EFEITO DA INOCULAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS NO APROVEITAMENTO DE FOSFATOS NATURAIS E NA SIMBIOSE COM *Rhizobium*, EM SOJA E NO FEIJOEIRO

MÁRCIA HELENA ALLEONI DE OLIVEIRA

Engenheiro Agrônomo

Orientadora : Profa. Dra. ELKE J. B. N. CARDOSO

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

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Abril - 1987

048e

Oliveira, Márcia Helena Alleoni de

Efeito da inoculação de fungos micorrízicos no aproveitamento de fosfatos naturais e na simbiose com *Rhizobium*, em soja e no feijoeiro. Piracicaba, 1987.

112p.

Diss. (Mestre) - ESALQ

Bibliografia.

1. Feijão - Micorriza. 2. Fosfato de rocha. 3. Micorriza - Inoculação. 4. Nitrogênio - Fixação. 5. Soja - Micorriza. 6. Dissertação. 1. Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz', Piracicaba.

CDD 633.34
635.652

EFEITO DA INOCULAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS NO
APROVEITAMENTO DE FOSFATOS NATURAIS E NA SIMBIOSE COM
Rhizobium, EM SOJA E NO FEIJOEIRO.

Márcia Helena Alleoni de Oliveira

Aprovada em 10.06.1987

Comissão julgadora:

Profª Dra. Elke J.B.N. Cardoso

ESALQ/USP

Prof. Dr. Valdomiro C. de Bittencourt

ESALQ/USP

Dr. Eli S. Lopes

IAC

Profa. Dra. Elke J.B.N. Cardoso
Orientadora

Aos meus pais Odair e Maria de Lourdes,
e ao meu irmão Marcos Eduardo,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

- À Profa. Dra. Elke J.B.N. Cardoso, pela orientação, estímulo e amizade que nos foram demonstrados;
- À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" e a seus mestres;
- À CAPES pela concessão da bolsa de estudos;
- Ao Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes pela oportunidade de trabalho concedida e auxílio prestado ;
- Aos Profs. Drs. Toshiaki Kinjo e Ronaldo I. Silveira, pela orientação nos cálculos de adubação;
- Ao Prof. Dr. Décio Barbin, pela orientação nas análises estatísticas;
- Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura pelos trabalhos prestados;
- Ao Centro de Informática na Agricultura pelas análises estatísticas processadas;

Aos colegas, amigos e outras pessoas que, de alguma maneira, contribuíram para que este trabalho fosse concluído, registramos nossos agradecimentos.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	vi
RESUMO	ix
SUMMARY	xi
 1. INTRODUÇÃO	 1
 2. REVISÃO DE LITERATURA	 4
2.1. Aspectos gerais das micorrizas VA	4
2.2. Micorrizas VA em leguminosas	12
2.2.1. Ocorrência e efeitos nas plantas ...	12
2.2.2. Efeitos do fósforo	18
2.2.2.1. Fosfatos solúveis	18
2.2.2.2. Fosfatos de baixa solubili- dade	 25
 3. MATERIAL E MÉTODOS	 34
3.1. Material	34
3.1.1. Plantas	34
3.1.2. Solo	34
3.1.3. <i>Rhizobium</i> spp.	35
3.1.4. Fungos micorrízicos vesículo-arbuscu- lares	 35
3.1.5. Fosfatos de rocha	36
3.2. Métodos	36
3.2.1. Preparo do solo e vasos de plantio .	36
3.2.2. Calagem e adubação	36
3.2.3. Preparo dos inóculos	38
3.2.4. Instalação e condução das culturas .	39
3.2.5. Delineamento experimental	41
3.2.6. Colheita dos experimentos	41

3.3. Avaliação dos experimentos	41
3.3.1. Peso de matéria seca da parte aérea total das plantas	41
3.3.2. Peso de vagens	42
3.3.3. Atividade total e específica da ni- trogenase	42
3.3.4. Relação entre os pesos de matéria se- ca da parte aérea e matéria fresca da raiz.	44
3.3.5. Peso de nódulos	44
3.3.6. Análise química da parte aérea to- tal das plantas	44
3.3.7. Determinação da porcentagem de colo- nização das raízes	45
3.3.8. Contagem de esporos do fungo MVA no solo	46
3.3.9. Análise estatística	47
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1. Experimento com soja	48
4.2. Experimento com feijão	69
5. CONCLUSÕES	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91

LISTA DE TABELAS

TABELA Nº		Página
1	Análise química das amostras do solo Areia Quartzosa, série Ribeirão Claro	35
2	Tipos, teores de P_{205} total e solúvel em ácido cítrico 2%, e granulometria (ABNT) dos fosfatos de rocha utilizados	37
3	Pesos médios da matéria seca da parte aérea total (com vagens) e de vagens de soja cv. Viçõja, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo MVA <i>Glomus macrocarpum</i> (média de 4 repetições)	49
4	Teores médios de nitrogênio, fósforo e potássio na parte aérea total da soja cv. Viçõja, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo MVA <i>G. macrocarpum</i> (média de 4 repetições)	56
5	Médias das quantidades totais acumuladas de nitrogênio, fósforo e potássio na parte aérea total da soja cv. Viçõja, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo MVA <i>G. macrocarpum</i> (4 repetições).	58

6	Valores médios relativos ao peso da matéria seca de nódulos, atividade total e específica da nitrogenase, da soja cv. Viçosa, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo MVA <i>G. macrocarpum</i> (média de 4 repetições)	61
7	Valores médios da relação entre os pesos da matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria fresca de raízes (MFR), porcentagem de colonização das raízes e número de esporos no solo do fungo <i>G. macrocarpum</i> , com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo MVA <i>G. macrocarpum</i> , em soja cv. Viçosa (média de 4 repetições).	65
8	Pesos médios da matéria seca da parte aérea total (com vagens) e de vagens do feijão cv. Carioca, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo MVA <i>G. leptotichum</i> (média de 4 repetições).	70
9	Teores médios de nitrogênio, fósforo e potássio na parte aérea total do feijão cv. Carioca, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo MVA <i>G. leptotichum</i> (média de 4 repetições)	75

10	Médias das quantidades totais acumuladas de nitrogênio, fósforo e potássio na parte aérea total do feijão cv. Carioca, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo MVA <i>G. leptotichum</i> (4 repetições)	78
11	Valores médios do peso da matéria seca de nódulos, e da relação entre os pesos da matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria fresca de raízes (MFR) do feijão cv. Carioca, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo MVA <i>G. leptotichum</i> (média de 4 repetições)	80
12	Valores médios relativos à porcentagem de colonização das raízes e ao número de esporos do fungo MVA <i>G. leptotichum</i> no solo, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência de inoculação com o fungo MVA <i>G. leptotichum</i> (média de 4 repetições)	84

EFEITO DA INOCULAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS NO APROVEITAMENTO DE FOSFATOS NATURAIS E NA SIMBIOSE COM *Rhizobium*, EM SOJA E NO FEIJOEIRO

Autora: MÁRCIA HELENA ALLEONI DE OLIVEIRA

Orientadora: Profa. Dra. ELKE J.B.N. CARDOSO

RESUMO

Foram conduzidos dois experimentos em casa de vegetação, um com soja [*Glycine max* (L.) Merrill] cv. Viçosa, e outro com feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca. Ambos os experimentos se constituíram de 28 tratamentos, com 4 blocos ao acaso: quatro tipos de fosfato de rocha (Patos de Minas, Araxá, Jacupiranga e Catalão), todos com três doses de fósforo (64, 128 e 256 ppm de P), mais dois controles, um sem fósforo e outro com superfosfato triplo na dose de 18 ppm de P, testados na presença e na ausência de fungo micorrízico VA.

Todos os tratamentos do experimento com soja foram inoculados com *Bradyrhizobium japonicum* e o fungo MVA utilizado foi *Glomus macrocarpum*. No experimento com feijão todos os tratamentos foram inoculados com *Rhizobium phaseoli* e o fungo MVA utilizado foi *Glomus leptotichum*. Em ambos os experimentos usou-se uma Areia Quartzosa previamente esterilizada através da tindalização com vapor fluente. A colheita do experimento com soja foi realizada aos 70 dias após a semeadura, e a do experimento com feijão aos 76 dias após a semeadura.

No experimento com soja observou-se que em todos os tratamentos a presença do fungo MVA aumentou significativamente os pesos da matéria seca da parte aérea total e de nódulos, as quantidades totais acumuladas de nitrogênio e fós

foro na parte aérea, e a atividade total da nitrogenase, não influenciando porém, na atividade específica da nitrogenase. De maneira geral, os tratamentos com *G. macrocarpum* apresentaram tendência em possuir maior teor em fósforo do que aqueles sem este endófito, ocorrendo o contrário nos teores de nitrogênio e potássio, provavelmente devido ao efeito de diluição. Na ausência do fungo MVA, nenhum dos fosfatos de rocha, em qualquer dose, mostrou vantagem sobre o controle sem fósforo. Para a maioria das variáveis analisadas houve equivalência entre os tratamentos com superfosfato triplo e fungo MVA, e a maior dose de fosfato Catalão e Araxá na presença deste endófito.

No experimento com feijão, os tratamentos com micorriza de maneira geral não apresentaram diferenças significativas em relação aos tratamentos sem micorriza, embora houvesse tendência das plantas micorrizadas apresentarem maiores valores para peso da matéria seca da parte aérea total, de nódulos, de vagens, para a relação entre os pesos da matéria seca da parte aérea e matéria fresca de raízes, e para as quantidades totais acumuladas de nitrogênio e potássio. A maioria dos tratamentos inoculados com o fungo *G. leptotichum* apresentou maior quantidade total acumulada e teor em fósforo, mas não influenciou nos teores de nitrogênio e potássio, provavelmente devido ao efeito de diluição. Na presença ou ausência de fungo MVA os fosfatos de rocha não mostraram vantagem sobre o controle sem fósforo, sobressaindo-se apenas o superfosfato triplo, em alguns casos.

Em ambos os experimentos, os tratamentos que receberam o fungo MVA não apresentaram diferenças entre si em relação à porcentagem de colonização das raízes e esporulação dos fungos.

EFFECT OF VAM FUNGI AND ROCK PHOSPHATES ON THE DEVELOPMENT OF BEANS AND SOYBEANS AND THEIR SYMBIOSES WITH *Rhizobium*

Author: MÁRCIA HELENA ALLEONI DE OLIVEIRA

Adviser: Profa. Dra. ELKE J.B.N. CARDOSO

SUMMARY

Two experiments were conducted in a greenhouse, with soybeans [*Glycine max* (L.) Merrill] cv. Viçoja, and with beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca. Twenty-eight different treatments were used, in four random blocks: four types of rock phosphate (Patos de Minas, Araxá, Jacupiranga, and Catalão), all of them with three doses of phosphorus (64, 128 and 256 ppm P), plus two controls, one without phosphorus and the other with 18 ppm P from triple superphosphate, tested in the presence and in the absence of VAM fungus.

All treatments of the experiment with soybeans were inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* and the VAM fungus used was *Glomus macrocarpum*. In the experiment with beans all treatments were inoculated with *Rhizobium phaseoli* and the VAM fungus used was *Glomus leptotichum*. In both experiments were used a Quartz Sand previously sterilized by continuous steam. The soybean experiment was harvested 70 days after sowing, and the bean experiment after 76 days.

In the soybean experiment was observed that in all treatments the presence of VAM fungus increased significantly the total shoot and nodules dry weights, the total accumulated amounts of shoot nitrogen and phosphorus, and the total nitrogenase activity, having no influence,

however, over the specific nitrogenase activity. In general, the treatments with *G. macrocarpum* showed a tendency of having greater shoot phosphorus concentrations than the ones without this endophyte, the opposite occurring with the nitrogen and potash concentrations, probably due to dilution effect. In the absence of VAM fungus, none of the rock phosphates, in any dose, showed any advantage over the control without phosphorus. The treatments with triple superphosphate and VAM fungus were equivalent to the ones with the highest dose of Catalão and Araxã phosphates in the presence of this endophyte for the majority of the analyzed parameters.

In the bean experiment the treatments with mycorrhiza didn't show significant differences in relation to the treatments without mycorrhiza, although there had been a tendency of the mycorrhizal plants in showing greater values of shoot, nodules and pods dry weights, of the total shoot dry weight/root fresh weight ratio, and of the total accumulated amounts of shoot nitrogen and potash than non-mycorrhizal plants. The majority of the treatments inoculated with *G. leptotichum* showed greater total accumulated amount of shoot phosphorus and shoot phosphorus concentration, but it didn't influence the nitrogen and potash concentrations probably due to dilution effect. In the presence or in the absence of VAM fungus the rock phosphates didn't show any advantages over the control without phosphorus, only the triple superphosphate standing out in some cases.

In both experiments the treatments that received VAM fungus didn't show differences among each other in relation to the root colonization percentage and fungi sporulation.

1. INTRODUÇÃO

Os microrganismos exercem um papel vital em muitos processos fisiológicos no ecossistema, e estão invariavelmente presentes na rizosfera das plantas (BAREA & AZCON-AGUILAR, 1983). A absorção de nutrientes inorgânicos pelas plantas é influenciada pelos microrganismos presentes na rizosfera, na superfície e no interior dos tecidos da raiz, e podem alterar a morfologia e fisiologia das mesmas (DAFT & EL-GIAHMI, 1975).

Endófitos simbióticos como *Rhizobium* e fungos micorrízicos vesículo-arbusculares são exemplos de microrganismos envolvidos na nutrição vegetal, relacionados a dois elementos imprescindíveis às plantas, o nitrogênio e o fósforo. A maioria das leguminosas possui em suas raízes esses dois tipos de microrganismos simbióticos (ASAI, 1948).

O *Rhizobium* em culturas de leguminosas bem manejadas, pode ser responsável pela fixação de quase todo o nitrogênio das plantas, substituindo com vantagem econômica, a adubação nitrogenada (CARDOSO, 1984).

A associação micorrízica do tipo vesículo - arbuscular é o tipo mais comum de associação benéfica existente entre as raízes de plantas e espécies de fungos da família Endogonaceae (MOSSE, 1973). A micorriza, através do aumento da superfície de absorção das raízes proporcionado pelas hifas do fungo, é responsável pelo aumento da absorção de fósforo

e os outros elementos de pequena mobilidade no solo, principalmente em solos de baixa fertilidade (SANDERS & TINKER, 1971; MOSSE, 1977b).

Com o aumento na absorção de fósforo, nota-se o melhor desenvolvimento da planta hospedeira e, no caso de leguminosas, um aumento na nodulação e na atividade da nitrogenase (DAFT & EL-GIAHMI, 1974, 1975), com consequentes reflexos na produtividade (ROSS & HARPER, 1970), uma vez que o fósforo é necessário para tais processos.

A maioria dos solos de regiões tropicais, particularmente os solos brasileiros, é extremamente deficiente em fósforo, e apresenta também o fenômeno de fixação deste elemento. Portanto, para a obtenção de bons rendimentos das culturas, são necessárias pesadas adubações fosfatadas. Neste caso, os fungos micorrízicos têm papel de destaque, podendo reduzir parte da necessidade de adubação fosfatada, uma vez que exploram melhor o fósforo do solo.

Os aumentos dos preços de fertilizantes fosfatados solúveis, a dependência externa do País aos produtos, e a descoberta de novas jazidas de fosfato de rocha, induziram a pesquisa com o objetivo de utilizar os fosfatos de rocha "in natura", moídos, ou semi-industrializados, como fonte alternativa de suprimento de fósforo para a planta, podendo se tornar uma maneira econômica de se fertilizar o solo (OLIVEIRA et alii, 1984; LOPES, 1983).

Muitos experimentos têm sido realizados com leguminosas usando fontes de fósforo de baixa solubilidade, como os fosfatos de rocha, em adição à micorriza, com resultados bastante promissores (MOSSE et alii, 1976; CARDOSO, 1984, 1985, 1986).

Entre as leguminosas cultivadas no Brasil, a soja se destaca pela grande importância econômica, cultivada numa área total de 9.421.202 ha e produção de 15.540.792 t de grãos (ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL, 1985). O feijão, embora cultivado em menor área, de 5.320.150 ha, e produção bem mais baixa de 2.625.676 t de grãos (ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL, 1985), é parte indispensável na dieta do brasileiro, constituindo-se na principal fonte de proteína para as populações de baixa renda.

Em vista disso, torna-se necessário um manejo adequado dessas culturas, considerando as duas simbioses e o melhor aproveitamento dos adubos, visando incrementos cada vez maiores na produtividade e economia de insumos.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação com fungos micorrízicos sobre o aproveitamento de quatro tipos de fosfato de rocha usados em três doses, comparando-o com o do fosfato solúvel, e sobre a simbiose com *Rhizobium*, em soja e no feijoeiro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. ASPECTOS GERAIS DAS MICORRIZAS VA

Micorrizas são associações simbióticas entre certos fungos do solo e raízes da maioria das espécies vegetais. Os estudos sobre este tipo de associação foram iniciados por volta do ano de 1885, quando Frank¹, citado por POWELL & BAGYARAJ (1984) empregou o termo micorriza.

As micorrizas podem ser agrupadas quanto ao tipo de colonização das raízes, em ectomicorrizas, endomicorrizas e ectoendomicorrizas (GERDEMANN, 1968). Em todos os tipos, o fungo penetra a raiz colonizando apenas o córtex, intercelularmente no caso das ectomicorrizas e intracelularmente no caso das ectoendomicorrizas e endomicorrizas.

LEWIS (1975) sugeriu a classificação das micorrizas em quatro categorias principais: ectomicorriza, endomicorriza vesículo-arbuscular (MVA), micorrizas ericáceas e micorrizas orquidáceas. Nas ectomicorrizas, a superfície do sistema radicular fica recoberta por um manto compacto formado pelas hifas do fungo. As hifas penetram entre as células epidérmicas e corticais da raiz, formando uma rede de hifas

¹ FRANK, A.B. Über die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Baume durch unterirdische Pilze. Ber. Dtsch. Bot. Ges., s.l., 3: 128, 1885.

intercelulares denominada rede de Hartig (GERDEMANN, 1974). São encontradas principalmente em espécies das famílias Pinaceae, Betulaceae e Fagaceae, cujos hospedeiros são, com poucas exceções, árvores ou arbustos de clima temperado. A maioria dos fungos que produzem ectomicorriza são basidiomicetos, alguns ascomicetos, poucos fungos imperfeitos e ficomicetos. A colonização típica das ectomicorrizas induz a um encurtamento, engrossamento e ramificação das raízes, modificando a morfologia das mesmas (GERDEMANN, 1974).

Plantas da família Ericaceae são normalmente infectadas por fungos micorrízicos. Dois tipos de associação micorrízica foram encontrados, conhecidos como tipo ericóide e arbutóide. O tipo ericóide é o mais importante e encontrado em plantas do gênero *Erica*, *Vaccinium*, *Rhododendron* e *Calluna*; a infecção consiste de um complexo de hifas intracelulares nas células corticais externas, e não formam manto. Um dos fungos envolvidos neste tipo de associação é o ascomiceto *Pezizella ericae* (READ, 1974; READ & STRIBLEY, 1975). As micorrizas do tipo arbutóide são do tipo ectoendomicorriza, e encontradas nos gêneros *Actous*, *Arbutus* e *Arctostaphylos* (READ & STRIBLEY, 1975). As plantas apresentam tanto um revestimento micelial externo nas raízes modificadas, semelhante ao que ocorre nas ectomicorrizas, como penetração intracelular de hifas em células do córtex, semelhante a estruturas de endomicorrizas. Os fungos envolvidos neste tipo de associação são normalmente basidiomicetos, alguns idênticos aos que formam ectomicorriza em plantas florestais (HAYMAN, 1978).

A plântula de orquídea, que se desenvolve a partir de uma semente minúscula, com muito pouco material de reserva, tem no início crescimento reduzido, e demora bastante tempo para que se instale um processo eficiente de fotossíntese. Nesse estágio, a plântula é dependente de fungos micorrízicos, cujas espécies são na maioria das vezes pertencem

centes ao gênero *Rhizoctonia*, as quais formam um complexo de hifas intracelulares no córtex da raiz, fornecendo os nutrientes carbonados necessários ao desenvolvimento das plântulas (HADLEY, 1975; PURVES & HADLEY, 1975; WARCUP, 1975).

As associações micorrízicas do tipo vesículo - arbuscular (MVA) formam o grupo mais comum das associações simbióticas que se estabelecem entre as raízes da maioria das plantas e espécies de fungos da família Endogonaceae (GERDEMANN, 1968; MOSSE, 1973). Essa associação ocorre em um grupo extremamente diverso de plantas, desde Briófitas até Pteridófitas, Gymnospermas e Angiospermas (GERDEMANN, 1968; NICOLSON, 1967). Certas plantas, porém, como as das famílias Juncaceae, Chenopodiaceae, Urticaceae, Amaranthaceae, Cruciferae e outras, não formam micorrizas (GERDEMANN, 1968), embora já tenha se obtido infecção micorrízica em Crucíferas (FRONTERA & DELORENZINI, 1981).

As micorrizas vesículo-arbusculares são de extrema importância, uma vez que ocorrem em inúmeras culturas de interesse agrônômico, como as pertencentes às famílias das Gramíneas e Leguminosas (GERDEMANN, 1968) e, nesta revisão, serão descritos alguns aspectos apenas deste tipo de associação micorrízica.

A compreensão da taxonomia dos fungos formadores de micorriza VA tem sido dificultada, uma vez que esses fungos não podem ser cultivados "in vitro" e são considerados simbiontes obrigatórios. As espécies de fungos formadores de MVA pertencem, segundo GERDEMANN & TRAPPE (1974) à família Endogonaceae, da Ordem Endogonales, e constam dos gêneros *Glomus*, *Gigaspora*, *Sclerocystis* e *Acaulospora*. Posteriormente, Trappe & Schenck¹, citados por CARDOSO (1984), em trabalho so-

¹ TRAPPE, J.M. & SCHENCK, N. Taxonomy of the fungi forming endomycorrhizae. A. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi

bre taxonomia de fungos MVA, incluíram na ordem Endogonales o gênero *Endogone*, que não forma micorriza VA e, além dos quatro gêneros descritos anteriormente, *Entrophospora* e *Glaziella*, como possíveis formadoras de MVA.

Neste tipo de associação a infecção é inter e intracelular no córtex da raiz, havendo a formação de estruturas típicas.

O estabelecimento da associação inicia-se pela quebra da dormência dos propágulos do simbionte na região da rizosfera, ocorrendo a germinação dos esporos e emissão do tubo germinativo. O alongamento do tubo germinativo resulta em hifas altamente ramificadas, septadas, chamadas infectivas (POWELL, 1976). Estas, encontrando uma parte da raiz suscetível à colonização, formarão o apressório e penetrarão nas células da epiderme, provavelmente através de produção de enzimas e pressão na parede celular (SWARD, 1978), ou poderão penetrar entre as células da epiderme e se espalharem intercelularmente (COX & SANDERS, 1974; GIANINAZZI-PEARSON et alii, 1981b). O fungo então coloniza o córtex da raiz e as hifas se multiplicam inter e intracelularmente, embora não invadam a endoderme nem a região meristemática de raízes jovens.

Logo após a infecção, a hifa que cresceu dentro de uma célula pode mostrar inúmeras ramificações dicotômicas, formando uma estrutura denominada arbúsculo. A função do arbúsculo parece ser a de local de troca de nutrientes entre o fungo e o hospedeiro (MARX et alii, 1982). Estudos revelaram que os arbúsculos estão continuamente envolvidos pe-

(Endogonales). In: SCHENCK, N., ed. Methods and principles of Mycorrhizal research. St. Paul, The American Phytopathological Society, 1982. p.1-10.

lo plasmalema da célula do hospedeiro (KINDEN & BROWN, 1975a,b).

Vesículas são estruturas geralmente terminais, de forma oval ou arredondada, que contêm gotas de óleo e podem se desenvolver inter ou intracelularmente. Algumas espécies do endófito produzem vesículas cujas paredes permanecem relativamente finas. Em outras, as paredes das vesículas se tornam grossas, transformando-as em clamidosporos. As vesículas são consideradas estruturas de armazenamento ou, se as paredes se engrossarem e formarem clamidosporos, podem funcionar como estruturas reprodutivas (GERDEMANN, 1968).

Uma vez consolidada a infecção, a hifa externa se ramifica e pode crescer ao longo da superfície da raiz, formando mais pontos de infecção, e também crescer pelo solo em volta, formando uma extensa rede tridimensional de micélio. Essa rede de hifas não chega a ser tão compacta quanto aquela formada pelas ectomicorrizas. Uma característica típica das MVA é a natureza dimórfica das hifas externas: o micélio é constituído por hifas grossas, consideradas permanentes e que sustentam o esporo, e destas partem hifas mais finas, de vida efêmera, que se difundem no solo, consideradas hifas absorventes (NICOLSON, 1967). O micélio externo geralmente produz grandes esporos de parede grossa e/ou pequenos esporos secundários ou vesículas externas. Em algumas espécies os esporos podem formar em esporocarpos (GERDEMANN, 1975).

As infecções micorrízicas produzem pouca mudança na morfologia externa da raiz, portanto, macroscopicamente, não se diferenciam raízes micorrizadas das não micorrizadas. Elas podem ser reconhecidas em raízes relativamente finas, não suberizadas, pela leve coloração amarela, mas esta cor desaparece rapidamente com a exposição à luz (GERDEMANN, 1968, 1974).

A colonização é um processo altamente equilibrado, sem aparecimento de lesões e invasões do sistema vascular da planta, sendo essa uma diferença entre os fungos micorrízicos e patógenos da raiz. Por esse motivo Garret¹ citado por LOPES et alii (1983) considerou a associação micorrízica o ápice de evolução do parasitismo de raiz por fungos, dominado pela sua natureza mutualística.

