

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal

Aline Ferreira Rocha

**SELEÇÃO DE CLONES DE *Corymbia* RESPONSIVOS À INOCULAÇÃO DE FUNGOS
ECTOMICORRÍZICOS**

Diamantina – MG

2016

Aline Ferreira Rocha

**SELEÇÃO DE CLONES DE *Corymbia* RESPONSIVOS À INOCULAÇÃO DE FUNGOS
ECTOMICORRÍZICOS**

Diamantina - MG

2016

Ficha Catalográfica – Serviço de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecário Anderson César de Oliveira Silva, CRB6 – 2618.

R672s

Rocha, Aline Ferreira

Seleção de clones de corymbia responsivos à inoculação de fungos ectomicorrízicos / Aline Ferreira Rocha. – Diamantina, 2017.

71 p. : il.

Orientador: Paulo Henrique Graziotti

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. 2016.

1. Pisolithus. 2. Adubação fosfatada. 3. Estaquia. 4. Colonização micorrízica. I. Título. II. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

CDD 634.9

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Aline Ferreira Rocha

**SELEÇÃO DE CLONES DE *Corymbia* RESPONSIVOS À INOCULAÇÃO DE FUNGOS
ECTOMICORRÍZICOS**

Diamantina - MG

2016

Aline Ferreira Rocha

**SELEÇÃO DE CLONES DE *Corymbia* RESPONSIVOS À INOCULAÇÃO DE FUNGOS
ECTOMICORRÍZICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Graziotti

Diamantina – MG

2016

ALINE FERREIRA ROCHA

SELEÇÃO DE CLONES DE *Corymbia* RESPONSIVOS A INOCULAÇÃO DE FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS

Dissertação apresentada ao PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL, nível de MESTRADO como parte dos requisitos para obtenção do título de MAGISTER SCIENTIAE EM PRODUÇÃO VEGETAL

Orientador : Prof. Dr. Paulo Henrique Graziotti

Data da aprovação : 09/12/2016



Prof.ª Dr.ª MIRANDA TITON - UFVJM



Prof. Dr. ALEXANDRE CHRISTOFARO SILVA - UFVJM



Prof. Dr. PAULO HENRIQUE GRAZZIOTTI - UFVJM

OFEREÇO

*A Jesus Cristo, presente na minha vida, e a
Nossa Senhora, que me protege
constantemente.*

DEDICO

*A Deus
Aos meus amados pais, José Américo e Nildete.
Às minhas adoráveis irmãs Erika e Larissa.
E aos meus amigos do LMS.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus e a Nossa Senhora, que mesmo nos momentos mais difíceis e desgastantes não permitiram que eu desistisse.

Aos meus amados pais, José Américo e Nildete, e às minhas adoráveis irmãs, Erika e Larissa, pelo amor incondicional e pelo apoio irrestrito. Mesmo distantes, sempre permaneceram presentes em todas as etapas da minha vida.

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) pela oportunidade de realização do curso e pela contribuição à minha formação acadêmica.

À Empresa Aperam pelo financiamento do projeto de pesquisa e a CAPES, pela concessão de bolsa de estudo.

Ao meu orientador Paulo Henrique Graziotti, pela orientação, e principalmente por toda sua paciência e disposição.

À técnica do Laboratório de Microbiologia do Solo Andrezza Gandini por toda orientação e amizade.

Aos Professores Alexandre Christófar e Miranda Titon pela disponibilidade e contribuição neste trabalho. Obrigada a todos os professores do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, que me acolheram e compartilharam os seus conhecimentos.

Aos meus amigos do Laboratório de Microbiologia do Solo, Lídia, Laís, Débora, Andrezza, Luiza, Eliane, Juliana, Lucinha, Roberta, Franciele, Ailton, Leandro, Rafa, Ana Flávia, Mila e Cleriston, que se tornaram verdadeiros amigos e que levarei para toda a vida.

E a todos aqueles que me acompanharam e colaboraram com esta jornada, o meu muito obrigada!

RESUMO

ALINE FERREIRA ROCHA. **SELEÇÃO DE CLONES DE *Corymbia* RESPONSIVOS A INOCULAÇÃO DE FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS**. 2016. 71 p. (Dissertação - Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2016.

A seleção de clones de *Corymbia* menos dependentes da adubação fosfatada e mais responsivos as ectomicorrizas poderá tornar o cultivo desta planta menos dependente deste insumo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de inoculantes de isolados de *Pisolithus* sp. na produção de mudas de clones de *Corymbia* pela miniestaquia, em condições de viveiro. Os clones de *Corymbia* AEC0007, AEC0022, AEC0043 e AEC0045 inoculados com os isolados de *Pisolithus* sp. C9C, C16 com a mistura dos dois isolados (MIX = C9C+C16), foram crescidos em substrato com redução da adubação fosfatada. Como controle, os mesmos clones, não inoculados, foram crescidos em substrato com (Controle) e sem (Comercial) redução da adubação fosfatada. A sobrevivência das mudas nos clones AEC0007 e AEC0043 não foi influenciada pela inoculação. Para os demais clones, as mudas inoculadas com C16 foram até 75 % maiores que as mudas do Comercial. A inoculação com MIX aumentou a altura das mudas do AEC0007, AEC0043 e AEC0045, todos em relação às mudas do Comercial e do Controle. O C16 aumentou o diâmetro das mudas do AEC0007 e AEC0045 em até 25 % em relação às do Comercial, e para os demais clones, a inoculação não teve influência. As maiores porcentagens de colonização foram observadas nas mudas do AEC0007, AEC0022 e AEC0043 inoculadas com C9C e com MIX. A inoculação, em geral, aumentou a frequência de torrões firmes e parcialmente enraizados e firmes e bem enraizados, exceto para o AEC0045. Os teores de P, N, K, Ca e Mg estavam abaixo do considerado ideal e os teores de Zn e Fe estavam acima da faixa adequada. Apenas os teores de Mn permaneceram dentro da faixa considerada adequada. As porcentagens de pontas colonizadas se correlacionaram positivamente com parâmetros de crescimento e nutrição nos clones AEC0007, AEC0022 e AEC0043, mas a quantidade de parâmetros e a intensidade da correlação foram dependentes do clone. A inoculação com *Pisolithus* sp. aumenta a colonização ectomicorrízica e o crescimento de mudas *Corymbia* em viveiro comercial, mas isto é dependente do clone e do isolado. Os inoculantes mais promissores foram MIX > C9C > C16, pois promoveram maiores crescimento, sobrevivência, massa seca, colonização e qualidade de torrões das mudas de *Corymbia*. O clone AEC0043 foi o mais responsivo à inoculação por fungos ectomicorrízicos, obtendo maiores benefícios.

Palavras chaves: *Pisolithus*, adubação fosfatada, estaquia e colonização micorrízica.

ABSTRACT

ALINE FERREIRA ROCHA. **SELECTION OF *CORYMBIA* CLONES RESPONSIVE TO THE INOCULATION OF ECTOMICORRIZAL FUNGI.** 2016.71 p. Dissertation - Masters in Vegetable Production) – Federal University of the Jequitinhonha and Mucuri Valley, Diamantina, 2016.

The selection of *Corymbia* clones less dependent on phosphate fertilization and more responsive to ectomycorrhizae may make the cultivation of this plant less dependent on this input. The objective of this work was to evaluate the effect of inoculants of *Pisolithus* sp. in the production of mini-cuttings of *Corymbia* clones, under nursery conditions. The *Corymbia* clones AEC0007, AEC0022, AEC0043 and AEC0045 inoculated with the isolates of *Pisolithus* sp. C9C, C16 with the mixture of the two isolates (MIX = C9C + C16) were grown on substrate with reduction of phosphate fertilization. As a control, the same uninoculated clones were grown on substrate with (Control) and without (Commercial) reduction of phosphate fertilization. The survival of the mini cuttings in clones AEC0007 and AEC0043 was not influenced by inoculation. The survival of the AEC0022 mini-cuttings inoculated with C16 was 75% greater than those from the commercial, but this effect was dependent on the isolate and the clone. The inoculation with the MIX increased the height of the mini-cuttings of AEC0007, AEC0043 and AEC0045, all in relation to the Commercial and Control mini-cuttings. The C16 increased the diameter of the AEC0007 and AEC0045 mini-cuttings by up to 25% compared to the Commercial ones and for the other clones inoculation it had no influence. The highest percentages of colonization were observed in the AEC0007, AEC0022 and AEC0043 mini-cuttings inoculated with C9C and MIX. The inoculation, in general, increased the frequencies of firm and partially rooted and firm and well rooted clods, except for AEC0045. The concentration of P, N, K, Ca and Mg were below the ideal level and the Zn and Fe concentration were above the appropriate range. Only Mn concentration remained within the range considered adequate. The percentages of colonized tips correlated positively with growth and nutrition parameters in clones AEC0007, AEC0022 and AEC0043, but the number of parameters and the intensity of the correlation was dependent on the clone. The inoculation with *Pisolithus* sp. increases ectomycorrhizal colonization and growth of *Corymbia* mini-cuttings in commercial nursery, but this is dependent on the clone and isolate. The most promising inoculants were MIX > C9C > C16, as they promoted greater growth, survival, dry mass, colonization and quality of clods of *Corymbia* mini-cuttings. Clone AEC0043 was the most responsive to inoculation of ectomycorrhizal fungi, obtaining greater benefits.

Keywords: *Pisolithus*, phosphate fertilization, cuttings and mycorrhizal colonization.

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 - Roteiro de atividades experimentais, práticas de laboratório e campo.	9
Figura 2 - Características dos torrões das raízes das mudas de eucalipto correspondentes às notas: a) Nota 3 - torrão firme e bem enraizado; b) Nota 2 - torrão moderadamente firme e parcialmente enraizado; c) Nota 1 - torrão fraco e mal enraizado.	14
Figura 3 - Basidiomas de fungos ectomicorrízicos coletado em cultivo de <i>Corymbia</i> .	18
Figura 4- Grampo de conexão de fungos ectomicorrízicos coletados em cultivo de <i>Corymbia</i> .	19
Figura 5 - Diâmetro da colônia dos isolados de <i>Pisolithus</i> sp. em meio de cultura MNM modificado sólido aos 28 dias (a). Massa seca de micélio dos isolados de <i>Pisolithus</i> sp. em meio de cultura MNM líquido aos 28 dias (b).	20
Figura 6 - Sobrevivência (a), altura (b), diâmetro (c), MSR (d), MST (e) e pontas de raízes colonizadas (f) de mudas dos clones AEC0007, AEC0022, AEC0043 e AEC0045, híbridos espontâneos entre <i>Corymbia torelliana</i> x <i>Corymbia citriodora</i> e seu recíproco, inoculados com C9C ou C16 isolados de <i>Pisolithus</i> sp. ou com ambos simultaneamente (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem (Comercial - CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial. DMS: diferença mínima significativa.	22
Figura 7 - Calos formados por estaca de <i>Corymbia</i> do clone AEC0045 híbrido espontâneo entre <i>Corymbia torelliana</i> x <i>Corymbia citriodora</i> inoculados com C9C ou C16 isolados de <i>Pisolithus</i> sp. ou com ambos simultaneamente (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem (Comercial - CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial.	25
Figura 8 - Frequência das notas para formação de torrão, de mudas dos clones AEC0007, AEC0022, AEC0043 e AEC0045, híbridos espontâneos entre <i>Corymbia torelliana</i> x <i>Corymbia citriodora</i> e seu recíproco, inoculados com C9C ou C16 isolados de <i>Pisolithus</i> sp. ou com ambos simultaneamente (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem (Comercial - CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial.	27
Figura 9- Teores de fósforo (a), nitrogênio (b), cálcio (c) e magnésio (d) na parte aérea de mudas dos clones AEC0007, AEC0022, AEC0043 e AEC0045, híbridos	

espontâneos entre *Corymbiaturelliana* x *Corymbia citriodora* e seu recíproco, inoculados com C9C ou C16 isolados de *Pisolithus* sp. ou com ambos simultaneamente (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem (Comercial - CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial. DMS: diferença mínima significativa. 29

Figura 10- Teores de zinco (a), ferro (b) e manganês (c) na parte aérea de mudas dos clones AEC0007, AEC0022, AEC0043 e AEC0045, híbridos espontâneos entre *Corymbia torelliana* x *Corymbia citriodora* e seu recíproco, inoculados com C9C ou C16 isolados de *Pisolithus* sp. ou com ambos simultaneamente (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem (Comercial - CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial. DMS: diferença mínima significativa. 31

SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	iii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Importância do <i>Corymbia</i> no Brasil.....	2
2.2 Relação ectomicorríza e nutrição de plantas.....	4
2.3 Associação simbiótica entre arbóreas e fungos ectomicorrízicos	5
2.4 Potencial biotecnológico da micorrização.....	6
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	9
3.1 Fluxograma: roteiro de atividades experimentais.....	9
3.2 Isolamento e coleção de fungos ectomicorrízicos de <i>Corymbiasp.</i>	9
3.3 Seleção de isolados <i>in vitro</i>	10
3.2.1 Crescimento de fungos ectomicorrízicos em meio sólido.....	10
3.2.2 Crescimento de fungos ectomicorrízicos em meio líquido.....	11
3.3 Inoculação de miniestacas de <i>Corymbiacom</i> inoculantes de fungos ectomicorrízicos	11
3.3.1 Descrição do viveiro	11
3.3.2 Delineamento experimental em viveiro.....	11
3.3.3 Isolados fúngicos e Produção de inoculante.....	12
3.4 Substrato de produção das mudas e inoculação.....	12
3.5 Plantio das miniestacas e manutenção do experimento.....	13
3.6 Avaliações e colheita dos experimentos.....	14
3.7 Análises estatísticas.....	15
4 RESULTADOS.....	15
4.1 Isolamento de isolados de fungos ectomicorrízicos obtidos em plantios comerciais de <i>Corymbia</i> e seleção daqueles de crescimento mais rápido em meio de cultura.....	15
4.2 Crescimento e teores de nutrientes em mudas clonais de <i>Corymbia</i> inoculadas com fungos ectomicorrízicos e crescidas em viveiro comercial	20

4.2.1 Sobrevivência, crescimento e colonização ectomicorrízica.....	20
4.2.2 Teores de nutrientes	27
5 DISCUSSÃO.....	32
6 CONCLUSÕES.....	39
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
APÊNDICE A.....	47
APÊNDICE B.....	48
APÊNDICE C.....	49
APÊNDICE D.....	51
APÊNDICE E.....	52
APÊNDICE F.....	53
APÊNDICE G.....	54
APÊNDICE H.....	55
APÊNDICE I.....	56
APÊNDICE J.....	57
APÊNDICE K.....	58

1INTRODUÇÃO

O manejo e o melhoramento genético são as principais razões para o aumento constante da produtividade média de plantios de eucalipto no Brasil: de $10 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ (GONÇALVES *et al.*, 2008) na década de 1960 aos atuais $41 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ (ABRAF, 2013). Entretanto, com a constante expansão de florestas para regiões não tradicionais e a busca de melhor adequação da matéria-prima ao produto final, verifica-se ampliação no horizonte de espécies e combinações híbridas a serem utilizadas. Assim, espécies pertencentes ao gênero *Corymbia*, como *Corymbia torelliana*, *C. citriodora*, *C. maculata*, e alguns de seus híbridos interespecíficos, têm sido frequentemente mencionadas como promissoras, pois possuem maior densidade de madeira e capacidade de adaptação às condições ambientais adversas.

Alguns híbridos de *Corymbia* alcançam densidade básica da madeira em torno de 750 kg m^{-3} por volta dos sete anos de idade (ASSIS, 2014; PEREIRA *et al.*, 2000), sendo maiores em até 48 % do que os híbridos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* aos seis anos de idade, considerados promissoras para esta característica (ALVES *et al.*, 2011, HSING *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2006). Esta vantagem propicia menor volume de carvão para obter a proporção em peso adequada entre carvão e minério de ferro para a produção do aço e isto poderá aumentar a produção de aço e baixar os custos de produção. Porém, com o melhoramento dos híbridos de *Corymbia*, estes poderão no futuro igualar-se à produtividade do *Eucalyptus*.

Contudo, no melhoramento florestal não é comum considerar a participação das simbioses micorrízicas, muito comuns nos gêneros *Eucalyptus* e *Corymbia*, que podem se associar aos fungos micorrízicos arbusculares e os ectomicorrízicos (FEM). Os clones de eucalipto usados atualmente foram melhorados de forma a responder à presença de nutrientes, não à simbiose, e as doses de fertilizantes consideradas ótimas para crescimento da planta, principalmente de P, podem impedir a colonização ectomicorrízica. Caso raro ocorreu para as cultivares de cana-de-açúcar, que foram selecionadas no Brasil sem o uso de fertilizantes nitrogenados. Isto permitiu a seleção de cultivares capazes de associarem-se com bactérias fixadoras de N. Desta forma, a cultura é menos dependente desse fertilizante. Assim, este procedimento utilizado no melhoramento contribui para o sucesso do uso do álcool como biocombustível. Isto indica que, se a simbiose micorrízica fosse uma característica considerada nos programas de melhoramento, isto poderia permitir a seleção de clones menos dependentes da adubação fosfatada e mais responsivos às micorrizas.

Muitos estudos vêm detalhando resultados promissoras da associação com FEM em eucalipto devido às inúmeras vantagens para os simbioses envolvidos. A formação de associações mutualísticas com FEM permite às plantas explorar maior volume de solo, permitindo

melhor aproveitamento de água e nutrientes, sendo que um dos mais consistentes e importantes efeitos nutricionais dos FEM é a melhora na absorção de nutrientes pouco móveis como o P, além de propiciarem maior resistência ao estresse hídrico, a temperaturas elevadas e à acidez do solo; aumenta a tolerância das plantas às substâncias tóxicas no solo e a patógenos do sistema radicular (GRAZZIOTTI *et al.*, 2003; LEE *et al.*, 2012; BERTOLAZI *et al.*, 2013; FERNANDES *et al.*, 2014). Portanto, contribuem no estabelecimento e no crescimento das plantas, mesmo em solos pobres em nutrientes ou degradados.

No Brasil, apesar das pesquisas com FEM indicarem que a inoculação com esses fungos é benéfica (AVELAR, 2016; FONSECA, 2013, GOMES, 2016), até o momento não existe nenhum registro nacional de inoculantes ectomicorrízicos para o setor florestal (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2016), procedimento utilizado em países como Austrália, Canadá, Chile, Estados Unidos e México (BELLINI, 2013). Também não é observada a presença desses fungos em viveiros comerciais, provavelmente devido à aplicação de fertilizantes, principalmente fosfatados, e aos conteúdos de água fornecidos às mudas (SENA *et al.*, 2004). Outro motivo para a não utilização em massa dos FEM pode ser a metodologia utilizada no melhoramento destas plantas, em que a seleção dos melhores clones é realizada em solos fertilizados com fosfatos e a capacidade dos clones responderem aos FEM não é considerada. Portanto, esse modelo de melhoramento adotado pode ter selecionado os clones menos dependentes dessa associação, uma vez que concentrações de fósforo disponível no solo superiores a 8 mg/m^{-3} inibem estas simbioses (SENA *et al.*, 2004, SOUZA *et al.*, 2004; GANDINI *et al.* 2015).

A utilização dos FEM em plantios comerciais de eucalipto tem sido considerada uma alternativa para o uso mais eficiente de fertilizantes, promovendo maior sobrevivência das mudas em viveiros e após o transplante no campo e nos períodos secos (GROSS, 2004; CHEN *et al.*, 2006). Ainda assim, essa tecnologia não tem sido utilizada comercialmente no Brasil. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de inoculantes de isolados de *Pisolithus* na produção de mudas de clones de *Corymbia* pela miniestaquia, em condições de viveiro.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância do *Corymbia* no Brasil

Atualmente, uma nova reclassificação é considerada para algumas espécies do gênero *Eucalyptus* com base em características morfológicas e moleculares. Em uma nova reformulação para o gênero, proposta por Hill & Johnson (1995), foi formado um novo gênero, denominado *Corymbia*, ao qual foram incluídas 113 espécies, antes pertencentes ao gênero *Eucalyptus*. No Brasil destacam-se as espécies *C. citriodora*, *C. torelliana* e *C. maculata*. (FOELKEL, 2007; LUZ, 2014).

Atualmente as espécies do gênero *Corymbia* têm sido alvo de estudos e devem continuar ocupando lugar de destaque na silvicultura intensiva brasileira. Entretanto, a expansão de cultivos para regiões não tradicionais e a busca de melhor adequação da matéria-prima ao produto final têm ampliado o horizonte de espécies e combinações híbridas a serem utilizadas. Assim, espécies de *Corymbia*, como *Corymbia torelliana* (F. Muell.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson, tem despertado interesse em combinações híbridas (ASSIS, 2014); já o *Corymbia citriodora* (Hook) K. D. Hill & L. A. S. Johnson é considerado umas das mais importantes arbóreas cultivadas em todo o mundo (REIS, 2013).

A ocorrência natural de *C. citriodora* é no leste da Austrália, principalmente no estado de Queensland (BOLAND *et al.*, 2006; FONSECA *et al.*, 2010). As principais razões para o cultivo de *C. citriodora* no Brasil são a sua maior adaptação fisiológica a diferentes condições ambientais, o incremento volumétrico da madeira e a forma do fuste (LOUREIRO, 2016).

No processo de melhoramento de espécies arbóreas para a produção de energia e biomassa, algumas características devem ser priorizadas, como o volume de madeira e a densidade básica (ASSIS, 2014; FONSECA *et al.*, 2010; REIS, 2013). *C. citriodora* possui vantagens sobre as outras espécies mais plantadas no Brasil, relacionadas aos aspectos de qualidade da sua madeira, com alta densidade, em torno 750 kg m^{-3} (ASSIS; REIS *et al.*, 2014).

O *C. torelliana* consiste em espécie nativa do norte de Queensland, na Austrália (BOLAND *et al.*, 2006, FONSECA *et al.*, 2010). A espécie *C. torelliana* apresenta a maior capacidade de enraizamento, em média 30%, em relação a outras espécies pertencentes ao gênero *Corymbia*. Entretanto, há variabilidade para essa característica entre árvores e valores acima de 80% podem ser alcançados (REIS *et al.*, 2014; WENDLING *et al.*, 2015). Assim, esta espécie é importante na composição de híbridos interespecíficos de *Corymbia*, já que vários clones são considerados recalcitrantes ao enraizamento. O efeito materno no enraizamento faz com que, ao se utilizar *C. torelliana* como progenitor feminino, existe maior quantidade de clones com níveis de enraizamento comerciais do que os cruzamentos recíprocos (ASSIS, 2014). Além disso, em estudo recente observam plantas de *C. torelliana* com densidade básica da madeira de 597 kg/m^{-3} , aos 15 anos de idade (SEGURA, 2015).

