NÍVEIS DE MANGANÊS NA GERMINAÇÃO DE ESPOROS E
ESTABELECIMENTO DE FUNGOS MICORRÍZICOS VESÍCULO-
-ARBUSCULARES EM SOJA [Glycine max. L. (MERRIL)]

ROSANGELA BARBOSA NAVARRO

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.

P I R A C I C A B A

Estado de São Paulo - Brasil

Novembro - 1989

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCAP/USP

± Navarro, Rosângela Barbosa
W322n Níveis de manganês na germinação de esporos e es-
tabelecimento de fungos micorrízicos vesículo-arbus-
culares em soja (Glycine max L.(Merril). Piraci-
caba, 1989.

98p. ilus.

Diss. (Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Esporo - Germinação - Efeito do manganês
2. Micorriza 3. Soja - Micorriza I. Escola Superior
de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

CDD 633.34

NIVEIS DE MANGANÊS NA GERMINAÇÃO DE ESPOROS E
ESTABELECIMENTO DE FUNGOS MICORRIZICOS VESICULO-
-ARBUSCULARES EM SOJA [Glycine max. L. (MERRIL)]

ROSANGELA BARBOSA NAVARRO

APROVADA EM 30/11/89

COMISSÃO JULGADORA:

Profa. Dra. Siu Mui Tsai (CENA/USP)

Prof. Dr. Antonio Roque Dechem (ESALQ/USP)

Prof. Dr. Takashi Muraoka (CENA/USP)

Dra. Siu Mui Tsai

- ORIENTADORA SUBSTITUTA -

Aos meus pais

Waldemar Navarro e
Maria Barbosa Navarro,
e irmãos,
pela compreensão e estímulo

DEDICO

Ao Guilherme Navarro Rodrigues

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

- As Profas. Dras. Elke J. B. N. Cardoso e Siu Mui Tsai por me orientarem;
- Ao Dr. Elias Ayres G. Zagatto bem como a Marco Aurélio Z. Arruda pelas sugestões e colaboração com as análises colorimétricas;
- A Isa Ferreira Alves e Roberto Bonetti pela assessoria nas análises estatísticas;
- A Francisco Carlos Montrazzi e Iolanda A. Ruffini pela colaboração na execução das análises químicas das plantas;
- Aos colegas do curso: Adriana P. D. da Silveira, Paulo Robson de Souza, Edgar Moreira Brandão, Roberto Wagner C. Raposo bem como a Thierry C. C. Desjardins pelas discussões, estímulo e amizade;
- Ao Dr. Eduardo A. Bulisani e Dr. Hipólito A. A. Mascarenhas da Seção de Leguminosas do Instituto Agrônomo de Campinas pela cessão das sementes e sugestões;

- A Eliane Zaidan Silvestre pelo trabalho de digitação;
- Ao Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes da ESALQ bem como à Seção de Microbiologia do Solo do CENA pelos recursos fornecidos;
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela cessão da bolsa;
- A todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	viii
SUMMARY	x
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xiii
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	04
2.1 Aspectos Gerais sobre Micorrizas	04
2.2 Fatores que Afetam o Desenvolvimento das MVA	11
2.3 Toxicidade de Mn em Plantas	20
2.4 Aspectos Fisiológicos das Micorrizas na Absorção de Mn	23
3. MATERIAL E METODOS	28
3.1 Estudo 1 - Efeito do Mn na Germinação de Esporos de Fungos Micorrízicos Vesículo- -Arbusculares	29
3.2 Estudo 2 - Influência da Associação Endomicorrízica, em Soja, na Absorção de Mn a Níveis Tóxicos	32

3.3 Estudo 3 - Ocorrência de Mn no Estado Oxidado em Micorrizas	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1 Estudo 1 - Efeito de Níveis de Manganês na Germinação de Esporos de Fungos MVA	42
4.2 Estudo 2 - Efeito de Níveis de Mn em Soja Micorrizada	49
4.3 Estudo 3 - Efeitos da Micorrização na Oxidação de Mn em Soja	60
5. CONCLUSÕES	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
APÊNDICE	

NIVEIS DE MANGANÊS NA GERMINAÇÃO DE ESPOROS E
ESTABELECIMENTO DE FUNGOS MICORRÍZICOS VESÍCULO-
-ARBUSCULARES EM SOJA [Glycine max L. (MERRIL)]

Autora: ROSANGELA BARBOSA NAVARRO

Orientadora: PROFA. DRA. ELKE JURANDY BRAN NOGUEIRA CARDOSO

RESUMO

Este estudo teve como objetivo determinar o efeito de Mn^{2+} na germinação de esporos e estabelecimento em soja por 6 espécies de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares (duas espécies de Glomus, duas de Acaulospora, uma de Gigaspora e uma de Scutellospora).

