

TERMOSENSIBILIDADE DE PROPÁGULOS DE FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS EM *Pinus luchuensis* Mayr*

Nilse Kasue Shimura YOKOMIZO**
Gaku MASUHARA‡

RESUMO

Solos de plantios florestais, previamente tratados através de aquecimento por uma hora à 50°, 65°, 80° e 95°C, foram utilizados no crescimento de mudas de *Pinus luchuensis* Mayr. Acondicionadas em frascos de vidro e em potes de policarbonato, as mudas foram respectivamente incubadas em casa de vegetação e em câmara de crescimento por três meses. Solo natural sem aquecimento foi utilizado como controle. Cinco tipos de micorrizas foram observados e suas principais características descritas. Em solo tratado a 80°C, alguns propágulos de ectomicorrizas sobreviveram e mostraram tipo específico de micorriza. No controle e em solo tratado a 50°C, quatro tipos micorrízicos foram observados, mas mostraram-se distintos quanto à sensibilidade ao aquecimento a temperaturas acima de 50°C e também ao déficit de água no substrato. Um dos tipos micorrízicos foi identificado como *Cenococcum geophilum* e os outros quatro tipos são formados por micobiontes ainda não identificados. Os resultados demonstram que os propágulos de fungos micorrízicos perdem sua viabilidade em solos tratados à temperatura entre 80° e 95°C.

Palavras-chave: *Cenococcum geophilum*; ecologia do solo; ectomicorriza; *Pinus luchuensis*; termosensibilidade.

1 INTRODUÇÃO

A dependência das coníferas por fungos micorrízicos é conhecida, desde o início deste século, quando tentativas de introdução de coníferas exóticas em diversas partes do mundo falhavam, até que fungos micorrízicos fossem inoculados. Esta dependência é devida a características da associação micorrízica que entre outros fatores estimulam o crescimento, o vigor e a sobrevivência

ABSTRACT

Three months old *Pinus luchuensis* Mayr. (Ryukyu pine) seedlings were grown in soil from established forest plantation, previously heat treated for 1h in water bath at 50°, 65°, 80° and 95°C. They were containerized in glass bottles and polycarbonate pots and grown in incubator and glass house conditions respectively. Natural soil without heat treatment was used as control. Five distinct ectomycorrhizal types were observed and their main characteristics were described. In soil treated at 80°C some ectomycorrhizal propagules survived and showed a specific mycorrhiza type. In control and soil treated at 50°C, four mycorrhizal types were observed but they showed distinctive sensitivity to heat treatments over 50°C and moisture content. One of the mycorrhizal types was identified as *Cenococcum geophilum* and the other four were unknown mycobionts. The results demonstrated that in the soil treated at temperature range of 80° to 95°C, the ectomycorrhizal fungi propagules lose their viability.

Key words: *Cenococcum geophilum*; ectomycorrhiza; *Pinus luchuensis*; soil ecology; thermosensitivity.

das espécies hospedeiras (MIKOLA 1973, ALLEN & ALLEN 1992, TRAPPE & LUOMA 1992).

Estas características têm despertado o interesse do setor florestal, por programas de inoculação micorrízica, porém são poucas as informações disponíveis que possam fornecer instruções sobre fungos específicos e as diferentes condições de inoculação que envolvem fatores tais como especificidade do hospedeiro, tratos culturais, tipo de solo e clima.

(*) Trabalho realizado na vigência do International Collaborative Research Programme, período 93/94, da Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS), Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Ishigaki, Okinawa, Japan, parcialmente apresentado no XIII Congresso Latino Americano de Ciência do Solo, realizado em Águas de Lindóia, SP, no período de 04 a 08 de agosto de 1996. Aceito para publicação em outubro de 1996.

(**) Instituto Florestal, Caixa Postal 1322, 01059-970, São Paulo, SP, Brasil.

(‡) In memoriam. Japan International Research for Agricultural Sciences, Ishigaki, Okinawa, Japan.