O cruzamento entre *C. torelliana* x *C. citriodora* tem ocupado o centro das atenções de vários pesquisadores de instituições públicas e privadas no Brasil. As principais razões para a utilização destes híbridos são relativas aos aspectos ligados a heterose para caracteres de crescimento, vantagens significativas em termos de maior desempenho em volume de madeira, propriedades tecnológicas para usos variados, tolerância as principais doenças e insetos-praga que

acometem a cultura do eucalipto, além de maior resistência ao vento frio e seca e maior facilidade para propagação vegetativa (BOLAND *et al.*, 2006; REIS *et al.*, 2014).

De modo geral, a heterose verificada nos cruzamentos entre espécies de *Corymbia* é do mesmo nível ou até maior do que aquelas presente nos híbridos de *Eucalyptus* (ASSIS, 2014). A manifestação de heterose também foi observada em plantações de quebra-ventos na Austrália, onde híbridos naturais de *C. torelliana* x *C. citriodora* apresentaram vigor híbrido já aos 18 meses, o qual se manteve nas idades de 7, 10 e 23 anos (KUMAR *et al.*, 2010). Portanto, da mesma forma como as espécies de *Eucalyptus*, a manifestação de heterose é comum nos híbridos de *Corymbia*, podendo ser um fator importante para aumentar a produtividade volumétrica através da clonagem dos indivíduos de maior crescimento (ASSIS, 2014). Isto é extremamente importante do ponto de vista da geração de matéria-prima produtiva e de alta qualidade.

2.2 Relações entre ectomicorrizas e nutrição de plantas

As mudas de eucalipto exibem, na presença de FEM, maior estabilidade, tanto em viveiro quanto no campo (COSTA, 2014), e a ocorrência destes fungos permitiu o estabelecimento das espécies em climas poucos constantes solos com baixa fertilidade, resultando em uma estratégia de sobrevivência (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Em vários estudos recentes, foram encontrados maior sobrevivência, crescimento e teores de alguns nutrientes nas mudas de eucalipto inoculadas com FEM em relação às não inoculadas (CARNEIRO, 2016; COSTA, 2014; FONSECA, 2013; GANDINI *et al.*, 2015, GOMES, 2016; AVELAR 2016). Mesmo assim, a utilização de inoculantes de FEM que promovem simbiose ainda não é empregada em larga escala para a produção de mudas em viveiros comerciais no Brasil.

O melhoramento adotado nos clones de eucalipto considera várias características, sobretudo as doses de fertilizantes empregadas, principalmente os fosfatados, que contribuem para limitação das simbioses micorrízicas. Além disto, a adubação das mudas na fase de viveiro é bastante elevada, o que dificulta o desenvolvimento do fungo quando em associação com as raízes (MARX; HATCH; MENDICINO, 1977). Alguns autores observaram uma significativa inibição da colonização quando as concentrações de fósforo disponível no solo foram maiores que 8 mg de planta (VIEIRA & PERES, 1988; SOUZA *et al.*, 2004). Esses resultados confirmaram observações de autores quanto ao efeito inibidor de níveis elevados de P sobre os benefícios da associação ectomicorrízica (SOARES *et al.*, 1990; SOUZA *et al.*, 2004; GANDINI, 2011).

A associação micorrízica está diretamente relacionada com o estado nutricional da planta hospedeira (MEYER, 1974; EPSTEIN, BLOMM, 2006). Logo, a colonização ectomicorrízica é dependente das doses de P disponíveis no solo. Foi observado que a dose 2 mg

de P por planta⁻¹ fornecida pelo N19-P06-K10 de liberação lenta permite a obtenção de maiores benefícios da inoculação de *Pisolithus* sp. (CARNEIRO, 2016), como aumento da colonização. Isto ocorre porque a competição entre as raízes das plantas aumenta, permitindo que o hospedeiro atraia os FEM a fim de atender tais exigências nutricionais (EPSTEIN & BLOMM, 2006).

A inoculação com isolados de *Pisolithus* em mudas clonais de eucalipto aumentou os teores de Ca, Cu, Fe e K em até 60 %; P, em até 30 %; e os teores de N em até 56 % (AVELAR, 2016; CARNEIRO, 2016; COSTA *et al.*, 2016; GANDINI; GOMES 2016). Este aumento nos teores de nutrientes pode favorecer o aumento da produção em solos marginais, permitindo uma silvicultura com redução do uso de insumos agrícolas.

2.3 Associação simbiótica entre arbóreas e fungos ectomicorrízicos

Algumas famílias de plantas formam associação com fungos ectomicorrízicos, as principais são Pinaceae, Fagaceae, Betulaceae, Salicaceae, Myrtaceae e Dipterocarpaceae (WILCOX, 1990). A associação simbiótica entre planta e FEM ocorre naturalmente em plantios de eucalipto no Brasil (SOARES *et al.*, 1990) e é favorecida especialmente em áreas de baixa fertilidade do solo. No Brasil, para a maioria das espécies de eucalipto os gêneros de fungos mais comumente encontrados na interação são *Pisolithus* spp. E *Scleroderma* spp. (BARROS *et al.*, 1978; CAMPOS *et al.*, 2011). Muitos estudos sobre a inoculação destes fungos em espécies florestais demonstram o aumento do crescimento das plantas, sendo a maioria deles conduzidos em condições de viveiro.

Em viveiros florestais a colonização das raízes de eucaliptos por FEM é considerada baixa, devido aos altos níveis de fertilizantes aplicados, principalmente os fosfatados e os nitrogenados (JHA *et al.*, 2008; QUORESHI; KHASA, 2008; GANDINI, *et al.*, 2015). Em mudas clonais de eucalipto, a porcentagem de pontas colonizadas por FEM foi maior nas mudas inoculadas, com redução da adubação fosfatada, do que nas não inoculadas, sem redução da adubação fosfatada em viveiro (AVELAR; 2016; CARNEIRO, 2016; COSTA, 2014; FONSECA, 2013; GOMES, 2016). Contudo, para a adoção de um programa de micorrização em viveiros comerciais de eucalipto existe a necessidade de adoção de níveis de fertilização que permitam a colonização das raízes pelos FEM e que não alterem o crescimento das mudas produzidas hoje. Assim, a dose 2 mg de P por planta⁻¹ fornecida pelo N19-P06-K10 de liberação lenta já é recomendada para mudas micorrizadas (CARNEIRO, 2016). Contudo, para isso também é indispensável que se realize seleção de clones que respondam a inoculação por FEM. Desta forma, é possível garantir o estabelecimento e a permanência do fungo selecionado, especialmente em ambientes hostis para o seu crescimento (GARBAYE, 1983).

Para que ocorra uma associação mutualística eficiente é fundamental que os simbioses envolvidos apresentem compatibilidade, e isto vai depender de vários fatores relacionados à planta, ao fungo e à interação existente entre eles. Os FEM apresentam média especificidade com o hospedeiro (BRUNDRETT, 2002) e colonizam principalmente algumas espécies arbóreas de clima temperado. O hospedeiro provavelmente deve exercer um controle sobre a colonização. Este controle envolve uma combinação de mecanismos que limitam ou promovem a colonização de fungo, dependendo das condições ambientais impostas (BUWALDA *et al.*, 1984). Isto pode explicar a baixa especificidade dos FEM, que possuem uma gama limitada de hospedeiros se comparados com outros fungos micorrízicos arbusculares.

Os fatores que influenciam o estabelecimento da simbiose e sua eficiência na promoção do crescimento e da adaptabilidade da planta não são totalmente conhecidos (SMITH & READ, 1997). Sendo assim, estudos mais prolongados devem ser realizados utilizando FEM que colonizem de forma eficaz as raízes das plantas. Os benefícios das ectomicorrizas para as plantas variam em sua eficiência em função do fungo (CAMPOS *et al.*, 2011; CHEN *et al.*, 2006; PEREIRA *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2007), da espécie vegetal (KASUYA *et al.*, 2010; PEREIRA *et al.*, 2005) e das condições ambientais (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

2.4 Potencial biotecnológico da micorrização

A necessidade do estabelecimento de uma agricultura mais sustentável, com menor dependência de insumos manufaturados, já é reconhecida. Assim, o manejo dos adubos fosfatados tem recebido atualmente muita atenção em decorrência de dois processos: a contaminação de cursos de águas e lençóis freáticos (CARPENTER; BENNETT, 2011; ROCKSTRÖM *et al.*, 2009; SMITH *et al.*, 2006) e a possibilidade de esgotamento das reservas naturais desse elemento, provenientes das rochas fosfáticas (CORDELL; WHITE, 2011; GILBERT, 2009; NESET; CORDELL, 2012; VAN KAUWENBERGH, 2010), que já tem o seu fim previsto dentro de algumas décadas (CORDELL *et al.*, 2009).

O Brasil encontra-se em uma posição pouco confortável frente ao atual cenário internacional de disponibilidade e comércio de fósforo, apresentando consumo crescente e sendo o país agrícola que apresenta a maior dependência externa por fertilizantes fosfatados, importando cerca de metade do fósforo que utiliza (BENITES, 2015). Isso acontece pela necessidade de adubação fosfatada para manutenção da fertilidade em solos agrícolas, que apresentam naturalmente baixa disponibilidade de P absorvível pelas plantas. Por causa disso, estudos sobre práticas e/ou tecnologias que permitam a melhoria do desempenho de fertilizantes fosfatados e o aproveitamento das reservas naturais são necessários para um uso mais sustentável desse recurso (ADESEMOYE; KLOPPER, 2009; CHILDERS, *et al.*, 2011). Acredita-se que muito em breve,

a presença das micorrizas em viveiros comerciais de produção de mudas de eucalipto seja um dos requisitos que vão contribuir para diminuição desses fertilizantes no Brasil. Entretanto, até o momento no país ainda não existe nenhum registro nacional de inoculantes ectomicorrízicos para o setor florestal (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2016).

O processo de micorrização controlada consiste na inoculação de fungos específicos do solo em plantas com base em uma relação mutualística entre esses organismos (GARBAYE, 1990). O processo tem início com a seleção de isolados fúngicos mais eficientes e culmina com a produção de inoculantes mais adequados à espécie cultivada (MARX *et al.*, 1977; GARBAYE, 1990; ROSSI *et al.*, 2002).

A importância dessa técnica de manejo fica mais evidente ao se constatar que um dos principais gêneros florestais mais cultivados no país, *Pinus*, é de alta dependente dessa simbiose para melhor sobrevivência e crescimento (WILCOX, 1990). Entretanto, a seleção de FEM eficientes também é investigada para outras espécies florestais, como as do gênero *Corymbia*.

A seleção de FEM compatíveis e eficientes para as diferentes essências florestais cultivadas no país é necessária. Além disso, o desenvolvimento de inoculantes desses fungos em escala industrial no Brasil deve ser alcançado (NARLOCH, 2001; SOUZA & OLIVEIRA, 2002; SOUZA, 2003). Assim, inoculação com FEM em mudas de eucalipto acarretará maior sobrevivência e maiores incrementos na produtividade. Vários estudos já mostram os efeitos positivos da inoculação com FEM em mudas de eucalipto (AVELAR, 2016; CARNEIRO, 2016; COSTA, *et al.*, 2016; FONSECA, 2013; GOMES, 2016).

A inoculação com isolados de *Pisolithus* em mudas clonais de eucalipto aumentou a sobrevivência das miniestacas em até 43 % (GOMES, 2016), a altura em até 27 % (AVELAR, 2016; CARNEIRO, 2016; GOMES 2016), a massa seca total das mudas em até 26 % (FONSECA, 2016), a massa seca da parte aérea em 16 % e a massa seca das raízes em até 33 % (AVELAR, 2016; CARNEIRO, 2016), e o número de torrões firmes e bem enraizados em até 19 % (COSTA, *et al.*, 2016; FONSECA, 2013; GOMES, 2016). Estes aumentos proporcionados pela inoculação podem contribuir para o crescimento e estabelecimento das mudas no campo, mesmo em solos pobres em nutrientes ou degradados.

As ectomicorrizas aumentam a área de absorção radicular, permitindo um melhor aproveitamento de água e nutrientes, como o P, N e K (GLOWA *et al.*, 2003; SAWYER *et al.*, 2003). Propiciam maior resistência ao estresse hídrico, a temperaturas elevadas e à acidez do solo, aumentam a tolerância das plantas às substâncias tóxicas no solo e a patógenos do sistema radicular (GRAZZIOTTI *et al.*, 2003; LEE *et al.*, 2012; BERTOLAZI *et al.*, 2013; FERNANDES

et al., 2014). Porém, isso é dependente da compatibilidade existente entre isolados fúngicos e a espécie hospedeira.

Os FEM têm capacidade diferenciada em colonizar e promover benefícios às espécies vegetais. Em condições específicas, há diferentes respostas, variando em compatibilidade e eficiência (GARBAYE, 1990; SAWYER *et al.*, 2003). A inoculação com diferentes inoculantes de *Pisolithus*, D5, D29, D62, D63, D85, D88, D118 e D216, propiciou maior sobrevivência em até 43 % em relação aos controles no clone PT3335, enquanto no clone PT3336, apenas os isolados D5 (25 %), D29 (25 %) e D88 (14 %) promoveram a sobrevivência em relação aos controles (GOMES, 2016). Assim, pesquisas que visam selecionar isolados de FEM são importantes em um programa de micorrização controlada. Foi concluído que os isolados de *Pisolithus* sp. D3, D5, D15, D16, D26, D58 e D87 foram eficientes em colonizar raízes de mudas de eucalipto produzidas em viveiro comercial, sendo que os isolados mais promissores para uso na inoculação de mudas clonais de eucalipto foram o D15, D17 e D5, os dois primeiros promoveram maior massa seca total e o último maior sobrevivência para os clones GG100 e GG680; além disso, ambos aumentaram os teores de Cu e os conteúdos de K, Ca, Fe e Cu das mudas (FONSECA, 2013).

Os inoculantes podem ser naturais como o solo de plantações (MIKOLA, 1973) e os esporos fúngicos (MARX & CORDELL, 1989), e também podem ser constituídos de micélios produzidos em culturas puras (MARX, 1980). Estes últimos são mais sofisticados e podem ser produzidos em biorreator. (Observar sentido da correção) O inoculante é obtido pela técnica de inclusão de micélio fúngicos em cápsulas de gel de alginato de cálcio (MAUPÉRIN *et al.*, 1987; ROSSI *et al.*, 2007). Vários estudos feitos com esse inoculante demonstraram maior eficiência, provavelmente pela proteção de micélio no interior do gel, maior facilidade de armazenamento e maior período de sobrevivência dos fungos (KUEK *et al.*, 1992; ROSSI *et al.*, 2007). A dose de inoculante é uma característica importante a ser determinada e esta pode ser dependente do isolado fúngico ou da planta (GANDINI *et al.*, 2015, e AVELAR, 2016). Em mudas clonais de eucalipto produzidas em viveiro comercial, a dose recomendada foi a de 18 esferas de gel de alginado contendo micélio vegetativo do isolado D17 de *Pisolithus* sp. porminiestaca (AVELAR, 2016). Em outro experimento, concluiu-se que o melhor crescimento e colonização das mudas foram observados na dose de 15 esferas de gel de alginado contendo micélio vegetativo e os maiores teores e conteúdos de P, N e K foram na dose de 10 esferas (GANDINI *et al.*, 2015).

Sendo assim, a adoção da inoculação com a dose ideal nas mudas em viveiros poderá promover maiores ganhos de produção do eucalipto e o estabelecimento de empresas de produção de inoculantes ou a diversificação de empresas já existentes, gerando novos empregos e receitas.

(Observar correção) Além disso, acredita-se que muito em breve a presença das micorrizas seja um dos requisitos para a certificação das mudas no Brasil, à semelhança de outros países como Austrália, Canadá, Chile, Estados Unidos e México (GARBAYE, 1990; BELLINI, 2013).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Fluxograma: roteiro de atividades experimentais

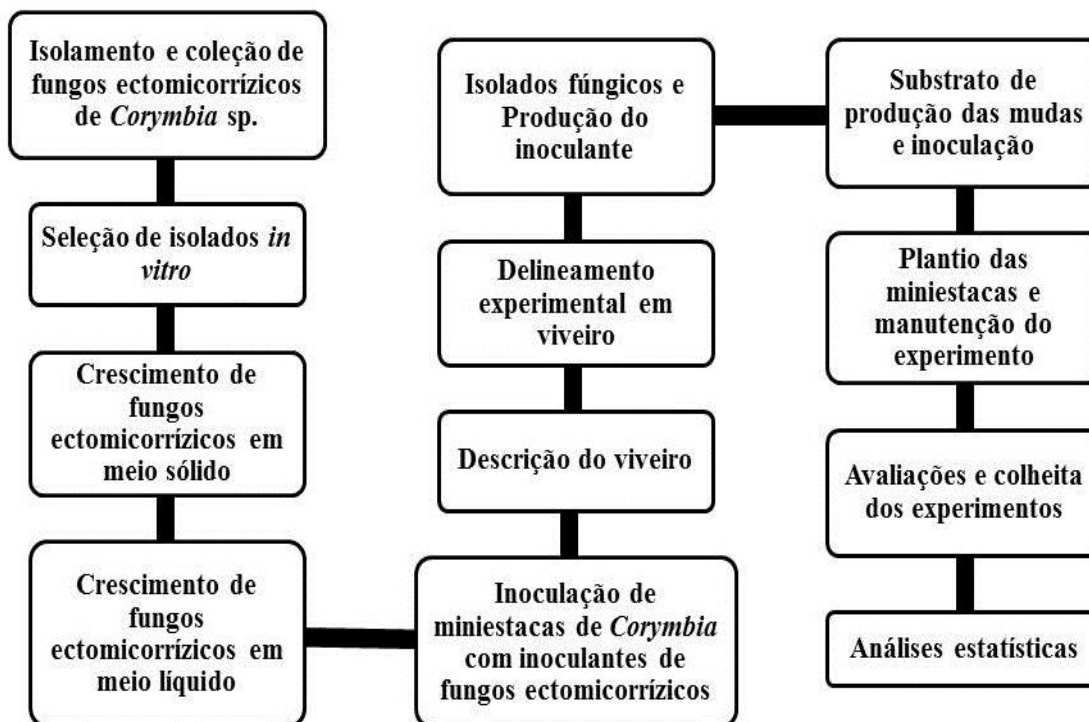


Figura1. Roteiro de atividades experimentais, práticas de laboratório e campo.

3.2 Isolamento e coleção de fungos ectomicorrizicos de *Corymbiasp.*

Basidiomas de FEM foram coletados em plantios de *Corymbia* da empresa APERAM Bioenergia, localizada no município de Itamarandiba - MG, com sede nas coordenadas geográficas 17,86 °S e 42,86 °W. A temperatura média anual é de 20,1 °C. A precipitação média anual é de 1081,1 mm com a estação chuvosa de outubro a março, a qual representa 89 % do precipitado total durante o ano (INMET, 2009). O clima é classificado como temperado úmido, com verão quente (KÖPPEN, 1918).

Antes da coleta dos basidiomas, eles foram fotografados e posteriormente removidos do solo com o máximo possível de estruturas fúngicas. Em seguida, foram acondicionados em sacos de papel e transportados em caixa térmica para o Laboratório de Microbiologia do Solo. Foram anotadas as coordenadas geográficas dos locais de coletas de cada basidioma.

Para o isolamento dos FEM utilizou-se o meio de cultura sólido Melin-Norkrans modificado (MNM) (MARX, 1969) sólido pH 5,8 e ao material foi adicionado 0,5 mg L⁻¹ de cloranfenicol. Em capela de fluxo laminar, os basidiomas foram abertos manualmente,

e com o auxílio de uma pinça flambada foram removidos fragmentos de 1 a 3 mm da parte interna central para basidiomas de *Pisolithus* (BRUNDRETT *et al.*,1996), os quais foram colocados equidistantes em número de cinco sobre o meio de cultura descrito anteriormente. Em seguida, esses fragmentos foram incubados a 25 °C e avaliados diariamente quanto ao crescimento miceliano e à presença de contaminantes, com auxílio de um microscópio estereoscópico com aumento de 40 vezes. Os fragmentos livres de contaminação foram transferidos para outras placas contendo o mesmo meio de cultura e mantidos sob as mesmas condições de incubação. Após a obtenção de colônias com mais de 3 cm de diâmetro, o micélio foi avaliado em microscópio óptico com aumento de 400 vezes, e quando constatada a presença de hifas apocíticas com grampos de conexão, o isolamento foi considerado efetivo.

3.3 Seleção de isolados *in vitro*

A seleção dos isolados *in vitro* foi baseada, primeiramente, na taxa de crescimento em meio de cultura sólido, momento em que foram descartados os isolados que crescerem 50% a menos que o isolado D5, que apresenta maior velocidade de crescimento, usado como referência para avaliar a o crescimento de outros isolados de FEM. Este isolado pertence à coleção de fungos ectomicorrízicos do Laboratório de Microbiologia do Solo da UFVJM. Essa escolha com relação ao crescimento teve como base a rentabilidade no processo de produção de inoculantes, pois isolados com crescimento muito lento podem aumentar o custo de produção de inoculantes por permanecerem muito tempo na planta de produção e por estarem mais sujeitos a contaminação. Em seguida, os isolados selecionados foram avaliados quanto ao crescimento em meio líquido, quando também foram descartados os isolados que cresceram 50% a menos que o de maior crescimento.

3.2.1 Crescimento de fungos ectomicorrízicos em meio sólido

Para avaliar o crescimento dos isolados em meio de cultura sólido, discos de 5 mm de diâmetro de meio, contendo micélio, foram obtidos da borda de colônia de cada isolado, inclusive do D5. Estes isolados foram crescidos por 28 dias a 25 °C, também em meio de cultura sólido MNM modificado; foram crescidos em 15 mL do mesmo meio de cultura em placas de Petri, com 100 mm de diâmetro. Cada isolado fúngico tinha sete repetições. Os discos de meio de cultura contendo o micélio foram pré-crescidos por três dias para reativar o micélio danificado na remoção dos discos e confirmar sua viabilidade e a ausência de contaminações. Aos 28 dias, o diâmetro médio das colônias foi obtido pela medição deste em duas direções. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizados e cada isolado compôs um tratamento. Os dados de diâmetro das colônias foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Scott Knott ($p < 0,05$).

3.2.2 Crescimento de fungos ectomicorrízicos em meio líquido

Para avaliar o crescimento dos isolados em meio de cultura líquido, 10 discos de 5 mm de diâmetro de meio de cultura das bordas das colônias dos isolados selecionados no meio de cultura sólido, e novamente do D5 como referência, foram retirados como descrito anteriormente e crescidos por 28 dias a 25 °C em 50 ml meio de cultura MNM líquido, pH 5,8 e adicionados de 0,5 mg L⁻¹ de cloranfenicol, com sete repetições. Os frascos foram suavemente agitados manualmente, por três segundos, a cada dois dias.

Após este período, os micélios foram coletados em peneira de abertura de malha de 0,53 mm, lavados com água destilada e coletados em recipientes previamente identificados e pesados. Posteriormente, foram secos a 60 °C até peso constante e a massa seca do micélio foi determinada. Os isolados fúngicos obtidos e pré-selecionados foram incluídos na coleção de fungos ectomicorrízicos do Laboratório de Microbiologia do Solo. O experimento foi em delineamento inteiramente casualizado, em que cada isolado compôs um tratamento. Os dados de massa seca do micélio foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Scott Knott ($p < 0,05$).