Um experimento "in vitro" acompanhou o efeito de níveis crescentes de manganês (15, 30 e 75 $\mu g/g$ de Mn^{2+}) na germinação de esporos, com decréscimos de 32, 49 e 75%, respectivamente. Glomus foi o fungo mais afetado por Mn^{2+} , mostrando alta sensibilidade para o efeito fungistático de Mn^{2+} . Scutellospora heterogama e Gigaspora

ix.

margarita foram mais tolerantes e menos afetadas mesmo a nível de 75 ug/g de Mn²⁺. Acaulospora appendiculata e A. morrowae sofreram decréscimos de até 50% na germinação de seus esporos, quando 15 ug/g de Mn²⁺ foram usados.

Em outro experimento, a eficiência de Glomus²⁺ contrabalanceou parcialmente o efeito supressivo de Mn²⁺ e o melhor desenvolvimento da soja com menor concentração de Mn²⁺ na parte aérea foram observadas em ambas as espécies. Em contrapartida, o estabelecimento de G. macrocarpum, G. etunicatum e G. margarita não foi afetado pelas doses desse elemento, com máxima de 12 ug/g).

Analisando a deposição interna de Mn oxidado no sistema radicular de soja, não foram detectadas alterações qualitativas nas formas de manganês, estando a forma de manganês oxidada (Mn³⁺) presente na mesma proporção tanto na raiz micorrizada ou não por G. macrocarpum.

x.

LEVELS OF MANGANESE IN SPORE GERMINATION AND
VESICULAR-ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI
ESTABLISHMENT IN SOYBEAN [Glycine max L. (MERRIL)]

Author: ROSANGELA BARBOSA NAVARRO

Adviser: PROFA. DRA. ELKE JURANDY BRAN NOGUEIRA CARDOSO

SUMMARY

This study aimed to determine the effect of Mn^{2+} on spore germination and establishment in soybean of 6 species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (two Glomus, two Acaulospora, one Gigaspora and one Scutellospora species).

An "in vitro" experiment studied the effect of increasing rates of Mn^{2+} (15, 30 and 75 ug/g) on spore germination, and suppressions as high as 32, 49 and 75%, respectively, were observed. Glomus was the fungus most affected by Mn^{2+} , showing a high sensitivity to Mn^{2+} fungistasis. Scutellospora heterogama and Gigaspora margarita were more tolerant and less affected even at rate of 75 ug/g of Mn^{2+} . Acaulospora appendiculata and A.

morrowae were most affected, with around 50% decreases in germination when 15 ug/g Mn²⁺ were used.

In another experiment, the efficiency of Glomus₂₊ partially counteracted the suppressive effect of Mn²⁺, and better soybean growth with less concentration of Mn²⁺ in the shoot were observed for both species. The establishment of G. macrocarpum, G. etunicatum₂₊ and G. margarita was not affected by levels of Mn²⁺.

When analysing internal deposition of oxidized Mn in the soybean root system, it was not detected qualitative changes in the Mn forms, being the oxidized Mn form (Mn³⁺) present at the same proportion in non- or mycorrhizal root, infected by G. macrocarpum.

1. INTRODUÇÃO

O fato de que o pH do solo influencia qualitativamente os fungos MVA (WANG et alii, 1985) e que estes fungos ocorrem em ambientes com pH variando de 2,7 (DAFT et alii, 1975) a 9,2 (BOWEN, 1980) sugere que eles apresentam alta capacidade para adaptação ecofisiológica.

A fungistase apresentada por solos ácidos pode atuar tanto no processo de germinação de esporos quanto no de crescimento do tubo germinativo (LOCKWOOD, 1977) interferindo no estabelecimento da associação simbiótica com plantas. Esta fungistase observada por solos ácidos muitas vezes tem sido relacionada com a presença de ions inorgânicos no solo, cuja solubilidade aumenta com a diminuição do pH.