Além desse desconhecimento, muitos fatores associados tem dificultado o estudo da associação micorrízica. Uma delas é a necessidade de desenvolver estudos em condições artificiais, muitas vezes assépticas, onde a planta hospedeira e o fungo se desenvolvem sem a interferência dos demais componentes ambientais, fundamentais no estabelecimento da associação micorrízica.

Especificamente com respeito a estudos de compatibilidade entre fungo micorrízico e hospedeiros, tem-se utilizado métodos em condições controladas, cujos resultados são discutíveis se houver necessidade de empregá-los em condições naturais (PETERSON & CHAKRAVARTY 1991).

A técnica preconizada como ideal por REID & HACKSKAYLO (1982) é aquela que permite uma compreensão da estrutura e funcionamento da micorriza em ecossistemas naturais, utilizando-se de métodos que se aproximem ao máximo das condições naturais.

Como forma de minimizar a artificialidade do ambiente para ensaios micorrízicos, este trabalho pretendeu determinar a temperatura máxima na qual sobrevivem os propágulos dos fungos ectomicorrízicos. Esses resultados serão utilizados em ensaios com inoculantes micorrízicos, onde deseja-se evitar a utilização de mecanismos impactantes, como a esterilização total do solo, que resulta na eliminação radical da população do solo incluindo-se os fungos micorrízicos.

Baseado nessas considerações, o presente trabalho pretendeu obter informações sobre a flora ectomicorrízica associada ao sistema radicular de *Pinus luchuensis* e sua tolerância ao aquecimento do solo à temperatura de 50°, 65°, 80° e 95°C.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O solo utilizado neste experimento foi coletado do horizonte F de uma floresta de *Pinus luchuensis* Mayr. (Ryukyu pine) localizado em Tamatorizaki (24°20'N latitude e 124°9'N longitude), na ilha de Ishigaki, Japão.

Duzentos e cinquenta mililitros deste solo, peneirado em malha 1,0 cm, foram acondicionados em frascos de vidro de 700 ml, com tampas de plástico e em frascos transparentes de policarbonato, de 8,0 cm de diâmetro por 7,0 cm de

altura. Em ambos os frascos, o solo foi umedecido a 10% (V/V) com água destilada e imersos em banho maria para aquecimento à temperatura de 50°, 65°, 80° e 95°C por 60 minutos. Solos não aquecidos, foram utilizados como controle. O pH do solo após o tratamento variou de 6,03 a 6,47 em água destilada e de 4,89 a 4,95 em CaCl₂ a 0,1M. Quatro repetições foram realizadas por tratamento.

Plântulas de *P. luchuensis* foram obtidas em condições assépticas, agitando-se as sementes em peróxido de hidrogênio a 30% por 60 minutos. Após enxaguar em água destilada esterilizada, as sementes foram transferidas em meio agarizado de ROVIRA (1959) e incubadas a 25°C até obtenção das plântulas. Após transferir 3 plântulas em cada recipiente, os frascos de vidro foram incubados em casa de vegetação a 25°C e os frascos de policarbonato, em câmara de crescimento (Eyelatron FLI-301N) programada para 16 horas, sob luminosidade de luz fluorescente a 23°C e 8 horas sem luz, a 20°C. Durante a incubação, os frascos foram umedecidos com água destilada esterilizada (10 ml, 4%V/V) a cada trinta dias.