A importância da micorriza vesículo-arbuscular, deve-se ao fato de que ela promove um melhor crescimento do hospedeiro, em função do maior fornecimento de nutrientes. MOSSE (1957) comparou as composições minerais de plantas de macieira micorrizadas ou não, e observou que certos nutrientes se encontravam em maior concentração e outros em menor, sugerindo que a resposta ao crescimento refletiu a melhor nutrição da planta. MOSSE (1973) afirmou que a melhor resposta das plantas micorrizadas ocorre principalmente quando o nível de fósforo assimilável no solo é baixo. O fósforo é o principal nutriente envolvido, sendo encontrado em altas concentrações nas plantas micorrizadas (MOSSE, 1973; TINKER, 1980).

As hifas externas das micorrizas absorvem o fósforo do solo e o transloca ao hospedeiro. A absorção mais eficiente das raízes infectadas seria devido ao micélio no solo, formando uma rede que se estende além da zona de depleção, retirando o nutriente de uma parte do solo distante até 8 cm da raiz (Rhodes & Gerdemann², citados por TINKER, 1980), levando-o diretamente para o interior desta, uma vez que o micélio externo está ligado ao interno (MOSSE, 1973). O au-

¹ GARRET, S.D. Biology of root infecting fungi. London, Cambridge University Press, 1956. 293p.

² RHODES, L.H. & GERDEMANN, J.W. Phosphate uptake zones of mycorrhizal and nonmycorrhizal onions. New Phytol., Oxford, 75: 555-561, 1975.

mento no volume de solo explorado se torna muito importante no caso da absorção de nutrientes de baixa difusão no solo, como o fósforo (SANDERS & TINKER, 1971) e o zinco (GILMORE, 1971). Além do mais, os finos ramos do micélio podem ser capazes de explorar micro-ambientes normalmente não atingidos pelas raízes (MOSSE, 1973). Também se mostra importante para espécies de plantas com raízes e pêlos radiculares escassos (BAYLIS, 1970 e 1975). Por isso, muitos estudos com MVA têm concentrado a atenção na nutrição fosfatada de plantas como leguminosas (ABBOTT & ROBSON, 1984).

Durante algum tempo, suspeitou-se que as micorrizas teriam a capacidade de poder utilizar formas não assimiláveis pelas plantas, de fósforo insolúvel adicionado ao solo (MURDOCH et alii, 1967). Posteriormente, através de pesquisas com ^{32}P , demonstrou-se que tanto plantas infectadas como não infectadas absorvem fosfato da mesma fonte: solução do solo (SANDERS & TINKER, 1971; GIANINAZZI -PEARSON et alii, 1981a).

Também tem sido sugerido que a micorriza VA pode estimular o desenvolvimento das plantas através de efeitos fisiológicos, além do aumento na absorção de nutrientes.

Schultz et alii¹ citados por ABBOTT & ROBSON (1984), sugeriram que o estímulo da atividade hormonal ou o aumento na absorção de água poderia estar envolvido na resposta de crescimento das plantas à inoculação.

¹ SCHULTZ, R.C.; KORMANIK, P.P.; BRYAN, W.C.; BRISTER, G.H.. Vesicular-arbuscular mycorrhiza influence growth but not mineral concentration in seedlings of eight sweetgum families. Can. J. For. Res., Ottawa, 9: 218, 1979.

KRISHNA et alii (1981) encontraram diferenças anatômicas e histoquímicas em folhas de *Eleusine coracana*, induzidas pelo fungo MVA. Tais diferenças resultam em aumento do tecido vascular da planta, podendo facilitar a translocação de água e de nutrientes. É possível que parte da resposta positiva da planta micorrízica seja decorrente deste efeito. Estes autores sugeriram que o desenvolvimento das plantas pode ser devido ao aumento de citocininas. ALLEN et alii (1980 e 1982) também encontraram aumentos na produção de citocininas em raízes e folhas de *Bouteloua gracilis* inoculada com MVA, e também aumentos nos teores de substâncias semelhantes a giberelinas e ácido abscísico. Vários autores encontraram aumentos no teor, ou até o aparecimento de vários ácidos graxos e lipídeos em plantas hospedeiras de fungos MVA (NORDBY et alii, 1981; NAGY et alii, 1980; COOPER & LÜSEL, 1978).

Outros efeitos das MVA em plantas referem-se à redução do índice de mortalidade das mudas por ocasião do transplante (MENGE et alii, 1978), provavelmente devido à diminuição da resistência interna da planta ao fluxo de água (SAFIR et alii, 1972); participação na agregação do solo (MOSSE & HAYMAN, 1979); aumento na resistência de plantas às doenças de raízes causadas por nematóides (Hussey & Roncadori¹, citados por BAGYARAJ, 1984), bactérias (HALOS & ZORILLA, 1979) e fungos (DAVIS & MENGE, 1981); e finalmente, exercerem efeitos favoráveis na nodulação e fixação de nitrogênio atmosférico por *Rhizobium* em leguminosas (MOSSE, 1977b).

As micorrizas VA resultam de uma condição equilibrada entre o fungo, a planta e o ambiente (clima e solo).

¹ HUSSEY, R.S. & RONCADORI, R.W. Vesicular-arbuscular mycorrhizal may limit nematode activity and improve plant growth. Plant Dis., St. Paul, 66: 9, 1982.

Cada um desses componentes é afetado e/ou controlado por um fator ou série de fatores que podem atuar separadamente, inter-relacionados direta ou indiretamente (LOPES et alii, 1983). Assim, o estabelecimento, funcionamento e multiplicação das micorrizas VA, podem ser afetados por uma série de fatores: disponibilidade de nutrientes (MOSSE, 1973), pH do solo (LAMBERT et alii, 1980a), salinidade do solo (HIRREL & GERDEMANN, 1980), e fatores físicos como umidade (READHEAD, 1975), aeração (SAIF, 1981) e temperatura (HAYMAN, 1974). Outros fatores como manejo do solo, fatores biológicos, fatores genéticos da planta, pesticidas e outros, podem afetar direta ou indiretamente as associações micorrízicas VA.

2.2. MICORRIZAS VA EM LEGUMINOSAS

2.2.1. OCORRÊNCIA E EFEITOS NAS PLANTAS

As associações triplas entre leguminosas, fungos micorrízicos e bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico têm sido objeto de interesse desde 1896, quando Janse¹, citado por BAGYARAJ (1984), descreveu pela primeira vez tal associação simbiótica na leguminosa *Pithecolobium montanum*. Mas somente em 1948, ASAI sugeriu que a micorriza era uma pré-condição necessária para uma nodulação eficiente em muitas leguminosas. Este autor demonstrou que algumas leguminosas, crescendo em solos com pouco P, só nodulavam bem e apresentavam bom crescimento, se os vasos, com solo estéril e inoculados com o *Rhizobium* específico da leguminosa, fossem inoculados também com um pouco de solo de jardim, havendo, então a formação de micorrizas vesículo-arbusculares. Nessa época ainda

¹ JANSE, J.M. Les endophytes radicaux des quelques plantes Javanaises. An. Jard. Bot. Buitenz., s.l., 14: 53, 1896.

não se conhecia o papel da micorriza VA na absorção de fósforo para a planta.

As micorrizas VA têm sido encontradas em leguminosas que se desenvolvem nos mais variados habitats (CRUSH, 1975; PFEIFFER & BLOSS, 1980; SAITO et alii, 1983). STRZEMSKA (1975) confirmou a ocorrência de micorriza VA em várias leguminosas cultivadas e MILLER et alii (1979) em algumas leguminosas forrageiras tropicais.

Plantas com pêlos radiculares curtos ou escassos, como as leguminosas, podem ser mais dependentes de micorriza para absorver nutrientes do solo do que plantas com pêlos radiculares bem desenvolvidos, como as gramíneas (BAYLIS, 1975). CRUSH (1974) observou que leguminosas tropicais como *Centrosema* e *Stylosanthes*, que produzem relativamente poucos pêlos radiculares, foram mais dependentes de micorriza do que leguminosas temperadas como trevo e *Lotus*, as quais possuíam pêlos radiculares mais desenvolvidos. PLENCHETTE et alii (1983) observaram alta dependência de algumas leguminosas à micorriza, em um solo de fertilidade moderada.

O papel das micorrizas VA na produção das leguminosas foi estabelecido em estudos realizados a partir da década de 70.

Estudos realizados por ROSS & HARPER (1970) e ROSS (1971) com soja, demonstraram que a inoculação micorrízica aumentava a produção, e que plantas micorrizadas continham concentração e conteúdo de nitrogênio na parte aérea maiores do que plantas controle sem micorriza.

SCHENCK & HINSON (1973) trabalharam com isolhas nodulante e não-nodulante de soja no campo, em solo fumigado e inoculado com fungo micorrífico VA. Observaram que a micorriza aumentou significativamente a produção de grãos e ou-

tros aspectos das plantas nodulantes, mas não das não-nodulantes, além de não verificarem aumentos significativos na absorção de nitrogênio das últimas.

Efeito da micorriza no estímulo à nodulação foi reafirmado por CRUSH (1974). Este autor demonstrou que a micorriza estimulava o crescimento e nodulação de *Centrosema pubescens*, *Stylosantes guyanensis*, *Trifolium repens* e *Lotus pedunculatus*, e que as plantas não micorrizadas apresentavam taxas menores de fixação do nitrogênio, medidas através da técnica da redução do acetileno.

Informações posteriores obtidas por DAFT & EL-GIAHMI (1974, 1975, 1976), confirmaram que vários parâmetros relacionados diretamente ao processo de fixação de nitrogênio em espécies de *Phaseolus*, *Medicago* e *Arachis*, eram afetados pela infecção micorrízica. A quantidade de tecido nodular, concentração de leg-hemoglobina e taxas de redução do acetileno foram maiores em plantas micorrizadas do que em plantas controle não micorrizadas.

REDENTE & REEVES (1981) trabalhando com a leguminosa *Hedysarum boreale* em solo estéril, infestado ou não com *Glomus fasciculatus* e *Rhizobium* sp., ou com a combinação de ambos, observaram que plantas com a dupla inoculação possuíam níveis maiores de nitrogênio e fósforo, havendo um efeito sinérgico com relação à taxa de fixação de N_2 .

Também estudos realizados no campo, com solo natural, mostram os efeitos positivos da inoculação com fungos micorrízicos em leguminosas. AZCON-AGUILAR & BAREA (1981) inocularam plantas de alfafa no campo com *Rhizobium meliloti* e *Glomus mosseae*, em um solo com grande capacidade de fixação de fosfato. Observaram que a dupla inoculação estimulou o crescimento, a incorporação do nitrogênio e absorção de fós-

foro, concluindo que *G. mosseae* + *Rhizobium* foram um eficiente "fertilizante biológico".

BAGYARA et alii (1979) estudaram a resposta da soja à dupla inoculação com MVA e *Bradyrhizobium* em condições de campo, com solo natural. Obtiveram aumentos significantes no peso da matéria seca da parte aérea e de nódulos, e conteúdo de nitrogênio, em plantas duplamente inoculadas, em comparação com a simples inoculação com *Glomus* e *Bradyrhizobium*, sugerindo também que a MVA pode ajudar a nodulação e fixação de nitrogênio em soja inoculada com *Bradyrhizobium*, mesmo em condições de campo. HALOS et alii (1972) obtiveram resultados semelhantes com soja no campo, onde plantas inoculadas com dois isolados eficientes de fungo MVA e *Bradyrhizobium japonicum*, apresentavam extraordinário aumento na formação de nódulos e produção de plantas, comparado com aquelas inoculadas somente com *B. japonicum*. Concluíram que isolados eficientes de fungo MVA e *B. japonicum* podiam reduzir as despesas com fertilizantes e aumentar a produção, mesmo em solos pouco produtivos.

A maioria dos estudos sobre a interação MVA - *Rhizobium* sugere que a infecção com endófitos eficientes aumenta significativamente a nutrição em fósforo e, consequentemente, a nodulação e fixação de nitrogênio pelas leguminosas. Tem sido mostrado que as leguminosas requerem níveis adequados de fósforo para o crescimento e boa nodulação e fixação do nitrogênio (BERGERSEN, 1971; DEMETRIO et alii, 1972). A micorriza também pode aumentar a nodulação e fixação do N_2 como resultado do incremento na nutrição de outros elementos como cobre, zinco, enxofre e outros, os quais são requeridos pelas plantas em quantidades mais elevadas, quando estão em processo ativo de fixação de N_2 pelo *Rhizobium* (LOPES et alii, 1983).

Nas leguminosas noduladas e micorrizadas, nem sempre é possível separar os efeitos na produção de matéria seca total, do nitrogênio extra produzido pela melhor nodulação, e o fósforo extra absorvido devido à micorriza.

Existe íntima relação entre o estado nutricional do hospedeiro e a formação de nódulos. MOSSE et alii (1976) demonstraram que as plantas não nodulavam a menos que a concentração de fósforo delas fosse no mínimo 0,15%. A colonização micorrízica ajudou as plantas a chegarem nesse nível, ocorrendo então a nodulação. ROBSON et alii (1981) verificaram que o efeito positivo da micorriza na produção e fixação do nitrogênio em trevo ocorreu ao mesmo tempo ou depois do efeito no crescimento, indicando que a micorriza aumentou a nodulação e fixação do nitrogênio através do aumento na absorção de fósforo e no desenvolvimento da planta.

Isto porém discorda de SMITH & DAFT (1977), os quais afirmaram que o aumento da fixação de nitrogênio em *Medicago sativa* induzido pela micorriza precedeu ao efeito no crescimento da planta, sugerindo que a demanda do nódulo pelo fósforo vem em primeiro lugar. SMITH et alii (1979) também chegaram à mesma conclusão, principalmente em solos pobres em nutrientes. ASIMI et alii (1980) sugeriram que o *Rhizobium* seria sensível ao efeito da micorriza para satisfazer a alta demanda de fósforo necessária à nodulação e fixação do N_2 . Além do mais, o aumento nas adições de fosfato eliminou primeiramente os efeitos da micorriza no crescimento e, progressivamente, os efeitos na nodulação e atividade da nitrogenase, evidenciando que o crescimento da planta e funcionamento dos nódulos mostram respostas diferenciais à demanda por fósforo, devido às suas diferentes dependências por esse elemento.

Por algum tempo foi sugerida a possibilidade de

haver interação direta entre o fungo MVA e o *Rhizobium*. CARLING et alii (1978) trabalharam com isolinhas nodulantes e não nodulantes de soja, usando tratamentos que combinavam *Glomus fasciculatum*, *Bradyrhizobium japonicum* e fertilizante fosfatado, para tentar avaliar esta interação. Plantas de soja nodulantes duplamente infectadas mostraram aumentos no peso da matéria seca total e de nódulos, bem como altos níveis de atividade da nitrogenase sobre as plantas infectadas com apenas um dos simbiossios ou não infectadas. Quando o fósforo foi substituído pela infecção micorrízica, o efeito foi semelhante para o crescimento e atividade enzimática, sugerindo então que o fungo micorrízico, que melhora a absorção de fósforo pelas leguminosas, não interage diretamente com a bactéria fixadora do nitrogênio.

A existência de uma disponibilidade de fósforo para os nódulos através das hifas micorrízicas reforça a importância de uma nutrição adequada deste elemento na planta hospedeira devido à inoculação micorrízica, como condição para fixação eficiente de nitrogênio. Os nódulos, como parte da planta, também irão receber suprimento adequado de fósforo para as suas funções se a planta estiver bem nutrida neste elemento (BAREA & AZCON-AGUILAR, 1983). MOSSE (1981), não deixa dúvida que, de alguma forma, os dois sistemas simbióticos interagem.

Em adição aos efeitos relacionados com a nutrição de fósforo, a micorriza pode auxiliar as leguminosas de várias maneiras, como reduzir a severidade de algumas doenças causadas por fungos (Krishna & Bagyaraj¹, citado por BAGYARAJ, 1984) e nematóides (KELLAM & SCHENCK, 1980). Outro efei-

¹ KRISHNA, K.R. & BAGAYRAJ, D.J. Interaction between *Glomus fasciculatus* and *Sclerotium rolfsii* in peanut. Can. J. Bot., Ottawa, 61: 2349-2351, 1983.

to benéfico se relaciona com a água, como a diminuição à resistência ao transporte de água (SAFIR et alii, 1971 e 1972). HARDIE & LEYTON (1981) encontraram aumento da condutividade hidráulica dos sistemas radiculares micorrizados em trevo, o que deve resultar em benefícios para a planta quando em quantidade limitante de umidade. A micorriza também pode aumentar a absorção de outros nutrientes pelas leguminosas, como cobre e zinco (ROSS e HARPER, 1970; ROSS, 1971; LAMBERT et alii, 1980b; NIELSEN & JENSEN, 1983).

Os fatores que podem afetar o estabelecimento das MVA em leguminosas podem ser, como já relatados para outras culturas: nível de fertilidade do solo (EL-HASSANIN & LYND, 1985; LYND et alii, 1985; PURCINO & LIND, 1985); pH (SKIPPER & SMITH, 1979); temperatura (SCHENCK & SCHRÖDER, 1974; SMITH & BOWEN, 1979); tipo de solo (PARADA, 1984; CARDOSO, 1986); concentração do inóculo (ANTUNES et alii, 1983); espécie do endófito (LOPES et alii, 1980; KUO & HUANG, 1982; BONETTI, 1984); cultivar da planta hospedeira (MULLIGAN et alii, 1985); práticas culturais (MULLIGAN et alii, 1985), e outros.

2.2.2. EFEITOS DO FÓSFORO

2.2.2.1. Fosfatos solúveis

A principal contribuição do fungo micorrízico VA para a planta hospedeira em solos deficientes em fósforo, como já foi visto, é alcançar e translocar através de suas hifas extracorticais nutrientes relativamente imóveis, os quais de outra forma estariam fora do alcance para o hospedeiro.

Essa característica das micorrizas é bastante adequada às nossas condições, uma vez que a maioria dos solos brasileiros é de baixa fertilidade, principalmente em fósforo.

O melhor desenvolvimento da planta hospedeira, resultado do aumento na absorção de nutrientes relativamente imóveis, tem sido definido como micotrofia (COOPER, 1975). Quando a concentração de fósforo disponível está acima ou abaixo do nível que suporta a micotrofia, o hospedeiro é independente de seu endófito (fungo micorrízico) para a nutrição do fósforo, ou pode competir com a microflora pelo fósforo (Bowen¹ e Barber & Loughman², citados por BETHLENFALVAY et alii, 1983).

RATNAYAKE et alii (1978) observaram que o aumento nos níveis de fósforo tornavam as membranas celulares das raízes menos permeáveis, resultando em decréscimo na exsudação de aminoácidos e açúcares na rizosfera, desfavorecendo a colonização pelos fungos MVA. SAME et alii (1983) verificaram que havia correlação entre o decréscimo da colonização da raiz de trevo e o decréscimo da concentração de carboidratos solúveis na raiz, em plantas que receberam altos níveis de fósforo.

Uma vez que as hifas externas são capazes de absorver íons fosfatos da solução do solo, as micorrizas então não somente ultrapassam as zonas de depleção em volta das raízes, mas também provocam novas zonas de depleção deste nutriente. Consequentemente, isto irá causar um empobrecimento do solo após várias colheitas (LIM & COLE, 1984). O estoque de fosfa

¹ BOWEN, G.D. Dysfunction and short falls in symbiotic responses. In: HORSFALL, J.G. & COWLING, E.B., ed. Plant disease. New York, Academic Press, 1978. Vol.III, p.231-256.

² BARBER, D.A. & LOUGHMAN, B.C. The effect of microorganisms on the absorption of inorganic nutrients in intact plants II. Uptake and utilization of phosphate by barley plants grown under sterile and non-sterile conditions. J. Exp. Bot., Oxford, 18: 170-176, 1967.

to deve então ser restituído, o que pode ser feito através da aplicação de fertilizantes fosfatados solúveis ou, em algumas circunstâncias, usar formas menos solúveis de fósforo. A interação desses fosfatos com fungos micorrízicos VA no desenvolvimento das leguminosas tem sido objeto de vários estudos (BAREA & AZCON-AGUILAR, 1983). Entretanto, do ponto de vista prático, os resultados dessas interações entre adição de fosfato e MVA no sistema leguminosa - *Rhizobium* nem sempre são generalizáveis, uma vez que as respostas são dependentes de uma série de fatores. Estes incluem características do solo, espécies ou cultivares de plantas, espécies do endófito envolvido e finalmente, a interação entre esses fatores (BAREA & AZCON-AGUILAR, 1983; PARADA, 1984).

Foi observado que o nitrogênio em excesso pode diminuir a nodulação (FRANCO & DÜBEREINER, 1968). Já o fósforo em excesso pode diminuir a infecção micorrízica (ASIMI et alii, 1980; BETHLENFALVAY & YODER, 1981), diminuindo os efeitos positivos na nodulação e atividade da nitrogenase (ASIMI et alii, 1980) em leguminosas. Assim, o endófito produz seu máximo efeito sob condições de estresse de ambos os elementos, sendo que os níveis relativos de cada um são determinados pelo hospedeiro. Embora muitas leguminosas dependam da micorriza para melhor absorverem o fósforo em solos com pouco fósforo disponível, essa dependência varia entre as espécies de leguminosas (MOSSE, 1977b).

Como a concentração de fósforo no substrato parece ser determinante para a colonização micorrízica, os experimentos devem então incluir as interações dos fungos MVA em uma série de níveis de fosfato, para avaliar em qual nível de fósforo disponível as diferentes espécies de plantas cessam de responder a um bom endófito (OWUSU-BENNOAH & MOSSE, 1979).

Entretanto, alguns desses estudos têm sido rea

lizados em apenas dois níveis de fósforo, um controle, sem a aplicação, e outro com uma dose de aplicação de fósforo (ROBSON et alii, 1981).

SMITH & DAFT (1977) observaram que todas as plantas de *Medicago sativa*, micorrizadas ou não, absorveram mais fosfato de solo ou areia fertilizados com fosfato solúvel, do que de solo ou areia não fertilizados.

VARMA (1979), trabalhando com soja em um solo natural, em vasos, observou que plantas que receberam um inóculo de fungo micorrízico e *Bradyrhizobium* obtiveram melhor nodulação quando comparadas às plantas que receberam o *Bradyrhizobium* e fertilização fosfatada (35 kg P/ha). Esse autor concluiu que a infecção micorrízica pode substituir a aplicação de fosfato neste solo, para se obter uma boa nodulação da soja.

KUO & HUANG (1982) verificaram que a soja cultivada em um solo natural não tratado, semeada entre restos de cultura de arroz, produziu mais grãos em tratamentos que receberam uma mistura de fungos MVA. O tratamento em que se combinou adição de fosfato e micorriza também promoveu a produção, mas este aumento deve ter sido devido apenas à micorriza, uma vez que a adição de fosfato somente, não promoveu a produção de grãos.

GANRY et alii (1982) em estudo de inoculação com fungo MVA e *Bradyrhizobium* em soja, no campo, com solo natural, observaram que os efeitos benéficos na colheita se expressaram quando uma pequena quantidade de P (22 kg P/ha) foi aplicado ao solo. Conclusões semelhantes foram obtidas por MANJUNATH & BAYGARAJ (1984), que obtiveram o máximo benefício da dupla inoculação com *Rhizobium* e MVA, em vasos, com a adição da mesma quantia de fósforo em caupi e *Cajanus cajan*.

ROSS (1971) trabalhou com soja em solo fumigado, com 3 níveis de fósforo adicionado (0, 44 e 176 kg P/ha). A produção de plantas quando inoculadas com fungo micorrízico (*Endogone*) foi sempre maior em relação às não inoculadas, mas não foi relacionada com os níveis da fertilização fosfatada, enquanto que a produção de plantas não micorrizadas foi diretamente relacionada com a aplicação de fosfato. Em níveis baixo, médio e alto de fósforo, os aumentos na produção devido à MVA foram 122, 67 e 12%, respectivamente. Esses resultados sugerem que a aplicação de doses mais elevadas de fósforo à soja micorrizada pode diminuir a dependência pelo endófito.

HALL et alii (1977) trabalharam com duas cultivares de trevo branco, utilizando *Rhizobium* em todos os tratamentos, e vários níveis de P aplicado (0, 10, 30, 60, 90... 240 kg P/ha). A inoculação com fungo micorrízico estimulou a absorção de fósforo e aumentou o crescimento das plantas nos níveis mais baixos de P aplicado (0, 10 e 30 kg P/ha), em relação às plantas não inoculadas. A cultivar 'Tamar' produziu mais parte aérea do que a cultivar 'Grasslands Huia', principalmente em níveis maiores que 30 kg P/ha e, em níveis mais baixos de P aplicado, a maioria de suas raízes se converteram em micorrizas, sendo mais micotrófica do que 'Grasslands Huia'. Esses autores concluíram que a MVA pode beneficiar planta de trevo no solo utilizado no experimento, com a aplicação de, possivelmente, muito mais do que 20 kg P/ha.

OWUSU-BENNOAH & MOSSE (1979) utilizaram cebola, cevada e alfafa (inoculada também com *Rhizobium*), em vasos com solo natural, usando dois tipos de fungos MVA, com doses crescentes de fósforo. A melhor resposta da cevada à inoculação confinou-se no nível mais baixo de fósforo disponível (8 ppm de fósforo). Alfafa e cebola mostraram aumentos na produção de matéria seca, principalmente com a introdução de um dos endófitos, com o aumento no conteúdo de fós-

foro no solo, e esta tendência poderia ter continuado acima de 14 ppm de P disponível, concentração esta considerada ainda baixa pelos autores.

