribae relação às de Pinus oocarpa. Verificou-se também valores maiores e significativos no peso seco das mudas de Pinus caribae micorrizadas e inoculadas com Rhizoctonia solani em relação às de

^{*} Orientador: Mário Sobral de Abreu; Membros da banca: José da Cruz Machado e Sára Maria C. Souza.

Pinus oocarpa mas mesmas condições. O desenvolvimento das mudas não foi afetado pelo fungo Rhizoctonia solani. A melhor micorrização e desenvolvimento das mudas foram observados em níveis mais altos de fósforo, no entanto, esses resultados não foram significativos.

SUMMARY

INFLUENCE OF Pisolithus tinctorius (PERS) COKER & COUCH ON SEEDLING OF Pinus GROWN IN DIFFERENTS PHOSPHORUS LEVELS AND INOCULATED WITH Rhizoctonia solani kuhn.

The studies were done in pots in greenhouse conditions. Pinus caribae and Pinus oocarpa were grown in three dosagens of inoculated and with fertilizer or not superphosphate The micorhizal fungus inoculum Rhizoctonia solani. incorporated into superficial substract layer of the pot followed by seeding of three seeds per pot. Two to three months latter the Rhizoctonia solani inoculum was added. At 8th month after Pinus seeding, the disease incidence was avaliated. At month, the avaliation was complemented by measuring plant height, dry weight and percentage of micorhyzal shoot greater seedling height was observed Significantely Pinus caribae as compared to Pinus oocarpa. Dry weight Pinus caribae seedling inoculated with Rhizoctonia solani was significantely greater as compared to micorhyzal Pinus oocarpa inoculated also with Rhizoctonia solani. Seedling growth was not afected by Rhizoctonia solani. Higher level, of phosphorus improved micorrizae formation and plant growth, but were not statistical significant.

1 INTRODUÇÃO

O tombamento de mudas ou "damping-off" causado por Rhizoctonia solani, tem sido detectado em diversas culturas, e inclusive em essências florestais como o Pinus, Eucaliptus e outras.

O sintoma aparece no colo das mudas e mesmo nas sementes no estágio inicial da germinação. Esta enfermidade é do tipo aguda, podendo causar a morte das plântulas em poucos dias.

Vários trabalhos têm sugerido a utilização de ectomicorrizas no controle dessa e de outras enfermidades causadas por patógenos de raízes, havendo na maioria deles, controle da doença.

O uso de produtos químicos é uma constante em viveiros de grande produção de mudas mas, alguns autores têm postulado que certos fungicidas são altamente prejudiciais às ectomicorrizas.

A necessidade da associação micorrízica para algumas espécies florestais utilizadas em plantações comerciais foi verificada quando se concluiu que a inoculação com fungos micorrízicos era imprescindível para a introdução de espécies de *Pinus* em várias partes do mundo (Mikola, 1973).

- O sucesso da inoculação com fungos micorrízicos depende, entre outros fatores, da fertilidade do solo. Vários autores têm sugerido que altos teores de fósforo no solo reduzem a colonização de raízes por fungos micorrízicos.
- O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da ectomicorriza (*Pisolithus tinctorius*) no desenvolvimento de mudas de *Pinus* na presença do patógeno *Rhizoctonia solani*, sob diferentes níveis de fósforo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Tombamento de mudas ("damping-off") em essências florestais

O tombamento é uma doença bastante comum em sementeiras ou nas semeaduras feitas diretamente em recipientes.

Segundo Collazo e Ramirez (1981), o "Damping-off" se apresenta em várias espécies, que compreende plantas ornamentais, hortícolas, agrícolas e florestais; a distribuição dessa enfermidade é universal, já que pode aparecer em qualquer clima e região onde se estabeleça um viveiro de mudas.

Em Pinus os principais agentes etiológicos são Rhizoctonia solani, Fusarium moniliforme, Fusarium centricosum e Pythium debaryanum (May, 1962; Krug, 1962/1963 e Ferreira, 1989).

Segundo Ferreira (1989), tanto no manejo de semeadura direta quanto no de sementeiras, parte das sementes pode não germinar porque são mortas pelos mesmos patógenos que causam tombamento de mudas em desenvolvimento. Esse impedimento à germinação é uma manifestação da doença denominada de tombamento de pré-emergência, ou "damping-off" em pré-emergência a qual pode passar despercebida aos olhos do viveirista, porque é confundível com a não germinação das sementes.

Na infecção pós-emergente, o ataque ocorre depois que as plantas saem na superfície do solo. O colo da muda ao nível do solo murcha, fica estrangulado e a plantinha cai sobre o solo.

Nessa fase a doença é também designada "mela da sementeira". Nos estádios subseqüentes, geralmente não se tem o prostamento de haste no solo, havendo apenas os anelamentos de hastes, com as mudas murchando, morrendo e secando em pé (Ferreira, 1989).

Segundo Krugner (1980) a importância da doença está estritamente ligada a condições locais favoráveis, tais como temperatura, umidade, sombreamento, bem como da técnica de preparo das mudas.

A facilidade de dispersão de inóculo planta-a-planta está intimamente relacionada com a elevada densidade de mudas nas sementeiras e com a manutenção da elevada umidade, pela condição de abafamento ou insuficiente arejamento (Ferreira, 1989).

Segundo Ferreira (1989) para esterilização de substrato potencialmente carregador de inóculo de patógenos de tombamento de mudas, recomenda-se fumigação com brometo de metila na dosagem de 150 cc/m³. Todavia, essa esterilização deve ser feita tal como se faz para sementeiras, ou seja, deve-se fumigar camadas de substrato bem revolvido, de 30-40 cm de altura.

Vários trabalhos têm sido realizados visando, a seleção de fungicidas "in vitro", para controle de *Rhizoctonia solani*, originária de tombamento de mudas de eucalipto, bem como o estudo para se obter rapidez no diagnóstico deste patógeno. Dentre seis fungicidas testados por terem indicações prévias para controle

deste patógeno em outras doenças, thiabendazol e tolcoflós-metil mostraram-se eficientes e superiores a iprodione e benomil (Ferreira, 1989).

O mesmo controle recomendado para o tombamento de mudas de eucalipto é válido para o tombamento de mudas de Pinus, só que nesse hospedeiro, o uso de fungicidas deve ficar restrito ao primeiro mês de produção de mudas. Deve-se evitar a aplicação de fungicidas nos demais estágios de permanência das mudas no viveiro, a fim de se propiciar uma boa ectomicorrização.

A preocupação de não se usar, ou usar o mínimo possível de fungicidas deve ser uma constante (Ferreira, 1989).

Já de longa data existem citações de vários trabalhos com "Damping-off".

Rathbun (1923), concluiu que a pouca germinação de Pinus banksiana Lamb. resultou do "damping-off". O autor cita vários fungos tais como: Pythium ultimum, Pythium aphanidermatum, Phytophthora sp, Fusarium sporotrichioides, Fusarium discolor, Botrytis cinerea, Phomopsis juniperovora e Fusarium moniliforme.

Eliason (1928) demonstrou que várias espécies de Pythium, principalmente Pythium debaryanum causaram tombamento em Pinus banksiana Lamb.

Hartley (1938) declarou que plântulas de *Pinus contorta*Kaugl. foram atacadas por vários fungos que causam tombamento,
dentre esses cita *Phytophthora cactorum*, *Rhizoctonia solani* e

Pythium sp.

Smith e Bega (1964), detectaram sérios danos em plântulas de *Pinus lambertiana* na Califórnia, causados por *Sclerotinia bataticola* durante a época mais úmida.

Segundo Collazo e Ramirez (1981), "damping-off" e apodrecimento de raiz em Pinus nigra podem ser causados por Rhizoctonia solani, Phytophthora cactorum e Pythium debaryanum, e que viveiros de Pinus echinata Mill, estão sujeitos ao tombamento, causado por Rhizoctonia solani, Fusarium oxysporium e Sclerotinia bataticola e que na Califórnia, Pinus jeffreyi Grev. y Balf se mostraram susceptíveis ao "damping-off" e podridão de raízes causados por Rhizoctonia solani e Fusarium oxysporum.

Rhizoctonia solani Kühn, é um fungo pertencente a subdivisão Deuteromycotina, classe agonomycetes, fase assexual de Thanatephorus cucumeris (Frank) Dowk, caracterizando-se por apresentar células multinucleadas na fase jovem, um septo prominente e colônia com pigmentação amarronzada.

Os isolados geralmente apresentam células monilióides e escleródios com anel e medula, e crescimento micelial rápido (Parmeter Jr. e Withiney, 1970).