A avaliação foi realizada após 90-100 dias de incubação, considerando as seguintes características: a) estimativa visual da ocorrência de micorrizas (GRAND & HARVEY, 1982), b) tipos de micorrizas associadas ao sistema radicular de *P. luchuensis* (AGERER, 1987-1993 e INGLEBY *et al.* 1990) e c) comprimento total da raiz (TENNANT, 1975).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cinco tipos de ectomicorrizas foram observadas neste ensaio, correspondendo aos tipos a seguir descritos:

Ectomicorriza tipo 1 - micobionte não identificado

As micorrizas eram ou não ramificadas e/ou dicotômicas, retas, com ápice de coloração branca que se tornava castanho claro junto à base em estádios jovens, escurecendo para castanho em estádios maduros. O eixo principal tinha de 1,0 - 4,7 mm e diâmetro de 0,2 - 0,63 mm. Rizomorfas, esclerócios e elementos especializados não foram observados. Poucas hifas emanadas do manto, de 0,2 - 0,3 µm de diâmetro, irregularmente

formadas, adpressas, ocorrendo até 50 μm distante do manto. Septos estavam presentes, mas não muito freqüentes, sem grampos de conexão. Incrustações nas hifas foram observadas na maioria do micélio. A margem do manto era lisa, camada externa "felt prosenchyma" e "net synenchyma" internamente, formando um tecido de até 1,2 - 2,3 μm espessura. A hifa do tecido do manto era hialina para rosa em fucsina ácida a 2%, com paredes lisas, e mais espessas que as hifas emanadas do manto. Rede de Hartig bem distinta.

Ectomicorriza tipo 2 - micobionte não identificado

A maioria das micorrizas eram tortuosas, não ramificadas ou dicotômicas, coloração branca para castanho claro da extremidade para a base. Micorrizas em estádios maduros apresentavam cor castanho com tanino visível sob microscópio. O eixo principal tinha de 1,0 - 3,75 mm e diâmetro de 0,25 - 0,67 mm. Rizomorfas, esclerócios e elementos associados não foram observados. A superfície do manto era lisa, geralmente não apresentavam hifas emanadas. Raramente eram observadas hifas de cor castanho, emanando do manto até a distância de 20 μm , retas, paredes verrugosas, septada, 4,0 - 7,0 μm de espessura. Manto fino, coloração castanha em estádios maduros e de espessura irregular que consistia de uma a três camadas de células hifálicas, de 12,0 a 32,5 μm de espessura. A estrutura do manto era compacta, não diferenciada "net" para "irregular synenchyma", não interligadas e as hifas tinham espessura irregular, de 4,0 - 8,0 μm de diâmetro, mais largas que as emanadas, septadas, com paredes lisas. A rede de Hartig era bem visível, com espaço intercelular também visível até 2 a 3 camadas de células corticais. Com freqüência as hifas não provenientes do manto, não relacionadas com a micorriza, ocorriam em torno da micorriza.

Ectomicorriza tipo 3 - micobionte não identificado

As micorrizas eram de cor castanho claro e escureciam gradativamente até castanho junto à base. A superfície da micorriza era cotonosa com várias formas, desde monopodiais como dicotômicas a coralóide. As formas monopodiais eram retas de 1,13 a 5,00 mm e 0,5 a 0,6 mm de

diâmetro, freqüentemente de forma clavada na extremidade. As formas dicotômicas e coralóides tinham o eixo principal de 1,0 - 2,5 mm e 0,37 - 0,50 mm de diâmetro. As hifas associadas, que envolviam toda a micorriza e raízes, eram de cor branca e ocorriam em abundância, com diâmetro de 2,0 - 3,0 μm , com grampos de conexão na maioria dos septos e apresentavam paredes ornamentadas com pequenas verrugas, quase imperceptíveis. Rizomorfas, esclerócios e elementos especializados não foram observados. A superfície do manto constituía-se de "felt prosenchyma" até 20,0 - 30,0 μm de profundidade, apresentando células alongadas, que emergiam do manto como hifas emanadas. Este "felt prosenchyma" tornava-se "net" ou "irregular synenchyma", dependendo da secção do corte anatômico. A rede de Hartig era visível.

Ectomicorriza tipo 4 - *Cenococcum geophilum* Fr.