A germinação de algumas espécies fúngicas tem demonstrado sensibilidade a Mn, Zn, Cu, Ca, Al e Cl em concentrações comumente encontradas na solução do solo (HEPPER & SMITH, 1976; SIQUEIRA et alii, 1983), apesar de seu uso generalizado como inoculante, nas mais diversas

condições edáficas. A eficiência da inoculação depende de fatores que estão inter-relacionados, do fungo-solo-planta.

Nos solos brasileiros o manganês ocorre na faixa de 10 a 4000 ppm de manganês total ou 0,1 a 100 ppm de manganês solúvel (MALAVOLTA, 1980), sendo que um levantamento feito por VALADARES & CAMARGO (1981) no estado de São Paulo mostrou variações de Mn solúvel de 3 a 190 ug/g nos horizontes superficiais do solo.

MASCARENHAS et alii (1981) demonstraram que o nível de calagem requerido para reduzir a toxicidade de Mn é maior do que aquele requerido para eliminar o Al e que no presente não é considerado prático ou econômico a incorporação de calcário próximo a zona radicular em soja.

Certas espécies vegetais exclusivamente tropicais desenvolvem-se normalmente em condições de valores de pH, nos quais o milho e a soja certamente não conseguiram desenvolver-se. Muitas dessas espécies evoluíram em solos ácidos, razão pela qual apresentam genes responsáveis pela tolerância a elevados níveis de Al e Mn.

Os mecanismos responsáveis pela tolerância ao excesso de Mn, em certas plantas, tem sido atribuído à redução da absorção (ROBSON & LONERAGAN, 1970; FOY et

alii, 1978) ou à menor translocação do excesso de manganês para a parte aérea (ANDREW & HEGARTY, 1969; FOY et alii, 1978) e ainda à maior tolerâncias às elevadas concentrações de manganês em seus tecidos (FOY et alii; FOY et alii, 1973).

Algumas evidências demonstram que para algumas situações, plantas micorrizadas adquirem certa tolerância à absorção ou translocação de Mn (nas hifas do fungo VA, ou dessas para a planta, ou ainda por um acúmulo do elemento) diminuindo a concentração deste elemento na parte aérea, onde o efeito tóxico se expressa (MOSSE, 1957; GERDEMAN, 1964; CARDOSO, 1984). O mecanismo dessa proteção, no entanto é totalmente desconhecido.

Visto que este pode ser considerado como mais um dos efeitos benéficos das MVA a sistemas de cultivo e com o intuito de aprofundar os conhecimentos relacionados ao comportamento das espécies fúngicas em condições estressantes de Mn, executamos este trabalho.

2. REVISAO DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE MICORRIZAS

2.1.1 Conceito e classificação

Em perfeito equilibrio biológico, certos fungos do solo podem colonizar o córtex das raízes, estabelecendo com as plantas uma série de inter-relações biotróficas eficazes ao desenvolvimento de ambos, denominadas micorrizas (BAREA et alii, 1985).

O conjunto de fungos e plantas, para os quais o termo se refere, apresenta subdivisões, devido à diversidade toxonômica das espécies envolvidas e das diferenças morfológicas, estruturais e nutricionais que estas associações adquirem.

Considera-se atualmente, as associações micorrízicas subdivididas em cinco grupos: arbutóides, ericóides, orquidáceas, ectotróficas e endotróficas ou vesículo - arbusculares, distintos segundo aspectos morfológicos do simbiote e relações fisiológicas estabelecidas com a planta hospedeira.

No caso das vesículo-arbusculares (MVA), envolvem-se na simbiose 6 gêneros de fungos: Glomus, Sclerocystis, Gigaspora, Acaulospora, Entrophospora e Scutellospora, que são zigomicetos microscópicos pertencentes à família Endogonaceae (SCHENCK & PEREZ, 1988).

Os gêneros foram estabelecidos considerando-se a maneira pelo qual os esporos foram gerados, com exceção do gênero Scutellospora cujas espécies foram distintas dentre as espécies do gênero Gigaspora, através de características da parede do esporo, formação do tubo germinativo e células auxiliares (WALKER & SANDERS, 1986).