Segundo Ogoshi (1987), Rhizoctonia solani e outras espécies de Rhizoctonia estão presentes em solos cultivados e não cultivados. Apresenta variabilidade quanto a patogenicidade, características morfológicas, culturais e fisiológicas, e produção de escleródios. A facilidade de se realizar anastomose entre isolados desse fungo faz com que grupos de afinidade sejam estabelecidos nesse gênero.

2.2 Ectomicorrizas

Muitos pesquisadores têm estudado a capacidade das micorrizas em aumentar o crescimento e a sobrevivência das plantas, Siqueira (1988).

Em essências florestais as micorrizas têm sido de grande importância em função dos inúmeros fracassos na introdução de espécies, especialmente as do gênero *Pinus*, em diversos países do mundo, Mikola (1973), Tomazello Filho e Krugner (1982).

O desenvolvimento de espécies tropicais de *Pinus* depende de mudas com adequado desenvolvimento micorrízico. Este desenvolvimento, por sua vez pode ficar limitado pela disponibilidade de inóculo dos fungos ectomicorrízicos, Tomazello Filho e Krugner (1980).

De acordo com Oliveira e Zambolim (1986), muitas espécies florestais não sobrevivem na ausência de fungos ectomicorrízicos, principalmente em regiões onde esses organismos não ocorrem naturalmente, e em áreas ináptas à agricultura.

Recentemente novas técnicas para a utilização de fungos ectomicorrízicos em programas de reflorestamento de *Pinus* têm sido desenvolvidas através da incorporação de inóculo de fungos selecionados em solo fumigado nos viveiros de mudas. Dentre os fungos empregados destacam-se *Pisolithus tinctorius* e *Thelephora terrestris*, pela sua adaptação a condições ambientais adversas, facilidade de cultivo e disseminação eficiente, Tomazello Filho e Krugner (1980).

Singer e Araújo (1979), Mosse, Stribley e Le Tacon (1981), verificaram a predominância de ectomicorrizas em determinada área da bacia amazônica, embora se considere que as ectomicorrizas sejam comumente encontradas em condições naturais, nas regiões temperadas.

Tomazello Filho e Krugner (1980), comprovaram a formação de ectomicorrizas e crescimento de *Pinus caribae* var. barramensis em solo de viveiro infestado artificialmente com *Thelephora terrestris* e *Pisolithus tinctorius*. Os autores usaram os isolados a partir de ectomicorrizas de mudas de *Pinus elliottii* e *Pinus taeda* procedentes da Geórgia. O efeito das ectomicorrizas no crescimento das mudas foi positivo, independente do fungo.

Segundo Ivory (1983), todas as espécies de *Pinus* formam ectomicorrizas e são dependentes delas em condições naturais.

A influência de *Pisolithus tinctorius* no crescimento de cinco espécies de *Pinus* foi investigada por Marx, Bryan e Cordel (1976), ao introduzirem micélio e basidiosporos do fungo em três viveiros florestais na Carolina do Norte; a infestação natural do solo com micélio de *Pisolithus tinctorius* promoveu um estímulo no crescimento de mudas de *Pinus taeda*, *Pinus virginiana* e *Pinus strobus*.

Marx e Bryan (1971) observaram que à 40° C plantas de Pinus taeda micorrizadas com Pisolithus tinctorius sobreviveram e tiveram um desenvolvimento superior em comparação com plantas com Thelephora terrestris e testemunha não inoculada.

Bettiol, Auer e Krugner (1985), estudaram os efeitos de lodo de esgoto e de acículas de Pinus incorporados ao solo nas concentrações de 0, 2, 4, 6, 8 e 10% (V/V) sobre a formação de ectomicorrizas em mudas de Pinus caribae var. hondurensis inoculadas artificialmente com Pisolithus tinctorius e Telephora terrestris. Os autores observaram que nos substratos inoculados com Telephora terrestris o lodo de esgoto e as acículas de Pinus não afetaram significativamente a formação de micorrizas nem o crescimento das mudas.

Oliveira e Barros (1981), usaram como fonte de inóculo micorrízico acículas velhas de *Pinus* nas proporções de 0, 25, 50 e 75%. Obtiveram melhores resultados principalmente em altura e biomassa nos tratamentos com maiores percentuais de inóculo.

Trabalho semelhante foi desenvolvido por Oliveira (1982). O autor utilizou acículas de povoamento de *Pinus* como fonte de inóculo para inoculação de *Pinus taeda* e *Pinus patula*. Dentre os tratamentos o que apresentou os melhores resultados foi o de menor percentual de inóculo. Uma quantidade de inóculo em torno de 25% com pH acima de 4,5 possibilitou um melhor desenvolvimento das mudas em ambas as espécies.

Trappe (1977); Molina (1981) e Mosse et al. (1981), segundo Kasuya (1988), sugeriram algumas características que devem ser consideradas na seleção de fungos micorrízicos, tais como: a) facilidade de isolar e cultivar o fungo em meios convencionais e em substratos disponíveis, a baixo custo; b) efetividade do fungo com relação à capacidade de formar micorrizas; c) competitividade e interação desse fungo com outros

microorganismos, principalmente os que são encontrados naturalmente nos solos; d) gama de hospedeiros de fungo ectomicorrízico; e) adaptabilidade para áreas onde será introduzido, levando-se em consideração os fatores climáticos e edáficos; f) eficiência para o desenvolvimento da planta.

Duddrige (1982) formulou a hipótese de que sucessivas inoculações e reisolamentos, inerentes ao processo de seleção, exercem pressão de seleção no sentido de favorecer fungos menos específicos. Assim, uma importante fonte genética de especificidade pode estar sendo perdida. É relevante que os fungos a serem selecionados apresentem eficiência relativamente boa para uma vasta gama de hospedeiro. Esse fenômeno possivelmente explica a ocorrência de *Pisolithus tinctorius* e *Cenococcum graniforme* em diversas regiões e em diferentes hospedeiros.

Bjorkman (1942), sugeriu que a formação de ectomicorrizas seria dependente da concentração interna de carboidratos solúveis na raiz, ao observar uma correlação positiva entre a concentração dos açúcares redutores na raiz e a percentagem de ectomicorrizas de *Pinus silvestris* e *Picea abis*.

O efeito dos fungos micorrízicos no crescimento das plantas depende, entre outros fatores, da fertilidade do solo. Esta por sua vez, pode ser modificada pela prática da fertilização mineral, cujo efeito no crescimento das plantas pode também depender da população de fungos micorrízicos presente nas raízes das plantas, Slankis (1964).

Hatch (1937), segundo Marx (1969), sugeriu que o aumento da área de absorção de raízes favorece o crescimento de

plântulas com micorriza. Outros pesquisadores têm sugerido que as micorrizas auxiliam as plantas, pela absorção de isótopos de fósforo, nitrogênio, cálcio, sódio e potássio, que são absorvidos e acumulados mais rapidamente em raízes micorrizadas do que não micorrizadas. Henderson e Stone (1970), encontraram maiores quantidades acumuladas de N, P, Ca em mudas de Pinus radiata com ectomicorrizas do que em mudas não micorrizadas.

O mecanismo pelo qual a concentração de nutrientes no solo ou na planta influencia o desenvolvimento de ectomicorrizas não é muito conhecido. De acordo com Mosse, Stribley e Le Tacon (1981), plantas micorrizadas crescem melhor em solos pobres em nutrientes devido, na maioria dos casos, a maior absorção de nutrientes que são relativamente imóveis no solo, como o fósforo; e são aparentemente capazes de utilizar melhor, formas pouco solúveis de fósforo. Habilidade essa que parece ser atribuída a um maior contato das hifas com as partículas de fosfato e uma diminuição do P na solução, proporcionaria maior gradiente de concentração e maior solubilização do fosfato, Haymn e Mosse (1972).

Mulette (1976) sugeriu que a formação da ectomicorriza Pisolithus tinctorius foi afetada pela concentração de fósforo no substrato. Ele observou que a ectomicorriza não desenvolveu quando a solução nutritiva conteve mais de 5 ppm de fósforo.

Marx, Hatch e Mendicino (1977) trabalhando com Pisolithus tictorius em solo com altos teores de N, P, K, concluíram que altos teores de N e P diminuíram os teores de açúcar nas raízes, reduzindo assim a susceptibilidade do Pinus ao desenvolvimento da ectomicorriza.