3.3 Inoculação de miniestacas de *Corymbiacominoculantes* de fungos ectomicorrízicos

3.3.1 Descrição do viveiro

Basidiomas de FEM foram coletados em plantios de *Corymbia* da empresa APERAM Bioenergia, localizada no município de Itamarandiba - MG, com sede nas coordenadas geográficas 17,86 °S e 42,86 °W. A temperatura média anual é de 20,1 °C. A precipitação média anual é de 1081,1 mm, com a estação chuvosa a partir de outubro a março, o que representa 89 % do precipitado total durante o ano (INMET, 2009). O clima é classificado como temperado úmido, com verão quente (KÖPPEN, 1918).

3.3.2 Delineamento experimental em viveiro

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado e os tratamentos, dispostos em esquema fatorial 4x5, sendo: os clones de *Corymbia* AEC0007 (*C. torelliana* x *C. citriodora*), AEC0022 (*C. citriodorax C. torelliana*), AEC0043 (*C. citriodorax C. torelliana*) e AEC0045 (*C. torellianax C. citriodora*), inoculados com inoculantes C9C ou C16 de *Pisolithus* sp. e com a mistura dos dois isolados (MIX = C9C+C16), e crescidos em substrato com redução da adubação fosfatada, mais os controles não inoculados com (Controle) e sem (Comercial) redução da adubação fosfatada. Os tratamentos foram repetidos seis vezes com 32 mudas por parcela.

3.3.3 Isolados fúngicos e Produção do inoculante

Os isolados C9C e C16 de *Pisolithus* sp., pertencentes à coleção do Laboratório de

Microbiologia do Solo da Universidade Federal dos Vales Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), foram obtidos de frutificações colhidas em plantações de *Corymbia* sp. no Alto Jequitinhonha - MG. Esses isolados foram selecionados por apresentarem bom crescimento em meio de cultura sólido e maior massa seca do micélio em meio líquido (Figura 5). Para a produção dos inoculantes, realizada no Laboratório de Bioprocessos da Universidade Federal de Santa Catarina, os isolados foram cultivados em meio de cultura PGKM líquido (KUEK, 1996) sob condições assépticas (ROSSI *et al.*, 2007). Após o cultivo, o micélio foi homogeneizado em solução salina (0,85 % de NaCl) utilizando um blender (Metvisa, modelo LAR 1,5) a 3.600 rpm e encapsulado em esferas de 4 mm de gel de alginato de cálcio (ROSSI, 2006). Após sua produção, os inoculantes tiveram sua viabilidade testada em meio de cultura em placas. Para isso, 50 esferas de cada inoculante foram distribuídas em duas placas com meio PGKM e incubadas a 15 °C durante cinco dias. Após confirmação de 100 % da viabilidade, observada pela emissão de hifas a partir das esferas, os inoculantes foram enviados para a UFVJM.

3.4 Substrato de produção das mudas e inoculação

O substrato de produção das mudas utilizado foi uma mistura 2:1:1 (v:v:v) de vermiculita de granulometria média, casca de arroz carbonizada e fibra de coco. No substrato do tratamento Comercial, a adubação foi utilizada na rotina do viveiro da empresa APERAM Bioenergia, constituída de: 205 mg dm⁻³ de N e 456,4 mg dm⁻³ de P (11,9N-60,8P-00K, MAP); 95 mg dm⁻³ de N, 13,1 mg dm⁻³ de P e 41,5 mg dm⁻³ de K (19N-06P-10K de liberação lenta por 3 meses, Osmocote®). Além dessa adubação, o substrato foi umedecido com uma solução nutritiva, equivalente a 10 % do volume do substrato, que forneceu: 41 mg dm⁻³ de Mg (sulfato de magnésio hepta hidratado com 9 % de Mg); 360 mg dm⁻³ de K (cloreto de potássio com 62 % de K); 143 mg dm⁻³ de Ca (cloreto de cálcio com 27 % de Ca); 1,56 mg dm⁻³ de Fe (quelato de Fe Ferrilene® com 6 % de Fe); 2 mg dm⁻³ de B (ácido bórico com 17 % de B); 1 mg dm⁻³ de Cu (sulfato de cobre com 35 % de Cu); 5 mg dm⁻³ de Mn (sulfato de Manganês com 30 % de Mn) e 1 mg dm⁻³ de Zn (sulfato de Zn hepta hidratado com 20 % de Zn). Os tratamentos inoculados e o Controle não receberam o fertilizante MAP para evitar inibição da formação de ectomicorrizas, mas receberam o dobro de osmocote (19-06-10) (CARNEIRO, 2016). Dessa forma, no tratamento Comercial, cada muda foi adubada com 36 mg de P, e nos demais tratamentos, com 2 mg de P.

Após a adição de fertilizantes no substrato e homogeneização, o inoculante foi adicionado na proporção de 18 esferas por tubete, e então o substrato foi novamente homogeneizado. No substrato do tratamento não-inoculado foram utilizadas todas as mesmas dosagens de esferas de gel alginato de cálcio, mas sem micélio fúngico. O tratamento Comercial não recebeu qualquer tipo de inoculante. Os tubetes de 77 cm³, em que o substrato foi

acondicionado, foram previamente lavados em água corrente e desinfetados por imersão em água a 85 °C por 10 segundos. O enchimento dos tubetes foi realizado com auxílio de máquina vibratória e foram adicionados, em cada tubete, aproximadamente 77 cm³ de substrato (13.000 tubetes comportam 1 m³ de substrato).

Uma amostra do substrato de plantio dos tratamentos inoculados foi coletada no viveiro e seca ao ar. Dessa amostra, uma sub-amostra foi passada em peneira de malha 7,93 mm de abertura e fisicamente analisada (EMBRAPA, 1997). As características físicas do substrato foram: Densidade seca = 0,24 g cm⁻³, Densidade de partícula = 1,10 g cm⁻³, Porosidade total = 0,79 m³ m⁻³, Macroporosidade = 0,12 m³ m⁻³, Microporosidade = 0,67 m³ m⁻³, Espaço de aeração = 0,34 m³ m⁻³, Água disponível = 0,31 m³ m⁻³, Água facilmente disponível = 0,28 m³ m⁻³, Água Tamponante = 0,03 m³ m⁻³ e Água remanescente = 0,13 m³ m⁻³.

3.5 Plantio das miniestacas e manutenção do experimento

Miniestacas de 6 a 8 cm de comprimento e com três a quatro pares de folhas dos clones AEC0007, AEC0022, AEC0043 e AEC0045, todas resultantes do cruzamento espontâneo, foram coletadas no minijardim clonal e, no mesmo dia, estaqueadas nos tubetes preenchidos com os respectivos substratos para cada tratamento.

As mudas foram acondicionadas em casa de vegetação, com irrigação por micro aspersão com turno de rega de 30 minutos nos primeiros 20 dias e lâmina de água de 1mm. Do 20º ao 30º dia, o turno de rega foi de 50 minutos. Após 30 dias, as mudas foram transferidas para casa de sombra, onde permaneceram por 10 dias, e em seguida ficaram a pleno sol. No viveiro, o turno de rega foi de 20 minutos, sendo realizadas três irrigações por dia.

A partir do 45º até o 90º dia, as mudas receberam 12 fertirrigações, duas por semana, sendo aplicados em cada uma, com regador, 2 L m⁻² da solução nutritiva contendo: 0,75 g L⁻¹ de nitrato de cálcio (com 19 % de Ca e 15,5 % de N); 1,2 g L⁻¹ (N6-P12-K36 Kristalon®); 2,65 g L⁻¹ de sulfato de amônio (com 20 % de N, 21,9 % de S e 0,03 % de B); 25 mg L⁻¹ de Ferrilene® (com 6 % de Fe); 8,5 mg L⁻¹ de ácido bórico (com 17 % de B); 1,2 mg L⁻¹ de sulfato de cobre (com 35 % de Cu e 17 % de S); 0,7 mg L⁻¹ de sulfato de zinco hepta hidratado (com 20 % de Zn e 9 % de S); 0,2 mg L⁻¹ de molibdato de sódio (com 39 % de Mo) e 6,5 mg L⁻¹ de sulfato de manganês (com 30 % de Mn e 16,71 % de S). Nas três últimas semanas, as mudas receberam fertirrigações de rustificação com regador de 2 L m⁻² da solução de adubação de rustificação composta por: 0,375 g L⁻¹ de nitrato de cálcio (com 19 % de Ca e 15,5 % de N); 0,60 g L⁻¹ de Kristalon® (N6-P12-K36); 1,25 g L⁻¹ de cloreto de potássio (com 62 % de K); 25 mg L⁻¹ de Ferrilene® (com 6 % de Fe); 8,5 mg L⁻¹ de ácido bórico (com 17 % de B); 1,2 mg L⁻¹ de sulfato de cobre (com 35 % de Cu e 17 % de S); 0,7 mg L⁻¹ de sulfato de zinco hepta hidratado (com 20 % de Zn e 9 % de S); 0,2

mg L⁻¹ de molibdato de sódio (com 39 % de Mo) e 6,5 mg L⁻¹ sulfato de manganês (com 30 % de Mn e 16,71 % de S).

Considerando que todo o volume das 12 fertirrigações de crescimento e 3 de rustificação que caiu na área do tubete (diâmetro interno de 27 mm) infiltrou (1,15 mL), então as fertirrigações forneceram um total de 0,9 mg de P por muda. As estacas não receberam qualquer tipo de tratamento fitossanitário.

3.6 Avaliações e colheita dos experimentos

A sobrevivência, a altura e o diâmetro do coleto das mudas foram avaliados aos 95 dias após o plantio. Também nesta data, as mudas foram cortadas rente ao tubete, separando-se a parte aérea das raízes. Os torrões, raízes mais substrato, foram removidos do tubete e foram atribuídas notas para a formação do torrão (Figura 2). Em seguida, as raízes foram lavadas em água corrente para a remoção do substrato e obtenção de uma amostra composta de cada parcela experimental e esta foi armazenada em solução de álcool 50 % para determinação da porcentagem de pontas de raízes colonizadas por FEM (BRUNDRETT *et al.*, 1996). O restante das raízes e a parte aérea foram secos até peso constante em estufa de circulação de ar forçada a 65 °C para determinação da massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raízes (MSR) e cálculos da massa seca total (MST), da relação raiz/parte aérea (R/PA). Após a pesagem, a MSPA foi moída em moinho tipo Willey com peneira de 40 mesh e digerida em solução nitroperclórica 2:1 (v:v) para determinação dos teores de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, zinco, manganês, ferro e cobre (MALAVOLTA; OLIVEIRA, 1997).



Figura 2. Características dos torrões das raízes das mudas de eucalipto correspondentes às notas: a) Nota 3 - torrão firme e bem enraizado; b) Nota 2 - torrão moderadamente firme e parcialmente enraizado; c) Nota 1 - torrão fraco e mal enraizado.

3.7 Análises estatísticas

Os dados de sobrevivência, altura, diâmetro do coleto, massa seca, porcentagem de pontas colonizadas e teores de nutrientes foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 Isolamento de isolados de fungos ectomicorrízicos obtidos em plantios comerciais de *Corymbia* seleção daqueles de crescimento mais rápido em meio de cultura

Oito basidiomas de *Scleroderma* e 37 de *Pisolithus* foram coletados nos plantios de *Corymbia* da empresa APERAM Bioenergia (Tabela 1, Figura 3). Destes basidiomas foram obtidos três isolados de *Scleroderma* e 15 de *Pisolithus*. Nestes isolados foi verificada a presença de grampos de conexão nas hifas apocíticas (Figura 4). Os isolados com maior crescimento em meio de cultura sólido foram, em ordem decrescente: C30, C29 e C45, maiores em até 18 % que o isolado D5. Já os isolados C16 e C9C foram menores em até 28 % e os isolados C08, C43, C27B, C15, C27A, C1A, C41 e C35 foram 50 % menores que o D5 (Figura 5a). A taxa de crescimento destes isolados foi avaliada em meio de cultura líquido, sendo os melhores isolados, C16 e C9C, maiores em até 19 % que o D5 (Figura 5b). E apenas os isolados C1A e C9D foram 50 % menores que o D5 (Figura 5b).

Tabela 1. Identificação de basidiomas de fungos ectomicorrízicos coletados em cultivos de *Corymbia*.

Ponto	Coordenadas Geográficas	Cruzamento Natural	Identificação	Gênero	Tamanho, mm
01	S 23° 34'33.7''	<i>C. citriodora</i> x <i>C. Toreliana</i>	C1	<i>Scleroderma</i>	32 x 29
	W080°28'53.4''		C1A	<i>Pisolithus</i>	75 x 59
			C1B	<i>Pisolithus</i>	54 x 45
02	S 23° 34'34.0''	<i>C. citriodorax</i> <i>C. toreliana</i>	C2	<i>Pisolithus</i>	74 x 58
	W080°28'53.3''				
03	S 23° 34'30.4''	<i>C. citriodora</i> x <i>C. Toreliana</i>	C3A	<i>Pisolithus</i>	47 x 35
	W080°28'51.7''		C3B	<i>Pisolithus</i>	49 x 42
04	S 23° 34'28.8''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. citriodora</i>	C4	<i>Scleroderma</i>	37 x 33
	W080°28'50.5''		C4A	<i>Pisolithus</i>	77 x 69
			C4B	<i>Pisolithus</i>	47 x 38
05	S 23° 34'28.8''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. citriodora</i>	C5A	<i>Pisolithus</i>	56 x 60
	W080°28'50.5''		C5B	<i>Pisolithus</i>	108 x 92
06	S 23° 34'26.3''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. citriodora</i>	C6	<i>Pisolithus</i>	42 x 30
	W080°28'57.9''				
07	S 23°34'20.2''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. Citriodora</i>	C7A	<i>Pisolithus</i>	68 x 47
	W080°28'57.2''		C7B	<i>Pisolithus</i>	61 x 57
08	S 23° 34'18.0''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. Citriodora</i>	C8	<i>Pisolithus</i>	69 x 58
	W02°85'71.0''		C9A	<i>Pisolithus</i>	53 x 50
09	S 23° 34'173''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. Citriodora</i>	C9B	<i>Pisolithus</i>	47 x 30
	W080°28'58.9''		C9C	<i>Pisolithus</i>	61 x 48
			C9D	<i>Pisolithus</i>	45 x 40
10	S 23° 34'15.6''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. citriodora</i>	C10	<i>Scleroderma</i>	29 x 21
	W080°28'58.8''				
11	S 23° 34'16.5''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. Citriodora</i>	C11	<i>Scleroderma</i>	30 x 24
	W080°28'58.9''		C11	<i>Pisolithus</i>	49 x 40
12	S 23° 34.1''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. Citriodora</i>	C12	<i>Pisolithus</i>	78 x 49
	W080°28'59.0'				
13	S 23° 34.2''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. Citriodora</i>	C13	<i>Pisolithus</i>	44 x 33
	W080°28'60.2''				
14	S 23° 34'23.4	<i>C. toreliana</i> x <i>C. Citriodora</i>	C14	<i>Scleroderma</i>	40 x 24
	W080°28'60.3''				
15	S 23° 34'22,8''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. Citriodora</i>	C15	<i>Pisolithus</i>	35 x 25
	W080°28'60.8''				
16	S 23° 34'28.7	<i>C. toreliana</i> x <i>C. Citriodora</i>	C16	<i>Pisolithus</i>	48 x 28
	W080°28'62.5''				
17	S 17°49'02.2''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. Citriodora</i>	C17	<i>Pisolithus</i>	36 x 26
	W042°47'42.8''				
18	S 17°47'45.4''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. Citriodora</i>	C18	<i>Scleroderma</i>	69 x 49
	W042°54'42.8''				
19	S 17°47'48.4''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. Citriodora</i>	C19	<i>Pisolithus</i>	64 x 55
	W042°54'41.9''				
20 a	S 11°47'48.9''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. Citriodora</i>	C20A	<i>Pisolithus</i>	64 x 58
	W042°54'42.0''				
20 b	S 11°47'48.9''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. Citriodora</i>	C20B	<i>Pisolithus</i>	37 x 35
	W042°54'42.0''				
21	S 17°47'50.3''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. Citriodora</i>	C21	<i>Pisolithus</i>	39 x 32
	W042°54'41.7''				
22	S 17°47'51.7''	<i>C. toreliana</i> x <i>C. Citriodora</i>	C22	<i>Pisolithus</i>	47 x 43
	W042°54'40.4''				

Continua...

Tabela 1. Continuação...

23	S 17°47'52,4'' W042°54'40,2''	<i>C. toreliana</i> x <i>C.</i> <i>Citriodora</i>	C23	<i>Pisolithus</i>	67 x 69
24	S 17°47'53,3'' W042°54'39,7''	<i>C. toreliana</i> x <i>C.</i> <i>Citriodora</i>	C24	<i>Pisolithus</i>	48 x38
25	S 17°47'57,3'' W042°54'39,6''	<i>C. toreliana</i> x <i>C.</i> <i>Citriodora</i>	C25	<i>Pisolithus</i>	66 x 60
26	S17°49',03,8'' W042°47'30,6''	<i>C. toreliana</i> x <i>C.</i> <i>Citriodora</i>	C26	<i>Pisolithus</i>	98 x 92
27a	S17°49',03,5'' W042°47'31,6''	<i>C. toreliana</i> x <i>C.</i> <i>Citriodora</i>	C27a	<i>Pisolithus</i>	52 x 50
27b	S17°49',08,9'' W042°47'28,3''	<i>C. toreliana</i> x <i>C.</i> <i>Citriodora</i>	C27b	<i>Pisolithus</i>	58 x 47
28	S17°49',09,5'' W042°47'30,0''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C28	<i>Pisolithus</i>	30 x 24
29	S17°49',03,5'' W042°47'31,6''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C29	<i>Pisolithus</i>	32x40
30	S17°49',08,6'' W042°47'27,4''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C30	<i>Pisolithus</i>	31x40
31	S17°49',09,6'' W042°47'30,3''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C31	<i>Pisolithus</i>	36 x 26
32	S17°49',08,3'' W042°47'26,6''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C32	<i>Pisolithus</i>	59 x 53
33a	S17°49',09,5'' W042°47'29,3''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C33a	<i>Pisolithus</i>	64 x58
33b	S17°49',08,1'' W042°47'25,9''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C33b	<i>Pisolithus</i>	40 x 36
34	S17°49',10,1'' W042°47'30,7''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C34	<i>Pisolithus</i>	47 x 45
35	S17°49',08,2'' W042°47'25,5''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C35	<i>Pisolithus</i>	69 x62
36	S17°49',10,4'' W042°47'31,4''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C36	<i>Pisolithus</i>	57 x 53
37	S17°49',07,8'' W042°47'24,7''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C37	<i>Pisolithus</i>	47 x 49
38	S17°49',07,7'' W042°47'24,6''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C38	<i>Pisolithus</i>	50 x58
39	S17°49',10,7'' W042°47'32,7''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C39	<i>Pisolithus</i>	66 x 60
40	S17°49',07,4'' W042°47'23,6''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C40	<i>Pisolithus</i>	38 x 32
41	S17°49',07,3'' W042°47'23,3''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C41	<i>Pisolithus</i>	48 x 42
42	S17°49',11,0'' W042°47'33,3''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C42	<i>Pisolithus</i>	52 x 55
43	S17°49',11,4'' W042°47'33,8''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C43	<i>Scleroderma</i>	30 x 34
44	S17°49',07,0'' W042°47'22,3''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C44	<i>Pisolithus</i>	30 x 35
45	S17°49',06,6'' W042°47'21,1''	<i>C. citriodora</i> x <i>C.</i> <i>Toreliana</i>	C45	<i>Scleroderma</i>	29 x 29

Final.



Figura 3. Basidiomas de fungos ectomicorrízicos coletados em cultivos de *Corymbia*.

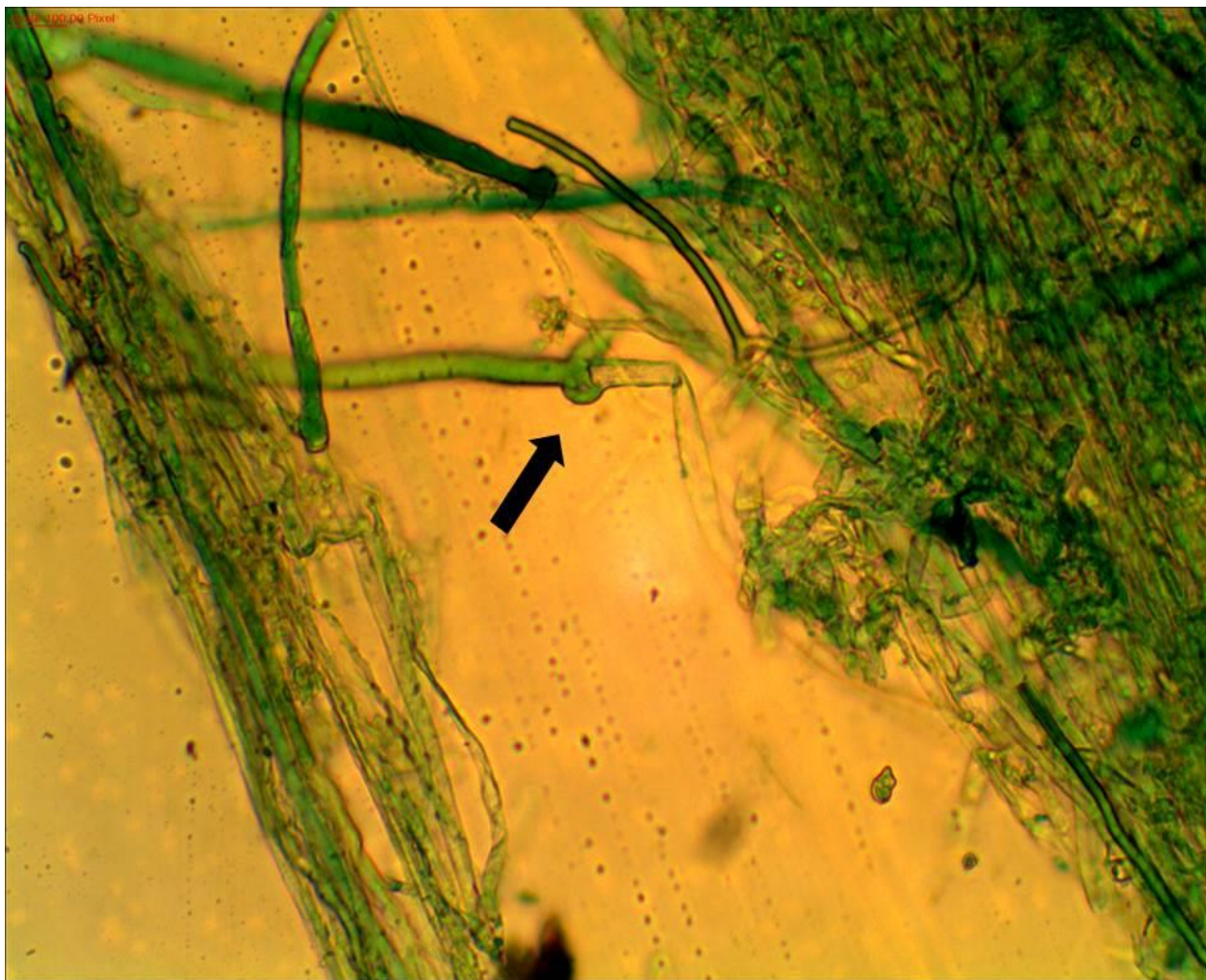


Figura 4. Grupo de conexão de fungos ectomicorrízicos coletado em cultivo de *Corymbia*.