2.1.2 Estruturas

O processo de formação das MVA tem início com a ativação dos progâmulos do fungo presentes no solo, que podem ser constituídos por esporos de resistência, fragmentos de raízes colonizadas ou agregados de hifas do fungo MVA (HAYMAN, 1983).

Em condições favoráveis, os esporos, que são considerados os mais persistentes, germinam e com o crescimento do tubo germinativo produzem uma pequena quantidade de micélio no solo.

Este micélio tem vida limitada e caso não haja a presença da raiz de uma planta hospedeira convenientemente próxima, o citoplasma é removido, forma-se um septo e o crescimento micelial cessa (SIQUEIRA, 1983).

Na presença da planta hospedeira a infecção tem início quando a hifa encontra a raiz hospedeira formando um apressório sobre as células da epiderme. O fungo penetra colonizando o córtex pela formação de hifas distributivas inter e intracelularmente.

Poucos dias após o início da infecção, as hifas intraradiculares, por divisão dicotômica, podem dar origem aos arbúsculos cuja função é o intercâmbio biotrófico bidirecional de nutrientes.

Com períodos de vida entre 4 a 14 dias, os arbúsculos, por degeneração transferem ao citoplasma da hospedeira, seus resíduos. A célula recupera sua atividade normal, estando apta a ser reinfectada (TINKER, 1980).

As hifas intraradiculares, podem ainda, apresentar estruturas formadas por protuberâncias em suas porções terminais ou intercalares, denominadas vesículas, responsáveis pelo armazenamento de reservas lipídicas. Em alguns gêneros de fungos, estas estruturas são formadas

apenas pelo micélio extra-radicular.

Simultaneamente ao desenvolvimento intra-radicular, as hifas se ramificam fora da raiz, formando uma rede de micélio livre no solo, podendo se estender a distâncias de mais de 8 cm da raiz (RHODES & GERDEMANN, 1975) e segundo cálculos de TISDAL & GADES (1979) formando até 55 cm de hifas por grama de solo adjacente à raiz.

Evidências demonstram que as hifas externas podem infectar simultaneamente dois segmentos de raízes de uma mesma planta, raízes de plantas da mesma espécie ou raízes de plantas de espécies diferentes.

Variações observadas com relação ao diâmetro das hifas e espessura das paredes, sugerem adaptações de suas partes para a absorção e translocação de nutrientes (RHODES & GERDEMANN, 1975).

O fungo micorrízico, para completar o seu ciclo de vida, depende da atividade metabólica da raiz, sendo considerado simbiote obrigatório.

2.1.3 Distribuição

Estudos das implicações ecológicas que envolvem a distribuição das MVA, remontam ao período

Siluriano, pela observação do primeiro registro fóssil que se conhece de um vegetal, que mostra uma formação micorrizica por fungo MVA (NICOLSON, 1975).

A existência de tal co-evolução explica as diversas interdependências entre a planta e o fungo, de forma que é aceitável atualmente afirmar, que a maioria das plantas, necessitam em maior ou menor grau da micorrização para captar nutrientes e crescer adequadamente.

As MVA são encontradas em 96% das espécies vegetais existentes na crosta terrestre em habitats sob condições tropicais, temperadas e árticas (HAYMANN, 1982).

A colonização micorrizica tem sido observada em Briófitas, Pteridófitas, Gimnospermas e Angiospermas. Algumas famílias inicialmente relatadas como não formadoras de micorrizas como Chenopodiaceae e Cruciferae, foram demonstradas em trabalhos posteriores passíveis de adquirirem a micorrização, especialmente quando em presença de outras plantas micotróficas (OCAMPO et alii, 1980).

MVA, pode ainda estar ausente, quando a planta é dependente de outro tipo de micorriza, como ectomicorriza por exemplo. Algumas plantas, no entanto, podem formar ambos os tipos ecto e endomicorriza, como no caso da macieira, carvalho, aveleira, junípero, certas

leguminosas arbóreas, alguns membros da família Populaceae (TRAPPE, 1977) e do gênero Eucaliptus (MALAJCZUK et alii, 1981).

2.1.4 Desenvolvimento das MVA

As respostas, em termos de crescimento da planta, conferidas pelo estabelecimento do fungo micorrizico, são dependentes de 3 fatores:

- o grau de micotrofismo da planta;
- a eficiência simbiótica do fungo e
- o estado nutricional do solo/meio de crescimento,

que são influenciadas por fatores ambientais (HAYMANN & TAVARES, 1985).