Altos níveis de P no solo em geral, reduzem a colonização micorrízica devido ao aumento nos teores deste elemento na planta, Menge et al. (1978). Segundo Siqueira et al. (1984) este efeito pode ser explicado por uma possível redução na permeabilidade e exsudação de metabólitos nas membranas, ou pelo efeito no metabolismo de carboidratos da planta.

Piche e Fortin (1982), estudando o desenvolvimento da ectomicorriza Pisolithus tinctorius em Pinus strobus, observaram que o aumento da concentração de fosfato no substrato resultava em um decréscimo na porcentagem de ectomicorriza, quando o N era mantido constante. Contudo o crescimento extramatricial das hifas de Pisolithus tinctorius foi independente da quantidade de fosfato adicionada.

Ruehle e Wells (1984) estudaram o efeito de diferentes dosagens de N e P em plântulas de Pinus inoculadas com Pisolithus tinctorius e observaram que o melhor desenvolvimento da ectomicorriza ocorreu quando se utilizou a concentração de 250 μg/ml de N e 60 μg/ml de P em intervalos de 4 semanas.

Danielson, Griffiths e Parkinson (1984) estudando o efeito da fertilização no crescimento e desenvolvimento de ectomicorrizas em plântulas de *Pinus* sp, observaram um aumento rápido no crescimento das plântulas onde foi aplicado 30 mg de N/l de substrato. O mesmo não foi observado quando foi aplicado 60 mg N/l. Segundo os autores, a colonização por *Pisolithus tinctorius* foi muito variável mas, ocorreu infecção em todos os tratamentos.

Vieira (1984), observou que o crescimento micelial do isolado RV-82 de *Pisolithus tinctorius* não foi alterado pela concentração de fosfato no meio de cultura, enquanto os isolados 185 e 571 exigiam alta concentração de fosfato para crescimento. Segundo o autor esses resultados sugerem a existência de padrões de crescimento distinto em meio com diferentes concentrações de fósforo.

Walker et al. (1989) concluíram que a fertilização nos tratamentos com *Pisolithus tinctorius* em *Pinus taeda* gerou uma redução significativa no crescimento e sobrevivência das plantas.

Vieira e Peres (1990), objetivando determinar o teor de fósforo para máximo efeito da simbiose entre Pinus caribae e o fungo Pisolithus tinctorius, concluíram que as percentagens de ectomicorrizas não foram afetadas pelo nível de fósforo no substrato. O efeito da simbiose no crescimento das mudas, por outro lado, embora se manifestasse em todos os níveis de P, diminuiu de intensidade com o aumento das doses daquele elemento no substrato. A maior intensidade do efeito simbiótico ocorreu em 2,72 ppm de P extraível, nível esse escolhido para trabalho de seleção de fungos ectomicorrízicos eficientes para Pinus.

2.3 Influência das Micorrizas no Controle de Doenças Radiculares

Muitos pesquisadores têm observado que plantas de *Pinus* micorrizadas são mais resistentes à infecção por patógenos de raízes do que plantas não micorrizadas. Os efeitos na redução da

doença só foram obtidos na maioria dos trabalhos, quando foi feita pré-colonização das raízes com o simbionte. Segundo alguns autores, as inoculações com ectomicorrizas devem ser feitas no viveiro, durante a formação das mudas, com isso aumentando o vigor e sobrevivência do hospedeiro e reduzindo os efeitos do patógeno.

As associações micorrízicas e doenças que afetam o sistema radicular têm uma importante semelhança. Ambos são tipos de parasitismo que competem pela colonização dos mesmos tipos de raízes, Marx (1973a) e Zambolim (1984).

Os fungos ectomicorrízicos são estimulados pelas raízes simbiose do hospedeiro, podendo infectá-lo e exercer colonizando-a internamente, formando a rede de Hartig ao redor das células corticais e externamente o manto fúngico, que fica em contato direto com o solo. De forma semelhante algumas espécies de Rhizoctonia, Phytophthora, Pythium e Fusarium são estimulados pelas radicelas podendo infectá-las patogenicamente e causar necroses nos tecidos corticais, Marx (1972). Se um patógeno infecta e causa a destruição do córtex das radicelas antes da infecção por ectomicorrizas, não ocorrerá estabelecimento simbiontes. Se o simbionte infecta as raízes e sintetiza ectomicorriza antes patógeno, poderá do haver grande possibilidade de redução das atividades desses organismos hospedeiro, Marx (1972) e Zambolim (1984).

Levisoln (1954), reportou que raízes de várias espécies de *Pinus* foram resistentes à infecção por *Rhizoctonia* sp e que o patógeno infectou facilmente raízes não micorrizadas. A autora

observou que o desenvolvimento de haustórios por esse patógeno foi mais comum em raízes não micorrizadas.

Wingfield (1968), segundo Marx (1972), trabalhou com plântulas de *Pinus* e observou que o fungo micorrízico *Pisolithus tinctorius* proporcionou maior crescimento das plântulas com o patógeno *Rhizoctonia solani*. As plântulas não micorrizadas e inoculadas com o patógeno diminuíram significativamente o vigor e sobrevivência.

Os mecanismos através dos quais as ectomicorrizas oferecem proteção contra patógenos, principalmente em raízes, foram propostos por diversos pesquisadores.

Sak (1964), sugeriu que as raízes micorrizadas podem ser menos susceptíveis a patógenos de raízes. Segundo o autor, as micorrizas protegem as raízes pela: 1) utilização do excesso de carboidratos e outros produtos químicos das raízes, assim reduzindo a atratividade das raízes a patógeno; 2) promovendo uma barreira física, ou seja, de um manto fúngico que protege o hospedeiro; 3) secretando antibióticos que podem inibir ou destruir o patógeno, e protegendo a população de outros microorganismos da rizosfera que poderiam proteger a planta hospedeira. As micorrizas podem proteger também, estimulando as células das raízes a elaborar substâncias inibidoras que podem manter a simbiose e que impedem a infecção por patógenos.

Hyppel (1968a), testou vários isolados de várias espécies de ectomicorrizas e concluiu que acima de 40% inibiram Fommes annosus. O autor também detectou variação na produção de antibióticos por diferentes espécies de ectomicorrizas.

Hyppel (1968b), sugeriu também que a ectomicorriza Boletus bovinus protegeu mudas de Picea abies do ataque de Fommes annosus em condições de casa de vegetação.

Sasek e Musilek (1967, 1968), segundo Marx (1972), relataram que algumas ectomicorrizas inibiram o desenvolvimento de Rhizoctonia solani, Pythium debaryanum e Fusarium oxysporum, e que certas raças de fungos simbiontes produzem compostos inibidores de fungos.

Marx (1969), observou o antagonismo entre o fungo ectomicorrízico, Phytophthora e bactéria do solo. Em placas com ágar as micorrizas Laccaria laccata, Lactarius deliciosus, Leucopaxillus cerealis, Suillus luteus e Pisolithus tinctorius inibiram o crescimento de aproximadamente metade de 48 fungos patogênicos de raízes. O autor concluiu que culturas de Leucopaxillus cerealis inibiram também o crescimento de Phytophthora cinnamomi e bactérias do solo. A germinação de zoosporos foi inibida completamente em filtrados desse simbionte e que a máxima produção de antibióticos ocorreu durante a fase rápida de crescimento da cultura.

Marx & Davey (1969a) estudando a influência de ectomicorrizas na resistência de raízes de *Pinus* sugeriram que a substância diatretine produzida pela ectomicorriza pode ter conferido resistência às raízes.

Seguindo a mesma linha de pesquisa, Marx & Davey (1969b) comprovaram a resistência de ectomicorrizas à infecção por *Phytophthora cinnamomi*. Os autores trabalharam com cinco espécies de ectomicorrizas, entre elas *Cenococcum graniforme* e

Thelephora terrestris. Segundo os autores, todas conferiram resistência à infecção, e algumas micorrizas com formação incompleta do manto fúngico foram infectadas, mas o patógeno não penetrou na região da rede de Hartig.

Dando sequência aos trabalhos anteriores Marx (1970), verificou que plântulas de Pinus echinata inoculadas com Pisolithus tinctorius e Thelephora terrestris foram resistentes à infecção por Phytophthora cinnamomi. O autor sugeriu que o manto fúngico e a rede de Hartig promoveram uma barreira mecânica, impedindo a penetração do micélio do patógeno.

Ross e Marx (1972), segundo Marx (1972), observaram que plântulas de *Pinus clausa* foram protegidas contra *Phytophthora cinnamomi* na presença de micorriza formada por *Pisolithus tinctorius*. As plântulas não micorrizadas, infectadas por *Phytophthora cinnamomi* apresentaram raízes necrosadas e somente 40% sobreviveram depois de 2 meses.