BETHLENFALVAY & YODER (1981) observaram que em soja inoculada com *Bradyrhizobium* e fungo micorrízico, cultivada em meio de enraizamento estéril com doses crescentes de fósforo, as plantas possuíam em todos os níveis (com exceção do mais elevado), maior taxa de fixação de N_2 , massa de planta e de nódulos e conteúdo de fósforo, em relação às plantas não inoculadas com o fungo micorrízico. No nível maior (500 μM de P), a infecção pelo *Glomus fasciculatum* foi muito baixa e não afetou os parâmetros medidos, isto é, não houve diferenças entre soja micorrizada e não micorrizada. O maior aumento nas variáveis analisadas, provocado pelo fungo micorrízico, ocorreu no nível mais baixo de fósforo (20 μM de P).

ROBSON et alii (1981), trabalhando com trevo subterrâneo, inoculado com *Rhizobium trifolii* e *Glomus monosporus*, em 4 níveis de fósforo (0,1; 0,2; 0,6 ou 1,2 g P/ vaso de 3 kg) aplicados como superfosfato e com 4 épocas de colheita (22, 29, 37 e 50 dias após semeadura), constataram que no nível mais baixo de fósforo, plantas micorrizadas mostraram, com o passar do tempo, aumentos na produção de parte aérea, nódulos e redução do acetileno por planta. Aos 50 dias após a semeadura, observaram que aumentos no nível de fósforo na ausência de MVA aumentou a taxa de redução do acetileno por planta, a concentração do nitrogênio da parte aérea e a concentração de fósforo na parte aérea, raízes e nódulos. Na presença da micorriza, os valores dessas variáveis diminuíram no nível maior de fósforo aplicado, mas nos níveis mais baixos, plantas micorrizadas se mostraram superiores em relação às não micorrizadas.

ABBOTT & ROBSON (1978), trabalhando com trevo,

em solo natural, com três níveis de fósforo (1, 2 ou 8 g P/ vaso de 3 kg), introduziram 3 fungos MVA de origens diferentes. O isolado de *Glomus monosporus* (MtBGM) foi o mais eficiente para produção de matéria fresca da parte aérea após 7 semanas do plantio, mas o aumento relativo à MVA, para os três isolados em relação ao controle (fungos MVA nativos) diminuiu com o aumento no nível de fósforo no solo. Os dois isolados de *Glomus monosporum* (MGM e MtBGM), mas não de *Glomus fasciculatum*, promoveram o desenvolvimento das plantas mesmo na maior dose de fósforo, e aumentaram a absorção de fósforo em todos os níveis. A sensibilidade dos endófitos às altas taxas de fósforo adicionado, pode depender de sua origem. Os isolados de *G. monosporus* vieram de solos que possuíam níveis relativamente altos de fósforo disponível, resultado de aplicações repetidas de superfosfato. Os dois isolados devem então ter desenvolvido uma habilidade em formar micorrizas nos níveis relativamente mais altos (ABBOTT & ROBSON, 1978).

LIM & COLE (1984), trabalhando também com trevo em dois tipos de solo, fumigados e inoculados com *Rhizobium* e *Glomus fasciculatum*, em vários níveis de fósforo, observaram aumentos significativos na parte aérea em plantas micorrizadas, em colheitas sucessivas, em todos os níveis de P. Porém, a magnitude da resposta micorrízica diminuiu com o aumento no nível de fósforo ou com sucessivas colheitas. A resposta positiva de plantas micorrizadas e não micorrizadas à aplicação de níveis mais altos de fósforo (150,1 e 81,0 kg P/ha) em ambos os solos, indica que a concentração supra-ótima de fósforo, provavelmente, não foi alcançada. Esses autores sugerem que fungos micorrízicos mais eficientes em altos níveis de fósforo poderiam ser selecionados para uso agrônomico, onde tais níveis são vantajosos para elevar a produção.

SIQUEIRA & PAULA (1986) concluíram que a micorrização da soja pelo fungo *Glomus macrocarpum* em um solo de

cerrado, fumigado, aumentou os teores e quantidades absorvidas de fósforo, efeito este que também ocorreu com o aumento do suprimento de fósforo ao solo (0, 15, 30, 60, 120 e 240 ppm de P_2O_5), obtendo-se efeito máximo da micorriza quando se aplicaram 120 ppm de P_2O_5 . O aproveitamento do fósforo aplicado foi cerca de duas vezes maior nas plantas com *G. macrocarpum* que nas demais, em todas as doses de fósforo. A eficiência simbiótica deste fungo MVA foi equivalente à 210 ppm de P_2O_5 , enquanto que os fungos nativos (presentes nos tratamentos com solo natural) apresentaram baixa eficiência.

PAULA & SIQUEIRA (1986), em trabalho semelhante, já haviam observado que tanto a aplicação de fósforo quanto as MVA influenciaram significativamente o desenvolvimento da soja, e que o efeito benéfico do fungo *G. macrocarpum* estendeu-se à dose de 240 ppm de P_2O_5 , nível que já se mostrou inibitório à colonização das raízes.

2.2.2.2. Fosfatos de baixa solubilidade

Existem várias evidências de que as leguminosas se beneficiam das micorrizas na presença de fosfatos "insolúveis" ou de baixa solubilidade. Uma série de trabalhos com esse tipo de fosfato têm sido realizados em solo estéril, natural e mesmo em solução nutritiva.

Os ensaios em que se usa fósforo marcado (^{32}P) no solo, indicam que plantas micorrizadas e não micorrizadas absorvem o fósforo da mesma fonte que as plantas, isto é, fósforo solúvel (GIANINAZZI-PEARSON et alii, 1981a). Como se sabe, a MVA explora melhor os fosfatos pouco solúveis pois as hifas podem fazer um contato mais íntimo que as raízes com as partículas de fosfato, onde os íons solúveis estão sendo dissociados quimicamente. Portanto, a utilização de uma fonte de fósforo não lábil pela micorriza ocorre na

condição de existir a liberação, mesmo lenta, de alguns íons fosfato (BAREA & AZCON-AGUILAR, 1983).

ROSS & GILLIAM (1973) compararam a produção de grãos de soja, em solo fumigado e inoculado com fungo micorrízico ou não, na presença de fosfato de alumínio, de ferro, de rocha ou monocálcico obtendo aumentos de 79, 53, 0 e 56%, respectivamente, para cada fonte de fosfato. As melhores fontes de P para a soja, tanto na presença como na ausência de micorriza, foram o fosfato monocálcico e o fosfato de alumínio. A produção de plantas fertilizadas com o fosfato de ferro correspondeu a 1/6 e a 1/5 daquelas fertilizadas com fosfato monocálcico ou fosfato de alumínio, respectivamente. Neste experimento o fosfato de rocha não foi disponível para as plantas, nem às micorrizadas, provavelmente por causa da pequena quantidade utilizada (17,6 mg P/kg de solo).

MOSSE et alii (1976) mostraram que uma nodulação eficiente das leguminosas *Centrosema*, *Stylosanthes* e trevo, em uma série de solos deficientes em fósforo (pH variando de 5,3 a 8,1), pode ser conseguida pela introdução de micorriza e fósforo extra, mesmo sendo este fósforo originado de fosfato de rocha de baixa solubilidade. O fosfato de rocha (100 mg/250 g de solo) aumentou significativamente a absorção de P nos solos ácidos, principalmente em plantas micorrizadas. Porém, em solos neutros e alcalinos, o fosfato de rocha não se mostrou disponível, para plantas micorrizadas ou não. Quando o solo era muito deficiente em fósforo, a nodulação ocorria somente na presença da micorriza.

Aumentos na nodulação, fixação de nitrogênio e crescimento de plantas de *Stylosanthes* por causa da micorriza e do fosfato de rocha também foram observados em solos não esterilizados da Nigéria. O endófito introduzido estabeleceu-se bem em 11 dos solos, e seus efeitos foram maiores em solos que previamente apresentavam baixa infectividade (MOSSE, 1977a).

WAIDYANATHA et alii (1979) também trabalharam com *Stylosanthes* e *Pueraria*, em solo fumigado e inoculado com fungo micorrízico, utilizando dois tipos de fosfato de rocha. A presença do fungo micorrízico ou a presença de fosfato de rocha, usado na quantidade de 500 mg/kg de solo, estimulou o crescimento e a nodulação de *Pueraria* e *Stylosanthes*, e a atividade da nitrogenase de *Pueraria*. A combinação de micorriza com fosfato de rocha produziu incrementos máximos nas variáveis analisadas e também aumentou a absorção de fósforo. O efeito do fosfato de rocha importado (Jordan) foi superior à apatita (Eppawela), como era de se esperar, devido à maior solubilidade em ácido cítrico do primeiro.

Em solos naturais, ISLAM et alii (1980) observaram o efeito da inoculação de fungo MVA no caupi, em experimentos com vasos e no campo, usando fosfato de rocha. A nodulação, fixação de nitrogênio e utilização do fosfato foram significativamente incrementadas pela inoculação micorrízica no experimento em vasos, mas no campo esses incrementos não foram significativos. A resposta também variou com o tipo de solo empregado.

CABALA-ROSAND & WILD (1982) observaram que a resposta à produção de matéria seca de *Stylosanthes guyanensis* e *Desmodium intortum* pela adição de 100 µg P/g solo como fosfato de rocha (Patos), aumentou através da inoculação com o fungo MVA *Glomus fasciculatum*, em solo irradiado. Esses autores concluíram que a inoculação dessas leguminosas, combinada com uma aplicação suficiente do fosfato de rocha Patos pode ser uma maneira econômica para aumentar a produtividade de pastagens em solos de baixa fertilidade.

LYND et alii (1985) estudaram os efeitos da inoculação de siratro com *Rhizobium leguminosarum* e *Glomus fasciculatum*, em um solo fumigado, na presença ou não de fosfato

poço solúvel [100mg P/kg solo como $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] e 4 níveis de adubação potássica (0, 100, 200 e 300 mg K/kg solo como KCl). Esses autores observaram que maiores respostas de peso de nódulos frescos e atividade específica da nitrogenase foram conseguidas pelos tratamentos com fungo micorrízico na presença do fosfato, no maior nível de potássio. A maior produção de matéria seca da parte aérea foi obtida no nível mais alto de potássio, na presença da micorriza. Resultados semelhantes foram obtidos por PURCINO & LYND (1985) com *Stylosanthes scabra*, em solos com mesmo tratamento de fertilidade. Em ambos os trabalhos, concluiu-se que práticas culturais que atinjam uma eficiente simbiose tripla leguminosa-*Rhizobium*-fungo MVA são importantes para aumentar a produtividade de leguminosas forrageiras.

CARDOSO (1985) avaliou o efeito da micorriza isolada ou em combinação com o fosfato de rocha Alvorada, sobre o desenvolvimento da soja e sobre a simbiose soja - *Bradyrhizobium* em solo estéril. Esta autora observou que tanto a micorriza como o fosfato de rocha provocaram incrementos no peso da matéria seca de plantas e de sementes, no número e peso de nódulos, na concentração de fósforo da matéria seca, e na quantidade total dos elementos absorvidos pela planta. Os incrementos máximos em todas as variáveis analisadas foram obtidas em tratamentos que combinavam micorriza e fosfato. A micorriza também provocou uma redução no teor de manganês e um aumento no teor de zinco na parte aérea das plantas.

Com o objetivo de verificar a eficiência de vários fungos micorrízicos MVA em soja, cultivada em diferentes tipos de solo, fertilizados com o fosfato de rocha Alvorada e inoculados com *B. japonicum*, CARDOSO (1986) observou que os fungos MVA mais eficientes no Latossolo Roxo da série Luiz de Queiroz esterilizado foram *Glomus fasciculatum*, *Glomus macrocarpum* e *Gigaspora heterogama*. Porém, não houve benefícios da

inoculação de qualquer um dos endófitos neste solo em estado natural. Nas areias quartzosas, séries Sertãozinho e Ribeirão Claro, os dois fungos mais eficientes foram *G. macrocarpum* e *G. heterogama*, favorecendo o desenvolvimento da soja tanto em solo natural como no esterilizado.

Esses fungos foram eficientes, causando aumentos na produção de matéria seca da parte aérea, de vagens, e de nódulos, além de aumentos significativos na concentração de fósforo e nas quantidades totais da maioria dos outros nutrientes vegetais.

BONETTI (1984) já havia verificado que em plantas de siratro, todas inoculadas com *Rhizobium* e adubadas com fosfato de rocha, a inoculação com fungos MVA de diferentes espécies aumentava significativamente o peso da matéria seca das plantas, peso e número de nódulos e teores de nitrogênio e fósforo na parte aérea, em relação às plantas não inoculadas.

EL-HASSANIN & LIND (1985) trabalharam com *Vicia faba* L., inoculada com *R. leguminosarum* e inoculada ou não com *Glomus fasciculatum*, em solo estéril, adubado com fosfato pouco solúvel [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] em quatro níveis (0, 100, 200 e 300 mg P/kg de solo), e adubado ou não com KCl (0 ou 100 mg K/kg de solo). Observaram que a presença da micorriza promoveu incrementos máximos no peso da matéria seca da parte aérea e peso da matéria fresca de nódulos em tratamentos que receberam o potássio e o fósforo nos maiores níveis. Entretanto, a atividade da nitrogenase foi a mais alta no maior nível de fósforo na presença da micorriza, e a adição de potássio não foi consistente para esse aumento.

SPARLING & TINKER (1978) avaliaram doses crescentes de fosfato solúvel (10 a 500 mg/kg de solo) e fosfato

de rocha (0,1 a 20 g/kg de solo) sobre o desenvolvimento do trevo na presença e ausência de três fungos micorrízicos. As doses mais elevadas de cada fosfato deram respostas equivalentes e, nestas doses, o melhor endófito ainda causou incrementos no crescimento. Mesmo na ausência dos fungos MVA, houve resposta da planta à adubação com o fosfato de rocha, embora em menor proporção.

O efeito da micorriza em trevo foi avaliado na presença de doses crescentes de três fosfatos de diferentes solubilidades (superfosfato, fosfato de rocha calcinado e fosfato de rocha) por PAIRUNAN et alii (1980), nas quantidades respectivas de 0,50 a 8,00 g; 0,7 a 11,4 e 3,6 a 343g por kg de solo. A micorriza aumentou sensivelmente o crescimento e conteúdo de fósforo da parte aérea nos níveis intermediários de cada fosfato, e esses autores também observaram que desde que fosse aplicada quantidade suficiente de fosfato de rocha, as plantas não micorrizadas cresciam tão bem quanto as micorrizadas.

EZETA & SANTOS (1980) avaliaram a eficiência da micorriza formada pela associação do fungo MVA *Gigaspora margarita* e as raízes de *Vigna unguiculata* no crescimento e absorção de nutrientes, em casa de vegetação, com solo natural e adubado ou não com fosfato solúvel ou fosfato de rocha Patos de Minas, equivalentes a 20 ppm de P. A inoculação favoreceu o crescimento com todas as fontes de fosfato, incluindo a testemunha não adubada, sendo que a fonte solúvel resultou no maior incremento de matéria seca. A inoculação resultou em maior absorção de fósforo pela *Vigna*, havendo interação significativa entre fontes e inoculação, porém, a concentração média no tecido foi a mesma em todos os tratamentos. Na testemunha e na rocha fosfatada, o incremento na acumulação de P na matéria seca foi em média 37% maior nas plantas inoculadas, enquanto que na fonte solúvel de P esse valor foi somente 17% em favor da inoculação.

BONETTI & DONALD (1986) estudaram o efeito da micorriza em soja inoculada com *B. japonicum*, com a aplicação de fosfato solúvel e de rocha, potássio, cálcio e magnésio, num Latossolo Amarelo argiloso, esterilizado ou não. Observaram um efeito favorável no crescimento e nodulação da soja pela micorriza, efeito este acentuado em solo esterilizado, sugerindo haver no solo uma população de fungos nativos eficientes. A aplicação de fosfato de rocha com micorriza promoveu resposta superior àquela provocada pelos fatores isolados, igualando ao tratamento com fosfato solúvel.

Em experimento conduzido no campo, com superfosfato simples e fosfato de rocha em diferentes doses de adubação, MIRANDA (1982) observou que a introdução dos fungos MVA *Gigaspora margarita* e *Glomus macrocarpum* promoveu a produção da cultura da soja nos tratamentos com superfosfato simples (100 e 200 kg P_2O_5 /ha). O efeito da associação micorrízica na produção, em tratamentos com fosfato natural de Patos de Minas, foi observado apenas na maior dose de P_2O_5 aplicada (400 kg P_2O_5 /ha).

PAULINO et alii (1986) avaliaram, em solo estéril, com baixo nível de fósforo disponível, o efeito de duas espécies de fungo micorrízico, *Glomus mosseae* e *Glomus fasciculatum*, e duas fontes de fósforo, fosfato solúvel e fosfato de rocha, nas leguminosas forrageiras *Centrosema pubescens*, *Galactia striata* e siratro. Esses autores observaram que o siratro respondeu melhor à MVA, que incrementou a produção da matéria seca, a atividade da nitrogenase e a absorção de N e P, sendo *G. fasciculatum* superior a *G. mosseae*. Geralmente, com *G. mosseae* na presença de adubação fosfatada, a elevação na matéria seca foi mais acentuada, enquanto que com *G. fasciculatum* sozinho ou com adubação fosfatada, o aumento foi semelhante. O fosfato de rocha mais *G. mosseae* beneficiou a fixação de N_2 e a absorção de nutrientes.

Para a centrosema, a MVA favoreceu o crescimento, sendo *G. fasciculatum* superior a *G. mosseae*, mas a fixação do N_2 não foi afetada pela inoculação, a não ser quando se utilizou fosfato solúvel. Para a galáxia, as respostas ao crescimento e absorção de P foram ligeiramente influenciados pelos fungos micorrízicos. A absorção de nitrogênio teve pouca variação, tendo sido maior para os tratamentos com MVA na presença de fosfato solúvel.

BETHLENFALVAY et alii (1982) observaram que, em feijoeiro cultivado em substrato inerte com solução nutritiva, usando doses crescentes de hidroxiapatita (0, 25, 50, 100 e 200 mg/vaso), o crescimento, nodulação e atividade dos nódulos aumentaram para plantas controles e micorrizadas, com o aumento da disponibilidade de fósforo. Porém, os valores para plantas micorrizadas foram significativamente menores em todos os parâmetros, em relação ao controle. Isso pode ser explicado devido à pequena quantidade de luz disponível para as plantas neste experimento, gerando condições sub-ótimas para a fotossíntese e conseqüente competição por fotossintatos entre os simbioses.

Também em substrato inerte, BETHLENFALVAY et alii (1983) usando hidroxiapatita nos mesmos níveis anteriores, observaram que no nível mais baixo (0 mg) e nos mais altos (100 e 200 mg) deste fosfato, a soja micorrizada mostrou 20, 25 e 38% de diminuição no crescimento, respectivamente, em relação às plantas não micorrizadas. Apesar disto, as plantas micorrizadas ou não, responderam aos níveis de fosfato quanto ao crescimento e conteúdo de fósforo na planta. No nível de 50 mg de hidroxiapatita, o crescimento de plantas micorrizadas aumentou significativamente (14%) em relação às não micorrizadas. Neste nível de fosfato, a relação entre micélio extra-radical e intra-radical, um índice sugerido para avaliar a eficiência da micorriza, foi o maior, coincidindo com o aumento de crescimento da planta hospedeira.

MOSSE & THOMPSON (1984) em estudos para produção de inóculo de MVA, utilizaram plantas de feijão em solução nutritiva recirculante em bandejas, contendo 1, 3 e 8 mg/l de fósforo como fosfato monocálcico, e 5 mg/m de bandeja como farinha de ossos ou fosfato de rocha, espalhados em volta das raízes, no início do experimento. Esses autores observaram que as plantas do tratamento com fosfato de rocha apresentaram melhor crescimento, e suas raízes possuíam infecção mais vigorosa e, conseqüentemente, apresentaram maior infectividade em plantas testes, em um estudo posterior. ELMES & MOSSE (1984) em experimento semelhante, observaram que o pH da solução era muito importante por causa do seu efeito na solubilidade do fosfato de rocha.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado em casa-de-vegetação e em laboratório, no Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes da ESALQ/USP, e constou de dois experimentos, um com soja (*Glycine max* (L.) Merril) e outro com feijão (*Phaseolus vulgaris* L.).

O objetivo desses experimentos foi avaliar o efeito da inoculação com fungos MVA sobre o aproveitamento de quatro tipos de fosfato de rocha, usados em três doses, comparando-o com o do fosfato solúvel, e sobre a simbiose com *Rhizobium*, nas duas leguminosas.

3.1. MATERIAL

3.1.1. PLANTAS

Nos experimentos foram empregados a soja cv. Viçosa, cujas sementes foram obtidas na Seção de Leguminosas do Instituto Agrônomo de Campinas; e o feijão cv. Carioca, com sementes provenientes do Centro Nacional de Pesquisa - Arroz, Feijão/EMBRAPA - Goiânia.

3.1.2. SOLO

Nos dois experimentos foi utilizada uma Areia Quartzosa da Série Ribeirão Claro, coletada no município de Santa Maria da Serra, São Paulo, e cuja análise química se en

contra na Tabela 1. A amostra 1 foi utilizada para o experimento com soja e a amostra 2 para o experimento com feijão.

TABELA 1. Análise química das amostras do solo Areia Quartzosa, Série Ribeirão Claro.

Amostra	pH	C%	PO_4^{3-}	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	$Al^{3+}+H^+$
			meq/100g de terra				
1	4,6	0,30	0,02	0,04	0,16	0,16	2,88
2	5,8	0,42	0,03	0,04	0,28	0,12	3,24

3.1.3. *Rhizobium* spp.

No experimento com soja foi usada uma mistura de três estirpes de *Bradyrhizobium japonicum*, previamente purificadas: CPAC 93, SEMIA 580 e SEMIA 5061. No experimento com feijão utilizou-se uma mistura de três estirpes de *Rhizobium phaseoli*, também previamente purificadas: C-05, C-13 e 127 K-17.

3.1.4. FUNGOS MICORRÍZICOS VESÍCULO-ARBUSCULARES

No experimento com soja o fungo MVA empregado foi *Glomus macrocarpum* Tul. e Tul. var. *macrocarpum*, e no experimento com feijão empregou-se *Glomus leptotichum* Schenck e Smith.

3.1.5. FOSFATOS DE ROCHA

Em ambos os experimentos foram utilizados quatro tipos de fosfato de rocha: Patos de Minas, Araxá, Jacupiranga e Catalão. Todos eles são fosfatos apatíticos, de origem ígnea, com exceção do fosfato Patos de Minas que é uma fosforita de origem sedimentar-metamórfica.

O teor em P_2O_5 total, solubilidade e granulometria desses fosfatos se encontram na Tabela 2.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. PREPARO DO SOLO E VASOS DE PLANTIO

Em ambos os experimentos, o solo foi coletado da camada superficial até 20 cm de profundidade, peneirado e esterilizado através da tinalização com vapor fluente por 2 horas em 3 dias consecutivos. A seguir foi misturado com areia de rio esterilizada, na proporção de 3:1 (solo : areia), e acondicionado em vasos de barro com capacidade para 3 kg de solo, e no fundo de cada vaso havia sido colocada uma camada de pedregulho esterilizado, para facilitar a drenagem.

3.2.2. CALAGEM E ADUBAÇÃO

Em ambos os experimentos foi realizada a calagem para elevar o pH a valores entre 6,0 e 6,5, usando em cada vaso 0,6g do corretivo Minerca1 (43% CaO e 24% MgO).

Também se fez a adubação corretiva em função da análise química do solo e necessidades das plantas, utilizando em ambos os experimentos, 125 mg de cloreto de potássio e 1,0 g de sulfato de cálcio em cada vaso.

TABELA 2. Tipos, teores de P_2O_5 total e solúvel em ácido cítrico 2%, e granulometria dos fosfatos de rocha utilizados.

Tipos	P_2O_5		Granulometria-ABNT			
	Total	Sol. ác.cítr. 2%	50	80	140	200
	----- % -----					
Patos de Minas	24,0	5,0	99,87	95,19	88,48	69,17
Araxá	35,0	4,6	99,99	99,86	98,85	96,42
Jacupiranga	34,6	2,5	99,97	99,82	98,77	96,42
Catalão	33,0	4,0	100,00	99,98	99,46	97,81

A adubação fosfatada realizada com os fosfatos de rocha constou de 3 níveis: 64, 128 e 256 ppm de P, sendo que as quantidades do adubo pesado para cada vaso foi baseada no teor de P_2O_5 total. Houve um tratamento controle em que se usou o superfosfato triplo, ao nível de 18 ppm de P, cuja quantidade colocada em cada vaso foi baseada no teor de P_2O_5 solúvel em água. Também houve um tratamento controle sem adição de fósforo.

O solo contido nos vasos, os adubos e corretivos pesados para cada vaso foram colocados em sacos plásticos e agitados até que a mistura ficasse homogênea. A seguir, os vasos preenchidos com o solo foram umidecidos.

Fez-se a aplicação de 0,5 ml/litro de solução de micronutrientes de NORRIS (1964) contendo cobre, zinco, molibdênio e boro; e 0,5 ml/litro de solução de sulfato de ferro em ácido cítrico, diluídos na água de irrigação, aplicando-se 200 ml por vaso.

3.2.3. PREPARO DOS INÓCULOS

As estirpes de *Rhizobium* spp. estavam conservadas em meio YMA (Yeast-Manitol-Agar) modificado por NORRIS (1964), com a seguinte composição: 10 g de manitol; 0,5 g de extrato de levedura; 0,5 g de K_2HPO_4 ; 0,8 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,2 g de NaCl; 0,01 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$; 0,01 g de azul de bromotimol; 18g de agar; em 1000 ml de água destilada. Para o *R. phaseoli* foram adicionadas 3 g de $CaCO_3$ por litro.