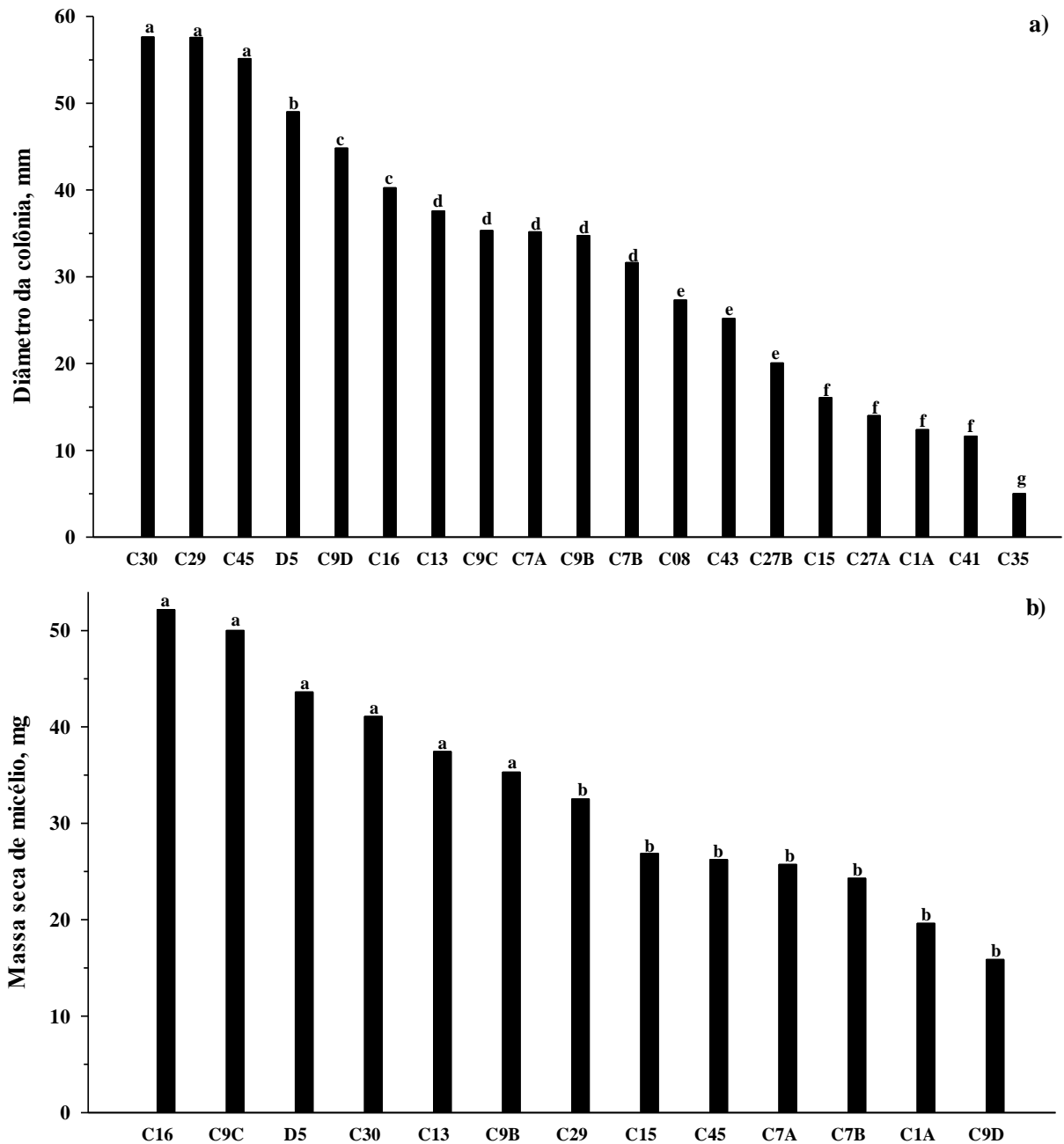


Figura 5. Diâmetro das colônias dos isolados de *Pisolithus* sp. em meio de cultura MNM modificado sólido aos 28 dias (a). Massa seca do micélio dos isolados de *Pisolithus* sp. em meio de cultura MNM líquido aos 28 dias (b).

4.2 Crescimento e teores de nutrientes em mudas clonais de *Corymbia* inoculadas com fungos ectomicorrízicos e crescidas em viveiro comercial

4.2.1. Sobrevivência, crescimento e colonização ectomicorrízica

A sobrevivência, altura, massa seca de raízes e porcentagem de pontas de raízes colonizadas foram influenciadas ($p < 0,05$) pelos inoculantes de *Pisolithus* sp., mas este efeito foi dependente dos clones (Figuras 6a, b, c, d, e, f). A massa seca da parte aérea e razão R/PA foram

influenciadas apenas pelos clones. A massa seca total foi influenciada pela inoculação e pelos clones, mas não houve interação (Figura 6e). A sobrevivência das mudas inoculadas foi igual à das mudas do Controle, com exceção das mudas do clone AEC0022 inoculadas com C16, maiores em 34 % do que as mudas do Controle e em 75 % do que as do Comercial (Figura 6a e Tabela 2). Em relação às mudas do Comercial, o efeito da inoculação foi dependente do isolado e do clone, sendo que a sobrevivência das mudas do AEC0022 inoculadas com C16 foi de 75 %, e com MIX, de 69 % maior do que as do Comercial. As mudas do AEC0045 inoculadas com C9C foi 31 % maior também que as do Comercial (Figura 6a e Tabela 2). Para os clones AEC0007 e AEC0043, a inoculação não promoveu a sobrevivência em relação às mudas do Controle e às do Comercial.

A inoculação com a mistura dos isolados (MIX) aumentou a altura das mudas dos clones AEC0007, AEC0043 e AEC0045 (Figura 6b), todos com relação às mudas do Controle e do Comercial. Estes aumentos em altura promovidos por estes inoculantes variaram de 14 a 22 % em relação às mudas do Controle e de 25 a 36 % em relação às do Comercial, sendo o maior aumento em relação às do Controle para as mudas do AEC0045 inoculadas com o MIX (Figura 6b e Tabela 2). Para o clone AEC0022, a altura das mudas inoculadas com C9C foi igual às do Controle e maior que aquelas inoculadas com a mistura dos isolados (MIX) e as do Comercial (Figura 6b).

A inoculação com C16 aumentou o diâmetro das mudas do AEC0007 em 23 % em relação às do Controle e 25 % em relação às do Comercial, e para o clone AEC0045, em 20 % em relação às do Comercial (Figura 6c e Tabela 2). Para os demais clones, a inoculação não influenciou no diâmetro do coleto das mudas.

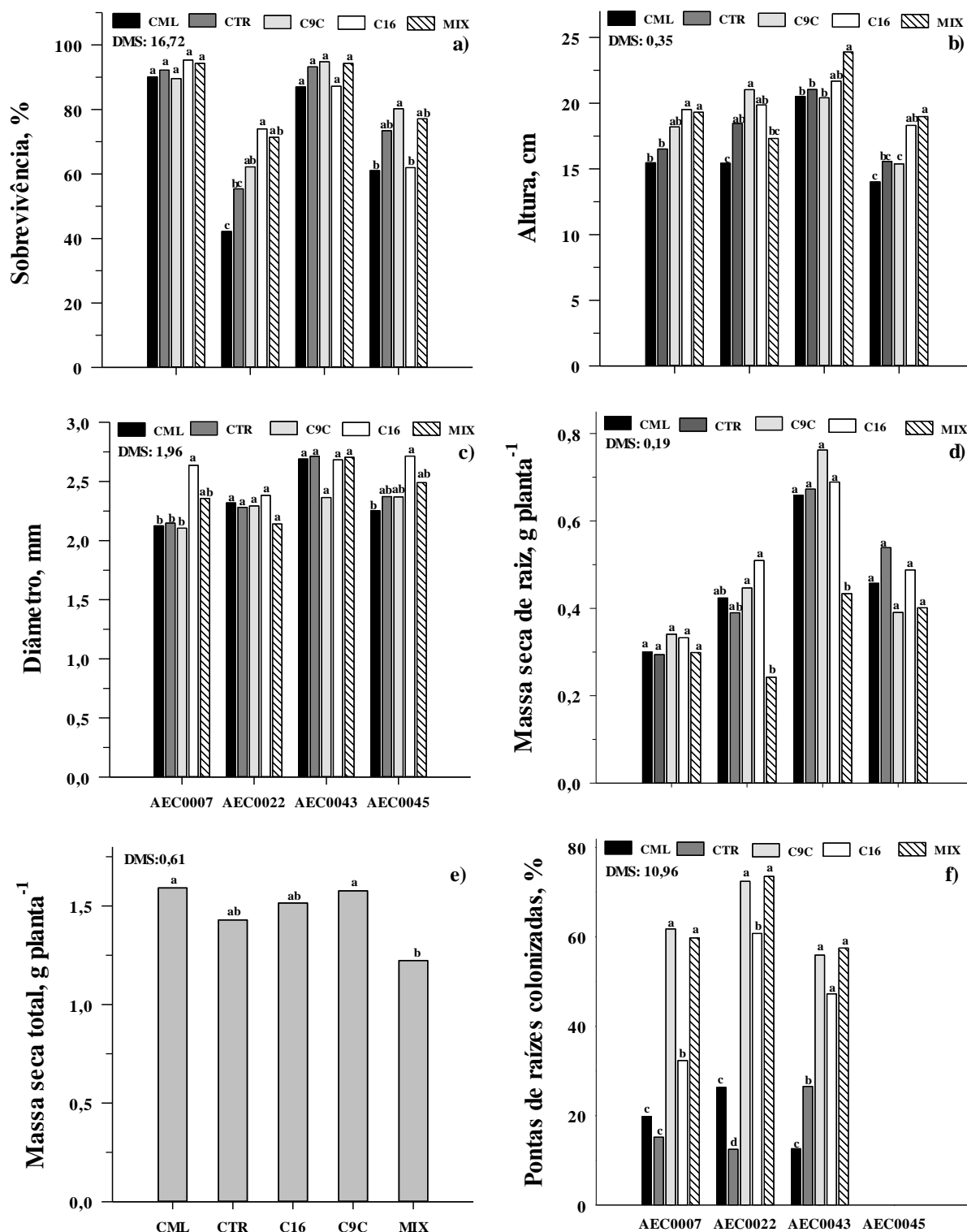


Figura 6– Sobrevivência (a), altura (b), diâmetro (c), massa seca de raízes (d), massa seca total (e) e porcentagem de pontas de raízes colonizadas (f) de mudas dos clones AEC0007, AEC0022, AEC0043 e AEC0045, híbridos espontâneos entre *Corymbia torrelliana* x *Corymbia citriodora* e seu recíproco, inoculados com C9C ou C16 isolados de *Pisolithus* sp. ou com ambos simultaneamente (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem (Comercial – CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial. DMS: diferença mínima significativa.

Tabela 2. Efeitos positivos ou negativos da inoculação de mudas dos clones AEC0007, AEC0022, AEC0043 e AEC0045, híbridos espontâneos entre *Corymbia torelliana* x *Corymbia citriodora* e seu recíproco, inoculados com C9C ou C16 isolados de *Pisolithus* sp. ou com ambos simultaneamente (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem (Comercial - CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial. Quando não houve efeito da inoculação as variáveis e condições de inoculação não foram apresentadas.

Característica	Clone	Inoculação	Efeito
Sobrevivência	AEC0022	C9C	
		C16	75 % > comercial
		MIX	69 % > comercial
	AEC0045	C9C	31 % > comercial
		C16	
		MIX	
Altura	AEC0007	C9C	
		C16	
		MIX	16 % > controle; 25 % > comercial
	AEC0022	C9C	36 % > comercial
		C16	29 % > comercial
		MIX	
	AEC0043	C9C	
		C16	
		MIX	14 % > controle
	AEC0045	C9C	
C16		30% > comercial	
MIX		22 % > controle; 36 % > comercial	
Diâmetros	AEC0007	C9C	
		C16	23 % > controle; 25 % > comercial
		MIX	
	AEC0045	C9C	
		C16	20 % > comercial
		MIX	
MSR	AEC0022	C9C	
		C16	
		MIX	39 % < controle; 43 % < comercial
	AEC0043	C9C	
		C16	
		MIX	36 % < controle; 35 % < comercial
Colonização	AEC0007	C9C	307 % > controle; 110 % > comercial
		C16	112 % > controle; 62 % comercial
		MIX	393 % > controle; 300 % < comercial
	AEC0022	C9C	484 % > controle; 175 % > comercial
		C16	390 % > controle; 131 % > comercial
		MIX	492 % > controle; 179 % > comercial
	AEC0043	C9C	110 % > controle; 344 % > comercial
		C16	78 % > controle; 275 % > comercial
		MIX	117 % > controle; 356 % > comercial
	AEC0045	C9C	-
		C16	-
		MIX	-

Continua...

Tabela 2. Continuação...

		C9C	19 % > controle
		C16	
	AEC0022	MIX	19 % > controle
Teor de P		C9C	
		C16	24 % > comercial
	AEC0043	MIX	18 % > comercial
		C9C	19 % > controle
		C16	17 % > controle
	AEC0045	MIX	
Teor de N		C9C	C9C
		C16	C16
	AEC0045	MIX	MIX
Teor de K		C9C	27 % > controle; 58 % > comercial
		C16	17 % > controle; 47 % > comercial
	AEC0043	MIX	17 % > controle; 47 % > comercial
Teor de K		C9C	33 % > comercial
		C16	
	AEC0045	MIX	
Teor de Ca		C9C	
		C16	
	AEC0043	MIX	29 % > comercial
Teor de Ca		C9C	
		C16	
	AEC0043	MIX	
Teor de Mg		C9C	28 % > comercial
		C16	30 % > comercial
	AEC0043	MIX	
Teor de Mg		C9C	228 % > comercial
		C16	219 % > comercial
	AEC0007	MIX	166 % > comercial
Teor de Mn		C9C	671 % > controle; 26 % > comercial
		C16	527 % > controle
	AEC0022	MIX	494 % > controle
Teor de Mn		C9C	534 % > controle; 4 % > comercial
		C16	540 % > controle; 26 % > comercial
	AEC0043	MIX	679 % > controle; 53 % > comercial

-ausência de sistema radicular típico.

O AEC0045 não apresentou um sistema radicular típico, mas sim calos junto à estaca usada na produção das mudas (Figura 4d e Figura 6). A MSR das mudas inoculadas dos clones AEC0007 e do AEC0045 foi igual ao das mudas do Controle e do Comercial, enquanto que a MSR das mudas dos clones AEC0022 e AEC0043 inoculadas com MIX foi menor em relação a todas as demais condições de inoculação, e em até 39 % menores que as do Controle e 43 % que as do Comercial (Figura 5d e Figura 2). A mistura de isolados (MIX) também proporcionou menor MSR das mudas do AEC0043 com relação às inoculadas com os isolados separados (Figura 5d).

Como não houve efeito da inoculação, considerando a média dos tratamentos fúngicos, a MSPA das mudas dos clones foi de 1,47 g para o AEC0043; 0,93 g para o AEC0022;

0,84 g para o AEC0045 e 0,82 g para o AEC0007; a R/PA foi de 0,41 g para o AEC0007; 0,44 g para o AEC0022; 0,50 g para o AEC0043 e a MST foi de 1,59 g para o Comercial; 1,43 g para o Controle; 1,58 g para o C9C; 1,52 para o C16 e 1,22 g para o MIX. A MST, na média dos clones, foi menor nas mudas inoculadas com no MIX do que aquelas inoculadas com C9C e do que as do Comercial (Figura 5e).



Figura 7. Calos formados em estaca de *Corymbia* do clone AEC0045 híbrido espontâneo entre *Corymbia torelliana* x *Corymbia citriodora* inoculados com C9C ou C16 isolados de *Pisolithus* sp. ou com ambos simultaneamente (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem (Comercial - CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial.

A presença de ectomicorrizas típicas ocorreu em todos os clones, exceto no clone AEC0045, o qual não desenvolveu raízes, e sim calos (Figura 6f). Nos demais clones, a porcentagem de pontas de raízes colonizadas nas mudas inoculadas variou de 47 a 74 % (Figura

6f). Nos clones AEC0007, AEC0022 e AEC0043, a colonização das mudas foi maior, normalmente 50 %, do que das mudas do Controle, exceto as do clone AEC0007 inoculadas com o C16 (Figura 6f e Tabela 2). Nos clones AEC0007 e AEC0022, a porcentagem de pontas colonizadas foi maior nas mudas inoculadas com o C9C ou a mistura dos isolados e no clone AEC0043 não se observou diferença na porcentagem de colonização entre as mudas que receberam inoculantes (Figura 6f e Tabela 2). A qualidade de torrão foi em ordem decrescente entre os clones AEC0043 > AEC0022 > AEC0007 > AEC0045 (Figura 8). A inoculação, em geral, aumentou a frequência de torrões firmes e parcialmente enraizados e firmes e bem enraizados, exceto para o AEC0045 (Figura 8). Para o AEC0007, apenas nas mudas inoculadas verificaram-se mudas com torrões firmes e bem enraizados. Ainda neste clone, os três inoculantes, em média, aumentaram a frequência de mudas com torrões firmes e moderadamente enraizados em até 100% em relação às do Controle e em até 200% em relação às do Comercial (Figura 8a). Para o AEC0022, a inoculação aumentou a frequência de mudas com torrões firmes e moderadamente enraizados em relação às do Controle, mas apenas as mudas inoculadas com o C9C tiveram frequência desse tipo de torrão maiores também que aquelas do Comercial (Figura 8b), sendo 30 % maior que as do Comercial e 188 % maior do que as do Controle. Para o AEC0043, apenas a inoculação com C9C aumentou a frequência de torrões firmes e bem enraizados, sendo 72 % maior que as mudas do Controle e 126 % maior que as do Comercial. Para o AEC0045, não houve produção de raízes típicas e a inoculação não melhorou a qualidade dos torrões.

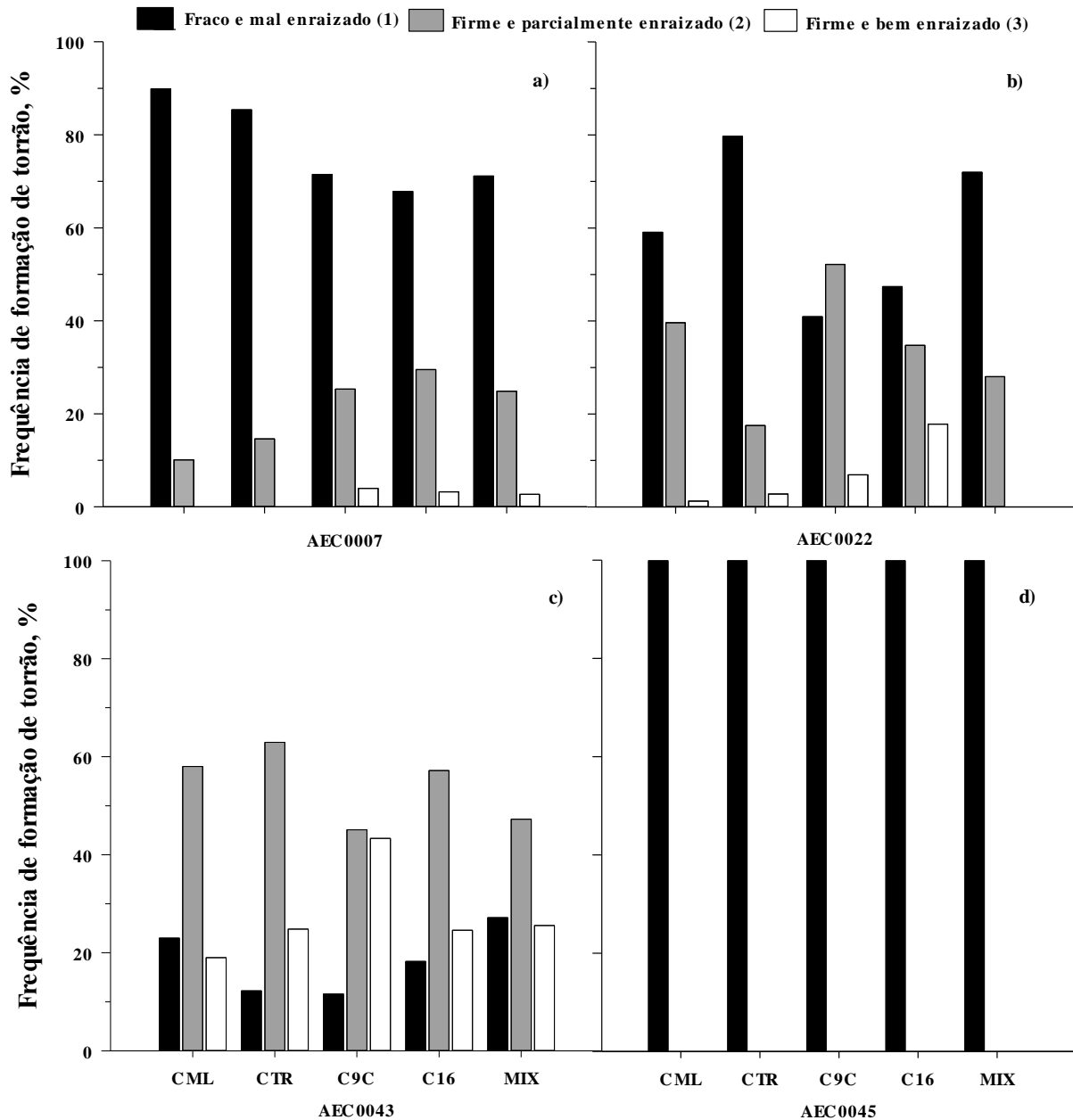


Figura 8- Frequência das notas para formação de torrão, de mudas dos clones AEC0007, AEC0022, AEC0043 e AEC0045, híbridos espontâneos entre *Corymbia torelliana* x *Corymbia citriodora* e seu recíproco, inoculados com C9C ou C16 isolados de *Pisolithus* sp. ou com ambos simultaneamente (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem (Comercial - CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial.

4.2.2 Teores de nutrientes

Os teores de fósforo, nitrogênio, potássio, cálcio, magnésio e manganês na parte aérea das mudas foram influenciados ($p < 0,05$) pela interação entre os inoculantes fúngicos e clones. Os teores de zinco e ferro foram influenciados ($p < 0,05$) pelos efeitos principais, inoculantes fúngicos e clones (Figura 10).