As micorrizas eram exatamente como descrito por INGLEBY *et al.* (1990) com sendo ascomiceto *Cenococcum geophilum* Fr. As micorrizas apresentavam coloração negra sob estereomicroscópio, morfologicamente retas ou dicotômicas, eixo principal de 1,0 - 3,2 mm e 0,37 - 0,50 mm de diâmetro. Sob microscópio as hifas apresentavam cor castanho escuro, septadas, com paredes grossas, com diâmetro de 4,0 - 6,0 μm que cresciam emergindo do manto. Esclerócios eram negros, esféricos, 1,2-1,8 mm de diâmetro, duros e com hifas ao redor, ocorrendo com freqüência na rizosfera. A superfície do manto era formada por um arranjo específico de hifas, como rosetas, das quais as hifas emergiam. As margens do manto eram lisas e a estrutura tipicamente "net synenchyma", com hifas de paredes grossas, mais espessas que as emanadas.

Ectomicorriza tipo 5 - micobionte não identificado

Micorrizas eram branco-amareladas, retas ou dicotômicas, apresentando eixo principal com 1,0 - 1,38 mm e 0,4 - 0,6 mm de diâmetro. As hifas associadas não eram hialinas em fucsina ácida a 2%, forma irregular, 2,0 - 3,0 μm diâmetro, sem grampos de conexão, emanando até 200 μm a partir do manto. A estrutura do manto era diferenciada, externamente "felt prosenchyma",

internamente "net synenchyma" e hifas com paredes mais lisas e com maior diâmetro, algumas paralelamente arranjadas. As rizomorfias associadas eram altamente diferenciadas, de 20,0 - 30,0 µm de largura, com distintas hifas centra-lizadas, envoltas por outras mais finas. As hifas centrais eram

septadas. As hifas de rizormorfa eram hialinas, septadas, diferentes das hifas associadas.

A estimativa visual da quantidade total de micorrizas e a distribuição dos cinco tipos de ectomicorrizas entre os tratamentos são mostradas na TABELA 1.

TABELA 1 - Estimativa visual da ocorrência de micorrizas (-ausente, +presente, ++presente em pequena quantidade, +++presente em grande quantidade, ++++presente em abundância) e tipos 1,2,3,4 e 5 de micorrizas, descritos no texto, em *P. luchuensis* cultivado em solo tratado a 50°, 65°, 80° e 95°C em condições de câmara de crescimento e casa de vegetação.

Temperatura	Repetição	Câmara de crescimento		Casa de Vegetação	
		Ocorrência	Tipo	Ocorrência	Tipo
95°C	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
80°C	1	++	1	+	1
	2	++	1	++	-
	3	++	1	++	1
	4	++	1	+	1
65°C	1	+++	1	+++	1,4
	2	+++	1	+++	1
	3	++	1	+++	1
	4	+++	1	+++	1
50°C	1	+++	4,5	++	2,3,4,5
	2	+++	4,5	++	2,3,4
	3	++	4,5	++	2,3,4
	4	+++	4,5	++	1,3,4
CONTROLE	1	++++	3,4,5	++	2,4
	2	+++	3,4,5	+++	4
	3	+++	3,4,5	+++	2,3,4
	4	+++	3,4,5	+++	2,3,4

Os cinco tipos ectomicorrízicos obtidos neste ensaio provavelmente não cobrem toda a população de fungos ectomicorrízicos naturais da floresta de Tamatorizaki. A quantidade de solo empregada, a disponibilidade de água, temperatura, condições de incubação, fotoperíodo, tipo de frascos e todos os fatores envolvidos na composição do ambiente de incubação exercem influência no

metabolismo da planta e do fungo (HARLEY & SMITH 1983), e, de alguma forma, afetam o desenvolvimento da simbiose micorrízica. Fatores ecológicos como a especificidade entre planta e hospedeiro, estágio da sucessão micorrízica são também importantes para estabelecer o relacionamento simbiótico entre a planta hospedeira e a micota e definir os parceiros e os tipos de

associação micorrízica (ALLEN & ALLEN 1992). Por estas razões, os tipos micorrízicos e os respectivos micobiontes obtidos neste experimento, especialmente no controle, não podem ser extrapolados para as condições de campo.