Em estudo similar Marx (1973b), verificou que plântulas de Pinus echinata com micorriza não tiveram redução significativa de crescimento em presença de Phytophthora cinnamomi. Plântulas não micorrizadas expostas ao patógeno apresentaram clorose, diminuição no peso seco e decréscimo de raízes laterais, assim como também as plântulas em ausência do patógeno.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção do fungo micorrízico

A ectomicorriza (*Pisolithus tinctorius*), isolado 185 de Marx, cedida por Krugner (ESALQ), foi multiplicada através da metodologia preconizada por Marx e Bryan (1975).

Frascos de vidro com capacidade de 900 ml foram preenchidos com 400 ml de vermiculita peneirada, 15 ml de turfa e 200 ml de solução nutritiva de Melin Norkrans, modificada por Marx (MMN), e em seguida autoclavados. Discos de micélio de colônias com vinte e quatro dias foram adicionados nos frascos. Decorridos 120 dias de incubação em condições de laboratório, o conteúdo dos frascos foram colocados em peneira fina e lavados em água corrente por 1 minuto, obtendo-se assim o inóculo (micélio) propriamente dito.

3.2 Obtenção do fungo patogênico

O fungo *Rhizoctonia solani* foi obtido através da metodologia preconizada por Ferreira (1989).

As hastes de plântulas de *Pinus* com lesões típicas foram lavadas em água corrente, e depois foram cortados pequenos

fragmentos contendo os limites dos tecidos lesados e sadios. Os fragmentos foram imersos em álcool etílico 50% e imediatamente transferidos para uma solução de hipoclorito de sódio a 2% e água. Após, os fragmentos foram colocados em placas com BDA e incubados à 25°C. Decorridos 5 dias, os micélios do fungo foram transferidos para outras placas de Petri com BDA e incubados por mais 5 dias, obtendo-se assim cultura de *Rhizoctonia solani*.

3.3 Instalação e condução do experimento

O substrato utilizado foi constituído de três partes de solo e uma de areia e previamente fumigado com brometo de metila na dosagem de 150 cc/m3.

As sementes de duas espécies de *Pinus* (*Pinus oocarpa* e *Pinus caribae* var. *hondurensis*) provenientes do Parque Anhembí - SP, cedidas pelo IPEF - Piracicaba, foram plantadas em recipientes plásticos com capacidade para 500 g de solo. Foram semeadas 3 sementes por recipiente.

O fósforo foi fornecido através do superfosfato simples (super simples).

O experimento foi instalado em casa de vegetação do Departamento de Fitossanidade da ESAL, e constituído de 24 tratamentos, sendo a combinação de dois tratamentos micorrízicos (Pisolithus tinctorius e testemunha), duas espécies de Pinus (Pinus caribae e Pinus oocarpa), dois tratamentos com fungo patogênico (Rhizoctonia solani e testemunha) e três tratamentos com fertilização à base de fósforo (níveis 0, 1 e 2). Foram

empregadas 4 repetições (blocos) por tratamento, e cada parcela consistindo de 15 plantas. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados.

As características do solo estão descritas no Quadro 1.

QUADRO 1. Características químicas do substrato utilizado no preparo das mudas de *Pinus*. ESAL, Lavras - MG. 1993.

рН	P	K	Ca ⁺⁺	Mg++	Al++
H ² O	p	pm		meq/100cc	
4,3	1,0	8,0	0,5	0,1	0,6

O fertilizante Superfosfato simples foi incorporado ao solo em diferentes dosagens:

- Nível 0
- Nível 1 (293,02 mg S.S/Kg de solo)
- Nível 2 (585,98 mg S.S/Kg de solo)

O inóculo do fungo micorrízico foi incorporado na camada superficial do substrato contido nos recipientes. Aplicou-se 28,07g de inóculo/recipiente. Após, fez-se a semeadura. A cobertura das sementes foi feita com o substrato sem fosfato, e vermiculita previamente esterilizada.

A temperatura na casa de vegetação variou de 15° a 33°C.

Foram feitas irrigações periódicas mantendo a umidade do solo dos recipientes próximo a 50% da capacidade de campo.

Quarenta e três dias após a semeadura fez-se o primeiro desbaste das mudas, retirando-se uma planta de cada recipiente. Aos sessenta e três dias após a semeadura fez-se outro desbaste, deixando uma planta por recipiente.

Sessenta e quatro dias após a semeadura fez-se a inoculação com discos de micélio de colônia de Rhizoctonia solani com 6 dias de idade, colocando-se 2 discos de micélio de 10 mm por recipiente. Outra inoculação, análoga a anterior foi feita aos oitenta e oito dias após a semeadura.

Aos vinte e um e cento e trinta e nove dias após a semeadura fez-se uma adubação em todos os tratamentos com micro e macronutrientes em solução nas seguintes concentrações por recipiente:

- 45 mg de N (uréia), 45,18 mg de K(KCl), 0,9 mg de $Cu(CuSO_4)$ e 6,42 mg de $Zn(ZnSO_4)/50$ ml de água.

Aos quarenta e três e sessenta e dois dias após a semeadura aplicou-se uma solução 1:1000 de sulfato de magnésio via foliar, e aos oitenta e dois dias após a semeadura aplicou-se uma solução de sulfato de amônio na dosagem de 24,30 mg/50 ml de água por recipiente.

Decorridos duzentos e trinta e sete dias após a semeadura fez-se a avaliação da incidência de doença, adotando-se três níveis de sintomas (Nível 1, 2 e 3):

Nível 1: planta com sintoma de seca das acículas até 1/3 da planta.

Nível 2: planta com sintoma de seca até 1/2 da planta.

Nível 3: planta com sintoma de seca total das acículas.

Posteriormente calculou-se o índice de doença (ID) segundo a fórmula de McKynney (1923):

ID (%) =
$$\frac{(f \cdot v)}{n \cdot x}$$
 . 100 onde:

f = número de planta com determinada nota.

v = nota observada.

n = nº total de plantas avaliadas.

x = nota máxima.

A avaliação final do experimento foi feita aos duzentos e setenta dias após a semeadura. Todas as mudas foram medidas individualmente para determinação da altura. Após, foram removidas dos recipientes, lavadas e avaliadas quanto a porcentagem de raízes micorrizadas, segundo o método estimativo de Grand e Harvey (1982). Após, as mudas foram acondicionadas em sacos de papel, identificadas e levadas a estufa de ventilação à 60° C até atingirem peso constante, sendo então pesadas em balança digital.

Os dados foram tabulados e submetidos a análise de variância e teste de médias pelo programa estatístico SANEST (Sistema para Análise de Variância).

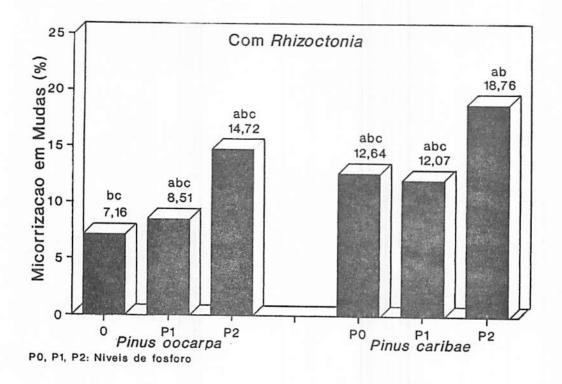
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando a Figura 1 verifica-se que não houve diferença significativa na percentagem de micorrizas nas mudas de *Pinus caribae*, na presença e ausência de *Rhizoctonia solani*. No entanto observa-se um aumento na percentagem de micorriza em mudas com teores mais altos de fósforo.

Resultado semelhante, porém significativo, foi observado por Vieira e Peres (1990), trabalhando com *Pinus caribae* e o
fungo *Pisolithus tinctorius*, quando verificaram que um aumento na
disponibilidade de P extraível no solo de 1,83 para 25,4 ppm não
alterou as percentagens de ectomicorrizas das mudas. A taxa de
ectomicorrizas foi alta em todos os níveis de fósforo aplicados.

Outros pesquisadores têm mostrado uma relação inversa entre a disponibilidade de P e o desenvolvimento de micorrizas em raízes de Pinus, Marx, Hatch e Mendicino (1977) sugeriram que altos níveis de N e P no solo diminuíram a susceptibilidade da ectomicorriza Pisolithus tinctorius de infectar raízes de Pinus taeda.

Piche e Fortin (1982), observaram que o aumento da concentração de fosfato no substrato resultava em um decréscimo na percentagem de ectomicorrizas em *Pinus strobus*.