Retirou-se duas alçadas de cada estirpe, separadamente, colocando-as em tubo com 9 ml de água destilada es téril. Desta dispensação retirou-se 1 ml e inoculou-se em fras cos erlenmeyers de 250 ml, com 50 ml do meio líquido (YMB: Yeast-Manitol-Broth). Foram deixadas crescer sob agitação

constante em temperatura ambiente durante quatro (*B. japonicum*) e três dias (*R. phaseoli*), quando se observaram mudanças na coloração do meio e turbidez.

O fungo MVA *Glomus macrocarpum* foi obtido através da multiplicação em vaso com solo estéril, tendo o crisântemo como planta hospedeira. O fungo MVA *Glomus leptotichum* foi obtido da mesma forma, sendo o milho a planta hospedeira. O inóculo foi então constituído do solo contendo esporos e raízes das plantas infectadas com o fungo micorrízico. Para a soja, em cada vaso foram colocados 60 ml desse solo contendo aproximadamente 1000 esporos do fungo *G. macrocarpum*. Como controle foi usada a mesma quantidade de solo autoclavado dos vasos do crisântemo que não tinham sido inoculados com o fungo, misturando um pouco de filtrado da suspensão do mesmo solo antes de ter sido autoclavado, sem os propágulos do fungo MVA, para fornecer a mesma microflora. Para o feijão, em cada vaso utilizou-se 100 ml do solo inóculo com cerca de 200 esporos do fungo micorrízico *G. leptotichum*, e como controle, a mesma quantidade de solo autoclavado do milho que não tinha sido inoculado com o fungo. Na ocasião da semeadura, em cada vaso do controle foi colocado sobre o inóculo, 5 ml de uma suspensão de filtrado desse último solo antes de ter sido autoclavado, para fornecer a mesma microflora, mas livre dos propágulos do fungo MVA.

3.2.4. INSTALAÇÃO E CONDUÇÃO DA CULTURA

O primeiro experimento foi realizado com a soja, sendo instalado em 18/12/84. O feijão foi instalado em 09/05/85.

Em ambos os casos, na ocasião da semeadura, as sementes foram desinfetadas superficialmente com uma solução de hipoclorito de sódio a 1%, durante 10 minutos, e lavadas

em água corrente. A seguir as sementes foram colocadas em contato com a suspensão de bactérias fixadoras de N_2 específicas para cada leguminosa, e que continha a mistura das estirpes. As sementes foram deixadas embeber nessa suspensão durante uma hora.

A semeadura nos vasos deu-se então da seguinte forma: retirou-se uma pequena quantidade de solo do vaso e colocou-se o inóculo do fungo micorrízico específico para cada leguminosa. Para o feijão, foi colocado sobre este inóculo 5 ml de suspensão de filtrado de solo, como descrito anteriormente. A seguir colocou-se uma camada com cerca de 3 cm de terra retirada do vaso e sobre ela espalharam-se 10 sementes já embebidas com o inoculante de *Rhizobium*. Sobre as sementes colocaram-se 10 ml da suspensão de *Rhizobium* em cada vaso e cobriu-se com o resto do solo retirado. Também foi realizada no mesmo dia, semeadura em caixas com areia estéril para encobrir as possíveis falhas de germinação nos vasos, com sementes inoculadas com o *Rhizobium*.

A germinação aconteceu por volta de 7 a 10 dias e o desbaste foi realizado aos 15 dias após a semeadura, mantendo-se 2 plantas por vaso.

Aos 15 dias após a semeadura, realizou-se a segunda inoculação da soja com *B. japonicum*, colocando-se 20 ml da suspensão com a mistura das estirpes no colo das plantas e, no mesmo dia aplicaram-se as soluções de micronutrientes diluídas na água de irrigação. A segunda inoculação do feijão com *R. phaseoli* ocorreu aos 20 dias após a semeadura, colocando-se também 20 ml da suspensão com a mistura das estirpes, ao redor das plantas. As soluções de micronutrientes foram colocadas aos 33 dias após a semeadura, também diluídas na água de irrigação.

Em ambos os experimentos foi pulverizado duas vezes o inseticida Phosdrin-CE 20 (fosfato-2-Carbometoxi -1 - metil, vinil, dimetil a 24%), na concentração de 1 ml por litro de água, para controlar trips e ácaros.

A irrigação foi realizada diariamente ou à medida em que era necessária, com água de torneira, utilizando-se um copo e despejando a água cuidadosamente para evitar respingos que poderiam causar contaminação entre os vasos.

3.2.5. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Ambos os experimentos foram realizados em delineamento experimental de blocos ao acaso, constando de 4 blocos e 28 tratamentos, onde se combinaram 4 tipos de fosfato de rocha (Patos de Minas, Araxá, Jacupiranga e Catalão), 3 doses de fósforo (64, 128 e 256 ppm de P) e dois controles (sem fósforo adicional e com superfosfato triplo na dose de 18 ppm de P), na presença e ausência de fungo micorrízico vesículo-arbuscular.

3.2.6. COLHEITA DOS EXPERIMENTOS

A colheita da soja foi realizada em 2 dias, colhendo-se 2 blocos por dia, aos 69 e 70 dias após a semeadura, na época do florescimento. O mesmo aconteceu para o feijão, que foi colhido aos 74 e 76 dias após a semeadura, no final do florescimento.

3.3. AVALIAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

3.3.1. PESO DA MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA TOTAL DAS PLANTAS

Na colheita, as plantas foram cortadas na altu

ra do colo e toda a parte aérea foi acondicionada em saco de papel e levada à estufa a 60-65°C, com ventilação forçada, até peso constante. As folhas mais velhas que caíram durante o experimento foram guardadas e colocadas junto com a parte aérea total para secagem.

3.3.2. PESO DE VAGENS

Em ambos os experimentos, o florescimento não ocorreu de maneira uniforme e, na época da colheita, algumas plantas já mostravam a formação de vagens. As pequenas vagens foram então separadas da matéria seca da parte aérea e pesadas.

3.3.3. ATIVIDADE TOTAL E ESPECÍFICA DA NITROGENASE

O cálculo da medida da atividade da nitrogenase se foi realizado usando a técnica da redução do acetileno. Essa avaliação só foi feita no experimento com soja, usando a metodologia de HARDY et alii (1968), procedendo-se da seguinte maneira: durante a colheita, os sistemas radiculares das plantas foram retirados cuidadosamente de cada vaso, procurando-se tirar o excesso de solo que os encobriam e a seguir foram colocados em frascos de volume aproximado de 500 ml e fechados com tampas apropriadas. Os frascos foram então levados imediatamente à sala de cromatografia, onde se retiraram com uma seringa, 50 ml de ar contido neles para em seguida injetar 50 ml de gás acetileno (C_2H_2). Depois de 1 hora de incubação, retirou-se com uma seringa 0,5 ml do ar contido nos frascos, injetando-o no cromatógrafo a gás, onde se realizou a leitura no papel do pico do gás etileno (C_2H_4) produzido pela amostra.

Também foi realizada uma prova em branco, que constou de um frasco fechado vazio de volume também aproxima-

do de 500 ml, do qual se retiraram 50 ml de ar e se injetaram 50 ml de gás acetileno. A seguir retirou-se 0,5 ml de ar deste frasco, injetando-o no cromatógrafo e fazendo-se a leitura do pico do gás etileno.

Os cálculos foram feitos através da fórmula:

$$\text{Atividade total da nitrogenase} = \frac{\eta \text{ moles } C_2H_4}{h} = \frac{H \cdot V \cdot R \cdot K}{w \cdot t}$$

sendo H = [altura do pico de C_2H_4 (mm) da amostra x atenuação] - altura do pico da prova em branco.

V = volume do frasco de incubação da amostra (ml)

w = volume da amostra injetado (ml)

t = tempo de incubação (h)

R = "range" do cromatógrafo

K = constante.

A constante K está relacionada com a calibração do cromatógrafo para uma quantidade conhecida de C_2H_4 (500 vpm).

Uma amostra de 0,5 ml de 500 vpm de C_2H_4 contém $0,25 \times 10^{-3}$ ml C_2H_4 . Em Condições Normais de Temperatura e Pressão (C.N.T.P.), temos:

$$\begin{array}{rcl} 1 \text{ mol } C_2H_4 & \text{---} & 22400 \text{ ml} \\ x & \text{---} & 0,25 \times 10^{-3} \text{ ml} \end{array}$$

$$x = 11,16 \text{ nmoles } C_2H_4.$$

A mesma amostra de 0,5 ml de 500 vpm C_2H_4 vai dar Z (mm) de pico, portanto:

$$K = \frac{11,16}{Z} \text{ y } \eta \text{ moles } C_2H_4/\text{mm}$$

sendo que $Z(\text{mm}) = \text{Altura (mm)} \times \text{Atenuação} \times \text{Range.}$

A atividade específica da nitrogenase ($\mu\text{moles } \text{C}_2\text{H}_4/\text{g n\acute{o}dulo} \times \text{h}$) foi obtida dividindo-se a atividade total da nitrogenase da amostra pelo peso da matria seca dos ndulos (g) da respectiva amostra.

3.3.4. RELAO ENTRE OS PESOS DA MATRIA SECA DA PARTE AREA E MATRIA FRESCA DAS RAZES

As razes foram lavadas para retirar todo o solo, enxugadas com papel absorvente e, aps a retirada dos ndulos, pesadas. A seguir fez-se uma relao entre o peso da matria seca da parte area e o peso das razes frescas, dividindo um valor pelo outro, para comparar o desenvolvimento radicular em relao ao desenvolvimento vegetativo.

3.3.5. PESO DE NDULOS

Os ndulos retirados das razes foram colocados em saquinhos de papel e levados estufa a 60-65C, com ventilao forada, at peso constante, obtendo-se o peso da matria seca.

3.3.6. ANLISE QUMICA DA PARTE AREA TOTAL DAS PLANTAS

A parte area total das plantas, incluindo folhas, caules, ramos, flores e vagens, aps a secagem e pesagem, foi moda em moinho de plantas do tipo Wiley. A anlise de N, P e K seguiu a metodologia de SARRUGE & HAAG (1974).

3.3.7. DETERMINAÇÃO DA PORCENTAGEM DE COLONIZAÇÃO DAS RAÍZES

O sistema radicular, depois de lavado e pesado, foi colocado em frascos contendo A.F.A. (ácido acético: 5 ml, formol: 13 ml e álcool etílico 50%: 200 ml), para conservação.

Para se estimar a porcentagem de colonização pelo fungo MVA, as raízes foram preparadas pelo método modificado de PHILLIPS & HAYMAN (1970), da seguinte maneira: tomou-se uma amostra dos sistemas radiculares de cada parcela, procurando as raízes mais finas, e colocou-se em um becker de 100 ml. A seguir foram clareadas com KOH 10% em banho-maria a 90°C por 50 minutos. Depois as raízes foram lavadas com água e neutralizadas com solução diluída de HCl, a frio, por 2 a 3 minutos, quando se escoou a solução e procedeu-se a coloração com lactoglicerol com 0,05% de "trypan blue", em banho-maria a 90°C por 3 a 4 minutos. O líquido foi então escoado e colocou-se, até cobrir as raízes, lactoglicerol incolor para perder o excesso de corante. Depois de alguns dias, tomou-se uma porção das raízes assim preparadas, pesando aproximadamente 0,5 g depois de enxutas com papel absorvente. A seguir foram cortadas em segmentos de 0,5 a 1,0 cm e espalhadas com um pouco de lactoglicerol incolor em placa de Petri riscada, de acordo com o método de GIOVANETTI & MOSSE (1980). Foram observadas então, a presença ou ausência de estruturas fúngicas nos segmentos de raízes nos pontos de intersecção com os riscos da placa. A porcentagem de raízes colonizadas foi calculada da seguinte forma:

$$\text{porcentagem de raízes colonizadas} = \frac{\text{número de pontos de intersecção com presença de micorriza}}{\text{número total de pontos de intersecção contados}} \times 100$$

3.3.8. CONTAGEM DE ESPOROS DO FUNGO MVA NO SOLO

Após a colheita, o solo foi bem homogeneizado e guardado em sacos plásticos. Depois tomou-se uma amostra de 100 ml do solo para a contagem do número de esporos através da peneiragem úmida, segundo a técnica descrita por GERDEMANN & NICOLSON (1963). Esta técnica consiste de lavagens sucessivas da alíquota de solo com água e passagem dela por um conjunto de peneiras. Devido ao tamanho dos esporos a serem coletados, empregou-se somente peneiras de malha 100 e 50 μ . Os esporos foram recolhidos em um becker com água e, para se obter uma suspensão livre de partículas de solo e outros detritos, esta recebeu 30 ml de solução de sacarose a 50%, segundo ANDREOLA (1982). Agitou-se e deixou-se decantar por 3 a 4 minutos, sendo que os resíduos mais pesados iam para o fundo, ficando os esporos suspensos e peneirados novamente na peneira 50 μ .

A contagem dos esporos foi feita em estereomicroscópio, empregando-se placa nematológica com anéis concentricos.

3.3.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância, em blocos ao acaso, e no caso de dados expressos em porcentagem, como teores de N, P, K e colonização de raízes, e no caso de contagem, como número de esporos no solo, tais análises foram precedidas por uma transformação de variáveis. Para dados em porcentagem, representados por X, foi utilizada a transformada

$$Y = \arcsin \sqrt{X/100}$$

para dados de contagem, representados por Z, foi utilizada a transformada

$$Y = \sqrt{Z}$$

O objetivo dessas transformações foi a de estabilizar a variância, segundo PIMENTEL GOMES (1984).

A comparação das médias, foi feita pelo teste de Tukey.

Esta análise estatística foi realizada no Centro de Informática na Agricultura (CIAGRI), da ESALQ/USP.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. EXPERIMENTO COM SOJA

- Peso da matéria seca da parte aérea

Como pode se observar na Tabela 3, a micorriza favoreceu a produção da matéria seca da parte aérea da soja em todos os tratamentos, promovendo aumentos, em relação aos tratamentos sem micorriza, na ordem de 120% em média para todos os fosfatos de rocha, 83% na ausência de fosfato e 50% com fosfato solúvel. Também se observa que não houve, entre os fosfatos de rocha, um que se destacasse como o melhor, não havendo também efeito de doses dentro de cada fosfato, embora os fosfatos Catalão nas doses 1 e 3 e Araxá na dose 3 tenham sido estatisticamente os melhores quando na presença de *Glo-mus macrocarpum*, igualando-se ao efeito do fosfato solúvel. Esse efeito só foi observado em tratamentos com micorriza.

O fato da micorriza favorecer o incremento da matéria seca da soja já foi verificado anteriormente por ROSS & HARPER (1970), ROSS (1971) e BETHLENFALVAY & YODER (1981). Entretanto os resultados deste experimento diferem dos de MOSSE et alii (1976), ISLAM et alii (1980) e CARDOSO (1985), os quais verificaram aumentos na matéria seca devido aos fatores isolados, fosfato de rocha e micorriza, além de um incremento máximo com os dois fatores combinados. Como já foi visto, no presente experimento praticamente só se observaram aumentos

TABELA 3. Pesos médios da matéria seca da parte aérea total (com vagens), e de vagens da soja cv. Viçosa, com os diferentes tipos de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo MVA *Glomus mactocarpum* (média de 4 repetições).

Tratamento		Mat. seca da parte aérea (g)		Mat. seca de vagens (mg)	
Tipo de fosfato(1)	Dose(2)	sem MVA	com MVA	sem MVA	com MVA
PM	1	3,2 f(3)	6,8 cd	50,35 b	310,55 ab
	2	3,9 ef	7,0 cd	107,63 b	328,88 ab
	3	3,5 f	7,3 bc	66,43 b	510,23 ab
Ar	1	2,7 f	6,1 cde	87,72 b	287,63 ab
	2	3,2 f	7,3 bc	139,30 b	294,83 ab
	3	4,8 def	8,4 abc	161,77 b	316,00 ab
J	1	3,1 f	6,5 cd	107,87 b	296,02 ab
	2	2,7 f	7,1 cd	81,30 b	502,70 ab
	3	3,2 f	6,9 cd	80,50 b	491,80 ab
C	1	3,5 f	8,0 abc	172,43 b	454,20 ab
	2	2,4 f	7,5 bc	138,48 b	395,02 ab
	3	3,5 f	9,5 ab	132,25 b	667,27 a
sem P	-	3,6 f	6,6 cd	103,32 b	290,88 ab
ST	única	7,2 bc	10,8 a	126,88 b	325,25 ab
C.V. (%)		15,53		71,49	

(1) Tipo de fosfato: PM - Patos de Minas; Ar - Araxá; J - Jacupiranga; C - Catalão; ST - Superfosfato triplo. (2) Dose: 1 - 64 ppm P; 2 - 128 ppm P; 3 - 256 ppm P; única - 18 ppm P. (3) Médias segun- das das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

devido à micorriza, exceto para os tratamentos com fosfatos de rocha Araxá na dose 3 e Catalão nas doses 1 e 3 na presença da micorriza.

Não foram observadas diferenças marcantes entre os tipos de fosfato de rocha ou doses utilizados neste experimento. Porém, WAIDYANATHA et alii (1979), utilizando dois tipos de fosfato de rocha, observaram que um deles foi superior na produção de matéria seca de *Pueraria*, verificando também efeitos de doses tanto na ausência como na presença de fungo micorrízico, uma vez que possuía maior solubilidade em ácido cítrico que o outro. A ausência de um efeito pronunciado no presente experimento, pode ser devido ao fato de os fosfatos de rocha utilizados possuírem solubilidades semelhantes em ácido cítrico.

PAIRUNAN et alii (1980) constataram que os fosfatos de rocha empregados em plantas de trevo micorrizadas, produziram efeitos semelhantes ao superfosfato triplo, porém as doses dos fosfatos de rocha foram bem mais altas em relação à forma solúvel. Desde que fosse aplicada quantidade suficiente de fosfato de rocha, as plantas não micorrizadas cresciam tão bem quanto as micorrizadas.

No presente experimento, nos tratamentos sem micorriza, a presença dos fosfatos de rocha não promoveu o aumento do peso da matéria seca da soja, enquanto que em plantas micorrizadas encontrou-se efeito favorável dos mesmos. Isto deve ter ocorrido porque as hifas dos fungos micorrízicos podem funcionar como tubos de condução dos íons fosfatos que vão sendo solubilizados mesmo fora da zona da rizosfera, levando-os diretamente para a planta, e evitando que se tornem novamente indisponíveis pelo processo de fixação dos fosfatos (BAREA e AZCON-AGUILAR, 1983). Nas plantas não micorrizadas, verificou-se o efeito favorável apenas do superfosfato triplo,

concordando com BRAGA et alii (1980) em experimento de campo. Contudo, esses autores não trabalharam com fungos MVA. Verificaram que os fosfatos Patos de Minas, Araxá e Catalão foram completamente inativos em qualquer dose empregada (100, 200 e 400 kg P_2O_5 total/ha) na cultura da soja.

Entretanto, esses resultados discordam de alguns trabalhos publicados sobre nutrição da soja onde esses fertilizantes são usados. MASCARENHAS et alii (1978) observaram que em cada localidade estudada o comportamento dos fosfatos foi diferente, e que o hiperfosfato e o fosfato de Araxá levaram a produções maiores do que aquelas proporcionadas pelo superfosfato triplo em alguns casos. GOEPFERT et alii (1976) demonstraram que a adubação fosfatada, independente da fonte, aumentou o rendimento de grãos de soja. O superfosfato triplo destacou-se pelo seu efeito a curto prazo e os fosfatos de rocha pelo seu efeito residual, destacando-se o fosfato de Gafsa, e com menor eficiência o fosfato de Araxá, Marrocos e Jacupiranga.

RAMOS (1982) verificou que entre os fosfatos naturais utilizados na cultura da soja, sobressaiu-se o Alvorada, sendo mais eficiente que os superfosfatos, a partir do segundo ano de utilização. Deve-se ressaltar que no presente trabalho não se fez o estudo de efeito residual dos fosfatos, mas sim o imediato. OLIVEIRA et alii (1984), em dois ciclos completos da sucessão milho - trigo - soja - trigo, utilizando diversas fontes de fosfato (superfosfato triplo, hiperfosfato, termofosfato IPT e os fosfatos de rocha Maranhão, Alvorada, Araxá, Patos de Minas e Catalão), em duas doses (100 e 400 kg P_2O_5 /ha), observaram que as diferenças entre as fontes para a soja foram pequenas. Contudo, evidenciou-se a baixa eficiência do fosfato Catalão. Cordeiro et alii¹ citados por

¹CORDEIRO, D.S.; BORKERT, C.M.; SFREDO, G.J.; PALHANO, T.B.; DITTRICH, R. C.; QUEIROZ, E.F. Acidez do solo, calcário e cultura de soja. In: EMBRAPA, Resultados de pesquisa de soja 1977/78, 1978. p.47-52.

ROSOLEM (1982) também notaram essa baixa eficiência do fosfato Catalão, não se observando nenhum efeito de doses (0 a 600 kg P_2O_5 total/ha). Mas para os fosfatos Patos de Minas e Araxá observaram efeito de doses, porém as produções foram sempre inferiores ao superfosfato triplo, em qualquer dose.

Outros trabalhos na literatura dão indicação de que o superfosfato e as fosforitas fornecem mais fósforo às plantas que as apatitas (CATANI & GLÓRIA, 1961). Cordeiro et alii¹ citados por ROSOLEM (1982), demonstraram que o superfosfato triplo, fosfato de Gafsa e Patos de Minas apresentaram a mesma eficiência no quarto ano de efeito residual. Além do mais, outros trabalhos indicam que a eficiência dos fertilizantes fosfatados com solubilidade diversa pode estar relacionada com o tamanho dos grânulos. Segundo Terman & Allen² citados por RAMOS (1982), a eficiência dos fertilizantes contendo fosfatos insolúveis em água em geral aumenta com o menor tamanho dos grânulos, uma vez que a superfície de contato com as partículas do solo é maior. Os fosfatos naturais também podem ter sua eficiência afetada por características do solo, como pH, e pela capacidade das plantas em absorver e utilizar o fósforo dos fosfatos naturais (KHASAWNEH & DOLL, 1978).

¹ CORDEIRO, D.S.; BORKERT, C.M.; SFREDO, G.J.; PALHANO, J.B.; DITTRICH, R.C. Efeitos de diversos níveis de fósforo de diferentes fontes fosfatadas na concentração de macro e micronutrientes na parte aérea de plantas de soja. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 1., Londrina, 1979. p.275-281.

² TERMAN, G.L. & ALLEN, S.E. Fertilizer and soil P uptake by maize as affected by soil, granule size and solubility of phosphate sources. J. Agric. Sci., Cambridge, 73: 417-424.

No caso do presente experimento, as apatitas (fosfato de Araxá, dose 3 e Catalão, doses 1 e 3), com micoriza, foram mais eficientes na produção de matéria seca do que a fosforita (Patos de Minas, em qualquer dose), com micoriza, talvez porque este último fosfato apresentasse granulometria mais grosseira que os primeiros, como se observa na Tabela 2. Isto faz com que diminua a superfície de contato dos grânulos passíveis de serem solubilizados e aproveitados pela planta sozinha, ou através das hifas do fungo MVA.

A micoriza também foi responsável neste experimento, pela maior produção de matéria seca mesmo em plantas que não receberam nenhum fosfato adicional, condizendo com HALOS et alii (1982) e PLENCHETTE et alii (1983). Este efeito foi semelhante àquele causado apenas pela adição de fosfato solúvel. Porém, esses valores foram significativamente inferiores àqueles encontrados em tratamentos em que se combinou fosfato solúvel e micoriza.

O fato da porcentagem de aumento na produção de matéria seca de plantas micorrizadas ter sido maior quando se usou o fosfato de rocha em relação ao fosfato solúvel explica-se da seguinte forma: no tratamento com superfosfato triplo, o fósforo se encontrava em forma solúvel, sendo facilmente aproveitado pelas raízes das plantas micorrizadas ou não, dependendo então menos do fungo micorrízico. Com o fosfato de rocha, apenas a superfície dos grânulos apresentava íons fosfatos que eram lentamente solubilizados, e nesse caso, mais difíceis de serem alcançados pelas raízes das plantas. As hifas do fungo MVA seriam então capazes de alcançar esses íons, mesmo em regiões fora da rizosfera, explicando a maior dependência da planta pelos fungos MVA quando se usou essa forma de fosfato.

- Peso da matéria seca de vagens

Como se verifica na Tabela 3, a produção de ma

têria seca de vagens não foi afetada estatisticamente pela presença do fungo *Glomus macrocarpum*, destacando-se apenas o tratamento com o fosfato Catalão na dose 3. Porém, o que se observa com os resultados, é que houve uma tendência de maior produção de vagens pelas plantas micorrizadas em qualquer tratamento. Não se verificou diferenças entre os tipos de fosfato e nem efeito de doses, com ou sem micorriza.

Esses resultados discordam de CARDOSO (1986), que verificou a eficiência do fungo *G. macrocarpum* na produção de vagens em soja no mesmo tipo de solo usado neste experimento, tanto no estado natural como no esterilizado, e na presença de fosfato de rocha. Porém, esta autora empregou o fosfato Alvorada, o qual, como encontrado por RAMOS (1982), foi o que mais se sobressaiu entre os vários fosfatos de rocha testados para a soja no campo. GIANINAZZI-PEARSON et alii (1981a) observaram aumento significativo na produção de vagens em soja devido à micorriza na ausência de fosfato adicionado, ou na presença de fosfato de cálcio pouco solúvel, mas este aumento foi devido apenas à micorriza. ASIMI et alii (1980) encontraram aumento na produção de vagens de plantas micorrizadas mesmo sem a adição de fosfato e, HALOS et alii (1982) observaram que plantas de soja inoculadas com fungo micorrízico possuíam maior número de vagens, aumento este ainda maior quando em combinação com *Bradyrhizobium*.