Por ocasião da coleta do solo utilizado como inóculo neste experimento, foi observada a ocorrência de frutificações de *Suillus granulatus* (L. ex. Fr.) S. F. Gray, que, segundo PALM & STEWART (1984), trata-se de um fungo ectomicorrízico cosmopolita. Adaptando o método de KASUYA *et al.* (1992), através da síntese de ectomicorrizas *in vitro*, comprovou-se que *S. granulatus* é micorrízico, associando-se com *P. luchuensis*. Isto é apenas uma indicação de que *S. granulatus* pode associar-se como micorriza em *P. luchuensis*. Nenhum dos cinco tipos ectomicorrízicos obtidos até três meses de incubação, tinham características de micorriza de *S. granulatus*. Esta ausência é previsível segundo MASON *et al.* (1983), que afirmam que a presença de carpóforos não está diretamente relacionada com as micorrizas que ocorrem no interior do solo. Segundo estes autores, as micorrizas ocorrem obedecendo uma sucessão ecológica. Isto significa que posteriormente, em algum estágio específico, *S. granulatus* e *P. luchuensis* virão a associar-se (PALM & STEWART 1984), provavelmente em idade similar aos exemplares de *P. luchuensis* da floresta de Tamatorizaki, da qual coletou-se o solo para o ensaio e onde carpóforos de *S. granulatus* ocorriam.

Outra possibilidade é a não disponibilidade de propágulos de *S. granulatus* no solo. Como mencionado por OGAWA (1985), *S. granulatus* possui hifas irregularmente distribuídas no horizonte F e A. A distribuição deste micélio é controlada pela distribuição de raízes no solo e qualquer alteração na direção do micélio depende da distribuição do substrato.

De acordo com o conceito de MASON *et al.* (1983), as micorrizas de tipos 2, 3, 4 e 5, detectados no controle e no solo tratado a 50°C podem ser considerados como pertencentes ao grupo das micorrizas específicas de estágio jovem. Os respectivos fungos são capazes de associarem-se como micorrizas em mudas de *P. luchuensis* de até três meses de idade. São capazes também de crescer entre a micota natural do solo, demonstrando habilidade competitiva.

Já a micorriza tipo 1 não demonstrou ter essa habilidade competitiva, ocorrendo somente em solos tratados de 65° para 80°C, onde se espera uma população restrita, composta por organismos tolerantes a essas temperaturas. O fungo associado ao tipo 1 demonstrou ser tolerante à temperatura de até 80°C.

A micorriza tipo 2 tem também algumas restrições, ocorrendo somente em condições de casa de vegetação, no controle e em solo tratado a 50°C. Devido ao sistema de aeração da incubadora, o solo/inóculo utilizado como substrato dos frascos colocados em casa de vegetação continham mais umidade do que os frascos de policarbonato utilizados nas câmaras de crescimento. A ocorrência da micorriza tipo 2 somente nos frascos mantidos em casa de vegetação demonstra a sensibilidade desta micorriza às condições de seca e à temperaturas superiores a 65°C.

Similarmente, a micorriza tipo 3 mostrou a mesma sensibilidade à temperaturas superiores a 50°C, mas ocorria em condições de baixa disponibilidade de água das câmaras de crescimento. Também ocorreu no controle em ambas as condições, casa de vegetação e em câmara de crescimento.

Cenococcum geophilum, associado à micorriza 4, ocorreu nos tratamentos a temperaturas inferiores a 65°C. Trata-se de fungo ectomicorrízico cosmopolita bastante conhecido e a característica de possuir estruturas de resistência, como esclerócios, permite-lhe uma habilidade competitiva vantajosa para crescer em condições adversas como extremos de temperatura, de seca, etc. (MASSICOTE *et al.* 1991).