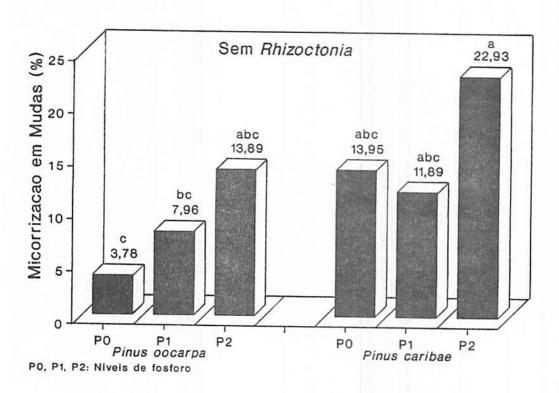


FIGURA 1. Percentagem (%) de Micorrizas em mudas de *Pinus* na presença e ausência de *Rhizoctonia solani* (médias de 4 repetições). ESAL, Lavras-MG, 1993.

Resultado análogo foi observado por Ruehle e Wells (1984), que constataram um desenvolvimento de *Pisolithus tinctorius* insatisfatório quando o teor de N e P da solução foi aumentado.

Vieira (1984), observou que o isolado RV - 82 de Pisolithus tinctorius não foi alterado pela concentração de fosfato no meio de cultura, enquanto os isolados 185 e 571 exigiam alta concentração de fosfato para o crescimento. Segundo o autor, esses resultados sugerem a existência de padrões de crescimento distinto em meio com diferentes concentrações de fósforo.

Baseado neste relato, acredita-se que a baixa percentagem de micorrizas obtida no presente ensaio possa ser provavelmente atribuída à caracteristica peculiar do isolado de *Pisolithus tinctorius* utilizado.

Outro fator limitante para o bom desenvolvimento de ectomicorrizas é a temperatura. Marx e Bryan (1969), não obtiveram a síntese de ectomicorrizas de *Pisolithus tinctorius* em mudas de *Pinus taeda*. Para explicar tais resultados, os autores sugeriram que *Pisolithus tinctorius* requer altas temperaturas para a formação e desenvolvimento de ectomicorrizas, as quais não foram atingidas nos ensaios conduzidos em câmara de crescimento. Acredita-se que fato semelhante possa ter ocorrido também no presente ensaio.

Em *Pinus oocarpa* observa-se uma percentagem de micorrizas menor e um aumento na micorrização quando o teor de fósforo no substrato é também aumentado. Isto sugere que, nas condições desse ensaio, o *Pinus oocarpa* se mostrou mais exigente em relação ao fósforo, para uma melhor micorrização (Figura 1).

Diferenças maiores e significativas são observadas no desenvolvimento (alturas) das mudas de *Pinus caribae* em relação às de *Pinus oocarpa*. (Figura 2 e 2.1.). Observa-se uma tendência de aumento dos valores de altura das mudas micorrizadas em relação às não micorrizadas.

Resultados semelhantes, foram observados por Krugner e Tomazello Filho (1980) trabalhando com *Pinus caribae*, quando verificaram valores de altura superiores nas mudas micorrizadas em relação às não micorrizadas. Os autores constataram que a simples adição de fertilizantes minerais não resultou em estímulo no crescimento das plantas quando em ausência de associações micorrízicas no sistema radicular.

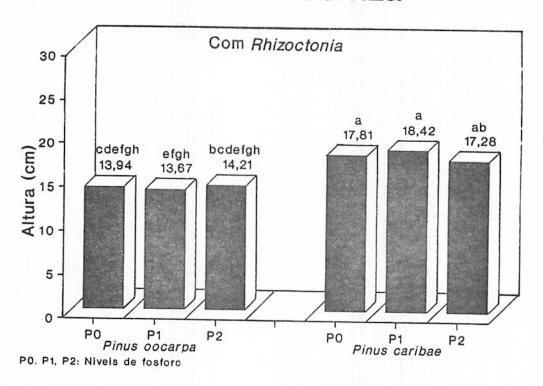
Oliveira e Barros, (1981) também observaram uma superioridade em altura das mudas micorrizadas em relação às não micorrizadas e sugeriram que o substrato micorrízico de acículas velhas contribuiu sensivelmente para o melhor desenvolvimento das mudas.

Outros resultados foram observados por Bettiol, Aver e Krugner (1985), que não verificaram efeito no crescimento de mudas micorrizadas com *Pisolithus tinctorius*.

Nas condições do presente ensaio, o *Pinus oocarpa* se mostrou mais exigente em relação à fertilidade do solo, visto que as mudas de *Pinus caribae* nas mesmas condições se mostraram mais vigorosas.

Na Figura 3 e 3.1. observa-se que não houve diferença significativa no peso seco das mudas de *Pinus caribae*. Verifica-se um aumento do peso das mudas de *Pinus oocarpa* micorrizadas em relação às mudas não micorrizadas.

Com Micorriza



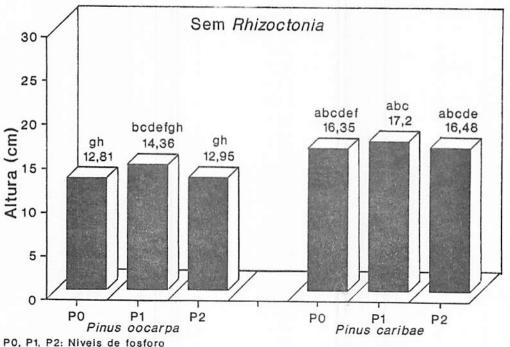
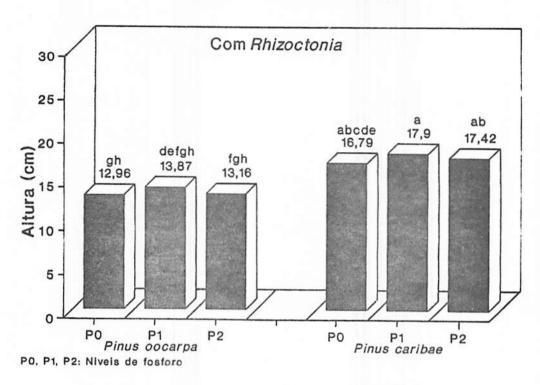


FIGURA 2. Altura (cm) de mudas de *Pinus* micorrizadas, na presença e ausência de *Rhizoctonia solani* (médias de 4 repetições). ESAL, Lavras-MG, 1993.

Sem Micorriza



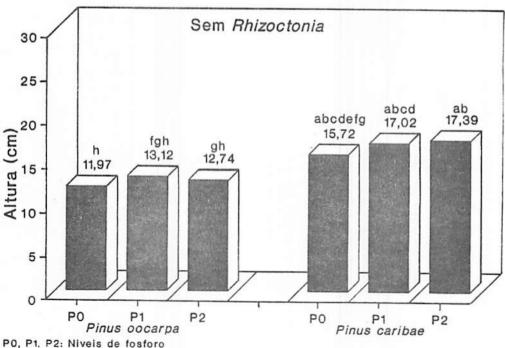
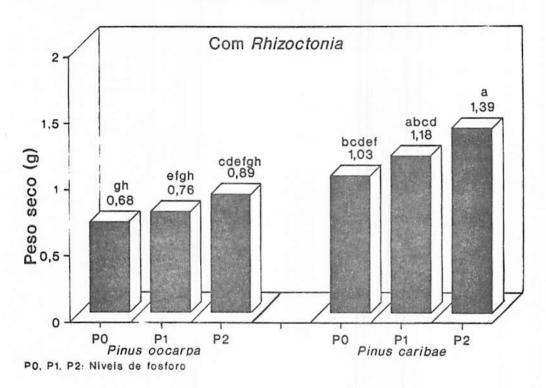


FIGURA 2.1. Altura (cm) de mudas de *Pinus* não micorrizadas na presença e ausência de *Rhizoctonia solani* (médias de 4 repetições). ESAL, Lavras-MG, 1993.