Outros autores ainda notaram aumentos na produção de grãos em soja micorrizada (ROSS & HARPER, 1970; ROSS, 1971; KUO & HUANG, 1982). ROSS & GILLIAM (1973) constataram que plantas micorrizadas produziram mais grãos quando se adicionou fosfato de ferro, de alumínio ou monocálcico, mas não sem a adição de fosfato ou com adição de fosfato de rocha, talvez por causa da pequena dose do fosfato de rocha utilizada (17,6 mg P/kg solo).

MIRANDA (1982) observou que na dose residual de 400 kg de P_2O_5 /ha aplicado como fosfato de rocha Patos de Minas, a produção de grãos de soja obtida em presença de espécies de fungo micorrízico introduzidas no campo, foi estatisticamente maior em relação ao tratamento não inoculado. A maior disponibilidade de fósforo no solo nesse tratamento teria permitido melhor atuação dos fungos introduzidos, e pela análise química do solo, notou-se que o teor de fósforo extraível nessa dose estava relativamente próximo ao da dose de 100 kg de P_2O_5 /ha como superfosfato simples, onde se constatou a melhor eficiência da espécie introduzida *Glomus macrocarpum*.

Convém observar que no presente experimento, a colheita foi realizada logo após o florescimento e, como este não foi uniforme, alguns tratamentos ainda apresentavam flores e outros, com plantas mais desenvolvidas (micorrizadas), já apresentavam vagens de tamanho médio ou pequeno, o que leva a deduzir que houve um adiantamento na produção, ou seja, observou-se precocidade das plantas micorrizadas.

- Absorção de NPK

Os teores médios de nitrogênio, fósforo e potássio na parte aérea total da soja se encontram na Tabela 4.

Com relação ao teor de nitrogênio na parte aérea da planta (%N), o que se observa é que, de um modo geral, plantas micorrizadas apresentavam teores menores em relação às não micorrizadas, não havendo também efeito de doses ou tipos de fosfato utilizados, embora o superfosfato triplo sem micorriza apresentasse menor teor em relação aos outros tratamentos sem micorriza. Isto pode ser explicado pelo possível efeito de diluição encontrado por EZETA & SANTOS (1980), onde as plantas mais desenvolvidas apresentaram os menores teores em nitrogênio.

Embora não houvesse, de maneira geral, diferenças estatísticas entre os tratamentos em relação ao teor de

TABELA 4. Teores médios de nitrogênio, fósforo e potássio na parte aérea total da soja cv. Viçosa, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo *MVA G. ma chrocarpum* (média de 4 repetições)(1)

Tratamento		% N			% P			% K		
Tipo de fosfato(2)	Dose(3)	sem MVA	com MVA	sem MVA	com MVA	sem MVA	com MVA	sem MVA	com MVA	com MVA
PM	1	2,57 abc(4)	1,56 fg	0,0517 cdefg	0,0542 abcdefg	1,21 abcdefgh	1,11 abcdefgh i			
	2	2,17 bcdef	1,57 fg	0,0549 abcdefg	0,0589 abcdefg	1,38 ab	1,04 defghi j			
	3	2,27 abcde	1,54 fg	0,0462 g	0,0662 ab	1,41 a	1,05 cdefghijk			
AR	1	3,00 a	1,50 fg	0,0515 cdefg	0,0595 abcdef	1,09 bcdefghijk	1,09 bcdefghijk			
	2	2,37 abc	1,47 g	0,0533 abcdefg	0,0625 abc	1,37 ab	0,91 jk			
	3	2,30 abcd	1,51 fg	0,0523 cdefg	0,0665 a	1,32 abcdef	0,96 hijk			
J	1	2,36 abc	1,65 defg	0,0479 efg	0,0581 abcdefg	1,33 abcde	1,10 bcdefghijk			
	2	2,61 abc	1,57 fg	0,0499 cdefg	0,0581 abcdefg	1,32 abcdef	1,10 bcdefghijk			
	3	2,60 abc	1,97 cdefg	0,0509 cdefg	0,0615 abcd	1,33 abcd	1,09 bcdefghijk			
C	1	2,33 abcd	1,46 g	0,0527 bcdefg	0,0581 abcdefg	1,31 abcdef	1,03 fghijk			
	2	2,64 abc	1,56 fg	0,0516 cdefg	0,0607 abcde	1,27 abcdefg	0,92 ijk			
	3	2,84 ab	1,47 g	0,0534 abcdefg	0,0592 abcdef	1,91 abcdefgh	0,93 ijk			
sem P	-	2,06 bcdef	1,51 fg	0,0492 defg	0,0508 cdefg	1,34 abc	1,01 ghijk			
ST	única	1,50 fg	1,59 efg	0,0472 fg	0,0660 ab	1,04 efghijk	0,83 k			
C.V. (%)			6,61		4,36		4,64			

(1) Análise estatística realizada com dados transformados, porém os dados apresentados são os originais. (2) Tipo de fosfato: PM - Patos de Minas; AR - Araxá; J - Jacupiranga; C - Catalão; ST - superfosfato triplo. (3) Dose: 1 - 64 ppm P; 2 - 128 ppm P; 3 - 256 ppm P; única - 18 ppm P. (4) Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

fósforo na parte aérea das plantas (%P), verifica-se que houve uma tendência das plantas micorrizadas possuírem teores mais elevados desse elemento quando se comparavam plantas micorrizadas com as não micorrizadas, dentro de cada tipo e dose de fosfato aplicado. As únicas diferenças observadas entre as plantas micorrizadas foram que os fosfatos Patos de Minas e Araxá na dose 3, e o superfosfato triplo, foram significativamente superiores ao tratamento sem fosfato, embora este último não diferisse dos outros tratamentos com fosfato de rocha.

Quanto ao teor de potássio (% K), os resultados também indicam que houve uma tendência à diminuição nos teores em plantas micorrizadas, possivelmente devido ao mesmo efeito de diluição já comentado anteriormente. Também se observou diferenças entre as doses e os fosfatos aplicados.

Quanto às quantidades totais dos macronutrientes acumulados na planta (Tabela 5), os resultados sugerem um efeito benéfico da inoculação micorrízica. A quantidade total acumulada de nitrogênio foi estatisticamente semelhante para três fosfatos de rocha (Araxá, Jacupiranga e Catalão) na maior dose e na presença de micorriza, equiparando-se ao tratamento com fosfato solúvel, embora esses tratamentos com fosfato de rocha não diferissem entre si nem das outras doses dos fosfatos. Esse feito não se repetiu em plantas não micorrizadas, onde não houve diferenças significativas entre os tratamentos.

A quantidade total de fósforo acumulado em plantas micorrizadas foi superior às não micorrizadas, parecendo haver nas micorrizadas uma tendência de maiores quantidades

TABELA 5. Médias das quantidades totais acumuladas de nitrogênio, fósforo e potássio na parte aérea total da soja cv. Viçosa, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo MVA *G. macrocarpum* (4 repetições).

Tratamento		N total (mg)		P total (mg)		K total (mg)	
Tipo de fosfato(1)	Dose(2)	sem MVA	com MVA	sem MVA	com MVA	sem MVA	com MVA
PM	1	80,99 def (3)	104,91 bcdef	1,63 g	2,67 cde	37,95 hi	75,53 abcdef
	2	83,63 def	108,63 bcdef	2,14 fg	4,06 cd	53,17 bcdefghi	72,28 abcdefg
	3	77,74 def	112,53 bcde	1,60 g	4,84 bc	64,02 abcdefgh	77,21 abcde
Ar	1	79,58 def	91,32 cdef	1,38 g	3,68 cde	29,22 i	66,62 abcdefgh
	2	78,82 def	108,04 bcdef	1,78 g	4,58 bcd	45,45 defghi	66,54 abcdefgh
	3	104,01 bcdef	127,51 abc	2,43 efg	5,63 ab	62,20 abcdefghi	80,88 abc
J	1	72,82 ef	106,92 bcdef	1,50 g	3,72 cde	41,39 ghi	71,99 abcdefg
	2	69,31 f	110,24 bcdef	1,34 g	4,08 cd	35,89 hi	77,24 abcd
	3	81,28 def	137,26 ab	1,61 g	4,27 bcd	42,08 fghi	74,98 abcdefg
C	1	80,50 def	116,98 bcd	1,85 g	4,65 bcd	45,82 defghi	83,20 ab
	2	89,92 cdef	116,65 bcd	1,77 g	4,55 bcd	43,47 efghi	69,16 abcdefgh
	3	91,88 cdef	140,18 ab	1,88 g	5,63 ab	41,96 fghi	89,56 a
sem P	-	75,04 def	99,08 bcdef	1,75 g	3,55 cdef	47,81 cdefghi	65,99 abcdefgh
ST	única.	106,95 bcdef	161,09 a	3,38 def	6,65 a	74,43 abcdefg	85,18 ab
C.V. (%)		15,41		16,31		20,08	

(1) Tipo de fosfato: PM - Patos de Minas; Ar - Araxá; J - Jacupiranga; C - Catalão; ST - superfosfato triplo. (2) Dose: 1 - 64 ppm P; 2 - 128 ppm P; 3 - 256 ppm P; única - 18 ppm P. (3) Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

na maior dose de cada fosfato de rocha, embora sem diferenças significativas em relação às demais doses. Aqui novamente se observa o melhor efeito do fosfato solúvel nas plantas micorrizadas, equiparando-se apenas aos fosfatos de rocha Araxá e Catalão na dose 3; e, de um modo geral, a ausência de efeitos de tratamentos em plantas não micorrizadas.

Observa-se que a quantidade total de potássio acumulado em plantas micorrizadas foi geralmente maior em relação às não micorrizadas, embora poucas diferissem significativamente em relação ao mesmo tratamento sem micorriza. Neste caso também não se observou efeito de tipo de fosfato ou dose em plantas inoculadas com fungo MVA, ou não.

Neste experimento, a %P foi aparentemente a mais favorecida pela presença da micorriza, enquanto que a %K foi diminuída, como observado por SIQUEIRA & PAULA (1986). Aumentos na %P e diminuição na %N pela presença da micorriza foram observados por CRUSH (1974) em centrosema e *Stylosanthes*, e GIANINAZZI-PEARSON et alii (1981a) verificaram aumento significativo na %P em soja micorrizada. Entretanto, ROSS & HARPER (1970), ROSS (1971) e CARDOSO (1985), verificaram aumentos também na %N em soja micorrizada, mas não na %K.

MOSSE et alii (1976) observaram aumentos significativos na %P nos tecidos de plantas de trevo que receberam fosfato de rocha ou micorriza, e esse aumento foi muito maior quando se combinou o fosfato e a micorriza. Resultados semelhantes foram obtidos por WAIDYANATHA et alii (1979) em *Pueraria*, e SPARLING & TINKER (1978) em trevo, com fosfato solúvel em qualquer dose (10, 50, 100 e 500 mg P/kg de solo), e fosfato de rocha nas menores doses (0,1 e 1,0 g P/kg de solo).

As quantidades totais acumuladas dos macronutrientes neste experimento foram favorecidas pela micorriza, comprovando o efeito de simbiose na absorção de outros elemen-

tos além do fósforo (ROSS, 1971; ABBOTT & RODSON, 1984). Aumentos nas quantidades totais de N, P ou K, causados pela MVA também já foram observados por diversos autores, sem a adição de fosfato (ASIMI et alii, 1980), ou usando fosfato solúvel ou pouco solúvel (PAIRUNAN et alii, 1980, ISLAM et alii, 1980; GIANINAZZI-PEARSON et alii, 1981a; MIRANDA, 1982; CARDOSO, 1986), em diversas leguminosas.

Um possível efeito sinérgico com a combinação fosfato de rocha e micorriza em relação à quantidade total de fósforo acumulado na planta, foi encontrado por MOSSE et alii (1976), ISLAM et alii (1980) e CARDOSO (1985), entre tanto isto não foi verificado no presente experimento, talvez porque outros nutrientes como cálcio, magnésio, etc., estivessem em quantidades limitantes, impedindo o pleno desenvolvimento das plantas e a expressão de melhores resultados.

- Peso da matéria seca de nódulos

Verificando-se a Tabela 6, percebe-se claramente que a micorriza favoreceu a nodulação da soja, uma vez que as plantas controle, sem micorriza, apresentaram valores significativamente inferiores no peso da matéria seca dos nódulos.

Os fosfatos Araxá nas doses 2 e 3 e Catalão na dose 3, combinados à micorriza, produziram maior peso de nódulos quando comparados ao tratamento só com fósforo (solúvel ou de rocha), ou só com micorriza, havendo concordância com trabalhos de MOSSE et alii (1976), ISLAM et alii (1980) e WAIDYANATHA et alii (1979). Estes tratamentos com fosfato de rocha e micorriza foram superiores ao com fosfato solúvel sem micorriza, resultado também obtido por BONETTI & DONALD (1986) em soja, em solo estéril. O fosfato Catalão na dose 3 com micorriza produziu efeito semelhante ao superfosfato triplo com micorriza, que foi o melhor tratamento.

TABELA 6. Valores médios relativos ao peso da matéria seca de nódulos, atividade total e específica da nitrogenase, da soja cv. Viçosa, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo MVA *G. mactrocarpum* (média de 4 repetições).

Tratamento	Mat. seca de nódulos (g)		Ativ. total da nitrogenase (µmoles/h.vaso)		Ativ. específica da nitrogenase (µmoles/h.g nódulo)	
	Dose(2)	sem MVA	com MVA	sem MVA	com MVA	sem MVA
PM	1	0,023 g(3)	0,250 ef	0,73 h	7,44 def	32,39 a
	2	0,044 g	0,301 def	1,38 gh	8,31 def	31,40 a
	3	0,033 g	0,373 cdef	0,93 gh	9,11 ced	26,68 a
Ar	1	0,010 g	0,334 def	0,31 h	12,38 abcd	51,48 a
	2	0,031 g	0,427 cd	1,26 gh	11,92 abcd	45,13 a
	3	0,071 g	0,519 bc	2,94 fgh	15,30 ab	38,46 a
J	1	0,027 g	0,268 ef	0,88 gh	7,83 def	29,07 a
	2	0,025 g	0,311 def	0,72 h	7,77 def	36,21 a
	3	0,026 g	0,310 def	0,91 gh	9,07 cde	35,20 a
C	1	0,029 g	0,379 cdef	0,90 gh	9,36 cde	30,10 a
	2	0,025 g	0,390 cde	1,41 gh	10,06 bcde	52,72 a
	3	0,025 g	0,592 ab	1,52 gh	14,10 abc	45,53 a
sem P	-	0,029 g	0,242 f	0,90 gh	7,24 def	32,33 a
ST	Única	0,271 ef	0,667 a	6,22 efg	16,33 a	22,94 a
C.V. (%)		24,91		33,46		45,66

(1) Tipo de fosfato: PM - Patos de Minas; Ar - Araxá; J - Jacupiranga; C - Catalão; ST - superfosfato triplo. (2) Dose: 1 - 64 ppm P; 2 - 128 ppm P; 3 - 256 ppm P; Única - 16 ppm P. (3) Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

A nodulação de plantas apenas micorrizadas (sem adição de fosfato) foi semelhante à de plantas apenas suplementadas com o fosfato solúvel, pois geralmente os efeitos são da micorriza ou são de fosfato adicionado em quantidades apropriadas, são similares (DAFT & EL-GIAHMI, 1974, 1975; MOSSE, 1977b; CARDOSO, 1985).

Porém, plantas que receberam só o fosfato solúvel não diferiram da maioria das plantas micorrizadas adubadas com os outros fosfatos de rocha, talvez porque a concentração de fósforo disponível nesses tratamentos com fosfato de rocha ainda estivesse muito baixa, uma vez que mesmo com a micorriza a nodulação não foi elevada a níveis superiores do que aquele provocado pelo tratamento só com fosfato solúvel ou só com micorriza.

BETHLENFALVAY & YODER (1981) obtiveram nodulação aumentada na soja tanto na presença como na ausência de fungos micorrízicos em doses maiores de fósforo no solo. No presente experimento, tratamentos com maior disponibilidade de fósforo, provocados pelo tratamento com superfosfato triplo e Catalão na dose 3, aparentemente foram os que promoveram mais a nodulação na presença de micorriza, suportando a afirmativa de que a nodulação requer alta concentração de fósforo (BERGERSEN, 1971), que também pode ser obtida pela interação fósforo e micorriza (MOSSE et alii, 1976).

Mas observando melhor este experimento, embora as plantas micorrizadas apresentassem tendência em possuir maior teor em fósforo, isso pode não ter sido suficiente para aumentar a nodulação ou a fixação de nitrogênio, como será visto adiante. O maior peso de nódulos dessas plantas pode estar relacionado a outro efeito causado pelo fungo micorrízico, como o melhor desenvolvimento geral das plantas (ROBSON et alii, 1981), além de possíveis efeitos secundários de natureza hormonal (MOSSE, 1977b; ALLEN et alii, 1980 e 1982; BAGYARAJ, 1984).

Como existe uma correlação positiva entre peso de nódulos e matéria seca da parte aérea, e desta com a produção (CARDOSO, 1984), pode-se levantar a hipótese de que existe a possibilidade das plantas micorrizadas superarem, em produção de grãos, as não micorrizadas, principalmente aquelas plantas que receberam o fosfato Catalão na dose 3 ou superfosfato triplo, com micorriza, que foram os tratamentos que promoveram mais a nodulação da soja neste experimento.

- Atividade total e específica da nitrogenase

Os resultados relativos à atividade total e específica da nitrogenase se encontram na Tabela 6.

A atividade total da nitrogenase foi maior em plantas micorrizadas, devido à maior massa de nódulos presentes nessas plantas, onde se destacaram os tratamentos com superfosfato triplo, Catalão na dose 3 e Araxá em todas as doses. Esse aumento também foi obtido por vários autores em diversas leguminosas, como BETHLENFALVAY & YODER (1981), CARLING et alii (1978), ASIMI et alii (1980), enquanto MOSSE et alii (1976) e WAIDYANATHA et alii (1979), obtiveram aumentos através da interação fosfato de rocha - micorriza.

Porém, no presente trabalho, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos quanto à atividade específica da nitrogenase. Isso quer dizer que a eficiência da fixação do nitrogênio não foi melhorada, o que também pode ser confirmado pelo teor de nitrogênio (%N) da parte aérea das plantas (Tabela 4), que do mesmo modo não aumentou, como já comentado anteriormente. Isso concorda com BETHLENFALVAY & YODER (1981), onde a atividade específica da nitrogenase não foi modificada pela presença da micorriza, porém discorda de EL-HASSANIN & LYND (1985), LYND et alii (1985) e PURCINO & LYND (1985).

ISLAM et alii (1980) conseguiram incrementos na atividade específica da nitrogenase nos nódulos de caupi quando utilizaram fosfato de rocha combinado com micorriza. Apesar disso, não há evidência de uma interação direta entre a bactéria fixadora de nitrogênio atmosférico (*Rhizobium*) e o fungo micorrizíco (CARLING et alii, 1978), ou seja, não há indícios de que haja uma relação simbiótica entre a bactéria e o fungo, mas sim uma relação indireta pois o fungo MVA ao promover o melhor desenvolvimento e estado nutricional da planta irá favorecer o processo de fixação do N_2 pelo *Rhizobium*.

Pode ser que neste trabalho, o suprimento em fósforo para a planta não tenha sido suficiente para promover a atividade específica da nitrogenase, uma vez que este elemento é considerado um fator bastante correlacionado com a atividade específica dos nódulos (GRAHAM & ROSAS, 1979). E como se verifica na Tabela 4, a %P das plantas ainda estava baixa mesmo nas micorrizadas, as quais mostraram tendência em possuir os valores mais elevados, principalmente quando se compararam os valores obtidos por CARDOSO (1985) e SIQUEIRA & PAULA (1986). CRUSH (1982) demonstrou que o fungo MVA não afeta diretamente a atividade específica da nitrogenase nos nódulos, mas simplesmente melhora a nodulação através da melhor nutrição em fósforo da planta hospedeira.

- Relação entre os pesos da matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria fresca de raízes (MFR)

Através da Tabela 7, verifica-se que de maneira geral, plantas micorrizadas apresentaram tendência em possuir maior relação entre os pesos de MSPA e MFR, embora os valores não fossem estatisticamente significativos. Verifica-se neste caso, o valor significativamente superior do tratamento com fosfato Catalão na dose 3 com micorriza em relação aos tratamentos sem micorriza, além do efeito semelhante entre fosfato solúvel apenas e os tratamentos com micorriza.

TABELA 7. Valores médios da relação entre os pesos da matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria fresca de raízes (MFR), porcentagem de colonização das raízes e número de esporos no solo do fungo MVA *G. macrocarpum*, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo MVA *G. macrocarpum*, em soja cv. Viçosa (média de 4 repetições).

Tratamento		MSPA/MFR		% colonização das raízes (4)		Nº de esporos/100 ml de solo(4)	
Tipo de fosfato(1)	Dose(2)	sem MVA	com MVA	sem MVA	com MVA	sem MVA	com MVA
PM	1	0,310 cd(3)	0,470 abcd	-	42,2 a	-	2197 a
	2	0,321 cd	0,416 bcd	-	44,3 a	-	2988 a
	3	0,319 cd	0,417 bcd	-	41,7 a	-	2523 a
Ar	1	0,323 cd	0,485 abcd	-	50,1 a	-	2315 a
	2	0,315 cd	0,488 abcd	-	48,7 a	-	3155 a
	3	0,266 d	0,579 ab	-	39,6 a	-	2046 a
J	1	0,299 cd	0,382 bcd	-	47,1 a	-	2695 a
	2	0,337 cd	0,406 bcd	-	50,2 a	-	3253 a
	3	0,294 cd	0,516 abc	-	49,6 a	-	3212 a
C	1	0,374 bcd	0,431 bcd	-	46,3 a	-	2332 a
	2	0,342 cd	0,417 bcd	-	40,0 a	-	2619 a
	3	0,330 cd	0,694 a	-	44,0 a	-	3066 a
sem P	-	0,340 cd	0,447 bcd	-	45,6 a	-	3149 a
ST	única	0,407 bcd	0,491 abcd	-	38,3 a	-	1953 a
C.V. (%)		21,37		6,91		12,29	

(1) Tipo de fosfato: PM - Pátos de Minas; Ar - Araxá; J - Jacupiranga; C - Catalão; ST - Superfosfato triplo. (2) Dose: 1 - 64 ppm P; 2 - 128 ppm P; 3 - 256 ppm P; única - 18 ppm P. (3) Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey(5%). (4) tratamentos sem micorriza não foram considerados na comparação das médias; análise estatística realizada com dados transformados, porém os dados apresentados são os originais.

Essa variável pode refletir diferenças entre o desenvolvimento aéreo e o radicular das plantas, onde tanto o fosfato como a micorriza na ausência ou na presença de fosfato, podem levar a um menor desenvolvimento radicular relativo, observado por CARDOSO (1984, 1985) e ASIMI et alii (1980) em soja. HAYMAN & MOSSE (1971) observaram em cebola, resultados semelhantes com fosfato ou micorriza quando comparados ao controle, e CRUSH (1974), ABBOTT & ROBSON (1978), REDENTE & REEVES (1981) e CABALA-ROSAND & WILD (1982), em várias leguminosas.

O fato de plantas micorrizadas apresentarem massa radicular proporcionalmente menor, pode indicar que a absorção aumentada de fósforo e outros nutrientes pode ser devido às hifas dos fungos micorrízicos, pois como foi observado por HAYMAN & MOSSE (1971), a eficiência de raízes micorrizadas e não micorrizadas é equivalente por unidade de peso.

- Porcentagem de colonização das raízes e esporulação do fungo MVA no solo

Os dados referentes às médias da porcentagem de raízes colonizadas e da contagem de esporos do fungo *Glomus macrocarpum* em 100 ml de solo se encontram registrados na Tabela 7.

Não foi encontrado esporos de fungos MVA nos tratamentos não inoculados com esse fungo, nem se detectaram estruturas fúngicas nas raízes das plantas desses tratamentos.

Os tratamentos que haviam sido inoculados com fungo MVA apresentaram grande quantidade de esporos (em média de 1963 a 3253 esporos/100 ml de solo), não se observando diferenças significativas entre os tratamentos. A porcen-

tagem de colonização micorrízica das raízes variou de 38,3 a 50,2%, não havendo diferenças significativas entre os tratamentos. Foi encontrado um número razoável de vesículas e micélio intracelular, pequenos arbúsculos nas camadas mais profundas do córtex, e também micélio externo aderente à raiz.

Os valores médios da porcentagem de colonização das raízes indicam que houve afinidade entre este fungo e a cultivar Viçoja, já observada por CARDOSO (1986), indicando que em todos os tratamentos houve condições de ocorrência da colonização. Embora esses valores não tenham sido tão elevados, foram aparentemente suficientes para causar efeitos marcantes no desenvolvimento da soja.

Normalmente, a aplicação de fósforo ao solo diminui a formação de micorriza, assim como a proliferação de esporos (MOSSE, 1973) e, o aumento progressivo nas doses de fosfato solúvel tende a diminuir a porcentagem de colonização nas raízes de leguminosas, como observado por ASIMI et alii (1980), HALL et alii (1977) e ROBSON et alii (1981). Neste experimento não se observou inibição da colonização nos tratamentos com fosfato solúvel ou de rocha, em nenhuma dose. Isto pode ter ocorrido pois o nível de fosfato solúvel ainda estava baixo e, nos fosfatos de rocha, a maior parte do fósforo se encontrava na forma "insolúvel", não chegando portanto a afetar negativamente a porcentagem de colonização das raízes.