A redução da adubação fosfatada reduziu os teores de fósforo na parte aérea das mudas não inoculadas (Controle) dos clones AEC0007 e AEC0022, mas esse efeito não foi

observado nas mudas dos clones AEC0043 e AEC0045 (Figura 9a) e a inoculação promoveu algum aumento nos teores de P. Para os clones AEC0007, AEC0022 e AEC0045, qualquer condição de inoculação aumentou os teores de P nas mudas de forma a igualar aos teores das mudas do Comercial, com destaque para as mudas do AEC0022 inoculadas com C9C e com MIX e as do AEC0045 inoculados com C9C e C16, com os teores de P na parte aérea maiores do que os das mudas do Controle (Figura 9a). A parte aérea das mudas dos clones AEC0043 e AEC0045, a redução da adubação não reduziu os teores de P das mudas não inoculadas. Porém, os teores de P das mudas do AEC0043 inoculadas com o C16 e com MIX foram maiores em até 24 % do que aquelas do Comercial (Figura 9a e Tabela 2). E os teores de P nas mudas do AEC0045 inoculadas com o C9C e C16 foram em média 19 % maiores do que as do Controle (Figura 9a e Tabela 2).

Para os clones AEC0007, AEC0022 e AEC0043, os teores de N na parte aérea das mudas do Controle foram maiores do que as mudas do Comercial e de todas as condições de inoculação (Figura 9b). Para todos os clones os teores de N da parte aérea das mudas inoculadas com C9C foram iguais às do Comercial, porém para o clone AEC0045 as mudas inoculadas com C9C foram 23 % maiores que as do Comercial (Figura 9b). Para o AEC0045, em qualquer condição de inoculação, os teores de nitrogênio nas mudas foram iguais aos das mudas do Controle e os teores das mudas inoculadas com o C16 foram 54 % maiores que as do Comercial (Figura 9b e Tabela 2).

Para os clones AEC0007 e AEC0022, os teores de K foram iguais na parte aérea de todas as mudas, independente da inoculação e dos controles (Figura 9c). Para o clone AEC0043, os teores de K foram 58 % maiores nas mudas inoculadas com C9C do que as mudas do Comercial (Figura 9c e Tabela 2). Para o clone AEC0045, as mudas inoculadas com C9C foram maiores 33 % que as mudas do Comercial (Figura 9c e Tabela 2), sendo que, para o AEC0043, os teores de K nas mudas inoculadas foram maiores também que as do Controle e as do Comercial (Figura 9c e Tabela 2).

Para os clones AEC0007 e AEC0045, os teores de Ca foram iguais em todas as mudas independentemente da inoculação e dos controles (Figura 9d e Tabela 2). No AEC0022, o maior teor de Ca foi observado nas mudas do Controle, sendo 39 % maior que a média dos demais tratamentos (Figura 9d). Os teores de Ca nas mudas do AEC0043 inoculadas com a MIX foram 29% maiores que os do Comercial, mas não diferiram dos demais tratamentos, inclusive do Controle (Figura 9d e Tabela 2).

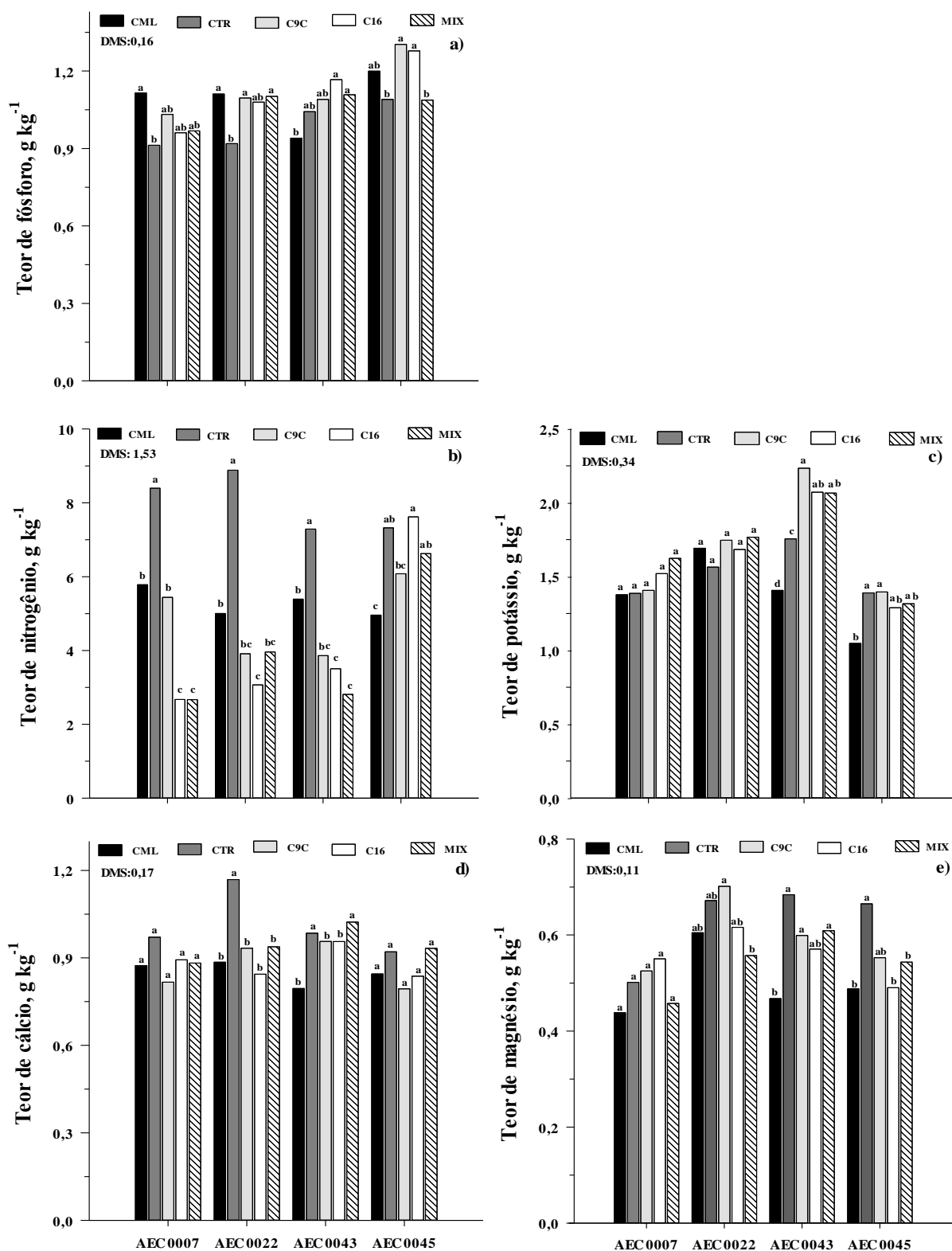


Figura 9 – Teores de fósforo (a), nitrogênio (b), potássio (c) cálcio (d) magnésio (e) na parte aérea de mudas dos clones AEC0007, AEC0022, AEC0043 e AEC0045, híbridos espontâneos entre *Corymbia torelliana* x *Corymbia citriodora* e seu recíproco, inoculados com C9C ou C16 isolados de *Pisolithus* sp. ou com ambos simultaneamente (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem (Comercial – CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial. DMS: diferença mínima significativa.

Para o AEC0007 e AEC0022, os teores de Mg foram iguais na parte aérea de todas as mudas, independentemente da inoculação e dos controles (Figura 9e), exceto no AEC0022, em que os teores de Mg nas mudas inoculadas com o C9C foram maiores que os das mudas inoculadas com MIX. Para os AEC0043 e AEC0045, os teores de Mg foram maiores na parte aérea das mudas do Controle do que nas das mudas do Comercial. No AEC0043, os teores de Mg das mudas inoculadas foram iguais aos do Controle, porém as mudas inoculadas com C9C e MIX foram até 30 % maiores do que as do Comercial (Figura 9e e Tabela 2). No AEC0045, os teores nas mudas inoculadas foram iguais aos do Controle e aos do Comercial (Figura 9e).

Considerando a média dos clones, os teores de zinco na parte aérea das mudas foram, em ordem decrescente, de 588 mg kg⁻¹ para o clone AEC0045, de 567 mg kg⁻¹ para o clone AEC0007, de 566 mg kg⁻¹ para o clone AEC0022 e de 457 mg kg⁻¹ clone AEC0043. Os teores de Zn nas mudas inoculadas com MIX foram 18 % maiores do que os do Comercial, mas não diferiram dos demais tratamentos, inclusive do Controle (Figura 10a).

Considerando a média dos clones, os teores de ferro das mudas foram, em ordem decrescente, de 445 mg kg⁻¹ para o clone AEC0045, de 415 mg kg⁻¹ para o clone AEC0007, de 357 mg kg⁻¹ para o clone AEC0022 e de 280 mg kg⁻¹ clone AEC0043. Os teores de Fe foram iguais entre as condições de inoculação, exceto na parte aérea das mudas inoculadas com C16, nas quais foram 24 % menores que aquelas inoculadas com o MIX (Figura 10b).

Nas mudas do AEC0045, o teor de Mn na parte aérea não foi influenciado em nenhuma condição de inoculação, inclusive nos Controles (Figura 10c). Para os clones dos AEC0022 e AEC0043, os teores de Mn na parte aérea das mudas do Controle foram, em média, 84 % menores que os do Comercial (Figura 10c). No entanto, os teores desse nutriente nas mudas inoculadas foram iguais ou maiores do que os do Comercial. Os teores de Mn na parte aérea das mudas dos clones AEC0022 inoculadas com C9C foram 26 % maiores do que as do Comercial e 671 % maiores do que as do Controle. Nas mudas inoculadas do clone AEC0043, os teores de Mn foram em média 53 % maior do que as do Comercial e 679 % maiores do que as do Controle, com destaque para aquelas inoculadas com a MIX (Figura 10c e Tabela 1).

A porcentagem de pontas colonizadas se correlacionou positivamente com parâmetros de crescimento e teores de nutrientes na parte aérea dos clones AEC0007, AEC0022 e AEC0043 (Tabela 3). No clone AEC0007, a colonização se correlacionou com a altura, MSPA, R/PA e teores de K e Mn (Tabela 3). No clone AEC0022, a colonização se correlacionou com a sobrevivência, teor de P, K, Zn, Fe e Mn (Tabela 3). No clone AEC0043, a colonização se correlacionou com a sobrevivência, altura, teor de P, K, Ca, Mg Zn e Mn (Tabela 3). Como o

clone AEC0045 não produziu raízes, não foi possível observar colonização e correlacionar esta com demais variáveis (Tabela 3). Mas a inoculação neste clone promoveu aumento na altura em relação às mudas do Comercial quando inoculadas com MIX. (Figura 6b, d).

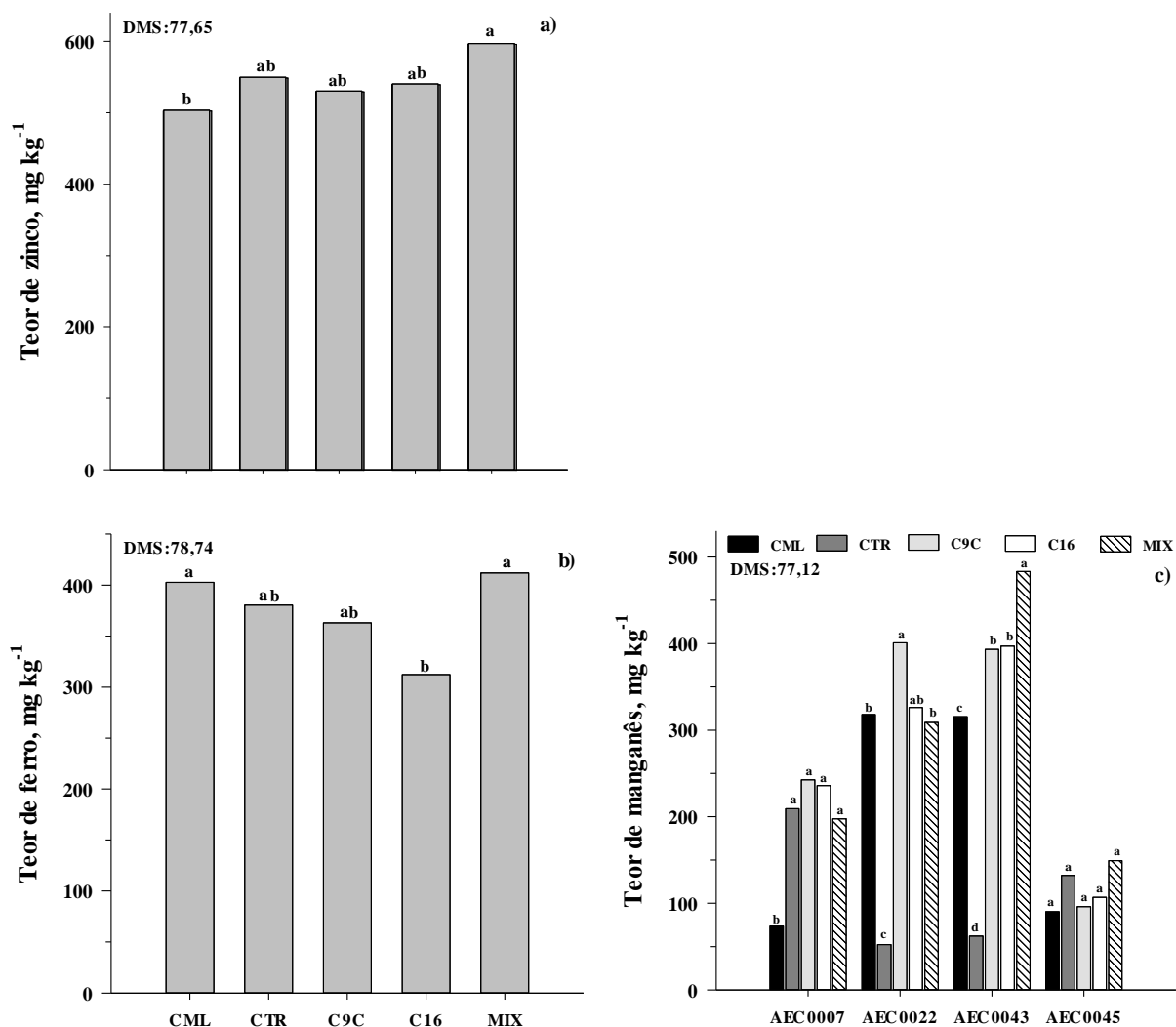


Figura 10 – Teores de zinco (a), ferro (b) e manganês (c) na parte aérea de mudas dos clones AEC0007, AEC0022, AEC0043 e AEC0045, híbridos espontâneos entre *Corymbia torelliana* x *Corymbia citriodora* e seu recíproco, inoculados com C9C ou C16 isolados de *Pisolithus* sp. ou com ambos simultaneamente (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem (Comercial – CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial. DMS: diferença mínima significativa.

Tabela 3. Correlação entre porcentagem de pontas colonizadas e sobrevivência, altura, diâmetro do coleto, massa seca de parte áreas (MSPA), massa seca das raízes (MSR), massa seca total (MST), relação raiz/parte aérea (R/PA) e teores de P, N, K, Ca, Mg, Zn, Fe e Mn para as mudas dos clones AEC0007, AEC0022, AEC0043 e AEC0045, híbridos espontâneos entre *Corymbia torelliana* x *Corymbia citriodora* e seu recíproco, inoculados com C9C ou C16 isolados de *Pisolithus* sp. ou com ambos simultaneamente (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem (Comercial – CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial.

	AEC0007	AEC0022	AEC0043	AEC0045
Sobrevivência	-0,100	0,476*	0,195*	-
Altura (cm)	0,375*	0,328*	0,307*	-
Diâmetro (mm)	0,002	-0,011	-0,364	-
MSPA (g)	0,010*	-0,006	-0,186	-
MSR (g)	0,208*	0,063	-0,121	-
MST (g)	0,051	0,021	-0,212	-
R/PA	0,148*	0,053	-0,053	-
P g kg ⁻¹	0,088	0,454*	0,511*	-
N g kg ⁻¹	-0,500	-0,789	-0,671	-
K g kg ⁻¹	0,324*	0,273*	0,680*	-
Ca g kg ⁻¹	-0,341	-0,484	0,505*	-
Mg g kg ⁻¹	0,049	-0,008	0,333*	-
Zn mg kg ⁻¹	-0,193	0,124*	0,264*	-
Fe mg kg ⁻¹	-0,059	0,186*	0,156	-
Mn mg kg ⁻¹	0,385*	0,720*	0,577*	-

*significativo a 5 % de probabilidade,- ausência de sistema radicular típico.

5 DISCUSSÃO

Os basidiomas observados e coletados na região estudada eram típicos de *Pisolithus* sp. e *Scleroderma* sp. (Tabela 1 e Figura 3). É comum na região Sudeste do Brasil a ocorrência desses gêneros em plantios de eucalipto (BARROS *et al.*, 1978; CAMPOS *et al.*, 2011). A não seleção dos isolados de *Scleroderma* sp. com base na velocidade de crescimento pode ser explicada pela experiência do Laboratório de Microbiologia do Solo da UFVJM, que tem observado que os isolados de *Scleroderma* sp., quando obtidos, não mantem seu crescimento em meios de culturas (Tabela 1 e Figura 3). Este comportamento pode ser devido à falta de algum fator de crescimento no meio de cultura ou à dependência da planta hospeira, mas esse resultado ainda não foi investigado apropriadamente pela ciência. A confirmação de que os fungos isolados pertenciam ao filo Basidiomicota foi realizada por avaliação no microscópio da presença de grampos de conexão, estrutura que garante que as células da hifa sejam diplóides e com núcleos de origens diferentes (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Como foi estipulado no início da pesquisa que seriam mantidos apenas os isolados que possuíssem crescimento maior ou igual a 50 % do isolado D5 pertencente à coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo da UFVJM da UFVJM e de maior crescimento, dos 18 isolamentos obtidos, apenas 12 isolados foram incluídos na coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo da UFVJM, sendo eles todos de *Pisolithus* sp.

A determinação de manter apenas os isolados de maior crescimento é sustentada pelo fato de que apesar da comercialização de inoculantes desejar isolados que sejam efetivos em diversos

ambiente e hospedeiros, pois seu uso pode ser mais genérico com menor preocupação técnica, mais isolados benéficos precisam possuir crescimento rápido para diminuir o custo de produção do inoculante (OLIVEIRA, 2007). Pois, caso contrário, os custos de produção do inoculante podem inviabilizar a comercialização, uma vez que isolados de crescimento mais lento são mais sujeitos a serem dominados pelas contaminações em meio de cultura (NARLOCH, 2002; SOUZA, 2003; ROSSI, *et al.*, 2002). Os isolados de crescimento mais rápido em meio de cultura podem ser também aqueles de crescimento mais rápido na região da rizosfera (ROSSI, *et al.*, 2002). Isto pode fornecer maior capacidade de competitividade com outros fungos e micro-organismos do solo, permitir maior recolonização das raízes novas em surgimento e, assim, perpetuar mais eficientemente os benefícios da simbiose (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Na seleção de isolados *in vitro* deve-se considerar a taxa de crescimento em meio de cultura sólido e líquido. No entanto, a seleção do isolado em meio líquido é definitiva para testes de efetividade e eficiência em simbiose. Os isolados C16 e C9C foram escolhidos para produção de inoculantes com base na maior taxa de crescimento em meio líquido (Figura 5b). Os FEM não arbóreos, provavelmente os isolados de menor crescimento, não se adaptaram ao meio líquido devido às condições de menor concentração de O₂, evitando que o fungo forme sua biomassa em velocidade de crescimento significativa. Assim, a condição determinante para selecionar o isolado para a produção de inoculantes deve ser em meio líquido, isto porque, nesta condição, em geral se obtém maior biomassa em menor tempo devido à maior disponibilidade de nutrientes (((Rever texto e homogeneidade O₂, reduz a possibilidade de contaminantes e reduz os custos de produção (Figura 5))))).

A inoculação de fungos ectomicorrízicos em mudas de *Corymbia* em viveiro comercial aumentou a altura, independentemente do inoculante (Figura 6b). Já a sobrevivência, diâmetro, MSR, teores de P, N, K, Ca, Mg e Mn foram também aumentadas pelo uso de inoculante ectomicorrízico, mas esse efeito foi dependente do clone (Figura 6a, c, d, 8a, b, c, d, e, 10c). A intensidade desses benefícios foi dependente do inoculante para todas as variáveis influenciadas. Como exemplo, o isolado que promoveu aumento da sobrevivência foi o C16 no clone AEC0022 e o C9C no clone AEC0045 (Figura 6a e Tabela 2). Esses resultados são importantes, pois demonstram o potencial da inoculação de fungos ectomicorrízicos selecionados na produção de mudas clonais de *Corymbia*, o que poderá ocasionar vantagens significativas para o setor florestal, fato já observado por outros autores em mudas clonais de *Eucalyptus* (AVELAR, 2016; CARNEIRO, 2016; COSTA *et al.*, 2016; FONSECA, 2013; GANDINI *et al.*, 2015; GOMES, 2016). O efeito diferenciado dos inoculantes de *Pisolithus* sp. sobre o crescimento, nutrição de mudas de híbridos de *Eucalyptus*, resposta diferenciada entre clones de *Eucalyptus* a inoculação ectomicorrízica (COSTA, 2014; FONSECA, 2013; GOMES, 2016), está documentado na literatura, mas para mudas de híbridos de *Corymbia* estes resultados ainda são incipientes na literatura.

Contudo, estes resultados também demonstram a necessidade de pesquisas constantes em busca de melhores isolados para os diversos clones em uso ou a serem inclusos no sistema de produção.

O aumento na sobrevivência observado nas mudas do Controle em relação às mudas do Comercial (Figuras 6a) pode ser devido ao fato de a adubação utilizada ser aquela ajustada para a produção de mudas clonais de *Eucalyptus* e não de *Corymbia*. Isto demonstra a necessidade de estudos de nutrição para ajustar uma melhor adubação e fertirrigação específica para mudas de *Corymbia*. O aumento de 75% da sobrevivência das mudas do AEC0022 pela inoculação com o C16 e ausência deste efeito nos clones AEC0007 e AEC0043 (Figura 6a e Tabela 2) demonstram que a combinação de uma adubação mais adequada aos clones de *Corymbia* e o uso de inoculante ectomicorrízico representam ganho em rendimento na produção de mudas por viveiros comerciais e com redução de custo, pois em um viveiro que produz 10 milhões de mudas por ano, um aumento de 75 % nas taxas de sobrevivência do clone AEC0022 inoculadas com C16 representará na produção de 7.500.000 de mudas a mais, se considerarmos o valor atual do milheiro, o que acarretará um ganho de US\$ 3.800.000 por ano. Lembrando que entre os diversos benefícios, sobretudo a taxa de sobrevivência, ainda pode ser aumentada pelo uso de clones mais responsivos e de inoculantes mais eficientes. Além disto, se a capacidade de responder à simbiose micorrízica fosse uma característica considerada nos programas de melhoramento florestal, isto poderia proporcionar uma menor dependência de fertilizantes, principalmente os fosfatados, e potencializar a obtenção de ganhos com a inoculação. A capacidade diferenciada dos inoculantes de *Pisolithus* sp. de colonizar e fornecer benefícios às plantas, como, por exemplo, maior sobrevivência, altura, diâmetro, massa seca e enraizamento das mudas (Figuras 6a,b,c, d e,7) demonstra a importância da seleção de isolados mais eficientes e compatíveis com o hospedeiro. Esta seleção poderá também aumentar os benefícios em relação aos observados no presente trabalho, de forma que a obtenção de isolados capazes de manter estas características em diferentes condições edafoclimáticas e diferentes clones é muito desejável.