Com Micorriza



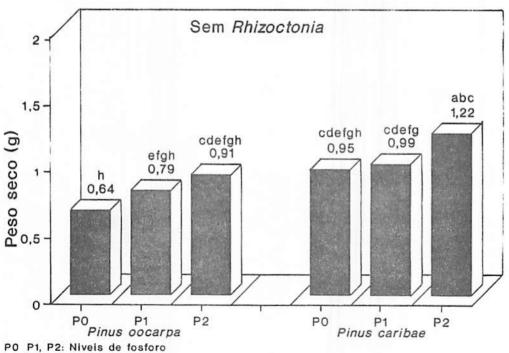
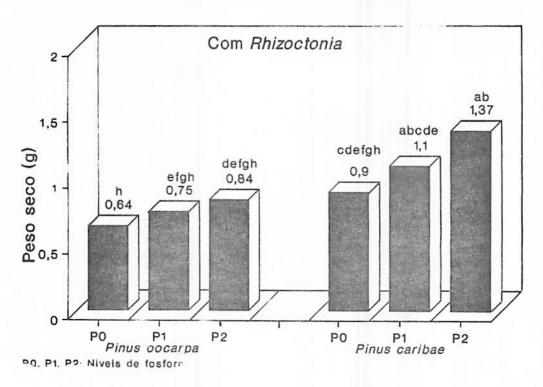


FIGURA 3. Peso seco (g) de mudas de *Pinus* micorrizadas, na presença e ausência de *Rhizoctonia solani* (médias de 4 repetições). ESAL, Lavras-MG, 1993.

Sem Micorriza



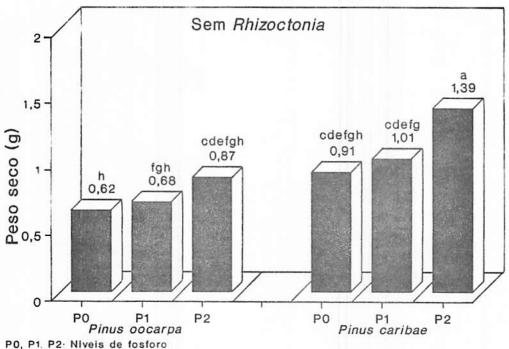


FIGURA 3.1. Peso seco (g) de mudas de *Pinus* não micorrizadas, presença e ausência de *Rhizoctonia solani* (médias 4 repetições). ESAL, Lavras-MG, 1993.

na de Resultado semelhante, porém significativo foi observado por Tomazello Filho e Krugner (1980), que também observaram valores de peso seco superiores nas mudas micorrizadas em relação às não micorrizadas.

Verifica-se também que houve um aumento do peso seco quando aumentou o nível de fósforo do substrato (Figura 3 e 3.1).

A presença da *Rhizoctonia solani* não interferiu significativamente no peso das mudas.

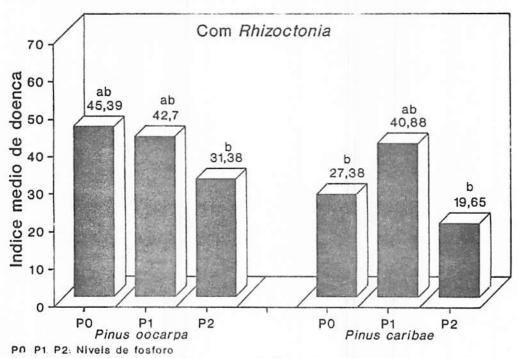
Em Pinus oocarpa observa-se o mesmo comportamento, em relação a influência da ectomicorriza e do fósforo no peso seco das mudas, porém, observa-se diferença significativa no peso seco das mudas de Pinus caribae micorrizadas e inoculadas com Rhizoctonia solani em relação às de Pinus oocarpa, nas mesmas condições (Figura 3 e 3.1.).

Não observou-se diferenças significativas no îndice de doença em mudas micorrizadas e não micorrizadas de *Pinus caribae* e *Pinus oocarpa* (Figura 4).

Esses resultados contradizem com o trabalho de Levisoln (1954), que detectou resultados significativos em mudas de *Pinus* micorrizadas e inoculadas com *Rhizoctonia solani* em relação às não micorrizadas na presença do patógeno.

Observa-se em *Pinus oocarpa* um aumento do índice de doença em mudas com teores mais baixos de fósforo, porém esse resultado não foi significativo.

Com Micorriza



Sem Micorriza

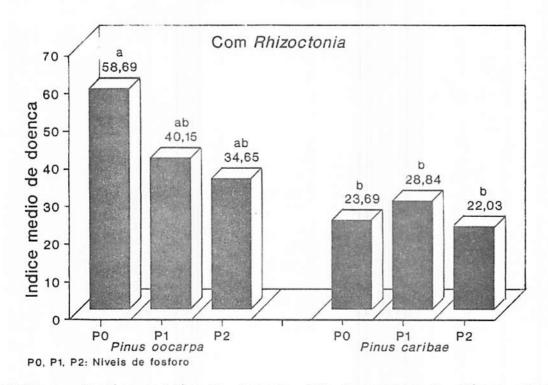


FIGURA 4. Indice médio de doença (%) de mudas de *Pinus* micorrizadas das e não micorrizadas (médias de 4 repetições). ESAL, Lavras - MG, 1993.

5 CONCLUSÕES

As mudas de *Pinus caribae* e *Pinus oocarpa* micorrizadas apresentaram uma tendência de melhor desenvolvimento em relação às não micorrizadas.

O desenvolvimento das mudas inoculadas e não inoculadas com *Pisolithus tinctorius* não foi afetado pela inoculação de *Rhizoctonia solani*.

As mudas de *Pinus caribae* mostraram valores de altura maiores e significativos em relação às de *Pinus oocarpa*.

O peso seco das mudas de *Pinus caribae* micorrizadas e inoculadas com *Rhizoctonia solani* mostrou valores maiores e significativos em relação ao de *Pinus oocarpa* nas mesmas condições.

A dosagem mais elevada de fósforo foi que propiciou melhor micorrização e desenvolvimento das espécies de *Pinus* estudadas.

As mudas de *Pinus oocarpa* se mostraram mais exigentes em relação ao fósforo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

- BETTIOL, W.; AUER, C.G.; KRUGNER, T.L. Influência de lodo de esgoto e de acículas de *Pinus* na formação de ectomicorrizas em mudas de *Pinus caribae* var. hondurensis pelos fungos *Pisolithus tinctorius* e *Thelephora terrestris*. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 1, Lavras, 1986. Anais... Lavras, 1986. p.202.
- BJORKMAN, E. On the conditions for the formation of mycorrihiza in pine and spruce. Simbolae Botanicae Upsalienses, v.6, p.1-190, 1942.
- COLLAZO, I.V.; RAMIREZ, R.S. Identificación y control químico de damping-off en el vivero forestal "Lazaro Cardenas". Ciência Florestal, México, v.6, n.30, mar/abr. 1981.
- DANIELSON, R.M.; GRIFFITHS, C.L.; PARKINSON, D. Effects of fertilization on the growth and mycorrhizal development of container-grown Jack Pine seedlings. Florest Science, Washington, v.30, n.3, p.828-835, 1984.
- DUDDRIDGE, J.A. Specificity in mycorrhizal association.

 Bulletin British Mycological Society, London, v.16, Supl. 2, p.5, 1982.
- ELIASON, E.D. Comparative virulence of certain strains of Phythium in direct inoculation of conifers. Phytopathology, St. Paul, v.18, p.361-367, 1928.
- FERREIRA, F.A. Patologia florestal, principais doenças florestais no Brasil. Viçosa: Folha de Viçosa, 1989. 570p.
- GRAND, L.F.; HARVEY, A.E. Quantitative measurement of ectomycorrizae on plant roots. In: SCHENCK, N.C. (ed). Methods and principles of mycorrhizal research. St. Paul, 1982. p.152-164.
- HARTLEY, C. Phytophthora cactorum associated with seedling diseases in florest murseries. Phytopathology, St. Paul. v.28, p.358-360, 1938.