Segundo PAIRUNAN et alii (1980), o nível mais baixo de fósforo aplicado como superfosfato (menor que 1,2 g P/vaso com 3 kg de solo) aumentou a porcentagem de colonização de raízes de trevo. A aplicação de um nível intermediário (1,2 g P/vaso) diminuiu um pouco a porcentagem, mas a aplicação de nível alto de fósforo (2,4 g P/vaso), diminuiu marcantemente a porcentagem de raízes colonizadas. Quando

aplicaram fosfato de rocha, a porcentagem de raízes que estavam micorrizadas aumentou com o aumento na aplicação de fosfato até o nível de 42,86 g P/vaso, mas acima desse nível a porcentagem diminuiu.

No trabalho em solução nutritiva de MOSSE & THOMPSON (1984), plantas micorrizadas de feijão a que se adicionou fosfato de rocha, foram as que mostraram colonização de raízes mais extensiva e vigorosa do que aquelas que receberam a forma solúvel.

No presente experimento, o tratamento que recebeu o fosfato solúvel apresentou porcentagem de colonização e número de esporos em 100 ml de solo mais baixos do que os demais, com fosfato de rocha, embora sem diferenças significativas. Em alguns casos, com a adição de fosfato solúvel a colonização das raízes pode diminuir (BETHLENFALVAY & YODER, 1981; VARMA, 1979); não ser muito afetada pela aplicação de fósforo (SMITH & DAFT, 1977), ou pode até aumentar a colonização das raízes (BOLAN et alii, 1984; PARADA, 1984). Este último caso provavelmente ocorre quando a concentração de fósforo no solo está ainda abaixo da concentração crítica para inibir a colonização micorrízica (HAYMAN & MOSSE, 1971).

Do mesmo modo, EZETA & SANTOS (1980) observaram queda na esporulação de *Gigaspora margarita* com o aumento no nível de fósforo no solo, enquanto que ROSS (1971) observou que a produção de esporos de *Endogone* em soja não foi afetada com a dose de fósforo aplicado. E PARADA (1984), em feijoeiro, constatou maior esporulação com o aumento na dose de fósforo.

4.2. EXPERIMENTO COM FEIJÃO

- Peso da matéria seca da parte aérea

Na Tabela 8 pode-se observar o efeito no peso da matéria seca da parte aérea do feijoeiro, causado pela micorriza VA. Comparando-se estatisticamente os valores obtidos pelas plantas micorrizadas em relação às não micorrizadas, nota-se que os das primeiras são maiores numericamente, embora poucos tratamentos demonstrem ser significativos.

Nota-se também neste experimento, que o peso da matéria seca das plantas não foi afetado pela presença de fosfato de qualquer natureza ou dose, tanto nas plantas micorrizadas como nas não micorrizadas. Essas últimas foram beneficiadas apenas pela adição de superfosfato triplo, cujo efeito na planta foi semelhante à qualquer tratamento com micorriza.

Alguns tratamentos com fosfato de rocha e micorriza (Patos de Minas, dose 1 e Jacupiranga, dose 2) foram bastante ineficientes, chegando a igualar-se ao tratamento em que não se adicionou o fosfato e nem a micorriza.

O efeito benéfico das micorrizas vesículo-arbusculares em feijoeiro já foi estudado por diversos autores (DAFT & EL-GIAHMI, 1974, 1975; MARTINS & SAITO, 1986; OLIVEIRA & ZAMBOLIM, 1986; SIQUEIRA & OLIVEIRA, 1986). PLENCHETTE et alii (1983) verificaram a alta dependência do feijoeiro à micorriza, e PARADA (1984), testando a eficiência de vários fungos MVA, verificou que *Glomus leptotichum* foi o endófito mais eficiente para as diversas cultivares empregadas.

BETHLENFALVAY et alii (1982) encontraram valores relativos ao crescimento de plantas de feijão micorriza-

TABELA 8. Pesos médios de matéria seca da parte aérea total (com vagens), e de vagens do feijão cv. carioca, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo MVA *G. leptotrichum* (média de 4 repetições)

Tratamento		Mat. seca da parte aérea (g)		Mat. seca de vagens (mg)	
Tipo de fosfato (1)	Dose (2)	sem MVA	com MVA	sem MVA	com MVA
PM	1	1,25 cdef (3)	2,12 abcdef	219,38 b	441,15 ab
	2	1,02 ef	2,55 abcd	42,55 b	945,60 ab
	3	1,39 cdef	3,15 ab	90,65 b	572,75 ab
Ar	1	1,33 cdef	2,41 abcde	99,47 b	833,25 ab
	2	1,26 cdef	3,03 ab	235,27 b	829,20 ab
	3	1,58 cdef	2,53 abcd	348,83 b	476,75 ab
J	1	1,32 cdef	2,67 abc	122,10 b	545,68 ab
	2	1,36 cdef	2,22 abcdef	159,88 b	244,63 b
	3	1,82 bcdef	3,34 a	271,03 b	1310,45 a
C	1	1,23 cdef	2,42 abcde	175,25 b	474,65 ab
	2	1,12 def	2,67 abc	59,70 b	519,22 ab
	3	1,20 def	2,30 abcde	48,30 b	450,50 ab
Sem P	-	0,78 f	2,31 abcde	51,57 b	685,22 ab
ST	única	2,51 abcd	3,36 a	429,38 ab	661,28 ab
C.V. (%)		26,48		86,59	

(1) Tipo de fosfato: PM - Patos de Minas; Ar - Araxá; J - Jacupiranga; C - Catalão; ST - Superfosfato triplo. (2) Dose: 1 - 64 ppm P; 2 - 128 ppm P; 3 - 256 ppm P; única - 18 ppm P. (3) Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

do sempre mais baixos do que plantas controles não micorrizadas. Porém esses resultados devem ser interpretados com cuidado uma vez que as condições para a fotossíntese eram sub-ótimas, havendo então inibição do crescimento da planta micorrizada devido à competição por carboidratos.

O fato de no presente experimento não ter havido um crescimento mais significativo das plantas micorrizadas pode ser devido à alguma condição ambiental desfavorável ao desenvolvimento do feijoeiro, como as baixas temperaturas ambientais e excesso de umidade encontrado no solo dos vasos, que podem ser prejudiciais ao feijoeiro (VIEIRA, 1983). As condições relacionadas à luminosidade, temperatura ou umidade do solo afetam o desenvolvimento das plantas, e qualquer alteração no sistema solo-fungo-planta pode alterar a eficiência da interação (PARADA, 1984). MULLIGAN et alii (1985) sugeriram que condições físicas do solo adversas, como compactação, seca e condições anaeróbicas, podem causar um declínio na colonização simbiótica do sistema radicular do feijoeiro pelo fungo micorrízico VA, afetando o desenvolvimento da planta.

A adição do superfosfato triplo favoreceu o desenvolvimento das plantas sem micorriza, mas plantas micorrizadas não responderam à sua adição, não concordando com PARADA (1984) onde a micorriza elevou o peso da matéria seca da parte aérea mesmo em doses mais elevadas (27 ppm de P) do que a usada neste experimento (18 ppm P).

A presença do fosfato de rocha não influenciou no desenvolvimento das plantas micorrizadas ou não. O fosfato de rocha Catalão usado no experimento de CARDOSO (1984) também não trouxe nenhum benefício ao desenvolvimento do feijoeiro, na presença ou ausência do fungo MVA. Além do mais, não se notou o efeito superior no desenvolvimento das plantas, da

combinação fosfato de rocha e micorriza em relação a tratamentos com apenas um dos fatores, discordando de MOSSE et alii (1976), ISLAM et alii (1980) e CARDOSO (1985), em diversas leguminosas.

A ausência da promoção no crescimento devido à adição de fosfato de rocha em feijoeiro, independente da micorriza, condiz com alguns trabalhos publicados. BRAGA (1969), testando várias fontes de fosfato de diferentes solubilidades (superfosfato simples, farinha de ossos, termofosfato, ácido fosfórico, fosfato diamônico e fosfato de Araxá), em três níveis (100, 200 e 300 kg P_2O_5 /ha), encontrou a melhor eficiência para o fosfato diamônico tanto na produção de grãos (g/vaso) como no fósforo recuperado (mg P/vaso). As demais fontes não se mostraram eficientes, isto em razão principalmente do curto período em que foi realizado o ensaio em estufa. Este pode ter sido o motivo da baixa eficiência dos fosfatos de rocha utilizados neste experimento, também de curta duração.

O fosfato de rocha (Patos) na dose de 300 kg P_2O_5 /ha não mostrou efeito significativo nos diferentes parâmetros analisados nos plantios de feijoeiros "das águas" e "da seca" no trabalho conduzido por ARAÚJO et alii, 1982. Estudando o efeito residual na cultura de feijão após aveia, SILVA et alii (1985), mostraram que, embora sem diferenças significativas, o feijão produziu mais nos tratamentos com fosfato de rocha Patos de Minas e Termofosfato IPT, ambos com a incorporação de adubo verde, do que com adubação com superfosfato triplo; e sem a incorporação, a produção foi menor em relação ao superfosfato triplo.

Nas condições deste experimento, várias causas como condições ambientais desfavoráveis, baixo nível de fósforo disponível no solo, baixa eficiência dos fosfatos de rocha e a curta duração do experimento devem ter

contribuído para a pouca eficácia das MVA no desenvolvimento do feijoeiro.

- Peso da matéria seca de vagens

A Tabela 8 mostra os resultados de matéria seca de vagens do feijoeiro. Nela praticamente não se notam diferenças entre os tratamentos, destacando-se estatisticamente apenas aquele que recebeu o fosfato Jacupiranga na dose 3 com micorriza, em relação aos tratamentos sem fosfato ou com fosfato de rocha sem micorriza, e em relação ao Jacupiranga na dose 2 com micorriza.

Apesar disso, verifica-se que houve uma tendência em plantas micorrizadas apresentarem maior produção de vagens.

DAFT & EL-GIAHMI (1974, 1975) e OLIVEIRA & ZAMBOLIM (1986) verificaram aumentos na produção de vagens em feijoeiro micorrizado, e PARADA (1984) observou que a micorriza teve real importância na produção de grãos somente até a dose intermediária de fósforo (16 ppm P).

Tratamentos com fungo MVA e o superfosfato triplo levaram à produção de vagens no feijoeiro, o que não ocorreu com os outros tratamentos (fosfato de rocha Catalão e/ou *Rhizobium phaseoli*) sem fungo MVA no trabalho de CARDOSO (1984). BRAGA (1969) e ARAÚJO et alii (1982) não encontraram aumentos significativos na produção de grãos quando usaram fosfato de rocha, como já discutido anteriormente.

ROSS & GILLIAM (1973) também não obtiveram aumentos na produção de grãos em soja devido à micorriza quando usaram fosfato de rocha, talvez devido à baixa dose empregada, como já discutido no experimento com soja.

GIANINAZZI-PEARSON et alii (1981a) encontraram aumentos na produção de vagens em soja devido à micorriza quando usaram um fosfato pouco solúvel, mas como esse aumento não diferiu estatisticamente do aumento provocado pela micorriza quando não se adicionou fosfato, esses autores concluíram que esse aumento foi devido apenas à micorriza. O mesmo tipo de efeito pode ter sido encontrado neste experimento se levarmos em conta que houve uma tendência em que plantas micorrizadas levaram à maiores produções, tanto na presença de fosfato de rocha como na sua ausência.

- Absorção de NPK

A Tabela 9 mostra os resultados referentes aos teores de nitrogênio, fósforo e potássio na parte aérea do feijoeiro.

De maneira geral, plantas micorrizadas e não micorrizadas não apresentaram diferenças significativas entre si quanto ao teor de nitrogênio (%N) na parte aérea, mas as micorrizadas mostraram tendência em possuir os menores valores, provavelmente devido ao efeito de diluição. A presença de qualquer fosfato não afetou a %N em plantas micorrizadas, mas em plantas não micorrizadas o tratamento com superfosfato triplo apresentou uma diminuição na porcentagem, talvez também devido ao efeito de diluição, uma vez que as plantas se desenvolveram mais, provocando diferenças significativas entre este e diversos outros tratamentos. Mas os teores nesses tratamentos com superfosfato triplo não diferiram de nenhum tratamento com micorriza.

O teor de fósforo (%P) da parte aérea de plantas micorrizadas foi maior do que em plantas não micorrizadas, diferindo estatisticamente em quase todos os tratamentos. Apesar disso, não se observou efeito de tipos ou níveis de fosfato aplicado em plantas micorrizadas, notando-se apenas que tratamentos com superfosfato triplo, Araxá na dose 2 e Catalão na dose 3 tiveram efeitos semelhantes. Em plantas não micor-

TABELA 9. Teores médios de nitrogênio, fósforo e potássio na parte aérea total do feijão cv. Carioca, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo MVA *G. leptotrichum* (média de 4 repetições). (1)

Tratamento		% N			% P			% K		
Tipo de fosfato(2)	Dose(3)	sem MVA		com MVA	sem MVA		com MVA	sem MVA		com MVA
PM	1	3,37	abcdef(4)	2,77 bcdefg	0,133 ef	2,25 ab	0,215 bc	2,42 a		
	2	3,34	abcdef	2,66 cdefg	0,112 f	2,26 ab	0,211 bc	2,19 ab		
	3	2,80	abcdefg	2,35 g	0,124 f	2,28 ab	0,192 bcd	2,10 ab		
Ar	1	3,35	abcdef	2,90 abcdefg	0,121 f	2,28 ab	0,208 bc	2,22 ab		
	2	3,48	abcde	2,59 defg	0,147 def	2,35 ab	0,245 ab	2,04 ab		
	3	2,95	abcdefg	2,58 defg	0,179 cde	2,39 a	0,220 bc	2,21 ab		
J	1	3,39	abcdef	3,10 abcdefg	0,121 f	2,17 ab	0,207 bc	2,24 ab		
	2	3,80	a	2,85 abcdefg	0,110 f	2,05 ab	0,205 bc	2,32 ab		
	3	3,52	abcd	2,38 g	0,114 f	2,20 ab	0,182 cde	1,85 b		
C	1	3,53	abcd	2,35 g	0,133 ef	2,25 ab	0,210 bc	2,06 ab		
	2	3,40	abcde	2,43 fg	0,123 f	2,10 ab	0,210 bc	1,96 ab		
	3	3,60	abc	2,82 abcdefg	0,121 f	2,18 ab	0,239 ab	2,32 ab		
sem P	-	3,73	ab	2,61 defg	0,120 f	2,14 ab	0,203 bc	2,33 ab		
ST	única	2,53	efg	2,44 fg	0,205 bc	2,29 ab	0,295 a	2,27 ab		
C.V. (%)		6,03			5,48			4,42		

(1) Análise estatística realizada com dados transformados, porém os dados apresentados são os originais. (2) Tipo de fosfato: PM - Palcos de Minas; Ar - Araxá; J - Jacupiranga; C - Catalão; ST - superfosfato triplo. (3) Dose: 1 - 64 ppm P; 2 - 128 ppm P; 3 - 256 ppm P; única - 18 ppm P. (4) Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

zadas, observou-se apenas a superioridade do superfosfato triplo, efeito este que não diferiu de nenhum tratamento com fosfato de rocha ou sem fosfato, com micorriza.

Quanto ao teor de potássio (%K), não se observaram diferenças significativas de interesse prático entre os tratamentos.

Como já comentado anteriormente, a maior importância das MVA reside no fato delas promoverem o melhor crescimento do hospedeiro, pois graças à melhor exploração do solo pelas hifas do fungo, levam ao maior fornecimento de nutrientes, principalmente de fósforo, o qual é encontrado em altas concentrações em plantas micorrizadas (MOSSE, 1973).

Neste experimento, a %P foi sem dúvida a mais beneficiada pela micorriza, enquanto a %N e %K não foram incrementadas, como aconteceu no presente trabalho com soja, e no trabalho de CARDOSO (1986). SIQUEIRA & OLIVEIRA (1986) também encontraram incrementos na %P na parte aérea do feijoeiro, devido à inoculação com fungo MVA.

Muitos autores, entre eles MOSSE et alii (1976), WAIDYANATHA et alii (1979) e SPARLING & TINKER (1978), encontraram aumentos na %P em tecidos de leguminosas que receberam fosfato de rocha ou micorriza, ou com a combinação de ambos, levando a incrementos ainda maiores, como já discutido anteriormente.

CARLING et alii (1978) não encontraram efeito na %N devido ao fungo MVA em soja, embora outros autores já tenham encontrado aumentos, como podem ser vistos nos trabalhos de NIELSEN & JENSEN (1983) em alfafa, e no de CARDOSO (1985), em soja.

A micorriza VA geralmente não afeta a %K na planta, como verificado por PARADA (1984) em feijão, e por ROSS (1971) e ROSS & HARPER (1970) em soja.

As quantidades totais dos macronutrientes acumulados na parte aérea do feijoeiro podem ser encontrados na Tabela 10.

Quanto ao N total, não se observaram diferenças significativas entre os tratamentos, e quanto ao K total, poucos tratamentos com micorriza diferiram dos sem micorriza, não se destacando nenhum tipo de fosfato de rocha ou doses.

O P total acumulado pelas plantas micorrizadas foi, exceto poucas excessões, significativamente maior em relação às não micorrizadas, efeito já observado por vários autores (ABBOTT & ROBSON, 1978; ASIMI et alii, 1980; MIRANDA, 1982; MANJUNATH & BAGYARAJ, 1984). Observa-se também neste experimento o melhor efeito do fosfato solúvel nas plantas micorrizadas ou não. Nas micorrizadas, o efeito do fosfato solúvel foi superior aos demais tratamentos, equivalendo-se apenas ao fosfato Araxã na dose 2, e nas não micorrizadas o efeito do fosfato solúvel, além de ser melhor, foi estatisticamente semelhante a quase todos os tratamentos com micorriza.

MOSSE et alii (1976) observaram que em alguns casos, a combinação fosfato de rocha e micorriza elevava o P total da planta em valores maiores do que os observados com os dois fatores isolados. Esse efeito não foi observado com os fosfatos de rocha em geral, ocorrendo apenas com o fosfato solúvel com micorriza.

- Peso da matéria seca de nódulos

Os resultados referentes ao peso da matéria se

TABELA 10. Médias das quantidades totais acumuladas de nitrogênio, fósforo e potássio na parte aérea total do feijão cv. Carioca, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo MVA *G. leptotrichum* (4 repetições).

Tratamento		N total (mg)		P total (mg)		K total (mg)	
Tipo de fosfato(1)	Dose (2)	sem MVA	com MVA	sem MVA	com MVA	sem MVA	com MVA
PM	1	41,53 a (3)	58,40 a	1,67 efg	4,57 bcde	28,34 defgh	51,36 abcdefg
	2	37,07 a	66,93 a	1,15 g	5,30 bc	23,01 gh	55,35 abcde
	3	38,50 a	73,95 a	1,72 efg	6,03 b	31,83 cdefgh	65,98 ab
Ar	1	43,79 a	69,90 a	1,61 fg	4,95 bc	29,96 cdefgh	53,18 abcdef
	2	42,64 a	80,19 a	1,86 defg	7,42 ab	29,72 cdefgh	62,43 ab
	3	45,02 a	65,62 a	2,86 cdefg	5,58 bc	38,64 bcdefgh	55,80 abcde
J	1	42,77 a	80,07 a	1,60 g	5,37 bc	28,18 defgh	58,26 abc
	2	49,75 a	62,72 a	1,52 g	4,54 bcdef	28,25 defgh	50,52 abcdefg
	3	63,08 a	79,11 a	2,02 defg	6,04 b	39,87 bcdefgh	61,45 ab
C	1	43,05 a	56,84 a	1,64 fg	5,09 bc	27,77 efg	49,92 abcdefg
	2	37,70 a	65,01 a	1,40 g	5,61 bc	23,79 fgh	52,43 abcdefg
	3	42,39 a	64,35 a	1,47 q	5,57 bc	26,63 efg	53,56 abcde
sem P	-	64,46 a	59,52 a	0,92 g	4,66 bcd	16,42 h	53,25 abcde
ST	Única	63,98 a	82,84 a	5,10 bc	9,89 a	57,61 abcd'	75,03 a
C.V. (%)		33,60		27,99		24,59	

(1) Tipo de fosfato: PM - Patos de Minas; Ar - Araxá; J - Jacupiranga; C - Catalão; ST - Superfosfato triplo. (2) Dose: 1 - 64 ppm P; 2 - 128 ppm P; 3 - 256 ppm P; Única - 18 ppm P. (3) Médias seguidas das mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey (5%).

ca de nódulos do feijoeiro se encontram na Tabela 11. Nela verifica-se que, embora sem diferenças significativas, houve tendência de plantas micorrizadas nodularem mais que as não micorrizadas. Também não se verificam efeitos de tipos ou doses de fosfato aplicado em plantas não micorrizadas, enquanto que em plantas micorrizadas, as únicas diferenças significativas observadas foram entre os tratamentos com superfosfato triplo em relação ao fosfato Patos de Minas na dose 1, ao Catalão na dose 3, e ao sem adição de fosfato, os quais foram inferiores.

Deve-se levar em consideração a grande variabilidade encontrada neste experimento, como mostra o alto coeficiente de variação, principalmente nesta variável (C.V. = 137,02%), e talvez por isso não se observaram diferenças significativas entre plantas micorrizadas e não micorrizadas. Como exemplo, no tratamento sem fosfato, com e sem micorriza, observa-se apenas diferença qualitativa, pois em um tratamento as plantas nodularam e no outro não. Essas considerações poderão ser feitas também para outras variáveis deste experimento, sugerindo que se deve trabalhar com um número maior de repetições para cada tratamento.

A fixação simbiótica do nitrogênio por *Rhizobium* em nódulos de leguminosas requer um alto suprimento em fósforo. GRAHAM & ROSAS (1979) verificaram que o desenvolvimento e a % P da planta, o desenvolvimento dos nódulos, a atividade total e específica da nitrogenase em nódulos do feijoeiro foram altamente correlacionadas com fertilização fosfatada, mesmo no nível mais elevado de fósforo aplicado (315 kg P_2O_5 /ha).

Em muitos experimentos a nodulação e fixação simbiótica do nitrogênio foram marcadamente incrementadas pela infecção micorrízica (CRUSH, 1974; ABBOTT & ROBSON, 1977;

TABELA 11. Valores médios do peso da matéria seca de nódulos, e da relação entre os pesos da matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria fresca de raízes (MFR) do feijão cv. Carioca, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência do fungo MVA *G. Leptotrichum* (média de 4 repetições).

Tratamento		Mat. seca de nódulos (mg)		MSPA/MFR	
Tipo de fosfato(1)	Dose(2)	sem MVA	com MVA	sem MVA	com MVA
PM	1	0,80 b(3)	25,85 b	0,293 bc	0,434 abc
	2	0,00 b	29,15 ab	0,260 bc	0,385 bc
	3	0,43 b	81,33 ab	0,251 c	0,537 abc
Ar	1	2,30 b	42,25 ab	0,256 bc	0,615 abc
	2	0,00 b	65,83 ab	0,345 bc	0,999 a
	3	8,13 b	57,40 ab	0,358 bc	0,528 abc
J	1	0,93 b	34,43 ab	0,234 c	0,522 abc
	2	0,35 b	28,28 ab	0,339 bc	0,519 abc
	3	0,00 b	35,53 ab	0,286 bc	0,868 ab
C	1	0,23 b	29,95 ab	0,261 bc	0,369 bc
	2	0,00 b	45,93 ab	0,256 bc	0,458 abc
	3	3,38 b	20,33 b	0,298 bc	0,574 abc
sem P	-	0,00 b	15,25 b	0,274 bc	0,570 abc
ST	única	59,18 ab	121,50 a	0,334 bc	0,455 abc
C.V. (%)		137,02		59,98	

(1) Tipo de fosfato: PM - Patos de Minas; Ar - Araxá; J - Jacupiranga; C - Catalão; ST - Superfosfato triplo. (2) Dose: 1 - 64 ppm P; 2 - 128 ppm P; 3 - 256 ppm P; única - 18 ppm P. (3) Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

SMITH & DAFT, 1977)). Em feijoeiro, a micorriza melhorou a nodulação em trabalhos de DAFT & EL-GIAHMI (1974, 1975), PARA DA (1984), e MARTINS & SAITO (1986) demonstraram a dependência de micorriza para que ocorresse a fixação simbiótica do nitrogênio, onde o número, peso e atividade dos nódulos foram diminuídos na ausência de fungos MVA. Os melhores resultados no crescimento e atividade dos nódulos foram observados com a introdução de *Glomus leptotichum*.

Alguns trabalhos mostram que a nodulação melhora ainda mais com a introdução de micorriza e fósforo, efeito este que pode ser superior aos dois fatores isolados. Como exemplo, pode-se citar ABBOTT & ROBSON (1977) e MANJUNATH & BAGYARAJ (1984), usando fósforo solúvel. Mas à medida em que se eleva o nível de fósforo aplicado, o efeito da micorriza tende a diminuir (ASIMI et alii, 1980). Vários autores observaram incremento maior na nodulação em plantas que receberam micorriza e fósforo pouco solúvel (MOSSE, 1977a; ISLAM et alii, 1980; WAIDYANATHA et alii, 1979; BONETTI & DONALD, 1986). MOSSE et alii (1976) sugeriram que o fósforo de rocha e a micorriza interagiam sinergisticamente em alguns solos, em trevo e centrosema, uma vez que o efeito na nodulação foi mais do que aditivo em relação aos dois fatores isolados.