A altura das mudas inoculadas de todos os clones aos 95 dias (Figura 5b) estava dentro do considerado adequado para o plantio, entre 15 a 30 cm (GOMES & PAIVA, 2004; MAFIA *et al.*, 2005). Levando em consideração que as mudas inoculadas e as mudas do CTR receberam cerca de 36 vezes menor a adubação fosfatada, com relação às mudas do CML. Isto indica a importância da inoculação de FEM no momento da formação das mudas, uma vez que esses podem melhorar a absorção de água e nutrientes e propiciar às plantas um crescimento adequado, com diminuição dos custos de produção. O diâmetro das mudas inoculadas, estavam dentro da faixa recomendada para o plantio. O valor mínimo de diâmetro estabelecido para plantio de mudas de *Eucalyptus grandis* é de 2 e 2,5 mm (LOPES *et al.*; 2004).

Alguns clones de híbridos de *Corymbia* podem ser multiplicados por propagação vegetativa por miniestaquia e os níveis de enraizamento são considerados satisfatórios. Porém, o aumento na sobrevivência na MSR e a frequência de torrões firmes e bem enraizados promovidos pela inoculação demonstram que as atuais taxas de enraizamentos observadas podem ser melhoradas pelo uso de inculantes ectomicorrízicos apropriados. A ausência de sistema radicular típico e de raízes finas, consideradas as mais propícias à colonização ectomicorrízica, no clone AEC0045 (*C. torellianax C. citriodora*), e o maior enraizamento observado no seu recíproco AEC0043 (*C. citriodorax C. torelliana*), diferem do preconizado na literatura de que a utilização do *C. Torelliana* como genitor feminino nos cruzamentos proporciona maior nível de enraizamento devido ao efeito materno para esta característica (ASSIS, 2014). Contudo, as mudas inoculadas com C9C, C16 e a mistura MIX aumentaram a sobrevivência e altura, padrão atingido para que as mudas fossem levadas para campo (Figura 6a e b).

A maior capacidade do AEC0022 em formar micorriza e obter benefícios da associação em relação aos outros clones e a ocorrência de diferentes porcentagens de pontas de raízes colonizadas nos clones para um mesmo isolado (Figura 6f) indicam a existência de especificidade entre os clones de *Corymbia* e os isolados de *Pisolithus*. Isto foi observado, por exemplo, para o MIX, que proporcionou maior colonização em todos os clones com relação às mudas do Controle e às do Comercial (Figura 6f e Tabela 2). Sendo assim, torna-se possível a obtenção de isolados com maior especificidade para cada clone e ainda benéficos ao enraizamento e crescimento das mudas no viveiro. Desta forma, a seleção destes isolados facilitará a utilização desta biotecnologia no setor florestal.

A porcentagem de pontas de raízes colonizadas nas mudas inoculadas dos clones de *Corymbia* que formaram raízes finas encontra-se acima da faixa média (6,7 % a 63,6 %) observadas em substratos com baixos teores de P para mudas de *Eucalyptus* (ALVES *et al.*, 2001; CHEN *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2008). A inoculação com C9C e com MIX aumentou a colonização das raízes nos clones AEC0007 e AEC0022 em relação às mudas do Comercial e às do Controle. Nas mudas inoculadas do clone AEC0043 não houve diferença entre os inoculantes, porém estas foram até 356 % maiores do que as do Comercial e 117 % que as do Controle. Níveis sustentáveis da colonização das raízes acima de 50% devem ser considerados necessários para garantir elevada sobrevivência e produtividade de plantios florestais (MASON *et al.*, 2000). Porém, nem sempre a maior colonização das mudas resultou em maiores benefícios (Figuras 6 a 10). Isto demonstra a necessidade da seleção de isolados de *Pisolithus* sp. mais adequados aos diferentes clones de *Corymbia*. Além disso, é necessário que sejam desenvolvidas metodologias adequadas de manejo e adubações das mudas no viveiro, que permitam a obtenção de maiores taxas de colonização e, se possível, maiores benefícios na fase de viveiro. É provável que mudas com maior porcentagem de pontas colonizadas por isolados

ectomicorrízicos eficientes, na promoção da sobrevivência e crescimento de mudas clonais de *Corymbia*, resultem em maiores benefícios após o plantio no campo. Além disso, na seleção de isolados eficientes deve ser considerado maior adaptação a diferentes ambientes e serem competitivos com os FEM nativos do solo, o que poderá ser determinante para a obtenção de maiores benefícios no campo.

A ocorrência de raízes colonizadas por FEM nas mudas não inoculadas (Controle e Comercial) pode ter sido ocasionada pela presença de esporos destes fungos na água de irrigação, no substrato de produção de mudas ou trazidos pelo vento das plantações de eucalipto (FONSECA, 2013; GOMES, 2016). É importante ressaltar que o substrato de produção de mudas não foi esterilizado e a água de irrigação não foi destilada, o que pode também ter favorecido a colonização mesmo nos tratamentos não inoculados.

No presente trabalho, as miniestacas inoculadas com inoculantes individuais promoveram aumento na massa de raízes. Este aumento na massa de raízes promovido pela inoculação pode contribuir para o aumento de outras variáveis, como a altura e colonização (Figuras 4b, a). Em mudas de *Corymbia Citriodora*, a maior massa de raízes foi observada nas mudas inoculadas com o isolado UFSCPt116 de *Pisolithus microcarpus* em relação às não inoculadas (SOUZA *et al.*, 2016). A resposta inicial da colonização micorrízica está associada à fotossíntese líquida total e ao aumento de captação e aproveitamento de água e nutrientes, tendo maior reflexo na produção da parte aérea e raízes (MARX, 1991). Assim, a massa seca é considerada a variável mais útil para medir o efeito da inoculação micorrízica e selecionar isolados com maior grau de especificidade, sobre o crescimento das mudas (ENGEL; 1990; MARX, 1980; SMITH e READ, 1997).

A relação entre a massa seca da raiz (MSR) e massa seca da parte aérea (MSPA) das mudas está dentro do considerado ideal, devendo ser de aproximadamente 0,5 para mudas de eucalipto produzidas em tubetes de 50 cm³ (CALDEIRA *et al.*; 2000). Mudas que apresentam grande produção de biomassa radicular são mais aptas às condições de estresse ambiental após o plantio por possuírem maior facilidade de sustentação, além de maior superfície para absorção de água e nutrientes (FREITAS *et al.*, 2005).

Os teores médios de P, N, K, Ca e Mg estavam abaixo do considerado ideal (P = 1,5 a 2,0 g Kg⁻¹, N = 13 a 15 g Kg⁻¹, K = 15 a 20 g Kg⁻¹; Ca = 8 a 12 g Kg⁻¹; Mg = 3 a 3,5 g Kg⁻¹ SILVEIRA *et al.*, 2001). Os teores médios de Zn e Fe estavam acima da faixa adequada (Zn = 30 a 40 mg Kg⁻¹, Fe = 80 a 130 mg Kg⁻¹ - SILVEIRA *et al.*, 2001). Apenas os teores de Mn estavam dentro da faixa considerada ideal, Mn = 300 a 500 mg Kg⁻¹ (SILVEIRA *et al.*, 2001). Cabe ressaltar que os teores considerados ideais para os autores citados são para *E. grandis*, não havendo referências para *Corymbia*. Em comparação com mudas de *Corymbia*, essa diferença nos teores dos macro e micronutrientes pode ser

devida às diferentes necessidades das espécies por esses nutrientes. Porém, de modo geral as mudas apresentaram crescimento satisfatório.

É importante ressaltar que as mudas inoculadas e as do Controle receberam adubação fosfatada aproximadamente 36 vezes menor que as do Comercial, porém isto não influenciou na redução dos teores de P na parte aérea das mudas inoculadas de todos os clones. Ainda é possível observar que no clone AEC0043, a inoculação com C16 e MIX aumentou os teores de P na parte aérea das mudas, sendo maiores que as do Comercial. Nos clones AEC0007, AEC0022 e no AEC0043, o teor de P na parte aérea das mudas inoculadas foi maior do que as do controle. O aumento no teor de P na parte aérea das mudas de *Eucalyptus* sp. inoculadas com isolados de *Pisolithus* em relação ao das mudas do Controle e do Comercial foi também observado por outros autores (CARNEIRO, 2016; FONSECA, 2013; GANDINI *et al.*, 2015). Mesmo reduzindo a adubação em 50 %, os teores de P na parte aérea das mudas inoculadas com as maiores doses de inoculantes foram maiores ou iguais aos das plantas do Comercial (GANDINI *et al.*, 2015). Mudas inoculadas com fungos ectomicorrízicos absorveram mais P em condições limitadas deste nutriente (BOWEN, 1973). Esses resultados deixam claro que fatores ligados ao biótipo da planta, isolado fúngico e tipo de fertilização são determinantes na eficiência da colonização e nutrição das plantas, pois como verificado, mesmo reduzindo a aplicação de P, o teor de P na parte aérea da maioria das mudas inoculadas foi igual ao das plantas do Comercial.

Apesar de os teores médios de P, N, K, Ca e Mg estarem abaixo do considerado ideal, não foram observados sintomas de deficiência, o que pode evidenciar, possivelmente, a menor exigência dos clones de *Corymbia* por esses nutrientes. Além disso, a adubação de cobertura para mudas de *Corymbia*, especialmente, ainda não dispõe de rotina que garanta economia e maior aproveitamento de fertilizante (BERNARDI, 2012). Uma alternativa viável, com vantagens ecológicas e econômicas, poderia ser a adição de inoculantes de FEM eficientes ao substrato de produção de mudas que possam contribuir para maior absorção dos fertilizantes aplicados.

Numa visão geral, os inoculantes de *Pisolithus* que mais se destacaram em ordem crescente foram MIX>C9C >C16 sendo que, em relação às mudas do Controle e às do Comercial, o primeiro inoculante promoveu, no clone AEC0043, aumento da colonização, da altura e aumento dos teores de Ca e Mg (Figuras 6b, e, 7d, e Tabela 2). A inoculação com MIX também aumentou os teores de Zn com relação às mudas do Comercial e aumentou os teores de Fe com relação às mudas inoculadas com o C16 (Figura 10a, b). O isolado C9C promoveu crescimento em altura no clone AEC0022, com relação ao Comercial, e maior absorção de P e Mn, com relação ao Controle (Figuras 6b, 9a, 10c e Tabela 2). O isolado C9C promoveu maiores teores de K nas mudas dos clones AEC0043 e AEC0045 com relação às mudas do Comercial (Figura 9c e Tabela 2). O isolado C16 promoveu o diâmetro no clone AEC0007 e no AEC0045 e, neste último, maior absorção de N com relação ao Comercial (Figuras 6c, 9b e Tabela

2). Portanto, novas pesquisas ainda são necessárias para definir a melhor combinação fungo-hospedeiro e isolados que sejam capazes de colonizar maior gama de espécies e ou clones.

De modo geral, os macronutrientes absorvidos pelas mudas inoculadas foram semelhantes às mudas do Comercial e às do Controle. Isso pode indicar que os níveis de P usados na produção das mudas do Comercial foram muito altos. Assim, as condições ótimas de fertilidade para eucalipto devem ser mais estudadas, principalmente em relação ao P.

Na literatura, resultados de correlação de colonização com sobrevivência, parâmetros de crescimento e nutrição em mudas clonais de *Corymbia* inoculadas com isolados de *Pisolithus* são incipientes. No entanto, em mudas clonais *Eucalyptus urophylla*, esses resultados já foram registrados. Em mudas clonais de *E. urophylla* inoculadas com isolados de *Pisolithus*, foi observada correlação positiva de colonização com sobrevivência, MSPA, MSR e MST (GOMES, 2016). Porém, no presente estudo a manifestação destes parâmetros foi dependente de clone (Tabela 3). Quanto aos parâmetros nutricionais, verifica-se correlação positiva da colonização com teores de P e de Fe (GOMES, 2016). Em mudas de *E. urophylla* inoculadas com doses crescentes de inoculante de *Amanita muscaria*, *Scleroderma areolatum*, *P. microcarpus* e *Elaphomyces santhracinus*, a colonização foi positivamente correlacionada com teores de P, N e K, no entanto não se correlacionou com as variáveis de sobrevivência e crescimento como altura, diâmetro do coleto, MSPA, MSR, MST (GANDINI, *et al.*, 2015). Altas porcentagens de colonização das raízes são correlacionadas de forma positiva com o crescimento das plantas, e podem ser usadas como um indicador da efetividade do isolado e do seu potencial em contribuir para o desenvolvimento das plantas (BURGESS *et al.*, 1994).

Nos clones AEC0007, AEC0022 e no AEC0043 é possível observar que a maior frequência dos parâmetros de nutrição ocorreu nos clones AEC0022 e o AEC0043. O que parece ser um fator condicionante à taxa de sobrevivência nestes clones, ao contrário do clone AEC0007. A correlação da colonização com a altura é observada nos três clones. Logo a colonização tem uma relação direta com a promoção do crescimento das mudas na fase de viveiro (GARBAYE, 1990; THOMSON *et al.*, 1994; TURJAMAN *et al.* 2005).

Os resultados de correlação da colonização com sobrevivência, variáveis de crescimento e nutrição demonstram o potencial da inoculação em contribuir como desenvolvimento de mudas clonais de *Corymbia* em viveiros comerciais com maiores chances de sobrevivência no campo. Isto pode ser considerado inédito para clones de *Corymbia* e ser utilizado como parâmetro da eficiência com relação à inoculação com fungos ectomicorrízicos utilizados para o crescimento de mudas.

6 CONCLUSÕES

Os clones de *Corymbia* respondem diferentemente à inoculação de fungos ectomicorrízicos.

Os inoculantes de isolados de *Pisolithus* sp. aumentam o crescimento em altura e diâmetro de mudas de *Corymbia* em viveiro comercial, porém isto é dependente do clone e do isolado.

Os inoculantes isolados mais promissores em ordem crescentes foram MIX >C9C >C16, pois promoveram o crescimento, sobrevivência, massa seca, colonização e qualidade de torrões das mudas de *Corymbia*.

O clone AEC0043 é o mais responsivo a inoculação por fungos ectomicorrízicos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADESEMOYE, A. O.; KLOEPPER, J. W. Plant–microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, n. 1, p. 1-12, 2009.

ABRAF. **Anuário Estatístico da ABRAF**: ano base 2012/ABRAF. Brasília, 2013. 145p.

ALVES, I. C. N.; GOMIDE, J. L.; COLODETTE, J. L.; SILVA, H. D. Caracterização tecnológica da madeira de *Eucalyptus benthamii* para produção de celulose kraft. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 1, p. 167-174, 2011.

ALVES, J. R.; SOUZA, O.; PODLECH, P. A. S.; GIACHINI, A. J.; OLIVEIRA, V. L. Efeito de inoculante ectomicorrízico produzido por fermentação semi-sólida no crescimento de *Eucalyptus dunni Maiden*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n. 3, p.307-313, 2001.

ASSIS, T. F. Melhoramento genético de *Eucalyptus*: desafios e perspectivas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SILVICULTURA, 3., 2014, Campinas. **Anais...** Curitiba: EMBRAPA-CNPQ, v.1, p. 127-148.

AVELAR, D. C. S. **Doses de inoculante ectomicorrízico em viveiro comercial de mudas clonais de eucalipto**. 2016. 42 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2016.

BARROS, N. F.; BRANDI, R.M.; REIS, M.S. Micorriza em eucalipto. **Árvore**, Viçosa, v.2, n. 1, p.130-140, 1978.

BELLINI, M. R. Fungos micorrízicos arbusculares: desenvolvimento da tecnologia de produção e aplicação como inoculantes. Piracicaba: **Biblioteca Virtual da FAPESP**, 2013.

BENITES, V. M. A importância da pesquisa na avaliação da eficiência das tecnologias em fertilizantes fosfatados no Brasil. **Boletim Informativo Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, n. 2, p. 36-38, 2015.

BENATTI, B. P. **Compartimentalização de biomassa e de nutrientes em estruturas de plantas de eucalipto cultivadas em solos distintos**. 2003. 114 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo). - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

BERNARDI, M. R.; SPEROTTO JUNIOR, M.; VITORINO, A. C. T. Crescimento de mudas de *Corymbia citriodora* em função do uso de hidrogel e adubação. **Revista Cerne**, Lavras, v. 18, n. 1, p. 67-74, 2012.

BERTOLAZI A.A.; VENANCIA J. B.; FIGUEIRA F.F.; SOUZA S.B.; BARCELOS J. B. Toxicidade do alumínio e o potencial dos fungos ectomicorrízicos na biorremediação de solos ácidos. **Natureza on line**.v.11, n. 4, p. 170-177, 2013.

BOLAND, D.; BROKER, M. H.; CHIPPENDALE, G. M.; HALL, N.; HYLAND, B. P. M.; JOHNSTON, R. D.; KLEINING, D. A.; MCDONALD, M. W.; TURNER, J. D. **Forest trees of Australia**. CSIRO, v. 59, n. 8, p. 736, 2006.

BRUNDRETT, M.; BRUNDRETT, M.; BOUGHER, N.; DELL, B.; GROVE, T. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. **Camberra**, Aciar, v 138, n. 3, p. 374, 1996.

BRUNDRETT, M. C. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. **New Phytologist**, London, v. 154, n. 7, p. 275-304, 2002.

BURGESS, T.; DELL, B.; MALAJCZUK, N. Variation in mycorrhizal development and growth stimulation by 20 *Pisolithus* isolates inoculated on to *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. **New Phytologist**, London, v. 127, n. 4, p. 731-739, 1994.

BUWALDA, J. G.; STRBLEY, D. P.; TINKER, P. B. The development of endomycorrhizal root systems. V. The detailed pattern of development of infection and the control of infection level by host in young leek plant, **New phytologist**, London, v. 96, n. 5, p. 411-427, 1984.

CAMPOS, D. T. S.; SILVA, M. D. C. S.; LUZ, J. M. R.; TELESFORA, R. J.; KASUYA, M. C. M. Colonização micorrízica em plantios de eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 5, p. 965-974, 2011.

CAMPOS, D. T. S.; SILVA, M. C. S.; LUZ, J. M. R.; TELESFORA, R. J.; KASUYA, M. C. M. Colonização micorrízicas em plantios de eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 5, p. 965-974, 2011.

CARNEIRO, J. P. **Adubação fosfatada para inoculação ectomicorrízica em mudas de eucalipto**. 2016. 64 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2016.

CARPENTER, S. R.; BENNETT, E. M. Reconsideration of the planetary boundary for phosphorus. **Environmental Research Letters**, v. 6, n. 1, p. 1409, 2011.

CHEN, Y. L.; KANG, L. H.; MALAJCZUK, N.; DELL, B. Selecting ectomycorrhizal fungifor inoculating plantations in South China: effect of *Scleroderma* on colonization and growth of exotic *Eucalyptus globulus*, *E urophylla*, *Pinuselliottii*, and *P. radiata*. **Mycorrhiza**, Berlin, v. 47, n.16, p. 251-259, 2006.

CHILDERS, D. L.; LAMÔNICA K. R.; RESENDE, M. D. V. de. Sustainability challenges of phosphorus and food: solutions from closing the human phosphorus cycle. **Bio Science**, v. 61, n. 2, p. 117-124, 2011.

CORDELL, D.; WHITE, S. Peak phosphorus: clarifying the key issues of a vigorous debate about long-term phosphorus security. **Sustainability**, v. 3, n. 10, p. 2027-2049, 2011.

COSTA, L.S. **Eficiência de fungos ectomicorrízicos no crescimento do eucalipto a partir de mudas**

clonais inoculadas. 2014. 49 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2014.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISAAGROPECUÁRIA- EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo.** Rio de Janeiro: EMBRAPA, Serviço de Produção de Informação, 1997.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estado nutricional de folhas de mudas de essências nativas em função de diferentes graus de sombreamento. In: **Congresso Florestal Brasileiro,2.,** 1990, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, v. 6, p. 76.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição Mineral de Plantas: Princípios e Perspectivas..** Londrina: Editora Planta, 2006.

FERNANDES M. C. S.; COSTA L. S.; GRAZZIOTTI P. H.; GRAZZIOTTI D. C. F. S.; SANTOS J. B.; ROSSI M. J. *Pisolithus* sp. tolerancetoglyphosateandisoxaflutole *In Vitro*. **Revista Árvore**, Viçosa, v.38, n. 2, p.461-468, 2014.

FOELKEL, C. As plantações de florestas no Brasil. In: BORÉM, A. **Biotecnologia florestal.** Viçosa: Suprema, 2007.v. 2, n. 1, p. 13-24.

FONSECA, A. J. **Seleção de Isolados de *Pisolithus* para mudas clonais de eucalipto em viveiro comercial.** 2013. 105 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2013.

FONSECA, S. M. da; RESENDE, M. D. V. de; ALFENAS, A. C.; GUIMARÃES, L. M. da S.; ASSIS, T. F. de; GRATTAPAGLIA, D. **Manual prático de melhoramento genético do eucalipto.** Viçosa: UFV, 2010.

FREITAS T. A. S.; BARROSO D. G.; CARNEIRO J. G. A.; PENCHEL R. M.; LAMÔNICA K. R.; FERREIRA D. A. F. Desempenho radicular de mudas de eucalipto produzidas em diferentes recipientes e substratos. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 6, p. 853-861, 2005.

GARBAYE, J. Utilisation des mycorhizes en sylviculture. In: STRULLU, D. G. **Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées.** Paris: Lavoisier, 1990, v. 3, p.197-250.

GANDINI, A. M. M. **Promoção do crescimento e da nutrição de mudas clonais de *Eucalyptusurophylla* por fungos ectomicorrízicos em viveiro comercial.** 2011. 23f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2011.

GANDINI, A. M. M.; GRAZZIOTTI, P. H.; ROSSI, M. J.; GRAZZIOTTI, D. C. F. S.; GANDINI, E. M. M.; SILVA, E. D. B.; RAGONEZI, C. Growth and Nutrition of Eucalypt Rooted Cuttings Promoted by Ectomycorrhizal Fungi in Commercial Nurseries. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 39, n. 6, p. 1554-1565, 2015.

GARBAYE, J. Utilisation des mycorhizes en sylviculture. In: STRULLU, D.G. **Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées.** Paris: Lavoisier, v. 3, n. 3, p.197-250, 1990.

GILBERT, N. The disappearing nutrient. **Nature**, v. 461, n. 4, p. 716-718, 2009.