- HAYMAN, D.S.; MOSSE, B. Plant growth response to vesicular-arbuscular mycorrhiza. III. Increas uptake of labile p fron soil. The new Phytologist, London, v.61, n.1, p.41-47, jan. 1972.
- HENDERSON, G.S. ESTONE, E.L. Growth of mycorrhizal monterey pine supplied witer phosphorus fixed on perlite. In: YOUNGBERG, C.T.; DAVEY, C.B. (eds). Tree growth and forest soils. Corvallis: Oregan State University Press. 1970. p.171-180.
- HYPPEL, A. Antogonistic effects of some soil fungi on Frmmes annosus in laboratory experiments. Stud Forest Suec, v.64, p.1-18, 1968a.
- HYPPEL, A. Effect of Fommes annosus on seedlings of Picea abies in the presence of Boletus bovinus. Stud Forest Suec, V.G.G.; p.3-16, 1968b.
- IVORY, M.H. Ectomoycorrhizas of lowland tropical pines. **Silvicultura**, São Paulo, v. 29, p.95-97, 1983.
- KRUGNER, T.L. Doenças do *Pinus*. In: GALLI, F. Manual de fitopatologia. 2. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, p.407-410, 1980.
- KRUGNER, T.L.; TOMAZELLO FILHO. Efeitos dos fungos ectomicorrízicos *Pisolithus tinctorius* e *Thelephora terrestris* e de fertilização mineral no crescimento e sobrevivência de *Pinus caribae* var. Bahamensis, em condições de campo, no litoral sul da Bahia. IPEF, Piracicaba, v. 21, p.41-51, 1980.
- KASUYA, M.C.M. Seleção de fungos ectomicorrízicos para utilização em programas de micorrização controlada em *Pinus*: estudos ecológicos e fisiológicos em síntese " in vitro". Viçosa: UFV. Imprensa universitária, 1988. 61p. (Tese-Mestrado em Microbiologia Agrícola).
- KRUG, H.P. Alguns problemas em viveiros de Pinus spp. 1962.
 Silvicultura em São Paulo, São Paulo, v.1, n.2., p.47-74, 1963.
- LEVISOHN, I. Aberrant root infections of pine and spruce seedligs. The new Phytofogist, London, v. 53, p.284-290, 1954.
- MARX, D.H. Ectomycorrhizae as biological deterrents to pathogenic root infections. Annual Rewiew phytopathology, Palo alto, v.10, p.429-454, 1972.
- MARX, D.H. Growth of ectomycorrhizal and noumycorrhizal shortle af pine seedlings in soil with *Phytopthora cinnamomi*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 63, p.18-23, jan. 1973b.

- MARX, D.H. The influence of ectotrophic micorrizae fungi on the resistence of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of micorrhizae fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. Phytopathology, St. Paul, v. 59, p.153-163, Feb. 1969.
- MARX, D.H. The influence of ectotrophic mycorrihizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. V. Resistance of mycorrhizae to infection by vegetative mycelium of *Phytophthora cinnamomi*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 60, p.1472-1473, Oct. 1970.
- MARX, D.H. Mycorrhizae and feeder root diseas. In: MARKS, G.S.; KOZZOWSKI, T.T. (eds). ECTOMYCORRHIZAE. Their ecology and physiology. New York: Academia Press, 1973a. p.351-382.
- MARX, D.H.; BRYAN, C.W.; CORDELL, E.C. Growth and ectomycorrhizal development of pine seedlings in nursery soils infested with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius*.

 Forest Science, Washington, v.22, p.91-100, 1976.
- MARX, D.H.; BRYAN, W.C. GROWTH and ectomycorrhizal development of loblolly pine seed lings in fumigated soil *Pisolithus trinctorius*. Forest Science, Washington, v.21, p.245-254, 1975.
- MARX, D.H.; BRYAN, W.C. Studies on ectomycorrhizae of pine in on electronically-air filtered air conditioned, plant-growth room. Canadian Journal of Botany, Ottawa, v. 47, p.1903-1909, 1969.
- MARX, D.H.; DAVEY, B. The influence of ectotrophic mycorrhizae fungi on the resistance of pine roots to pathogenic. IV. resistence of naturally occurring mycorrhizae infection by *Phytophthora cinnamomi*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 59, p.559-565, May 1969b.
- MARX, D.H.; DAVEY, C.B. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. III. Resistance of aseptiocally formed mycorrhizae to infection by *Phytophthora cinnamomi Phytopathology*, St. Paul. v.549, p.459-558, May 1969a.
- MARX, D. H., HATCH, A.B.; MENDICINO, J.F. High soil fertility decreases sucrose content and susceptibility of loblolly pine roots to ectomycorrhizal infection by *Pisolithus tinctorius*. Canadian Journal of Botany, Ottawa, v.55, p.1569-1574, 1977.
- MARX, D.H.; ORYAN, W.C. Influence of ectomaycorrhizae on survival and growth of aseptic seedlings of loblolly pine at high temperature. Forest science, Washington, v. 17, n.1, p.37-41, 1971.
- MAY, L.C. Molestias das sementeiras de Pinus spp. Silvicultura em São Paulo, São Paulo, v.1, n.2; p.75-79, 1962.

- MENGE, J.A.; JOHNSON, E.L.V.; SPLATT, R.G. Micorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes. New phytologist, London, v.81., n.4, p.553-559, Apr. 1978.
- MIKOLA, P. Application of mycorrhizal symbiosis in foretry practice. In: MARKS, G.C.; KOZLOWSKI, I.T. (ed.). Ecotomycorrhizae their ecology and physiology. New York: Academic Press, 1973. p.383-411.
- MOSSE, B.; STRIBLEY, D.P.; LE TACON, F. Ecology of mycorrhizae and micorrhizal fungi. In: ALEXANDER, M. (ed.). Advances in Microbial Ecology, New York: Plenum Press, p.137-210, 1981.
- MULLETTE, K.J. Studies of eucalypt mycorrhizas. I. A method of mycorrhiza induction in *Eucalyptus gemmifera* (Gaerhn. E. Hochr.) by *Pisolithus tinctorius* (Pers) coker & Couch.

 Australian journal of Botany, Melbourne, v.24; p.193-200, 1976.
- OGOSHI, A. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* KUHN. Ann Rev. Phytopathology, Palo Alto, v. 25, p.125-143, 1987.
- OLIVEIRA, A.A.R.; ZAMBOLIM, L. Interação entre o fungo endomicorrízico *Glomus etunicatum* e o nematóide das galhas *Meloidogyne javanica* sob diferentes níveis de fósforo em feijão. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v.11, p.217-226, 1986.
- OLIVEIRA, O.S. Efeitos da terra micorrizada sobre o desenvolvimento de mudas de *Pinus taeda* L. e *Pinus patula* Sch. & Cham. Revista Floresta, Curitiba, v. 13, p.40-41, 1982.
- OLIVEIRA, O.S.; BARROS, P.L.C. A influência das micorrizas na formação de mudas de *Pinus caribae* Morelet var. hondurensis. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 12, p.67-71, 1981.
- PICHE, Y.; FORTIN, J.A. Development of mycorrhizal extramatricial mycelium and sclerotia on *Pinus strobus* seedlings. The **New Phytologist**, London, v.91, p.211-220, 1982.
- PARMETER-JUNIOR, S.R.; WHITNEY, H.S. Taxonomy and nomenclature of the imperfect state. In: ____. Rhizoctonia solani; biology and pathology. Berkeley: University of California, 1970. p.7-19.
- RATHBUN, A.G. Manual of trees disease. New York: The MacMillan Company, 1923. 398p.
- RUEHLE, J.L.; WELLS, C.G. Development of *Pisolithus tinctorius* ectomucorrhizae on container-grown Pine seed lings as affected by fertility. **Florest Science**, Washington, v.30, n.4, p.1011-1016, 1984.

- SINGER, R.; ARAUJO, I.J..S. Litter decomposition and ectomycorrhiza in Amazonian forests. I. A comparison of litter decomposition and ectomycorrhizal basidiiomycetes in latosol-terra firme rain forest and white podsol campinarana. Acta Amazonica, Manaus, v.9, p.25-41, 1979.
- SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. Biotecnologia do solo. Fundamentos e perspectivas. Brasília: Ministério da educação. 1988.
- SIQUEIRA, J.O. HUBBELL, D.H.; VALLE, R.R. Effect of phosphorus on formation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal simbiosis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, n.12, p.1465-1474, dez. 1984.
- SLANKIS, V. Soil factors influencing formation of mycorrhizae.

 Annual review of Phytopathology, Palo Alto, v.2, p.437-457,

 1964.
- SMITH, R.; BEGA, R.V. Macrophomina phaseoli in the forest nurseries of California, Plant diseases report, Washington, v.48, p.206, 1964.
- TOMAZELLO, M. KRUGNER, T.L. Aspectos da associação micorrizica em *Pinus* spp. IPEF, Piracicaba, Série técnica, 32p., 1982.
- TOMAZELLO, M.; KRUGNER, T.L. Formação de ectomicorrizas e crescimento de mudas de *Pinus caribae*. var. bahamensis em solo de viveiro infestado artificialmente com *Thelephora terrestris* e *Pisolithus tinctorius* no litoral sul da Bahia. IPEF, Piracicaba, v. 21, p.21-38, 1980.
- VIEIRA, R.F. Efeito de fatores edáficos associados ao cerrado no crescimento de Pisolithus tinctorius (Pers) Coker & Couch em meio de cultura e na infecção micorrízica de Eucalyptus grandis W. Hill ex Maiden em condições controladas. Viçosa. Imprensa universitária, 1984. 84p. (Tese-Mestrado em Microbiologia Agrícola).
- VIEIRA, R.F. PERES, J.R. Fungos ectomicorrízicos para *Pinus* spp. cutivada em solo sob vegetação de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 14, p.33-39, 1990.
- WALKER, R.F.; WEST, D.C.; McLAUGHLIN, S.B.; AMUNDSEN, C.C. Growth, xylem pressure potential, and nutrient absorption of loslolly pine on a reclaimed surface mine as affected by an induced *Pisolithus tinctorus* infection Forest Science, Washington, v.35, n.2., p.569-581, June 1989.
- ZAK, B. Role of mycorrhizae in root disease. Annual Rewiew Phytopathology, Palo Alto. v.2, p.377-392, 1964.
- ZAMBOLIM, L. Como plantas micorrizadas comportam-se em relação aos fitopatógenos. O Biológico, São Paulo, v.50, p.53-69, 1994.