A micorriza tipo 5 mostrou sensibilidade à temperaturas superiores a 65°C e tolerância ao baixo teor de umidade da câmara de crescimento. Ocorreu também em casa de vegetação, mas não tão freqüente como na câmara de crescimento.

Notou-se a ocorrência simultânea de diferentes tipos de micorrizas em uma mesma planta, especialmente em solos tratados a 50°C e no controle. HARLEY & SMITH (1983) denominam este fenômeno como complexo social de organismos, onde o carbono advindo do processo fotossintético é usado pelo micélio do fungo. Reciprocamente, há uma competição entre os hospedeiros pelos derivados do complexo

fúngico. Posteriormente, o melhor sucedido nesta competição, cuja ocorrência depende do relacionamento hospedeiro/fungo, definirá a micota micorrízica que se estabelecerá nos diferentes estádios sucessionais do ecossistema.

Embora apresente limitações devido à falta de precisão, a estimativa visual da ocorrência de micorrizas foi utilizada para permitir uma idéia da termossensibilidade dos fungos micorrízicos. O número de tipos micorrízicos diminui quanto maior a temperatura aplicada no tratamento do solo, conforme pode ser observado na TABELA 1.

As diferentes temperaturas aplicadas no tratamento do solo certamente afetaram não somente os propágulos dos fungos micorrízicos, mas toda a micota do solo. Além disso, há que se considerar outras características como a regularidade do fotoperíodo na incubadora e a irregularidade natural do fotoperíodo em casa de vegetação. De acordo com HARLEY (1969) e HARLEY & SMITH (1983) estes fatores, entre outros, como a população do solo, luz, temperatura são fundamentais e decisivos para o estabelecimento da associação. Esta complexa interação altera todo o ecossistema e provavelmente explica a ocorrência da micorriza tipo I somente e quase que exclusivamente em solos tratados entre 65° a 80°C. O correspondente fungo micorrízico sobreviveu a tratamentos nessas temperaturas e os mecanismos envolvidos na associação foram compatíveis com as atividades da micota remanescente.

Embora não tenha sido conferido durante o experimento, o próprio tratamento térmico não deve ter ocorrido de forma uniforme por toda a amostra do solo tratada. O processo de peneiramento permitiu a utilização de estruturas do solo menores ou iguais a 1,0 cm. Certamente uma partícula do solo recebeu um impacto térmico diferentemente de uma estrutura de 1,0 cm de solo. Consequentemente as micotas respectivas também reagiram distintamente.

O comprimento total das raízes de *P. luchuensis* encontra-se na TABELA 2. O comprimento total das raízes medidas neste ensaio demonstra que as plantas cultivadas na incubadora apresentavam o comprimento das raízes mais longo quando comparados com plantas cultivadas em casa de vegetação. Sob o mesmo regime de incubação, as raízes eram mais longas quanto maior a temperatura aplicada no tratamento

do solo. Acredita-se que o conteúdo nutritivo do limitado ambiente do interior dos frascos estava totalmente disponível para o crescimento das mudas de *P. luchuensis*, devido à ausência de competição com outras plantas cujos propágulos foram eliminados durante o processo de aquecimento do solo. O solo estava mais seco na incubadora do que na casa de vegetação, induzindo as mudas a desenvolverem sistema radicular mais amplo para aumentar a superfície de absorção e talvez, conforme REID & HACSKAYLO (1982), uma tentativa de manter balanço satisfatório de água nos tecidos do hospedeiro. Mesmo assim, não foram observadas diferenças significativas no comprimento total das raízes cultivadas em solo tratado entre 80°C e 95°C em ambos os regimes de incubação. Em ambos, também as micorrizas apareceram nos solos tratados a 80°C. THEODOROU & BOWEN (1971) argumentam que o aumento das raízes laterais significa aumento de locais com potencial para ocorrência de micorrizas, que pode ter acontecido quando o solo foi tratado a 80°C, comparado com o tratamento a 95°C. Este fenômeno não ocorreu em tratamentos abaixo de 80°C, onde a incidência de micorrizas foi significativamente maior.