- GOMES, A. L. F. **Seleção de fungos ectomicorrízicos em viveiro comercial de mudas de eucalipto**. 2016. 38 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2016.
- GOMES, J.M.; PAIVA, H.N. **Viveiros Florestais: propagação sexuada**. Viçosa: UFV, 2011.
- GONÇALVES, J. L. M. *et al.* Assessing the effects of early silvicultural management on long-term site productivity of fast-growing eucalypt plantations: the Brazilian experience. **South**. .v. 70, n. 2, p. 105-118, 2008.
- GLOWA, K.R.; AROCENA, J.M.; MASSICOTTE, H.B. Extraction of potassium and/or magnesium from selected soil minerals by *Piloderma*. **Geomicrobiology Journal**, v.20, n. 2, p.99-111, 2003.
- GRAZZIOTTI, P. H.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Espécies arbóreas e ectomicorrizas em relação ao excesso de metais pesados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 3, n. 2 p. 55-105, 2003.
- GROSS, E.; CORDEIRO, L.; CAETANO, F. H. Nodulação e micorrização em *Anadenanthera peregrina* VAR. falcata em solo de cerrado autoclavado e não autoclavado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa. v. 28, n. 3, p. 95-101, 2004.
- HILL, K. D.; JOHNSON, L. A. S. Systematic studies in *eucalyptus*. **A revision of the bloodwoods, genus *Corymbia* (Myrtaceae)**. *Telopea*, v.6, p. 173-505, 1995.
- HSING, T. Y.; DE PAULA, N. F; DE PAULA R. C. Características dendrométricas, químicas e densidade básica da madeira de híbridos de *Eucalyptus grandis* X *Eucalyptus urophylla*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, n. 1, p. 273-283, 2016.
- INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. Relatório IBÁ 2016. São Paulo, 2016. Disponível em: <<http://sna.agr.br/exportacoes-do-setor-de-florestas-plantadas-rendem-us-74-bi/>>. Acesso em: 03 Julho 2016.
- INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - INMET. **Normais Climatológicas do Brasil 1961-1990**. Brasília: Instituto Nacional de Meteorologia, 2009.
- QUORESHI, A.M.; KHASA, D.P. Effectiveness of mycorrhizal inoculation in the nursery on root colonization, growth, and nutrient uptake of aspen and balsam poplar. **Biomass and Bioenergy**, v.32, n. 4, p.381-391, 2008.
- JHA, B.N.; SHARMA, G.H.; SHUKLA, A.K. Effect of ectomycorrhizal development on growth in pines seedlings. **Journal of Plant Sciences**, v.3, n.1, p.77-84, 2008.
- KASUYA, M.C. *et al.* Morphological and molecular characterization of *Pisolithus* in soil under eucalyptus plantations in Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, n. 3, p. 1891-1898, 2010.
- KÖPPEN, W. Klassifikation der Klimatenachtemperatur, niederschlag und jahreslauf. **Petermanns Geographische Mitteilungen**, v. 64, n. 5, p.193-203, 1918.

KUEK, C.; TOMMERUP, I.; MALAJCZUK, N. Hydrogel bead inocula for the production of ectomycorrhizal eucalyptus for plantations. **Mycological Research**, Cambridge, v.96, n. 2, p.273-277, 1992.

KUMAR, P. A.; SHARMA, V.K.; GINWAL, H.S. Sustained Hybrid Vigor in F1 Hybrids of *Eucalyptus torelliana* F. Muell x *E. citriodora* Hook. **World Applied Sciences Journal**, v.11, n.7, p.830-834, 2010.

LOUREIRO, B. A. **Análise energética da madeira e do carvão de híbridos entre *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson e *Corymbia torelliana* (F. Muell.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson**. 2016. 87 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

LOPES, J. L. W. **Produção de mudas de *Eucalyptus grandis* W. (Hill ex. Maiden) em diferentes substratos e lâminas de irrigação**. 2004. 100 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

LEE, B. R.; MUNEEER, S.; JUNG, W. J.; AVICE, J. C.; OURRY, A. & KIM, T. H. Mycorrhizal colonization alleviates drought-induced oxidative damage and lignification in the leaves of drought-stressed perennial ryegrass (*Lolium perenne*). **Physiologia Plantarum**, v. 145, n. 2 p. 440–449, 2012.

LUZ, O. S. L. **Dissimilaridade genética entre matrizes de *Corymbia citriodora* no município de Dueré-to**. 2014. 113 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Tocantins, Tocantins, 2014.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; SIQUEIRA, L. D.; FERREIRA, E. M.; LEITE, H. G.; CAVALLAZZI, J. R. P. Critério técnico para determinação da idade ótima de mudas de eucalipto para plantio. **Revista Árvore**, v. 29, n. 6, p. 947-953, 2005.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. **Potafos**, Piracicaba, v. 2, n, 5, p.319, 1997.

MAUPERIN, C. H.; MORTIER, F.; GARBAYE, J.; TACON, F. L.; CARR, G. Viability of an ectomycorrhizal inoculum produced in a liquid medium and entrapped in a calcium alginate gel. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 65, n. 11, p. 2326-2329, 1987.

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia Vegetal: Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. Viçosa: Editora UFV, 2005.

MARX, D. H. Ectomycorrhizal fungus inoculations: a tool for improving forestation practices. In: MARX, D.H. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections I. Antagonism of mycorrhizal to root pathogenic fungi and soil bacteria. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 59, p. 153-163, 1969.

MARX, D.H.; CORDELL, C.E. The use of specific ectomycorrhizas to improve artificial forestation practices. In: WHIPPS, J.M.; LUMSDEN, R.D. **Biotechnology of fungi for improving plant growth**. New York: Cambridge University Press, 1989. V. 2, n. 8, p.1-25.

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*. **Can. J. Bot.**, v. 55, n. 12, p. 1569-1574, 1977.

MARX, D. H. The practical significance of ectomycorrhizae in Forest establishment. In: THE MARCUS WALLENBERG FOUNDATION SYMPOSIUM, 7., 1991,Stockolm. **Proceedings...** Stockolm: Wallenberg Foundation,v. 2, p. 54-90.

MIKOLA, P. Application of micorrhizal symbiosis in forestry practices. In: MARKS, G. C.; KOZLOWSKI, T. T. **Ectomycorrhizae, their ecology and physiology**. New York: Academic Press, 1980.p.383-411.

MASSON, M. V.; MORAES, W. B.; MATOS, W. C.; ALVES, J. M.; FURTADO, E. L. Eficiência e viabilidade econômica do controle químico da ferrugem do eucalipto em condições de campo. **Summa Phytopathol**, v. 37, n. 2, p.107-112, 2011.

MEYER, F. H. Physiology of mycorrhiza. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 86, p. 567 – 586, 1974.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Editora UFLA, 2006.

NARLOCH, C. **Interação microrganismos solubilizadores de fosfatos - fungos ectomicorrízicos e o crescimento de *Pinus taeda* L.** 2001.153 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

NESET, T.S. S.; CORDELL, D. Global phosphorus scarcity: identifying synergies for a sustainable future. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 1, p. 2-6, 2012.

OLIVEIRA, L. P. **Produção de inoculante, seleção e aplicação de fungos ectomicorrízicos em mudas de *Pinus taeda* L.** 2007. 87 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Biociências) – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

PEREIRA, J. C. D.; STURION, J. A.; HIGA, A. R.; HIGA, R. C. V.; SHIMIZU, J. Y. **Características da madeira de algumas espécies de eucalipto plantadas no Brasil**. Colombo: EMBRAPA Florestas, 2000.

PEREIRA, O.L.;COSTA, M. D.; BORGES, A. C.; ARAÚJO, E. F.; KASUYA, M. C. M. Compatibility and ectomycorrhiza formation among *Pisolithus* isolates and *Eucalyptus* spp. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, n. 4, p. 337-344, 2005.

QUORESHI, A. M.; KHASA, D. P. Effectiveness of mycorrhizal inoculation in the nursery on root colonization, growth, and nutrient uptake of aspen and balsam poplar. **Biomass and Bioenergy**, v. 32, n. 2, p. 381-391, 2008.

REIS C. A. F.; DE ASSIS T. F.; SANTOS A. M.; PALUDZYSZYN FILHO, E. *Corymbia torelliana*: estado da arte de pesquisas no Brasil. **Colombo: Embrapa Florestas**,v. 261, out. 2014.Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/item221>>. Acesso em: 23jan. 2015.

REIS C. A. F., DE ASSIS T. F., SANTOS A. M., PALUDZYSZYN FILHO, E. *Corymbia citriodora*: estado da arte de pesquisas no Brasil. **Colombo: Embrapa Florestas**, v. 255, dez. 2013. Disponível em: < <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/item221>>. Acesso em: 23 jan. 2015.

ROCKSTRÖM, J.; STEFFEN, W.; NOONE, K.; PERSSON, A.; CHAPIN, F. S.; LAMBIN, E. F.; NYKVIST, B. A safe operating space for humanity. **Nature**, v. 461, n. 7263, p. 472-475, 2009.

ROSSI, M. J.; FURIGO, A. J.; OLIVEIRA, V. L.; Inoculant Production of Ectomycorrhizal Fungi by Solid and Submerged Fermentations. **Food Technol. Biotechnol.**, Zagreb, v. 45, n. 3, p. 277-286, 2007.

ROSSI, M. J.; SOUZA, J.A.R.; OLIVEIRA, V. Inoculum production of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus microcarpus* in an airlift bioreactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 59, n. 2, p.175-181, 2002.

ROSSI, M.J. **Tecnologia para produção de inoculantes de fungos ectomicorrízicos utilizando cultivo submerso em biorreator airlift**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química e de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2006.

SAWYER, N. A.; CHAMBERS, S.M.; CAIRNEY, J.W.G. Utilisation of inorganic and organic phosphorus sources by isolates of *Amanita muscaria* and *Amanita species* native to temperate eastern Australia. **Australian Journal of Botany**, v. 51, n. 3, p. 151-158, 2003.

SANTOS, G.A.; XAVIER, A.; LEITE, H.G. Desempenho silvicultural de clones de *Eucalyptus grandis* em relação às árvores matrizes. **Revista Árvore**, v. 30, n. 5, p. 737-747, 2006.

SEGURA, T. E. S. **Avaliação das madeiras de *Corymbia citriodora*, *Corymbia torelliana* e seus híbridos visando à produção de celulose kraft branqueada**. 2015. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

SENA, J. O. A.; LABATE, C. A.; CARDOSO, E. J. B. N. Caracterização fisiológica da redução decrescimento de mudas de citros micorrizadas em altas doses de fósforo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 28, n. 5, p. 827-832, 2004.

SILVA, M. A.; COSTA, M. D., ROCHA, R. B.; BORGES, A. C. Formação de ectomicorrizas por monocários e dicários de *Pisolithus* sp. e interações nutricionais em *Eucalyptus grandis*. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 917-929, 2007.

SOARES, I.; BORGES, A. C.; BARROS, N. F.; BELLEI, M. M. Níveis de fósforo na formação de ectomicorrizas em mudas de eucalipto. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Campinas, v. 14, n. 2, p. 327-332, 1990.

SOUZA, E. L.; ANTONIOLLI, Z. I.; MACHADO, R. G.; ECKHARDT, D. P.; DAHMER, S. F. B.; SCHIRMER, G. K. Efeito da inoculação com isolados de fungos ectomicorrízicos sobre o desenvolvimento de mudas de *Eucalyptus grandis* hille x maiden. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 22, n. 2, p. 251-261, 2012.

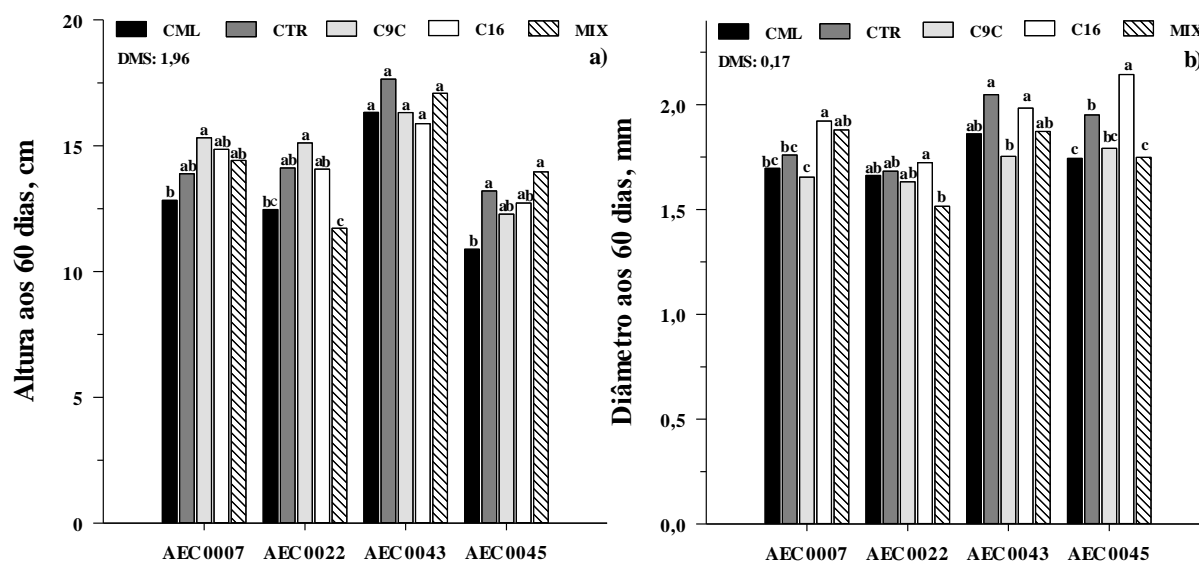
- SOUZA, L. A. B. **Seleção de fungos ectomicorrízicos eficientes para promoção do crescimento de *Eucalyptus dunnii* Maiden.** 2003. 100 f. Dissertação (Mestrado em Produção vegetal) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.
- SOUZA, L. A. B.; SILVA FILHO, G. N.; OLIVEIRA, V. L. Eficiência de fungos ectomicorrízicos na absorção de fósforo e na promoção do crescimento de eucalipto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n. 2, p.349-355, 2004.
- SOUZA, L. A. B.; BONNASSIS, P. A. P.; SILVA FILHO, G. N.; OLIVEIRA, V. L. New isolates of ectomycorrhizal fungi and the growth of eucalypt. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n. 2, p. 235-241, 2008.
- SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis.** London: Academic Press, 1997.
- SMITH, VAL H.; JOYE, S. B.; HOWARTH, R. W. Eutrophication of freshwater and marine ecosystems. **Limnology and Oceanography**, v.51, n. 1, p. 351-355, 2006.
- THOMSON, B. D.; GROVE, T. S.; MALAJCZUK, N.; HARDY, G. E. The effect of soil pH on the ability of ectomycorrhizal fungi to increase the growth of *Eucalyptus globulus* Labill. **Plant and Soil**. Dordrecht. v.178, n. 4, p. 209-214, 1996.
- WENDLING, I.; BROOKS, P. R.; TRUEMAN, S. J. Topophysis in *Corymbia torelliana* × *C. citriodora* seedlings: adventitious rooting capacity, stem anatomy, and auxin and abscisic acid concentrations. **New forests**, v.46, n. 1, p.107-120,2015.
- WILCOX, H. E. Mycorrhizal associations. In: NAKAS, J.P.; HAGEDORN, C. **Biotechnology of plant-microbe interactions.** New York: McGraw-Hill, 1990, p. 227-255.
- VAN KAUWENBERGH, S. **World phosphate reserves and resources:** International Fertilizer Development Centre (IFDC). Washington: DC -USA, 2010.
- VIEIRA, R.F.; PERES, J.R.R. Seleção de fungos ectomicorrízicos eficientes para *Eucalyptus grandis*. **Revista brasileira de ciência do solo**, Viçosa, v. 12, n.5, p. 237-241, 1988.

APÊNDICE A - Quadrado médio e significâncias obtidas da análise de variância dos dados coletados nas avaliações de altura, diâmetro do coleto, sobrevivência, massa seca da parte aérea, massa seca das raízes, relação raiz parte aérea, % raízes colonizadas, teores e conteúdos de fósforo, nitrogênio, potássio, cálcio, magnésio, zinco, ferro e manganês.

Variáveis	Fontes de Variação				CV (%)
	Clone (C)	Fungo (F)	C x F	Resíduo	
----- 60 dias -----					
Altura	90,0616**	10,6686**	5,7382**	1,6929	9,13
Diâmetro do coleto	0,4136*	0,2279*	0,0477*	0,0137	6,51
----- 95 dias -----					
Sobrevivência	7244,8083*	680,1791*	300,3291*	122,8050	14,05
Altura	137,8793*	52,2502*	11,2925*	3,0645	9,44
Diâmetro do coleto	0,8460*	0,3544*	0,1066*	0,0554	9,79
Massa seca da parte aérea	2,8220*	0,2021	0,1301	0,1321	35,87
Massa seca das raízes	0,5823*	0,0939*	0,0279*	0,0146	26,63
Massa seca total	5,7746*	0,5452*	0,2300	0,1492	26,33
Razão raiz/parte aérea	0,2223*	0,0417	0,0194	0,0462	43,72
Raízes colonizadas	14135,1412*	6821,9817*	1028,3104*	46,7109	21,55
Teor de P	0,1973**	0,0761**	0,0353**	0,0107	9,58
Conteúdo de P	3,4373**	0,2433*	0,1060	0,0938	28,56
Teor de N	22,2513**	61,1322**	10,4205**	0,9112	18,14
Conteúdo de N	196,1785**	312,9856**	59,3198**	8,1286	22,29
Teor de K	2,1744**	0,4341**	0,1482**	0,0449	13,36
Conteúdo de K	20,6335**	1,1960**	0,9406**	0,2649	30,73
Teor de Ca	0,0556**	0,1014**	0,0263**	0,0120	12,06
Conteúdo de Ca	2,7920**	0,0738	0,1529*	0,1442	40,63
Teor de Mg	0,0998**	0,0595**	0,0132**	0,0051	12,76
Conteúdo de Mg	1,1533**	0,1034**	0,0879**	0,0567	40,88
Teor de Zn	105683,6294**	27959,8676*	14078,7641	9370,4815	17,79
Conteúdo de Zn	14078,7641*	5611,9036	37303,8208*	19602,2430	27,00
Teor de Fe	157505,9386**	37362,0715*	9587,3180	96347178	26,24
Conteúdo de Fe	47452,3323*	37774,5708	21910,6541	17750,8460	37,57
Teor de Mn	273757,8281**	129341,6256**	54916,4744**	2310,9263	20,94
Conteúdo de Mn	0,8125**	0,1978**	0,0788**	0,0125	45,12

CV= Coeficiente de variação, * = significativo a 5%, ** = significativo a 1%

APÊNDICE B - Altura (A) e diâmetro (B) aos 60 de mudas dos clones AEC0007, AEC0022, AEC0043 e AEC0045, híbridos espontâneos entre *Corymbia torelliana* x *Corymbia citriodora* e seu recíproco, inoculados com C9C ou C16 isolados de *Pisolithus* sp. ou com ambos simultaneamente (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem (Comercial - CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial. DMS: diferença mínima significativa.



APÊNDICE C - Conteúdos de fósforo, nitrogênio, potássio, cálcio, magnésio, zinco, ferro e manganês na parte aérea das mudas clones de *Corymbia* AEC0007, AEC0022, AEC0043 e AEC0045 inoculados com isolados de *Pisolithus* sp. e não inoculados com (Controle) e sem (Comercial) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial.

Tratamentos	AEC0007	AEC0022	AEC0043	AEC0045	Média
	Fósforo				
----- mg/Planta -----					
CML	0,92	1,13	1,54	1,00	1,15 A
CTR	0,63	0,80	1,56	0,89	0,97 A
C9C	0,73	1,07	1,82	0,98	1,15 A
C16	1,09	1,05	1,62	0,79	1,14 A
MIX	0,71	0,93	1,31	0,89	0,96 A
Média	0,82 B	1,00 B	1,57 A	0,91 B	1,07
Nitrogênio					
----- mg/Planta -----					
CML	13,18 Ab	13,38 Ab	12,27 Aab	11,65 Ab	12,62
CTR	17,84 Aa	20,92 Aa	16,61 Aa	19,91 Aa	18,82
C9C	15,08 Aab	8,80 Bc	10,13 Bbc	15,82 Aab	12,46
C16	6,48 Bc	7,67 Bc	9,08 Bbc	18,89 Aa	10,53
MIX	6,43 Bc	8,86 Bbc	6,31 Bc	16,56 Aa	9,54
Média	11,80	11,92	10,88	16,56	12,79
Potássio					
----- mg/Planta -----					
CML	1,14 Ba	1,70 Aba	2,42 Ab	0,95 Ba	1,55
CTR	0,96 Aa	1,35 Aa	2,58 Ab	1,16 Aa	1,51
CML	1,14 Ba	1,70 Aba	2,42 Ab	0,95 Ba	1,55
CTR	0,96 Aa	1,35 Aa	2,58 Ab	1,16 Aa	1,51
MIX	1,19 Ba	1,37 Ba	2,41 Ab	1,06 Ba	1,51
Média	1,21	1,56	2,88	1,05	1,67
Cálcio					
----- mg/Planta -----					
CML	0,72	0,90	1,30	0,96	0,97
CTR	0,66	1,01	1,45	0,76	0,97
C9C	0,58	0,92	1,61	0,73	0,96
C16	1,03	0,83	1,34	0,52	0,93
MIX	0,65	0,74	1,21	0,76	0,84
Média	0,73 B	0,88 B	1,38 A	0,75 B	0,93
Magnésio					
----- mg/Planta -----					
CML	0,38	0,70	1,01	0,52	0,65
CTR	0,34	0,59	1,03	0,55	0,63
C9C	0,38	0,70	1,01	0,52	0,65
C16	0,66	0,61	0,80	0,30	0,59
MIX	0,34	0,43	0,71	0,44	0,48
Média	0,42 C	0,59 B	0,86 A	0,47 BC	0,58
Zinco					
----- mg/Planta -----					

Continua...

Tabela 2. Continuação...

CML	478 Aab	447 A	577 A	511 A	503
CTR	391 Bab	539 AB	715 A	413 B	514
C9C	376 Bb	544 AB	720 A	501 B	535
C16	610 Aa	541 AB	597 AB	388 B	534
MIX	418 Aab	491 A	595 A	520 A	506
Média	455	512	641	467	519
Ferro					
----- mg/Planta -----					
CML	331	403	415	474	406
CTR	301	268	464	366	350
C9C	282	380	477	345	371
C16	301	268	464	366	350
MIX	334	310	339	418	350
Média	318	329	406	366	355
Manganês					
----- mg/Planta -----					
CML	0,06 Cb	0,32 Ba	0,49 Aa	0,09 Ca	0,24
CTR	0,14 Aab	0,05 Ab	0,09 Ab	0,11 Aa	0,10
C9C	0,17 Cab	0,39 Ba	0,64 Aa	0,09 Ca	0,33
C16	0,28 Ba	0,33 Ba	0,56 Aa	0,07 Ca	0,31
MIX	0,15 Bab	0,24 Ba	0,58 Aa	0,12 Ba	0,27
Média	0,16	0,26	0,47	0,10	0,25

Médias seguidas de letra minúsculas, comparação entre tratamentos fúngicos (na coluna);

Médias seguidas de letra maiúsculas, comparação entre clones (na linha).