APÉNDICE

LISTA DE TABELAS

Fabela		Página
1 A	Percentagem de micorrizas em mudas de <i>Pinus</i> na presença e ausência de <i>Rhizoctonia solani</i> .	
	ESAL, Lavras-MG, 1993	42
2A	Altura média (cm) de mudas de <i>Pinus</i> micorriza-	
	das e não micorrizadas, na presença e ausência de <i>Rhizoctonia solani</i> . ESAL, Lavras-MG, 1993	43
3 A	Peso seco médio (g) de mudas de <i>Pinus</i> micorri-	
	zadas e não micorrizadas, na presença e ausên- cia de <i>Rhizoctonia solani</i> . ESAL, Lavras-MG,	
	1993	44
4A	Indice médio de doença (%) de mudas de <i>Pinus</i>	
	micorrizadas e não micorrizadas, na presença de	
	Rhizoctonia solani. ESAL. Lavras-MG. 1993	45

Pagin	a	lab
	Resumo da análise de variância para percentagem	5
	de mudas micorrizadas e índice médio de doença	
	de mudas de <i>Pinus</i> micorrizadas na presença e	
	ausência de Rhizoctonia solani. ESAL, Lavras-	
46	MG, 1993	
	Resumo da análise de variância para altura de	6
	peso seco de mudas de <i>Pinus</i> micorrizados e não	
	micorrizados na presença e ausência de	
46	Rhizoctonia solani. ESAL, Lavras-MG. 1993	

TABELA 1A. Percentagem de micorrizas (%) em mudas de *Pinus*, na presença e ausência de *Rhizoctonia solani* (médias de 4 repetições). ESAL, Lavras-MG, 1993.

	TRAT.	P*	Percentagem de micorrizas
P. oocarpa	I	0	9,58 ab
com micorriza	II	1	11,93 ab
com R. solani	III	2	16,84 ab
P. caribae	IV	0	12,90 ab
com micorriza	v	1	14,08 ab
com R. solani	VI	2	18,76 ab
P. oocarpa	VII	0	6,27 b
com micorriza	VIII	1	13,62 ab
sem <i>R. solani</i>	IX	2	16,77 ab
P. caribae	x	0	14,72 ab
com micorriza	XI	1	12,79 ab
sem R. solani	XII	2	22,93 a

Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

P* - Níveis de fósforo

TABELA 2A. Altura média (cm) de mudas de *Pinus* micorrizadas e não micorrizadas, na presença e ausência de *Rhizoctonia solani* (médias de 4 repetições). ESAL, Lavras-MG, 1993.

	TRAT.	P*	A	LTURA			
P. oocarpa	I	0	13,93	d	e f	g	h
com micorriza	II	1	13,67		e f	g	h
com R. solani	III	2	14,20	b c d	e f	g	h
P. caribae	IV	0	17,80	a			
com micorriza	V	1	18,41	а			
com R. solani	VI	2	17,28	a b			
P. oocarpa	VII	0	12,80			_	h
com micorriza	VIII	1 2	14,35	bсd	e f	g	h
sem <i>R. solani</i>	IX	2	12,95			g	h
P. caribae	X	0	16,35	abcd	e f		
com micorriza	XI	1	17,19	abc			
sem R. solani	XII	2	16,47	abcd	е		
P. oocarpa	XIII	0	12,96			g	h
sem micorriza	XIV	1	13,87	d	e f	g	þ
com R. solani	xv	2	13,96		e f	g	þ
P. caribae	XVI	0	16,79	abcd	е		
sem micorriza	IIVX	1	17,90	a			
com R. solani	XVIII	2	17,42	a b			
P. oocarpa	XIX	0	11,97				h
sem micorriza	XX	1	13,12		f	g	
sem R. solani	XXI	2	12,74			g	h
P. caribae	XXII	0	15,72	abcd		g	
sem micorriza	XXIII	1	17,02	a b c d			
sem <i>R. solani</i>	XXIV	2	17,39	a b			

Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

P* Nível de Fósforo.



TABELA 3A. Peso seco médio (g) de mudas de *Pinus* micorrizadas e não micorrizadas, na presença e ausência de *Rhizoctonia solani* (médias de 4 repetições). ESAL, Lavras-MG, 1993.

	TRAT.	P*		PESO	SEC)		
P. oocarpa com micorriza com R. solani	I II II	0 1 2	0,68 0,76 0,89		c d	e e	f	g h g h g h
P. caribae com micorriza com R. solani	IV V VI	0 1 2	1,03 1,18 1,39		c d	е	f	
<i>P. oocarpa</i> com micorriza sem <i>R. solani</i>	VII VIII	0 1 2	0,63 0,78 0,91		c d	e e	f	h g h g h
<i>P. caribae</i> com micorriza sem <i>R. solani</i>	X XI XII	0 1 2	0,95 0,99 1,21	a b	c d c d			
<i>P. oocarpa</i> sem micorriza com <i>R. solani</i>	XIV XIV	0 1 2	0,64 0,75 0,83		d	e e	f	h g h g h
<i>P. caribae</i> sem micorriza com <i>R. solani</i>	XVII XVII	0 1 2	0,90 1,10 1,37		c d		f	g h
<i>P. oocarpa</i> sem micorriza sem <i>R. solani</i>	XXX XX	0 1 2	0,62 0,68 0,87		c d	е	f	h g h g h
P. caribae sem micorriza sem R. solani	XXII XXIII	0 1 2	0,91 1,00 1,39	a a	c d			g h

Médias seguidas das mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

P* - Níveis de fósforo

The state of the s

Lavrando - 1 - 13

decing coquides das a una lotta, não diferen entre si, pel-

TABELA 4A. Indice médio de doença (%) de mudas de *Pinus* micorrizadas e não micorrizadas, na presença de *Rhizoctonia solani* (médias de 4 repetições). ESAL, Lavras-MG, 1993.

	TRAT.	P*	INDICE DE	DOENÇA
P. oocarpa	I	0	45,39 a	bс
com micorriza	II	1	42,70 a	bс
com R. solani	III	2	31,38	bс
P. caribae	IV	0	27,38	С
com micorriza	V	1	40,88 a	bс
com R. solani	VI	2	18,65	С
P. oocarpa	XIII	0	58,60 a	b
sem micorriza	XIV	1	40,15 a	bс
com <i>R. solani</i>	XV	2	34,65 a	bc
P. caribae	XVI	0	23,69	С
sem micorriza	XVII	1	28,84	С
com R. solani	XVIII	2	22,03	С

Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

P* - Níveis de fósforo

TABELA 5A. Resumo da análise de variância para percentagem de mudas micorrizadas e índice médio de doença de mudas de Pinus micorrizadas na presença e ausência de Rhizoctonia solani. ESAL, Lavras-MG, 1993.

	G.L.	Quadrados Médios		
		% micorrizas	Indice médio de doença	
Trat Bloco Resíduo	11 3 33	52,5100* 158,6968** 23,2742	7,6283* 12,7532** 1,242	
CV		10,45	12,01	

^{*} Significativo ao nível de 5% de probabilidade.
** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

TABELA 6A. Resumo da análise de variância para altura e peso seco de mudas micorrizadas e índice médio de doença de mudas de *Pinus* micorrizadas na presença e ausência de *Rhizoctonia solani*. ESAL, Lavras-MG, 1993.

	G.L.	Quadrados Médios		
	G.H.	Altura	Peso Seco	
Trat	23	17.3274**	0,2259**	
Bloco	3	17,3274** 5,4848*	0,0109	
Resíduo	69	1,4966	0,0171	
CV		7,62	15,25	

^{*} Significativo ao nível de 5% de probabilidade.
** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.