Estas informações podem ser utilizadas em experimentos de inoculação micorrízica, quando condições estéreis não são desejadas, mas necessárias para eliminar a micota micorrízica pré existente. Assim, processos de inoculação serão possíveis sem a interferência de competidores, mantendo-se parte da população do solo, em solos tratados a temperaturas de 95°C.

Estes resultados referem-se à *P. luchuensis* com 90 dias e são restritos às condições empregadas. De acordo com o conceito de MASON *et al.* (1983) e DEACON & DONALDSON (1983), outros e diferentes tipos micorrízicos podem ser encontrados no mesmo solo quando coletado em outro período e em outros microhabitats, sob os mesmos tratamentos aqui empregados. Posteriormente, outros trabalhos referentes à idade da planta hospedeira, identificação dos micobiontes, características ecológicas, e modelos de sucessão, devem ser acessados com a finalidade de determinar o fungo micorrízico mais adequado para *P. luchuensis*, que induza melhor desempenho e que seja ambientalmente adaptado às condições locais.

TABELA 2 - Comprimento total das raízes de *P. luchuensis* (média da quatro repetições) cultivado em solo tratado a 50°, 65°, 80° e 95°C em câmara de crescimento e casa de vegetação.

TRATAMENTO	COMPRIMENTO TOTAL DAS RAÍZES (cm)	
	CÂMARA DE CRESCIMENTO	CASA DE VEGETAÇÃO
95°C	106,20 cm d	59,78 cm bc
80°C	132,59 cm de	62,43 cm bc
65°C	104,24 cm cd	52,45 cm ab
50°C	78,96 cm cd	35,29 cm a
controle	77,05 cm bc	49,50 cm ab

Tratamentos seguidos pela mesma letra não apresentam diferenças significativas pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade. (F = 20,35, LSD = 19,42 cm e CV = 17,73%).

4 CONCLUSÕES

Solos provenientes de talhões de *Pinus luchuensis* continham cinco tipos distintos de propágulos de ectomicorrizas capazes de associar-se como ectomicorrizas com mudas de *P. luchuensis* com três meses de idade, em condições de câmara de crescimento e casa de vegetação.

O fungo micorrizico associado ao tipo 4 foi identificado como *Cenococcum geophilum* e os demais tipos tratam-se de micobiontes não identificados.

A micorriza tipo 1 mostrou tolerância ao tratamento de solo à temperatura de 80°C. Os demais tipos ocorreram no controle e em solo tratado à temperatura de 50°C.

Solo tratado a 95°C foi efetivo no controle da formação de ectomicorrizas em mudas de *P. luchuensis*.

5 AGRADECIMENTOS

Este trabalho teve suporte do International Collaborative Research Programme, vigência 93/94, do Japan International Research Center for Agricultural Sciences, JIRCAS, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, a quem o primeiro autor agradece. Agradecimentos também ao Senhor Akiyoshi Yamada, da Universidade de Tsukuba, pelo fornecimento de isolados de