No presente experimento, algumas plantas com fósforo de rocha sem MVA nem nodularam, como também aconteceu em soja no estudo de BONETTI & DONALD (1986). Isto pode ter acontecido devido à baixa disponibilidade de fósforo no solo. As plantas com micorriza nodularam um pouco mais, provavelmente por causa da melhor exploração do fósforo no solo pelas hifas do fungo.

O fato de não ter havido aumentos significativos na nodulação de plantas micorrizadas neste experimento pode explicar também a baixa eficiência da fixação do nitrogênio.

nio, uma vez que as plantas não diferiram entre si quanto ao teor e acúmulo de nitrogênio na parte aérea. O pequeno aumento na nodulação de plantas micorrizadas pode ter sido provocado pelo também pequeno aumento no peso da matéria seca da parte aérea, uma vez que estas plantas estavam um pouco mais bem nutridas em fósforo do que as não micorrizadas, concordando com CRUSH (1982), devido mais uma vez à melhor exploração desse ou outros nutrientes do solo pelas hifas do fungo.

Embora as doses de fosfato de rocha aplicadas tivessem sido relativamente elevadas, estas se mostraram ainda insuficientes para suprir o fósforo necessário ao bom desenvolvimento do feijoeiro.

- Relação entre os pesos da matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria fresca de raízes (MFR)

Os valores das relações entre os pesos da MSPA e MFR se encontram na Tabela 11, onde de uma maneira geral não se observam diferenças significativas entre os tratamentos. O maior valor encontrado se refere ao tratamento com fosfato Araxá na dose 2 com micorriza, que difere significativamente de todos os tratamentos sem micorriza e dos tratamentos com fosfato Patos de Minas na dose 2 e Catalão na dose 1, com micorriza. Apesar disso, houve tendência em plantas micorrizadas apresentarem os maiores valores em relação às não micorrizadas, embora sem significado estatístico.

O fato de plantas micorrizadas apresentarem tendência em possuir maior MSPA/MFR pode significar uma redução na quantidade de material radicular requerida para produção da parte aérea da planta, uma vez que as hifas do fungo aumentam a superfície de absorção, além das raízes.

Existem evidências na literatura que a presen-

ça da MVA diminui o desenvolvimento radicular relativo, como já discutidas anteriormente.

- Porcentagem de colonização das raízes e esporulação do fungo MVA no solo

As porcentagens de raízes colonizadas e a contagem do número de esporos de *Glomus leptotichum* no solo se encontram na Tabela 12.

Nos tratamentos em que não se inoculou o fungo MVA, não se detectou a presença de esporos de fungos micorrízicos no solo, e nem estruturas fúngicas nas raízes das plantas.

Nos tratamentos inoculados com o fungo MVA, foi encontrado um número de esporos que variou de 385 a 1063 esporos de *G. leptotichum* em 100 ml de solo, não havendo diferenças significativas entre os tratamentos. A porcentagem de colonização das raízes variou em torno de 40,9 a 55,6%, não havendo também diferenças significativas entre os tratamentos. Foram encontrados vesículas, micélio intracelular e arbúsculos no interior do córtex das raízes, e micélio externo aderente às raízes.

A porcentagem de colonização das raízes é o parâmetro mais comumente usado pelos autores para avaliar a eficiência da simbiose entre o fungo micorrízico VA e a planta hospedeira (ANDREOLA, 1982). Embora a média geral da porcentagem de colonização encontrada neste experimento (46,4%) tenha sido superior à encontrada em feijoeiro por KRUCKELMANN (1975), e por SAITO et alii (1983) em casa de vegetação; e um pouco inferior à encontrada também por SAITO et alii (1983) no campo, essa porcentagem talvez não tenha sido suficiente para promover grandes incrementos nas variáveis ana

TABELA 12. Valores médios relativos à porcentagem de colonização das raízes e ao número de esporos do fungo *G. leptotrichum* no solo, com os diferentes tipos e doses de fosfato empregados, na presença e ausência de inoculação com o fungo MVA *G. leptotrichum* (média de 4 repetições). (1)

Tratamento		% de colonização das raízes (5)		Nº de esporos/100ml de solo (5)	
Tipo de fosfato (2)	Dose (3)	sem MVA	com MVA	sem MVA	com MVA
PM	1	-	45,3 a (4)	-	612 a
	2	-	46,7 a	-	1063 a
	3	-	40,9 a	-	852 a
Ar	1	-	42,0 a	-	783 a
	2	-	48,5 a	-	641 a
	3	-	43,1 a	-	626 a
J	1	-	46,8 a	-	855 a
	2	-	46,4 a	-	812 a
	3	-	55,6 a	-	966 a
C	1	-	53,2 a	-	926 a
	2	-	43,0 a	-	934 a
	3	-	43,2 a	-	529 a
sem P	-	-	51,6 a	-	477 a
ST	única	-	43,1 a	-	385 a
C.V. (%)		10,59		36,18	

(1) Análise estatística realizada com dados transformados, porém os dados apresentados são os originais.
 (2) Tipo de fosfato: PM - Patos de Minas; Ar - Araxá; J - Jacupiranga; C - Catalão; ST - superfosfato triplo. (3) Dose: 1 - 64 ppm P; 2 - 128 ppm P; 3 - 256 ppm P; única - 18 ppm P. (4) médias segundas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%). (5) Tratamentos sem micorriza não foram considerados na comparação das médias.

lisadas. Entretanto, convém lembrar que embora a colonização seja uma avaliação essencial em trabalhos com micorrizas, o índice de colonização das raízes é um dado subjetivo e as comparações de dados apresentados por diferentes autores devem ser efetuados com ressalvas, principalmente quanto ao seu valor absoluto (LOPES, 1980).

Existem algumas hipóteses sobre o possível mecanismo de ação do fósforo sobre a colonização das raízes. Segundo RATNAYAKE et alii (1978), a concentração de fósforo no tecido da planta pode afetar a permeabilidade da membrana fosfolipídica da célula do hospedeiro, afetando então a exsudação da raiz, a qual é determinante no estabelecimento da infecção. SAME et alii (1983) verificaram a correlação entre a diminuição na colonização da raiz e a diminuição na concentração de carboidratos solúveis na raiz em plantas que receberam níveis altos de fósforo.

Neste experimento, a adição de fosfato solúvel ou de rocha em qualquer dose não chegou a afetar a colonização das raízes, talvez porque o fósforo disponível ainda estivesse baixo, como no experimento com soja. Em muitos casos, a aplicação de fósforo estimula a colonização micorrízica quando ela alivia uma deficiência severa (BOLAN et alii, 1984). Jasper et alii¹ citados por BOLAN et alii (1984), demonstraram que isolados de fungos micorrízicos diferem em sua habilidade em infectar as raízes com o aumento nos níveis de fósforo. Segundo PARADA (1984), o feijoeiro inoculado com o fungo MVA *Glomus macrocarpum* apresentou maior porcentagem de raízes colonizadas na maior dose de fósforo aplicado (27 ppm P).

¹ JASPER, D.A.; ROBSON, A.D.; ABBOTT, L.K. Phosphorus and the formation of vesicular-arbuscular mycorrhizas. Soil Biol. Biochem, Oxford, 11: 501-505, 1979.

Os efeitos de fosfato solúvel e de rocha, e também de doses, na colonização de raízes das leguminosas, já foi discutido anteriormente, ressaltando aqui, o melhor efeito do fosfato de rocha em relação ao solúvel, na colonização de raízes de feijoeiro em solução nutritiva, no trabalho de MOSSE & THOMPSON (1984).

A esporulação do fungo neste experimento não foi afetada pela adição de qualquer fosfato, como encontrado por MIRANDA (1982), onde a esporulação dos fungos introduzidos *Glomus macrocarpum* e *Gigaspora margarita* no campo em solo natural, na cultura da soja, não foi afetada pelo tipo de fosfato (solúvel ou de rocha), embora *G. macrocarpum* tenha esporulado mais do que *G. margarita* e o fungo nativo. PARADA (1984) encontrou aumento na esporulação do fungo MVA no feijoeiro com o aumento na dose de fosfato solúvel aplicado. Outros aspectos relacionados à esporulação dos fungos micorrízicos em relação à adição de fosfatos já foram discutidos no experimento com soja.

Os dados relacionados à porcentagem de colonização das raízes e esporulação do fungo no solo, permite concluir que houve um bom estabelecimento do fungo no solo e portanto, outros fatores estariam limitando a eficiência da associação micorrízica VA no feijoeiro, talvez a baixa disponibilidade de fósforo no solo e condições ambientais inadequadas.

Podemos verificar que o fosfato Catalão na dose 3 e na presença de micorriza, seguido do fosfato Araxá nas doses 2 e 3, com micorriza, foi o que mais se destacou entre os fosfatos de rocha utilizados, chegando inclusive a igualar seu efeito ao de fosfato solúvel na maioria das variáveis analisadas no experimento com soja, mas não com feijão.

A soja micorrizada parece que respondeu mais à adição de fosfato de rocha do que o feijoeiro. A grande va-

habilidade encontrada no experimento com feijão pode ter contribuído para que não se notassem diferenças significativas entre plantas micorrizadas e não micorrizadas, pois apesar disso, verifica-se que houve tendência de efeito benéfico das micorrizas na maioria das variáveis analisadas. Por isso sugere-se que trabalhos dessa natureza devam ser conduzidos com número maior de repetições, além de se oferecer as melhores condições ambientais para o desenvolvimento das plantas.

Deve-se também levar em consideração que as espécies de plantas diferem em sua habilidade em utilizar o fósforo dos fosfatos do solo, ou daquele aplicado como fertilizante, neste caso, dos fosfatos de rocha (KHASAWNEH & DOLL, 1978; RAIJ & DIEST, 1979). O pH do solo é outro fator que exerce grande influência na eficiência agronômica dos fosfatos de rocha, pois a solubilização desses materiais é favorecida pela acidez do solo. No entanto, os valores de pH neste experimento foram ajustados entre 6,0 e 6,5 para atender às necessidades das plantas, e isso pode ter contribuído para a baixa eficiência geral dos fosfatos de rocha usados nos experimentos. Portanto, para se obter melhor desenvolvimento do vegetal, exige-se um equilíbrio entre os fatores: acidez do solo, adaptação de plantas e disponibilidade de fósforo (GOEDERT & LOBATO, 1980).

A dose aplicada de fosfato solúvel foi a recomendada para essas leguminosas, nas condições do solo empregado. Ressalta-se que as altas doses de fosfato de rocha usadas em ambos os experimentos, em relação à dose de fosfato solúvel se explica pela afirmação de PAIRUNAN et alii (1980), os quais dizem que a aplicação equitativa de fosfato solúvel e insolúvel pode levar à conclusões errôneas, pois na presença de certa quantidade de fosfato solúvel as plantas podem estar adequadamente supridas com fósforo, enquanto que na presença da mesma quantidade de fosfato insolúvel as plantas podem estar em extrema deficiência deste nutriente.

Como os solos brasileiros são geralmente ácidos e pobres em fósforo, recomenda-se em certas áreas o uso de adubação fosfatada corretiva (fosfatagem), visando aumentar o nível de fósforo disponível em toda a camada arável do solo. Com essa prática utilizam-se quantidades elevadas de fósforo, sendo portanto necessário o uso de formas mais baratas de fertilizantes, com os fosfatos de rocha, que devido ao menor processamento industrial apresentam custos de fabricação mais baixos (RAIJ et alii, 1982).

No entanto os fosfatos de rocha brasileiros (Patos de Minas, Araxá, Catalão e outros), têm mostrado em relação ao superfosfato triplo, uma eficiência inicial baixa, melhorando um pouco com o passar do tempo, sendo que o Catalão tem-se comportado de maneira inferior aos demais (GOEDERT & LOBATO, 1984). Contudo, segundo LOBATO (1982), em alguns ensaios o desempenho deste fosfato tem sido melhor.

Portanto, dois aspectos básicos devem ser considerados na comparação de fosfato de rocha com superfosfatos: a resposta imediata e o efeito residual (Jackson¹, citado por MACEDO et alii, 1985). Porém, no presente trabalho estudou-se apenas o efeito imediato dos fosfatos, em ambas as leguminosas. O efeito residual dos fosfatos de rocha que se dissolvem mais lentamente pode ser maior que a dos superfosfatos. Quando duas fontes de fósforo de diferentes solubilidades, uma prontamente solúvel e outra de baixa disponibilidade, são adicionadas ao mesmo tempo no solo, observa-se que o fosfato solúvel tem a disponibilidade máxima no tempo zero, a qual decresce continuamente tendendo a se estabilizar. O fosfato de baixa solubilidade tem sua disponibilidade aumentada gra-

¹ JACKSON, E.A. Phosphorus fertilizers research on Australia, Melbourne, CSIRO, 284: 1-59, 1966.

dativamente com o tempo, até atingir um máximo, após o qual entra em decréscimo. Com o passar do tempo, o efeito residual do fosfato natural pode ser então maior do que o do fosfato solúvel, como consequência de sua menor velocidade de dissolução. Isto é, o fosfato de rocha se dissolve lentamente na solução e à medida em que se dissolve, as reações de adsorção ocorrem como no caso dos superfosfatos, sendo apenas limitadas pela velocidade de dissolução do fosfato (VOLKWEISS & RAIJ, 1976).

Outro fator a ser também considerado é o econômico. RAIJ (1986) demonstrou a dificuldade de fosfatos alternativos encontrarem utilização, dentro de condições econômicas corretas, se não tiverem eficiência próxima a de superfosfato. Produtos de eficiência inferior conduzem à diminuição da produtividade e a resultados economicamente desfavoráveis. Não foi possível realizar neste experimento, um estudo econômico semelhante ao sugerido por RAIJ (1986), uma vez que não se empregaram doses iguais, em termos de kg de P_2O_5 / ha, para as diferentes fontes de fosfato.

Porém é de se esperar que o fosfato de rocha, particularmente o Catalão e Araxá, usado em doses relativamente altas (fosfatagem), considerando o menor custo por unidade de P_2O_5 aplicado em relação ao superfosfato triplo, e seu melhor aproveitamento através da introdução de fungos MVA eficientes, poderá ser utilizado na cultura de soja principalmente, como fonte alternativa de adubo fosfatado em regiões onde seu uso possa ser viável economicamente.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho levam às seguintes conclusões:

1) A micorriza conduziu a aumentos na maioria das variáveis analisadas, sendo este efeito mais pronunciado na soja do que no feijão.

2) Nenhum fosfato de rocha na ausência de micorriza promoveu o desenvolvimento da cultura da soja e/ou do feijão; portanto não se pode recomendar o uso desses fosfatos nessas condições.

3) Na presença de micorriza eficiente, os fosfatos Catalão e Araxá em altas doses (256 ppm de P) podem equivaler à adubação convencional da soja com 18 ppm de P como superfosfato triplo, porém antes de se fazer tal recomendação, deve ser verificada a viabilidade econômica e o efeito residual desses fosfatos em culturas subsequentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, L.K. & ROBSON, A.D. Growth stimulation of subterranean clover with vesicular-arbuscular mycorrhizas. Aust. J. Agric. Res., Melbourne, 28: 639-649, 1977.
- ABBOTT, L.K. & ROBSON, A.D. Growth of subterranean clover in relation to the formation of endomycorrhizas by introduced and indigenous fungi in a field soil. New Phytol., Oxford, 81: 575-585, 1978.
- ABBOTT, L.K. & ROBSON, A.D. The effect of VA mycorrhizae on plant growth. In: POWELL, C.L. & BAGYARAJ, D.J., ed. VA mycorrhiza, Boca Raton, CRC Press, Inc., 1984. cap. 6. p. 113-130.
- ALLEN, M.F.; MOORE Jr., T.S.; CHRISTENSEN, M. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular - arbuscular mycorrhizae. I. Cytokinin increases in the host plant. Can. J. Bot., Ottawa, 58: 371-374, 1980.
- ALLEN, M.F.; MOORE Jr., T.S.; CHRISTENSEN, M. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular - arbuscular mycorrhizae: II. Altered levels of gibberellin - like substances and abscisic acid in the host plant. Can. J. Bot., Ottawa, 60: 468-471, 1982.
- ANDREOLA, F. Micorrizas vesiculares-arbusculares em cana-de-açúcar. Piracicaba, 1982. 74p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).

- ANTUNES, V.; LAMBAIS, M.R.; OLIVEIRA, M.H.A.; PARADA, A.; CARDOSO, E.J.B.N. Influência da concentração do inóculo do fungo micorrízico *Glomus macrocarpus* em soja [*Glycine max* (L.)]. O Solo, Piracicaba, 75: 17-21, 1983.
- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL - 1985, Rio de Janeiro, 46, 1985. 760p.
- ARAÚJO, R.S.; MACHADO, N.F.; PESSANHA, G.G.; ALMEIDA, D.L.; DUQUE, F.F. Efeitos da adubação fosfatada, do esterco de curral e da inoculação na nodulação, fixação do nitrogênio atmosférico e rendimento do feijoeiro. R. bras. Ci. Solo, Campinas, 6: 105-112, 1982.
- ASAI, T. Über die mycorrhizenbildung der leguminosen - pflanzen. Jap. J. Bot., Amani, 13: 463-485, 1948.
- ASIMI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Influence of increasing soil phosphorus levels on interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizae and *Rhizobium* in soybeans. Can. J. Bot., Ottawa, 58: 2200-2205, 1980.
- AZCON-AGUILAR, C. & BAREA, J.M. Field inoculation of *Medicago* with V.A. mycorrhiza and *Rhizobium* in phosphate-fixing agricultural soil. Soil Biol. Biochem, Oxford, 13: 19-22, 1981.
- BAGYARAJ, D.J. Biological interactions with VA mycorrhizal fungi. In: POWELL, C.L. & BAGYARAJ, D.J., ed. VA mycorrhiza, Boca Raton, CRC Press, Inc., 1984. Chapter 7. p. 131-153.
- BAGYARAJ, D.J.; MANJUNATH, A.; PATIL, R.B. Interactions between a vesicular-arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium* and their effects on soybean in the field. New Phytol., Oxford, 82: 141-145, 1979.

- BAREA, J.M. & ÁZCON-AGUILAR, C. Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. Adv. Agron., New York, 36: 1-54, 1983.
- BAYLIS, G.T.S. Root hairs and phycomycetous mycorrhizas in phosphate deficient soil. Pl. Soil, Hague, 33: 713-716, 1970.
- BAYLIS, G.T.S. The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., ed. Endomycorrhizas, London, Academic Press, 1975. p.373-389.
- BERGERSEN, F.J. Biochemistry of symbiotic nitrogen fixation in legumes. Ann. Rev. Plant Physiol., Stanford, 21: 121-140, 1971.
- BETHLENFALVAY, G.J.; BAYNE, H.G.; PACOVSKY, R.S. Parasitic and mutualistic associations between a mycorrhizal fungus and soybean: The effect of phosphorus on host plant - endophyte interactions. Physiol. Plant, Copenhagen, 57: 543-548, 1983.
- BETHLENFALVAY, G.J.; PACOVSKY, R.S.; BAYNE, H.G.; STAFFORD, A.E. Interactions between nitrogen fixation, mycorrhizal colonization, and host-plant growth in the *Phaseolus - Rhizobium - Glomus* symbiosis. Plant Physiol., Lancaster, 70: 446-450, 1982.
- BETHLENFALVAY, G.J. & YODER, J.F. The *Glycine - Glomus - Rhizobium* symbiosis. I. Phosphorus effect on nitrogen fixation and mycorrhizal infection. Physiol. Plant, Copenhagen, 52: 141-145, 1981.

- BOLAN, N.S.; ROBSON, A.D.; CARROW, N.J. Increasing phosphorus supply can increase the infection of plant roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Biol. Biochem., Oxford, 16(4): 419-420, 1984.
- BONETTI, R. Efeito de micorrizas vesiculares arbusculares na nodulação, crescimento e absorção de fósforo e nitrogênio em siratro. R. bras. Ci. Solo, Campinas, 8(2): 189-192, 1984.
- BONETTI, R. & DONALD, E.S.F. Efeito da micorriza V.A. na nodulação e crescimento da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) com aplicação de fosfato natural e solúvel. In: REUNIÃO LATINOAMERICANA SOBRE RHIZOBIUM, 12., Campinas, 1984. Anais. Campinas, Instituto Agrônomo, 1986. p.421-427.
- BRAGA, J.M. Comparação entre fosfatos aplicados ao feijoeiro. I. Trabalhos em casa de vegetação. R. Ceres, Viçosa, 16(88): 88-101, 1969.
- BRAGA, N.R.; MASCARENHAS, H.A.A.; FEITOSA, C.T.; HIROCE, R.; RAIJ, B. van. Efeitos de fosfatos sobre o crescimento e produção de soja. R. bras. Ci. Solo, Campinas, 4: 36-39, 1980.
- CABALA-ROSAND, P. & WILD, D.A. Direct use of low grade phosphate rock from Brazil as fertilizer. II. Effects of mycorrhizal inoculation and nitrogen source. Pl. Soil, Hague, 65: 363-373, 1982.
- CARDOSO, E.J.B.N. Efeito de micorriza vesículo-arbuscular e de fosfato de rocha nas culturas da soja e do feijão. Piracicaba, 1984. 220p. (Livre-docência - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).

- CARDOSO, E.J.B.N. Efeito de micorriza vesículo-arbuscular e fosfato-de-rocha na simbiose soja-*Rhizobium*. Rev. bras. Ci. Solo, Campinas, 9(2): 125-130, 1985.
- CARDOSO, E.J.B.N. Eficiência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em soja, com *Rhizobium japonicum* e fosfato de rocha, em função do tipo de solo. R. bras. Ci. Solo, Campinas, 10(1): 17-23, 1986.
- CARLING, D.E.; RIEHLE, W.G.; BROWN, M.F.; JOHNSON, D.R. Effects of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus on nitrate reductase and nitrogenase activities in nodulating and non-nodulating soybeans. Phytopathology, Lancaster, 68: 1590-1596, 1978.
- CATANI, R.A. & GLORIA, N.A. A disponibilidade do fósforo de diversos fosfatos estudada por meio do método de Neubauer. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 9., Belém, 1961. p.23.
- COOPER, K.M. Growth responses to the formation of endotrophic mycorrhizas in *Solanum*, *Leptospermum*, and New Zealand ferns. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P. B., ed. Endomycorrhizas. London, Academic Press, 1975. p.391-407.
- COOPER, K.M. & LUSEL, D.M. Lipid physiology of vesicular-arbuscular mycorrhiza. I. Composition of lipids in roots of onion, clover and ryegrass infected with *Glomus mosseae*. New Phytol., Oxford, 80: 143-151, 1978.
- COX, G. & SANDERS, F.E. Ultrastructure of the host - fungus interface in a vesicular - arbuscular mycorrhiza. New Phytol., Oxford, 73: 901-912, 1974.

- CRUSH, J.R. Plant growth responses to vesicular arbuscular mycorrhiza. VII. Growth and nodulation of some herbage legumes. New Phytol., Oxford, 73: 743-749, 1974.
- CRUSH, J.R. Occurrence of endomycorrhizas in soil of the Mackenzie Basin, Canterbury, New Zealand. N.Z.J. Agric. Res., Wellington, 18: 361-364, 1975.
- CRUSH, J.R. Effects of endomycorrhizas and phosphorus fertilizer on nodulation and acetylene reduction activity of white clover seedlings. N.Z.J. Exp. Agric., Wellington, 10: 297-299, 1982.
- DAFT, M.J. & EL-GIAHMI, A.A. Effect of *Endogone* mycorrhiza on plant growth. VII. Influence of infection on the growth and nodulation in french bean (*Phaseolus vulgaris*). New Phytol., Oxford, 73: 1139-1147, 1974.
- DAFT, M.J. & EL-GIAHMI, A.A. Effects of *Glomus* infection on three legumes. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P. B., ed. Endomycorrhizas. London, Academic Press, 1975. p.581-592.
- DAFT, M.J. & EL-GIAHMI, A.A. Studies on nodulated and mycorrhizal peanuts. Ann. Appl. Biol., Cambridge, 83: 273-276, 1976.
- DAVIS, R.M. & MENGE, J.A. *Phytophthora parasitica* inoculation and intensity of vesicular-arbuscular mycorrhizae in citrus. New Phytol., Oxford, 87: 705-715, 1981.
- DEMETRIO, J.L.; ELLIS Jr., R.; PAULSEN, G.M. Nodulation and nitrogen fixation by two soybean varieties as affected by phosphorus and zinc nutrition. Agron. J., Madison, 64: 566-568, 1972.

- EL HASSANIN, A.S. & LYND, J.Q. Soil fertility effects with tripartite symbiosis for growth, nodulation and nitrogenase activity of *Vicia faba* L. J. Plant Nutr., New York, 8(6): 491-504, 1985.
- ELMES, R.B. & MOSSE, B. Vesicular-arbuscular endomycorrhizal inoculum production. II. Experiments with maize (*Zea mays*) and other hosts in nutrient flow culture. Can. J. Bot., Ottawa, 62: 1531-1536, 1984.
- EZETA, F.N. & SANTOS, O.M. Benefício da introdução de endomycorriza eficiente na utilização de nutrientes em latossolos do sul da Bahia. R. bras. Ci. Solo, Campinas, 4: 13-17, 1980.
- FRANCO, A.A. & DÜBEREINER, J. Interferência do cálcio e nitrogênio na fixação do nitrogênio por duas variedades de *Phaseolus vulgaris* L.. Pesq. agropec. bras., Série Agronomia, Brasília, 3: 223-227, 1968.
- FRONTERA, G.M. & DELORENZINI, C. Micorrizas en Crucíferas de importancia agrícola y su influencia sobre la absorción de nitrógeno y fósforo. R. Lat-amer. Microbiol., México, 23: 157-160, 1981.
- GARRY, F.; DIEM, H.G.; DOMMERGUES, Y.R. Effect of inoculation with *Glomus mosseae* on nitrogen fixation by field grown soybeans. Pl. Soil, Hague, 68: 321-329, 1982.
- GERDEMANN, J.W. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. Ann. Rev. Phytopathology, Palo Alto, 6: 397-418, 1968.
- GERDEMANN, J.W. Mycorrhizae. In: CARSON, E.W., ed. The plant root and its environment. Charlottesville, University Press of Virginia, 1974, p.205-217.