APÊNDICE D - Matriz de correlação entre sobrevivência, altura, diâmetro do coleto, massa seca de parte áreas, massa seca total, razão raiz/parte aérea; porcentagem de pontas colonizadas e teores de P, N, K, Ca, Mg, Zn, Fe e Mn para as mudas dos clones AEC0007, híbrido espontâneo entre *C. torelliana* x *C. citriodora*, inoculados com dois isolados de *Pisolithus* sp. isoladamente C9C ou C16 e em conjunto (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem(Comercial – CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial.

Clone	AEC0007							Teores							
	Altura	Diâmetro	MSPA	MSR	MST	R/PA	Pontas colonizadas	P	N	K	Ca	Mg	Zn	Fe	Mn
Correlação															
Sobrevivência	0,074	0,254*	0,092	-0,130	0,060	-0,335	-0,100	-0,202	-0,167	0,010	-0,091	-0,119	-0,300	-0,027	-0,041
Altura (cm)		0,667*	0,171*	0,278*	0,214	-0,078	0,375*	-0,362	-0,417	0,263*	-0,169	0,090	0,088	-0,128	0,423*
Diâmetro (mm)			0,206*	0,162*	0,224	-0,244	0,002	-0,178	-0,368	0,028	0,036	-0,023	0,165*	-0,255	0,053
MSPA (g)				0,266*	0,981	-0,680	0,010*	0,075	-0,335	0,516*	0,252*	0,514*	-0,240	-0,065*	0,274*
MSR (g)					0,448	0,429	0,208	-0,219	-0,081	0,127*	-0,076	0,266*	-0,153	0,138	0,408*
MST (g)						-0,545	0,051	0,026	-0,327	0,505*	0,219*	0,530*	-0,253	-0,033*	0,336*
R/PA							0,148*	-0,162	0,220*	-0,390	-0,285	-0,183	0,092	0,232	0,049
Col (%)								0,088	-0,500	0,324*	-0,341	0,049	-0,193	-0,059	0,385*
P g kg ⁻¹									-0,115	-0,060	-0,082	0,001	0,034	-0,268	-0,310
N g kg ⁻¹										-0,504	0,122*	-0,132	0,075	0,066	-0,184
K g kg ⁻¹											0,150*	0,256*	-0,217	-0,121	0,396*
Ca g kg ⁻¹												0,595*	0,254*	0,096	0,169*
Mg g kg ⁻¹													0,085	0,097	0,556*
Zn mg kg ⁻¹														0,284*	-0,111
Fe mg kg ⁻¹															-0,091

*significativo a 5 % de probabilidade.

APÊNDICE E - Matriz de correlação entre sobrevivência, altura, diâmetro do coleto, massa seca de parte áreas, massa seca total, razãorelação raiz/parte aérea; porcentagem de pontas colonizadas e teores de P, N, K, Ca, Mg, Zn, Fe e Mn para as mudas dos clones AEC0022, *C. citriodora* x *C. torelliana*, híbrido espontâneos entre *C. torelliana* x *C. citriodora*, inoculados com dois isolados de *Pisolithus* sp. isoladamente C9C ou C16 e em conjunto (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem (Comercial – CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial.

Clone	AEC0022							Teores							
	Correlação	Altura	Diâmetro	MSPA	MSR	MST	R/PA	Pontas colonizadas	P	N	K	Ca	Mg	Zn	Fe
Sobrevivência	0,332*	0,018	-0,279	-0,264	-0,308	-0,076	0,476*	0,236*	-0,332	0,116	-0,273	0,253*	0,370*	-0,077	0,098
Altura (cm)		0,451*	0,345*	0,290*	0,367*	-0,077	0,328*	-0,108	-0,136	0,075	-0,116	0,443*	0,002	-0,271	0,023
Diâmetro (mm)			0,343*	0,354*	0,392*	-0,002	-0,011	-0,097	0,021	0,024	-0,246	0,307*	-0,204	-0,177	-0,023
MSPA (g)				0,537*	0,940*	-0,410	-0,006	-0,099	-0,102	-0,102	-0,237	0,035	-0,509	-0,131	0,132*
MSR (g)					0,792*	0,503*	0,063	-0,124	-0,090	-0,087	-0,089	0,116	-0,305	-0,106	0,251*
MST (g)						-0,094	0,021	-0,122	-0,110	-0,109	-0,207	0,072	-0,491	-0,138	0,196*
R/PA							0,053	0,014	-0,036	0,014	0,109	0,135*	0,042	0,074	0,202*
Colonizadas (%)								0,454*	-0,789	0,273*	-0,484	-0,008	0,124*	0,186*	0,720*
P g kg ⁻¹									-0,547	0,154*	-0,362	-0,173	-0,081	0,086	0,549*
N g kg ⁻¹										-0,302	0,718*	0,154*	0,256*	-0,117	-0,816
K g kg ⁻¹											-0,181	0,226*	-0,099	0,152*	0,376*
Ca g kg ⁻¹												0,134*	0,299*	-0,083	-0,618
Mg g kg ⁻¹													-0,031	0,019	-0,110
Zn mg kg ⁻¹														0,299*	-0,192
Fe mg kg ⁻¹															0,338*

*significativo a 5 % de probabilidade.

APÊNDICE F - Matriz de correlação entre sobrevivência, altura, diâmetro do coleto, massa seca de parte áreas, massa seca total, relação raiz/parte aérea; porcentagem de pontas colonizadas e teores de P, N, K, Ca, Mg, Zn, Fe e Mn para as mudas dos clones AEC0043, *C. citriodora* x *C. torelliana*, híbrido espontâneos entre *C. torelliana* x *C. citriodora*, inoculados com dois isolados de *Pisolithus* sp. isoladamente C9C ou C16 e em conjunto (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem (Comercial - CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial.

Clone	AEC0043							Teores							
	Altura	Diâmetro	MSPA	MSR	MST	R/PA	Pontas colonizadas	P	N	K	Ca	Mg	Zn	Fe	Mn
Correlação															
Sobrevivência	0,158*	-0,124	-0,164	-0,129	-0,194	-0,034	0,195*	0,107	0,129*	0,371*	0,457*	0,241*	0,381*	0,554*	0,072
Altura (cm)		0,354*	-0,244	-0,362	-0,348	-0,093	0,307*	0,312*	-0,318	0,210*	0,351*	-0,018	0,127*	-0,148	0,242*
Diâmetro (mm)			0,012	-0,040	-0,002	-0,054	-0,364	0,026	0,239*	-0,133	0,011	0,002	0,010	-0,029	-0,217
MSPA (g)				0,059	0,941*	-0,729	-0,186	-0,451	0,159*	-0,271	-0,063	-0,080	-0,656	-0,287	-0,221
MSR (g)					0,393*	0,498*	-0,121	0,077	0,119	-0,016	-0,274	-0,114	-0,006	0,111	-0,127
MST (g)						-0,502	-0,212	-0,390	0,187*	-0,255	-0,151	-0,112	-0,606	-0,227	-0,247
R/PA							-0,053	0,367*	-0,056	0,068	-0,363	-0,147	0,497*	0,343*	0,111
Colonizadas (%)								0,511*	-0,671	0,680*	0,505*	0,333*	0,264*	-0,156	0,577*
P g kg ⁻¹									-0,336	0,586*	0,373*	0,433*	0,523*	0,114	0,339*
N g kg ⁻¹										-0,396	-0,089	0,106	-0,030	0,455*	-0,865
K g kg ⁻¹											0,583*	0,321*	0,430*	0,021	0,430*
Ca g kg ⁻¹												0,524*	0,398*	0,103	0,107
Mg g kg ⁻¹													0,426*	0,222*	-0,219
Zn mg kg ⁻¹														0,511*	0,078
Fe mg kg ⁻¹															-0,244

*significativo a 5 % de probabilidade.

APÊNDICE G - Matriz de correlação entre sobrevivência, altura, diâmetro do coleto, massa seca de parte áreas, massa seca total, relação raiz/parte aérea; porcentagem de pontas colonizadas e teores de P, N, K, Ca, Mg, Zn, Fe e Mn para as mudas dos clones AEC0045, *C. torelliana* x *C. citriodora*, híbrido espontâneos entre *C. torelliana* x *C. citriodora*, inoculados com dois isolados de *Pisolithus* sp. isoladamente C9C ou C16 e em conjunto (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem(Comercial – CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial.

Clone		AEC0045														
Correlação	Altura	Diâmetro	MSPA	MSR	MST	R/PA	Pontas colonizadas	Teores								
								P	N	K	Ca	Mg	Zn	Fe	Mn	
Sobrevivência	0,081	0,069	0,031	-0,154	-0,007	-0,053	-	0,047	0,123*	0,301*	-0,065	0,203*	0,108	0,007	0,332*	
Altura (cm)		0,471*	-0,069	-0,200	-0,111	-0,015	-	-0,129	0,360*	0,164*	0,224*	-0,047	0,140*	-0,177	0,441*	
Diâmetro (mm)			-0,267	-0,123	-0,274	0,136*	-	0,450*	0,288*	0,112	0,051	-0,117	0,246	-0,221	0,019	
MSPA (g)				0,232*	0,973*	-0,651	-	-0,367	-0,390	0,079	0,362*	0,213	-0,670	-0,157	-0,011	
MSR (g)					0,444*	0,461*	-	-0,210	-0,122	-0,073	0,189*	0,104*	-0,191	0,004	-0,101	
MST (g)						-0,490	-	-0,387*	-0,387	0,056	0,378*	0,220	-0,661*	-0,143*	-0,034	
R/PA							-	0,199	0,105	-0,216	-0,223	-0,155	0,454	0,154	-0,149	
Colonizadas (%)								-	-	-	-	-	-	-	-	
P g kg ⁻¹									0,147*	0,071	-0,192	-0,285	0,265*	-0,157	-0,480	
N g kg ⁻¹										0,205*	0,114	0,137*	0,273*	0,072	0,486*	
K g kg ⁻¹											0,383*	0,486*	-0,358	-0,357	0,308*	
Ca g kg ⁻¹												0,414	-0,227	0,077	0,316*	
Mg g kg ⁻¹													-0,523	-0,004	0,461*	
Zn mg kg ⁻¹														0,389	-0,038	
Fe mg kg ⁻¹															0,155	

*significativo a 5 % de probabilidade

APÊNDICE H - Matriz de correlação entre sobrevivência, altura, diâmetro do coleto, massa seca de parte áreas, massa seca total, razão raiz/parte aérea; porcentagem de pontas colonizadas e conteúdos de P, N, K, Ca, Mg, Zn, Fe e Mn para as mudas dos clones AEC0007, *C. torelliana* x *C. citriodora*, inoculados com isolados de *Pisolithus* sp. e não inoculados com (Controle) e sem (Comercial) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial.

Clone	AEC0007							
	Conteúdos							
Correlação	P	N	K	Ca	Mg	Zn	Fe	Mn
Sobrevivência	0,011	-0,162	0,071	0,038	0,028	-0,051	0,103	0,067
Altura (cm)	0,068	-0,406	0,171*	0,086*	0,106	0,238	0,161*	0,321*
Diâmetro (mm)	0,155*	-0,389	0,147*	0,172*	0,098	0,312*	0,049	0,127*
MSPA (g)	0,958*	-0,383	0,981*	0,966*	0,945*	0,874*	0,520*	0,758*
MSR (g)	0,186*	0,021	0,253*	0,217*	0,274*	0,195*	0,282*	0,387*
MST (g)	0,926*	-0,351	0,961*	0,940*	0,932*	0,850*	0,539*	0,781*
R/PA	-0,696	0,353*	-0,657	-0,668	-0,568	-0,654	-0,320	-0,369*
Colonizadas (%)	0,005	-0,318	0,078	-0,065	0,036	-0,087	-0,008	0,246
P g kg ⁻¹	0,346*	-0,082	0,050	0,055	0,043	0,135*	-0,126	-0,148
N g kg ⁻¹	-0,323	0,947*	-0,403	-0,288	-0,319	-0,308	-0,148	-0,346
K g kg ⁻¹	0,470*	-0,580	0,659*	0,511*	0,495*	0,418*	0,256*	0,546*
Ca g kg ⁻¹	0,227*	0,031	0,262*	0,479*	0,388*	0,368*	0,191*	0,229*
Mg g kg ⁻¹	0,476*	-0,092	0,524*	0,625*	0,736*	0,533*	0,283*	0,637*
Zn mg kg ⁻¹	-0,195	0,072	-0,257	-0,148	-0,169	0,240*	0,137*	-0,200
Fe mg kg ⁻¹	-0,151	0,089	-0,056	-0,016	0,005	0,026	0,700*	-0,111
P g mg planta ⁻¹	0,172	-0,135	0,328*	0,279*	0,388*	0,231*	0,095*	0,798*
Mn g kg ⁻¹		-0,370	0,930*	0,921*	0,889*	0,874*	0,460*	0,665*
N mg planta ⁻¹			-0,457	-0,351	-0,337	-0,366	-0,174	-0,334
K mg planta ⁻¹				0,958*	0,946*	0,843*	0,499*	0,788*
Ca mg planta ⁻¹					0,965*	0,878*	0,504*	0,739*
Mg mg planta ⁻¹						0,834*	0,460*	0,809*
Zn mg planta ⁻¹							0,590*	0,658*
Fe mg planta ⁻¹								0,316*

*significativo a 5 % de probabilidade.

APÊNDICE I - Matriz de correlação entre sobrevivência, altura, diâmetro do coleto, massa seca de parte áreas, massa seca total, razão raiz/parte aérea; porcentagem de pontas colonizadas e conteúdo de P, N, K, Ca, Mg, Zn, Fe e Mn para as mudas dos clones AEC0022, *C. citriodora* x *C. torelliana*, inoculados com dois isolados de *Pisolithus* sp. isoladamente C9C ou C16 e em conjunto (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem (Comercial - CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial.

Clone	AEC0022							
	Conteúdos							
Correlação	P	N	K	Ca	Mg	Zn	Fe	Mn
Sobrevivência	-0,188	-0,367	-0,178	-0,414	-0,114	0,084	-0,293	-0,077
Altura (cm)	0,287*	-0,181	0,372*	0,258*	0,506*	0,375*	0,067	0,214*
Diâmetro (mm)	0,287*	-0,028	0,348*	0,189*	0,428*	0,200*	0,168*	0,161*
MSPA (g)	0,923*	-0,088	0,846*	0,823*	0,878*	0,593*	0,660*	0,625*
MSR (g)	0,463*	-0,131	0,433*	0,441*	0,495*	0,308*	0,313*	0,484*
MST (g)	0,855*	-0,116	0,787*	0,774*	0,835*	0,553*	0,604*	0,647*
R/PA	-0,401	-0,082	-0,372	-0,353	-0,318	-0,395	-0,281	-0,074
Colonizadas (%)	0,160*	-0,836	0,133*	-0,274	0,010	0,121*	0,062	0,574*
P g kg ⁻¹	0,285*	-0,493	-0,004	-0,299	-0,145	-0,201	-0,015	0,381*
N g kg ⁻¹	-0,288	0,937*	-0,233	0,315*	-0,023	0,112	-0,112	-0,678
K g kg ⁻¹	-0,027	-0,265	0,434*	-0,204	0,041	-0,212	-0,031	0,269*
Ca g kg ⁻¹	-0,351	0,637*	-0,294	0,354*	-0,141	0,008	-0,207	-0,580
Mg g kg ⁻¹	-0,021	0,188*	0,176*	0,124*	0,502*	0,023	0,004	-0,066
Zn mg kg ⁻¹	-0,515	0,107	-0,509	-0,315	-0,447	0,375*	-0,123	-0,378
Fe mg kg ⁻¹	-0,095	-0,244	-0,092	-0,168	-0,125	0,126*	0,633*	0,167*
P g mg planta ⁻¹	0,327*	-0,794	0,305*	-0,223	0,070	-0,015	0,290*	0,845*
Mn g kg ⁻¹		-0,250	0,819*	0,686*	0,796*	0,502*	0,623*	0,743*
N mg planta ⁻¹			-0,198	0,278*	0,008	-0,009	-0,202	-0,652
K mg planta ⁻¹				0,643*	0,829*	0,426*	0,541*	0,701*
Ca mg planta ⁻¹					0,770*	0,579*	0,514*	0,271*
Mg mg planta ⁻¹						0,528*	0,550*	0,519*
Zn mg planta ⁻¹							0,5698*	0,331*
Fe mg planta ⁻¹								0,554*

*significativo a 5 % de probabilidade.

APÊNDICE J - Matriz de correlação entre sobrevivência, altura, diâmetro do coleto, massa seca de parte áreas, massa seca total, razão raiz/parte aérea; porcentagem de pontas colonizadas e conteúdo de P, N, K, Ca, Mg, Zn, Fe e Mn para as mudas dos clones AEC0043, *C. citriodora* x *C. torelliana*, inoculados com dois isolados de *Pisolithus* sp. isoladamente C9C ou C16 e em conjunto (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem (Comercial – CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial.

Clone	AEC0043							
	Conteúdos							
Correlação	P	N	K	Ca	Mg	Zn	Fe	Mn
Sobrevivência	-0,050	-0,011	0,172 *	0,076	-0,019	0,204 *	0,215 *	0,004
Altura (cm)	-0,242	-0,384	-0,231	-0,118	-0,255	-0,125	-0,265	0,037
Diâmetro (mm)	0,010	0,213 *	-0,279	0,006	0,011	0,067	-0,020	-0,210
MSPA (g)	0,673*	0,280 *	0,522 *	0,906 *	0,837 *	0,681 *	0,851 *	0,447 *
MSR (g)	0,227 *	0,218 *	0,254 *	-0,003	0,038	0,044	0,099	-0,058
MST (g)	0,697 *	0,332 *	0,567 *	0,833 *	0,784 *	0,642 *	0,817 *	0,392
R/PA	-0,281	-0,073	-0,219	-0,772	-0,665	-0,568	-0,605	-0,368 *
Colonizadas (%)	-0,008	-0,646	0,278 *	0,028	0,002	0,041	-0,224	0,397
P g kg ⁻¹	0,132 *	-0,245	0,106	-0,225	-0,138	-0,017	-0,369	0,045
N g kg ⁻¹	0,075	0,922 *	-0,146	0,128 *	0,205 *	0,211 *	0,409 *	-0,652 *
K g kg ⁻¹	-0,015	-0,382	0,475 *	0,013	-0,067	0,148 *	-0,190	0,257
Ca g kg ⁻¹	-0,092	-0,098	0,138 *	0,337 *	0,154 *	0,421 *	0,094	0,094
Mg g kg ⁻¹	0,105	0,218 *	0,079	0,128 *	0,456 *	0,339 *	0,084	-0,261
Zn mg kg ⁻¹	-0,351	-0,055	-0,079	-0,418	-0,380	0,057	-0,389	-0,328 *
Fe mg kg ⁻¹	-0,039	0,353 *	-0,107	-0,164	-0,128	0,070	0,235 *	-0,380 *
P g mg planta ⁻¹	-0,090	-0,852	0,119	-0,156	-0,313	-0,211	-0,352	0,760
Mn g kg ⁻¹		0,213 *	0,669 *	0,681 *	0,736*	0,588 *	0,632 *	0,406 *
N mg planta ⁻¹			-0,024	0,235 *	0,375 *	0,324 *	0,468 *	-0,574
K mg planta ⁻¹				0,617 *	0,554 *	0,622 *	0,493 *	0,506 *
Ca mg planta ⁻¹					0,852	0,843	0,858	0,476 *
Mg mg planta ⁻¹						0,757	0,793	0,258 *
Zn mg planta ⁻¹							0,746	0,304 *
Fe mg planta ⁻¹								0,250 *

*significativo a 5 % de probabilidade.

APÊNDICE K - Matriz de correlação entre sobrevivência, altura, diâmetro do coleto, massa seca de parte áreas, massa seca total, razão raiz/parte aérea; porcentagem de pontas colonizadas e conteúdo de P, N, K, Ca, Mg, Zn, Fe e Mn para as mudas dos clones AEC0045, *C. torelliana* x *C. citriodora*, inoculados com dois isolados de *Pisolithus* sp. isoladamente C9C ou C16 e em conjunto (MIX) e não inoculados com (Controle - CTR) e sem(Comercial- CML) redução da adubação fosfatada no substrato de produção das mudas em viveiro comercial.

Clone	AEC0045							
	Conteúdos							
Correlação	P	N	K	Ca	Mg	Zn	Fe	Mn
Sobrevivência	-0,029	0,203*	0,175*	0,003	0,080	0,085	0,004	0,192*
Altura (cm)	-0,072	0,253*	-0,016	-0,010	-0,080	0,002	-0,094	0,150*
Diâmetro (mm)	0,013	0,297*	-0,275	-0,183	-0,281	-0,245	-0,311	-0,221
MSPA (g)	0,767*	-0,348	0,855*	0,968*	0,972*	0,868*	0,844*	0,883*
MSR (g)	0,278*	-0,052	0,137*	0,274*	0,230*	0,169*	0,199*	0,130*
MST (g)	0,771*	-0,332	0,819*	0,955*	0,948*	0,838*	0,823*	0,843*
R/PA	-0,572	0,075	-0,683	-0,592	-0,636	-0,632	-0,542	-0,667
P g kg ⁻¹	-0,038	0,122*	-0,329	-0,359	-0,404	-0,352	-0,421	-0,502
N g kg ⁻¹	-0,254	0,952	-0,193	-0,347	-0,319	-0,273	-0,309	-0,133
K g kg ⁻¹	0,202*	0,264*	0,475*	0,151*	0,196*	-0,098	-0,106	0,219*
Ca g kg ⁻¹	0,370*	0,115*	0,399*	0,550*	0,432*	0,275*	0,400*	0,446*
Mg g kg ⁻¹	0,135*	0,199*	0,413*	0,260*	0,431*	0,019	0,191*	0,377*
Zn mg kg ⁻¹	-0,545	0,233*	-0,711	-0,650	-0,746	-0,306	-0,425	-0,614
Fe mg kg ⁻¹	-0,167	0,044	-0,272	-0,114	-0,151	-0,006	0,378*	-0,093
P g mg planta ⁻¹	-0,014	0,474*	0,220*	0,038	0,097	0,055	0,082	0,429*
Mn g kg ⁻¹		-0,211	0,753*	0,771*	0,729*	0,736*	0,673*	0,730*
N mg planta ⁻¹			-0,146	-0,306	-0,267	-0,248	-0,293	-0,113
K mg planta ⁻¹				0,812*	0,891*	0,757*	0,651*	0,895*
Ca mg planta ⁻¹					0,954*	0,795*	0,844*	0,864*
Mg mg planta ⁻¹						0,797*	0,817*	0,903*
Zn mg planta ⁻¹							0,812*	0,826*
Fe mg planta ⁻¹								0,783*

*significativo a 5 % de probabilidade.