Cenococcum geophilum e *Suillus granulatus* e aos senhores Dr. Katsuki Adachi e Dr. Toshihiro Semboku pelo acompanhamento do trabalho durante a permanência do primeiro autor na International Collaborative Research Section, Okinawa Subtropical Station, Ishigaki, Japão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGERER, R. 1987-1993. *Color atlas of ectomycorrhizae*. Einhorn, Schwabisch Gmünd. (não paginado)
- ALLEN, M. F. & ALLEN, E. B. 1992. Mycorrhizae and plant community development: mechanisms and patterns. In: CARROL, G. C. & WICKLÖW, D. T. (eds.) *The fungal community its organization and role in the ecosystem*. New York, Marcel Dekker, Inc. p.455-479.
- DEACON, J. W. & DONALDSON, S. J. 1983. Sequences and interactions of mycorrhizal fungi on birch. *Plant and Soil*, The Hague-Netherlands, 71:257-262.
- GRAND, L. F. & HARVEY, A. E. 1982. Quantitative measurement of ectomycorrhizae in plant roots. In: SCHENCKE, N. C. (ed.). *Methods and principles of mycorrhizal research*. St. Paul, Minnesota, The American Phytopathological Society. p.157-164.
- HARLEY, J. L. 1969. *The biology of mycorrhiza*. London, Leonard Hill. 334p.

- HARLEY, J. L. & SMITH, S. E. 1983. *Mycorrhizal symbiosis*. London, Academic Press. 483p.
- INGLEBY, K. *et al.* 1990. *Identification of ectomycorrhizas*. London, Institute of Terrestrial Ecology Research, HMSO. 112p. (Publication, 5)
- KASUYA, M. C. M. *et al.* 1992. *In vitro* ectomycorrhizal formation in six varieties on pine. *For. Ecolo. Manage*, Amsterdam, 47:127-134.
- MASON, P. A. *et al.* 1983. The concept of sucession in relation to the spread of sheeting mycorrhizal fungi on inoculated tree seedlings growing in unsterile soils. *Plant and Soil*, The Hague-Netherlands, 71:247-256.
- MASSICOTTE, H. B. *et al.* 1991. Studies on *Cenococcum geophilum*. II. Sclerotium morphology, germination, and formation in pure culture and growth pouches. *Can. J. Bot.*, Ottawa, 70:125-132.
- MIKOLA, P. 1973. Application of mycorrhizal symbiosis in forestry practice. In: MARKS, G. C. & KOZLOWSKI, T. T. (eds.). *Ectomycorrhizae their ecology and physiology*. New York, Academic Press. p.383-411.
- OGAWA, M. 1985. Ecological characters of ectomycorrhizal fungi and their mycorrhizae. *JARQ*, Tsukuba, 18(4):305-314.
- PALM, M. E. & STEWART, E. L. 1984. *In vitro* synthesis of mycorrhizae between presumed specific and non specific *Pinus* + *Suillus* combinations. *Mycologia*, Lancaster, 76(4):579-600.
- PETERSON, R. L. & CHAKRAVARTY, P. 1991. Techniques in synthesizing ectomycorrhiza. In: NORRIS, J. R.; READ, D. J. & VARMA, A. K. (eds.). *Methods in microbiology. Techniques for the study of mycorrhiza*. London, Academic Press. v. 23. p. 75-106.
- REID, C. P. P. & HACKSKALO, E. 1982. Evaluation of plant response to inoculation. B. Environmental variables. In: SCHENCKE, N. C. (ed.) *Methods and principles of mycorrhizal research*. St Paul, Minnesota, The American Phytopathological Society. p. 175-187.
- ROVIRA, A. D. 1959. Root excretions in relation to the rhizosphere effect. IV. Influence of plant species, age of plant, light, temperature, and calcium nutrition on exudation. *Plant and Soil*, The Hague-Netherlands, (1):53-64.
- TENNANT, D. 1975. A test of a modified line intersect method of estimating root length. *Journal of Ecology*, London, 63:995-1001.
- THEODOROU, C. & BOWEN, G. D. 1971. Influence of temperature on the mycorrhizal associations of *Pinus radiata* D. Don. *Aust. J. Bot.*, Melbourne, 19:13-20.
- TRAPPE, J. M. & LUOMA, L. L. 1992. The ties that bind: fungi in ecosystems. In: CARROL, G. C. & WICKLOW, D. T. (eds). *The fungal community its organization and role in the ecosystem*. New York, Marcel Dekker, Inc. p.17-27.