- GERDEMANN, J.W. Vesicular-arbuscular mycorrhizae. In: TORREY, J.G. & CLARKSON, D.T., ed. The development and function of roots, London, Academic Press, 1975. p.575-591.
- GERDEMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Br. Mycol. Soc., London, 46: 235-244, 1963.
- GERDEMANN, J.W. & TRAPPE, J.M. The Endononaceae in the Pacific Northwest. Mycologia Memoir n.5. The New York Botanical Garden & The Mycological Society of America, 1974. 75p.
- GIANINAZZI-PEARSON, V.; FARDEAU, J.C.; ASIMI, S.; GIANINAZZI, S. Source of additional phosphorus absorbed from soil by vesicular-arbuscular mycorrhizal soybeans. Physiol. Vég., Paris, 19(1): 33-43, 1981a.
- GIANINAZZI -PEARSON, V.; MORANDI, D.; DEXHEIMER, J.; GIANINAZZI, S. Ultrastructural and ultracytochemical features of a *Glomus tenuis* mycorrhiza. New Phytol., Oxford, 88:633-639, 1981b.
- GILMORE, A.E. The influence of endotrophic mycorrhizae on the growth of peach seedlings. J. Amer. Soc. Hort. Sci., New York, 96(1): 35-38, 1971.
- GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol., Oxford, 84: 489-500, 1980.
- GOEDERT, W.J. & LOBATO, E. Eficiência agronômica de fosfatos em solo de cerrado. Pesq. agrop. bras., Brasília, 15(3): 311-318, 1980.

- GOEDERT, W.J. & LOBATO, E. Avaliação agronômica de fosfatos em solo de cerrado. R. bras. Ci. Solo, Campinas, 8(1): 97-102, 1984.
- GOEPFERT, C.F.; HILGERT, E.; GONÇALVES, H.; MOURA, R.L.; TEDESCO, P.; SALIM, O. Avaliação da influência de cinco adubos fosfatados em três solos ácidos do Rio Grande do Sul. Agron. Sulriogr., Porto Alegre, 12(2): 179-188, 1976.
- GRAHAM, P.H. & ROSAS, J.C. Phosphorus fertilization and symbiotic nitrogen fixation in common bean. Agron. J., Madison, 71: 925-926, 1979.
- HADLEY, G. Organization and fine structure of orchid mycorrhiza. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., ed. Endomycorrhizas. London, Academic Press, 1975. p.335-351.
- HALL, J.R.; SCOTT, R.S.; JOHNSTONE, P.D. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizas on response of "Grasslands Huia" and "Tamar" white clovers to phosphorus. N.Z.J. Agric. Res., Wellington, 20: 349-355, 1977.
- HALOS, P.M.; LUIS, E.M.; BORJA, M.S. Synergism between endomycorrhizas, *Rhizobium japonicum* CB 1809 and soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). Phil. Agr., Laguna, 65: 93 - 102, 1982.
- HALOS, P.M. & ZORILLA, R.A. Vesicular-arbuscular mycorrhizae increase growth and yield of tomatoes and reduce infection by *Pseudomonas solanacearum*. Phil. Agr., Laguna, 62: 309-315, 1979.

- HARDIE, K. & LEYTON, L. The influence of vesicular - arbuscular mycorrhiza on growth and water relations of red clover. I. In phosphate deficient soil. New Phytol., Oxford, 89: 599-608, 1981.
- HARDY, W.F.; HOLSTEN, R.D.; JACKSON, E.K.; BURNS, R.C. The acetylene-ethylene assay for N_2 fixation: laboratory and field evaluation. Plant Physiol., Lancaster, 43: 1185-1207, 1968.
- HAYMAN, D.S. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VI. Effect of light and temperature. New Phytol., Oxford, 73: 71-80, 1974.
- HAYMAN, D.S. Endomycorrhizae. In: DOMMERGUES, Y.R. & KRUPA, S.V., ed. Interactions between non pathogenic soil microorganisms and plants, Elsevier, Amsterdam, 1978. p.401.
- HAYMAN, D.S. & MOSSE, B. Plant growth responses to vesicular - arbuscular mycorrhiza. I. Growth of *Endogone* inoculated plants in phosphate-deficient soils. New Phytol., Oxford 70: 19-27, 1971.
- HIRREL, M.C. & GERDEMANN, J.W. Improved growth of onion and bell pepper in saline soil by two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Sci. Soc. Am. J., Madison, 44: 654-655, 1980.
- ISLAM, R.; AYANABA, A.; SANDERS, F.E. Response of cowpea (*Vigna unguiculata*) to inoculation with VA-mycorrhizal fungi and to rock phosphate fertilization in some unsterilized Nigerian soils. Pl. Soil, Hague, 54: 107-117, 1980.
- KELLAM, M.K. & SCHENCK, N.C. Interaction between a vesicular - arbuscular mycorrhizal fungus and root knot nematode on soybean. Phytopathology, Lancaster, 70: 293-296, 1980.

- KHASAWNEH, F.E. & DOLL, E.C. The use of phosphate rock for direct application to soils. Adv. Agron., New York, 30: 159-206, 1978.
- KINDEN, D.A. & BROWN, M.F. Electron microscopy of vesicular arbuscular mycorrhizae of yellow poplar. I. Characterization of endophytic structure by scanning electron stereoscopy. Can. J. Microb., Ottawa, 21: 989-993, 1975a.
- KINDEN, D.A. & BROWN, M.F. Electron microscopy of vesicular-arbuscular mycorrhizae of yellow poplar. II. Intracellular hyphae and vesicles. Can. J. Microb., Ottawa, 21: 1768-1780, 1975b.
- KRISHNA, K.R.; SURESH, H.M.; SYAMSUNDER, J.; BAGYARAJ, D.J. Changes in the leaves on finger millet due to VA mycorrhizae infection. New Phytol., Oxford, 87: 717-722, 1981.
- KRUCKELMANN, H.W. Effect of fertilizers, soils, soil tillage, and plant species on the frequency of *Endogone* chlamydospores and mycorrhizae infection in arable soils. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., ed. Endomycorrhizas. London. Academic Press, 1975. p.511-525.
- KUO, C.G. & HUANG, R.S. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on the growth and yield of rice - stubble cultured soybeans. Pl. Soil, Hague, 64: 325-330, 1982.
- LAMBERT, D.H.; COLE Jr., H.; BAKER, D.E. Adaptation of vesicular-arbuscular mycorrhizae to edaphic factors. New Phytol., Oxford, 85: 513-520, 1980a.
- LAMBERT, D.H.; COLE Jr., H.; BAKER, D.E. Variation in the response of alfalfa clones and cultivars to mycorrhizae and phosphorus. Crop Sci., Madison, 20: 615-618, 1980b.

- LEWIS, D.H. Comparative aspects of the carbon nutrition of mycorrhizas. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., ed. Endomycorrhizas. London, Academic Press, 1975. p. 119-148.
- LIM, L.L. & COLE, A.L.J. Growth response of white clover to vesicular-arbuscular mycorrhizal infection with different levels of applied phosphorus. N.Z.J. Agric. Res., Wellington, 27: 587-592, 1984.
- LOBATO, E. Adubação fosfatada em solos da região Centro-oeste. In: OLIVEIRA, A.J.; LOURENÇO, S.; GOEDERT, W.J., ed. Adubação fosfatada no Brasil. EMBRAPA-DID. Documentos, 21. 1982. p.201-240.
- LOPES, A.S. Solos sob "cerrado": características, propriedades e manejo. Piracicaba, Instituto da Potassa & Fósforo, Instituto Internacional da Potassa, 1983. 162p.
- LOPES, E.S. Eficiência e especificidade das associações micorrízicas do tipo vesicular-arbuscular em gramíneas e leguminosas forrageiras, e no cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Piracicaba, 1980. 111p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- LOPES, E.S.; OLIVEIRA, E.; NEPTUNE, A.M.L. Efeito de espécies de micorrizas vesicular-arbusculares em siratro (*Macroptilium atropurpureum*). Bragantia, Campinas, 39: 241-245, 1980.
- LOPES, E.S.; SIQUEIRA, J.O.; ZAMBOLIM, L. Caracterização das micorrizas vesicular-arbusculares (MVA) e seus efeitos no crescimento das plantas. R. bras. Ci. Solo, Campinas, 7: 1-19, 1983.

- LYND, J.Q.; TYRL, R.J.; PURCINO, A.A.C. Mycorrhiza-soil fertility effects on regrowth, nodulation and nitrogenase activity of siratro (*Macropodium atropurpureum* (DC) Urb.). J. Plant Nutr., New York, 8(1): 1047-1059, 1985.
- MACEDO, W.; GONÇALVES, J.O.N.; GIRARDI-DEIRO, A.M. Melhoramento de pastagem natural com fosfatos e introdução de leguminosas em solo da fronteira oeste do Rio Grande do Sul. R. bras. Ci. Solo, Campinas, 9(3): 231-235, 1985.
- MANJUNATH, A. & BAGYARAJ, D.J. Response of pigeon pea and cowpea to phosphate and dual inoculation with vesicular arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium*. Trop. Agr., Trinidad, 61(1): 48-52, 1984.
- MARTINS, E.C.S. & SAITO, S.M.T. Contribuição de micorriza VA no desenvolvimento e fixação de N₂ em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 1, Lavras, 1985. Anais. Lavras, Edições FAEPE, 1986. p.159.
- MARX, C.; DEXHEIMER, J.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular - arbuscular mycorrizas. IV. Ultracytoenzymological evidence (ATPase) for active transfer processes in the host - arbuscule interface. New Phytol., Oxford, 90: 37-43, 1982.
- MASCARENHAS, H.A.A.; BATAGLIA, O.C.; FEITOSA, C.T.; NAGAI, R.; BRAGA, N.R. Adubação da soja em solos de cerrado. Campinas, Instituto Agrônômico. Boletim Técnico nº 54, 1978. 28p.
- MENGE, J.A.; DAVIS, R.M.; JOHNSON, E.L.V.; ZENTMYER, G.A. Mycorrhizal fungi decrease growth and reduce transplant injury in avocado. Calif. Agric., Berkeley, 32: 6 - 7, 1978.

- MILLER, R.H.; CARDOSO, E.J.S.N.; CARDOSO, C.O.N. Some observations on mycorrhizal infection on tropical forage legumes and grasses in Brazil. Summa Phytopath., Piracicaba, 5: 168-172, 1979.
- MIRANDA, J.C.C. Influência de fungos endomicorrízicos inoculados a campo, na cultura de sorgo e soja em um solo sob cerrado. R. bras. Ci. Solo, Campinas, 6: 19-23, 1982.
- MOSSE, B. Growth and chemical composition of mycorrhizal and nonmycorrhizal apples. Nature, London, 179: 922-924, 1957.
- MOSSE, B. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. Ann. Rev. Phytopathology, Palo Alto, 11: 171-196, 1973.
- MOSSE, B. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. X. Responses of *Stylosanthes* and maize to inoculation in unsterile soils. New Phytol., Oxford, 78: 277-288, 1977a.
- MOSSE, B. The role of mycorrhiza in legume nutrition on marginal soils. In: VINCENT, J.M.; WHITNEY, A.S.; BOSE, J. ed. Exploiting the legume - *Rhizobium* Symbiosis in tropical agriculture. College of Tropical Agriculture Miscellaneous Publication, 275-292, 1977b.
- MOSSE, B. Vesicular arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture. Hawaii Institute for Tropical Agriculture and Human Resources. Research Bulletin, 194, 1981. 82p.
- MOSSE, B. & HAYMAN, D.S. Mycorrhiza in agricultural plants. In: MIKOLA, P., ed. Tropical mycorrhizal research, Oxford, Oxford University Press, 1979. Chapter 25. p.213-229.

- MOSSE, B.; POWELL, C.D.; HAYMAN, D.S. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IX. Interactions between VA mycorrhiza, rock phosphate and symbiotic nitrogen fixation. New Phytol., Oxford, 76: 331-342, 1976.
- MOSSE, B. & THOMPSON, J.P. Vesicular-arbuscular endomycorrhizal inoculum production. I. Exploratory experiments with beans (*Phaseolus vulgaris*) in nutrient flow culture. Can. J. Bot., Ottawa, 62: 1523-1530, 1984.
- MULLIGAN, M.F.; SMUCKER, A.J.M.; SAFIR, G.F. Tillage modifications of dry edible bean root colonization by VAM fungi. Agron. J., Madison, 77: 140-144, 1985.
- MURDOCH, C.L.; JACKOBS, J.A.; GERDEMANN, J.W. Utilization of phosphorus sources of different availability by mycorrhizal and non-mycorrhizal maize. Pl. Soil, Hague, 27(3): 329-334, 1967.
- NAGY, S.; NORDBY, H.E.; NEMEC, S. Composition of lipids in roots of six citrus cultivars infected with the vesicular arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae*. New Phytol. Oxford, 85: 377-384, 1980.
- NICOLSON, T.H. Vesicular-arbuscular mycorrhiza - a universal plant symbiosis. Sci. Prog., Oxford, 55: 561-581, 1967.
- NIELSEN, J.D. & JENSEN, A. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on growth and uptake of various nutrients as well as uptake ratio of fertilizer P for lucerne (*Medicago sativa*). Pl. Soil, Hague, 70: 165-172, 1983.
- NORDBY, H.E.; NEMEC, S.; NAGY, S. Fatty acids and sterols associated with citrus root mycorrhizae. J. Agric. Food. Chem., Washington, 29: 396-401, 1981.

- NORRIS, D.O. Techniques used in work with *Rhizobium*. In: Some concepts and methods in sub-tropical pasture research. The staff of the Cunningham Laboratory, C.S.I. R.O. Brisbane, Australia, Bull. 47, 1964.
- OLIVEIRA, E.L.; MUZILLI, O.; IGUE, K.; TORNERO, M.T.T. Avaliação da eficiência agrônômica de fosfatos naturais. R.brás. Ci. Solo, Campinas, 8(1): 63-67, 1984.
- OLIVEIRA, A.A.R. & ZAMBOLIM, L. Influência de duas texturas de solo na interação sobre *Glomus etunicatum* Becker & Gerd. e *Meloidogyne javanica* (Treub.) Chitwood em feijoeiro. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 1., Lavras, 1985. Anais. Lavras, Edições FAEPE, 1986. p.163.
- OWUSU-BENNOAH, E. & MOSSE, B. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. XI. Field inoculation responses in barley, lucerne and onion. New Phytol., Oxford, 83: 1-10, 1979.
- PAIRUNAN, A.K.; ROBSON, A.D.; ABBOTT, L.K. The effectiveness of vesicular-arbuscular mycorrhizas in increasing growth and phosphorus uptake of subterranean clover from phosphorus sources of different solubilities. New Phytol., Oxford, 84: 327-338, 1980.
- PARADA, A. Efeito de fósforo e de micorriza vesículo-arbuscular no feijoeiro. Piracicaba, 1984. 137p. (Mestrado-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- PAULA, M.A. & SIQUEIRA, J.O. Influência da adubação fosfatada e de micorrizas vesicular-arbusculares (MVA) no desenvolvimento da soja (*Glycine max* (L.) Merrill). In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 1., Lavras, 1985. Anais. Lavras, Edições FAEPE, 1986. p.164.

- PAULINO, V.T.; PICCINI, D.F.; BAREA, J.M. Influência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares e fosfatos em leguminosas forrageiras tropicais. R. bras. Ci. Solo, Campinas, 10(2): 103-108, 1986.
- PFEIFFER, C.M. & BLOSS, H.E. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on soybean in Arizona. Mycologia, New York, 72: 1038-1041, 1980.
- PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc., London, 55(1): 158-161, 1970.
- PIMENTEL GOMES, F. A estatística moderna na pesquisa agropecuária. Piracicaba, POTAFOS, 1984. 160p.
- PLENCHETTE, C.; FORTIN, J.A.; FURLAN, V. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. Pl. Soil, Hague, 70: 199-209, 1983.
- POWELL, C.L. Development of mycorrhizal infections from *Endogone* spores and infested root segments. Trans. Br. Mycol. Soc., London, 66: 439-445, 1976.
- POWELL, C.L. & BAGYARAJ, D.J. VA Mycorrhizae: Why all the interest? In: POWELL, C.L. & BAGYARAJ, J., ed. VA Mycorrhiza. Boca Raton, CRC Press, Inc., 1984. cap. 1, p. 1-3.
- PURCINO, A.A.C. & LYND, J.Q. Tripartite symbiosis of *Stylosanthes scabra* Vog. influenced by soil fertility treatments of a Typic Eutruxox. Agron. J., Madison, 77: 455-458, 1985.

- PURVES, S. & HADLEY, G. Movement of carbon compounds between the partners in orchid mycorrhiza. In: SANDERS, F. E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., ed. Endomycorrhizas. London, Academic Press, 1975. p.175-194.
- RAIJ, B. van. Condições mínimas de eficiência para fosfatos alternativos ao superfosfato. R. bras. Ci. Solo, Campinas, 10(3): 235-239, 1986.
- RAIJ, B. van & DIEST, A. van. Utilization of phosphate from different sources by six plant species. Pl. Soil, Hague, 51: 577-589, 1979.
- RAIJ, B. van; ROSAND, P.C.; LOBATO, E. Adubação fosfatada no Brasil - apreciação geral, conclusões e recomendações. In: OLIVEIRA, A.J.; LOURENÇO, S.; GOEDERT, W.J., ed. Adubação fosfatada no Brasil. EMBRAPA-DID, Documentos, 21, 1982. p.9-28.
- RAMOS, M.G. Avaliação da eficiência de oito fosfatos para as culturas de trigo e soja em um latossolo vermelho - escuro argiloso. R. bras. Ci. Solo, Campinas, 6: 38-42, 1982.
- RATNAYAKE, M.; LEONARD, R.T.; MENGE, J.A. Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. New Phytol., Oxford, 81: 543-552, 1978.
- READ, D.J. *Pezizella ericae*, the perfect stage of a typical mycorrhizal endophyte of Ericaceae. Trans. Br. Mycol Soc., London, 63: 381-383, 1974.
- READ, D.J. & STRIBLEY, D.P. Some mycological aspects of the biology of mycorrhiza in the Ericaceae. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., ed. Endomycorrhizas. London, Academic Press, 1975, p.105-117.

- READHEAD, J.F. Endotrophic mycorrhizas in Nigeria: some aspects of the ecology of the endotrophic mycorrhizal association of *Khaya grandifoliola* C.Dc. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., ed. Endomycorrhizas, London, Academic Press, 1975. p.447-459.
- REDENTE, E.F. & REEVES, F.B. Interactions between vesicular-arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium* and their effects on sweetvetch growth. Soil Sci., Baltimore, 132: 410-415, 1981.
- ROBSON, A.D.; O'HARA, G.W.; ABBOTT, L.K. Involvement of phosphorus in nitrogen fixation by subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). Aust. J. Plant Physiol., Melbourne, 8: 427-436, 1981.
- ROSOLEM, C.A. Nutrição mineral e adubação da soja. Piracicaba, Instituto da Potassa. Boletim Técnico nº 6, 1982. 80p.
- ROSS, J.P. Effect of phosphate fertilization on yield of mycorrhizal and nonmycorrhizal soybeans. Phytopathology, Lancaster, 61: 1400-1403, 1971.
- ROSS, J.P. & GILLIAM, J.W. Effect of *Endogone* mycorrhiza on phosphorus uptake by soybeans from inorganic phosphates. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., Madison, 37: 237-239, 1973.
- ROSS, J.P. & HARPER, J.A. Effect of *Endogone* mycorrhiza on soybean yields. Phytopathology, Lancaster, 60: 1552-1556, 1970.
- SAFIR, G.R.; BOYER, J.S.; GERDEMANN, J.W. Mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. Science, Lancaster 172: 581-583, 1971.

- SATIR, G.R.; ROYER, J.S.; GERDEMANN, J.W. Nutrient status and mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. Plant Physiol., Lancaster, 49: 700-703, 1972.
- SAIF, S.R. The influence of soil aeration on the efficiency of vesicular-arbuscular mycorrhizae. I. Effect of soil oxygen on the growth and mineral uptake of *Eupatorium odoratum* L. inoculated with *Glomus macrocarpum*. New Phytol., Oxford, 88: 649-659, 1981.
- SAITO, S.M.T.; MARTINS, E.C.S.; FREITAS, J.R.; ROSTON, A.J. Ocorrência natural de micorriza e *Rhizobium phaseoli* em áreas com feijoeiro. Pesq. agropec. bras., Brasília, 18 (8): 855-861, 1983.
- SAME, B.I.; ROBSON, A.D.; ABBOTT, L.K. Phosphorus, soluble carbohydrates and endomycorrhizal infection. Soil Biol. Biochem., Oxford, 15(5): 593-597, 1983.
- SANDERS, F.E. & TINKER, P.B. Mechanism of absorption of phosphate from soil by *Endogone* mycorrhizas. Nature, London, 233: 278-279, 1971.
- SARRUGE, J.R. & HAAG, H.P. Análises químicas em plantas. Piracicaba, ESALQ/USP, 1974. 57p.
- SCHENCK, N.C. & HINSON, K. Response of nodulating and non-nodulating soybeans to a species of *Endogone* mycorrhiza. Agron. J., Madison, 65: 849-850, 1973.
- SCHENCK, N.C. & SCHRÖDER, V.N. Temperature response of *Endogone* mycorrhiza on soybean roots. Mycologia, New York, 66: 600-605, 1974.

- SILVA, E.M.R.; ALMEIDA, D.L.; FRANCO, A.A.; DÜBEREINER, J. Adu-
bação verde no aproveitamento de fosfato em solo ácido.
R. bras. Ci. Solo, Campinas, 9(1): 85-88, 1985.
- SIQUEIRA, J.O. & OLIVEIRA, E. Efeito da calagem na micorriza-
ção, crescimento e nutrição de dois cultivares de feijão
(*Phaseolus vulgaris* L.). In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MI-
CORRIZAS, 1., Lavras, 1985. Anais. Lavras, Edição FAEPE,
1986. p.187.
- SIQUEIRA, J.O. & PAULA, M.A. Efeito de micorrizas vesículo-
arbusculares na nutrição e aproveitamento de fósforo pela
soja em solo sob cerrado. R. bras. Ci. Solo, Campinas,
10(2): 97-102, 1986.
- SKIPPER, H.D. & SMITH, G.W. Influence of soil pH on the
soybean - endomycorrhiza symbiosis. Pl. Soil, Hague, 53:
559-563, 1979.
- SMITH, S.E. & BOWEN, G.D. Soil temperature, mycorrhizal in-
fection and nodulation of *Medicago trunculata* and *Trifo-*
lium subterraneum. Soil Biol. Biochem., Oxford, 11: 469-
473, 1979.
- SMITH, S.E. & DAFT, M.J. Interactions between growth, phosphate con-
tent and nitrogen fixation in mycorrhizal and non-mycorrhizal *Medica-*
go sativa. Aust. J. Plant Physiol., Melbourne, 4: 403-413, 1977.
- SMITH, S.E.; NICHOLAS, D.J.D.; SMITH, F.A. Effect of early mycorrhizal in-
fection on nodulation and nitrogen fixation in *Trifolium subterra-*
neum L. Aust. J. Plant Physiol., Melbourne, 6: 305-316, 1979.
- SPARLING, G.P. & TINKER, P.B. Mycorrhizal infection in Pennine grass-
land. III. Effects of mycorrhizal infection on the growth of white
clover. J. Appl. Ecol., Oxford, 15: 959-964, 1978.

- STRZEMSKA, J. Occurrence and intensity of mycorrhiza and deformation of roots without mycorrhiza in cultivated plants. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., ed. Endomycorrhizas. London, Academic Press, 1975. p.537-543.
- SWARD, R.J. Infection of Australian heathland plants by *Gigaspora margarita* (a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus). Aust. J. Bot., Melbourne, 26: 253-264, 1978.
- TINKER, P.B. Role of rhizosphere microorganisms in phosphorus uptake by plants. In: KHASAWNEH, F.E.; SAMPLE, E.C.; KAMPRATH, E.J., ed. The role of phosphorus in agriculture, Madison, ASA-CSSA-SSSA, 1980. cap. 22, p.617-654.
- VARMA, A.K. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and nodulation in soybean. Folia Microbiol., s.l., 24: 501-502, 1979.
- VIEIRA, C. Cultura do feijão. 2.ed. Viçosa, Imprensa Universitária - Universidade Federal de Viçosa, 1983. 146p.
- VOLKWEISS, S.J. & RAIJ, B. van. Retenção e disponibilidade de fósforo em solos. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 4., Brasília, Ed. Itatiaia, p.317-332, 1976.
- WAIDYANATHA, U.P. de S.; YOGARATHAM, N.; ARIYARATNE, W.A. Mycorrhizal infection on growth and nitrogen fixation of *Pueraria* and *Stylosanthes* and uptake of phosphorus from two rock phosphates. New Phytol., Oxford, 82: 147-152, 1979.
- WARCUP, J.H. Factors affecting symbiotic germination of orchid seed. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., ed. Endomycorrhizas. London. Academic Press, 1975. p. 87-104.