Elevados graus de micotrofismo tem sido demonstrados em plantas com sistema radicular pivotante, com diâmetro de radículas maior que 5 mm e baixa formação de pelos radiculares (ST JOHN, 1980).

Além da estrutura da raiz, o grau de micotrofismo está relacionado ao metabolismo da planta, podendo variar entre espécies e cultivares (AZCON & OCAMPO, 1981).

O desenvolvimento da infecção micorrizica

pode ser controlado pela concentração de nutrientes no interior da planta (SANDERS, 1975). De fato, altos níveis de colonização ocorrem em condições de solo de baixa fertilidade, sendo que, o aumento dos teores de P (MOSSE, 1973) e N (HAYMAN, 1975) exercem um efeito negativo na ocorrência da infecção.

Diminuição dos exudatos radiculares (RATNAYAKE et alii, 1978), da concentração de carboidratos solúveis (SAME et alii, 1983) e da permeabilidade da membrana (GRAHAN et alii, 1981) tem sido relacionados com elevadas concentrações de P na planta, interferindo negativamente na colonização pelo fungo MVA.

Temperatura e luminosidade também interferem nos níveis de infecção, possivelmente devido a indução de alterações na taxa fotossintética do hospedeiro (SAME et alii 1983).

Os fungos micorrízicos diferem entre si, em relação ao benefício que conferem às plantas, efeito descrito por MOSSE (1973) como especificidade e que tem sido usado como sinônimo de efetividade.

Um fator determinante desta efetividade está relacionado com a habilidade do fungo em desenvolver uma grande quantidade de micélio externo (MOSSE, 1972).

Outro fator crítico, se relaciona com a velocidade com que o endófito se estabelece na raiz.

ABBOTT & ROBSON (1981) observaram que a efetividade de determinadas espécies fúngicas estava na dependência da percentagem de raízes colonizadas nos primeiros estágios de desenvolvimento da planta.

Com relação a este fato, DOUDS (1986) divide o ciclo de infecção em 3 fases segundo o desenvolvimento da planta, demonstrando que plantas senescentes podem apresentar um aumento da porcentagem de infecção que pode não estar relacionado com a efetividade do fungo.

2.2 FATORES QUE AFETAM O DESENVOLVIMENTO DAS MVA

As micorrizas vesículo arbusculares resultam de uma condição equilibrada entre o fungo, a planta e o ambiente (clima e solo). Cada um destes componentes é afetado e/ou controlado por diversos fatores que podem atuar separadamente, inter-relacionados direta ou indiretamente.

2.2.1 Fatores Físicos

Os fungos MVA podem ser influenciados desde

o processo de germinação dos esporos até a penetração das raízes do hospedeiro, por alguns fatores como umidade, temperatura, luminosidade e textura do solo.

Neste sentido SAIF (1981) observou que a colonização de raízes foi favorecida quando a umidade do solo permaneceu abaixo de sua capacidade máxima de retenção de água, podendo favorecer também a produção de esporos (SAIF et alii, 1975). Para a germinação de esporos a umidade na capacidade de campo ou acima desta podem favorecer o processo (SYLVIA E SCHENCK, 1983).

Os efeitos da temperatura são variáveis, dependendo da espécie de fungo e da combinação fungo-hospedeiro, porém geralmente, apresentam adaptação fisiológica com ótimo de temperatura relacionada aquela de seu local de origem (DANIELS & TRAPPE, 1980).

A luminosidade por induzir alterações na taxa fotossintética do hospedeiro, interferindo nos níveis de infecção (SAME et alii, 1983).

A textura do solo interfere tanto no desenvolvimento do micelio externo quanto na esporulação dos fungos MVA (SAFIR & DUNIWAY, 1982).

2.2.1 Fatores Químicos

A disponibilidade de certos nutrientes no solo, especialmente o P e N influenciam o grau de colonização das raízes (MOSSE, 1973), bem como a germinação de esporos e o crescimento do tubo germinativo (SIQUEIRA et alii, 1985)

Concentração de P a 30 uM inibiu a germinação de Glomus mosseae e Glomus caledonium em meio de ágar mas a germinação no solo não foi afetada a concentrações de 982 ppm de P (HEPPER, 1983).

Em placas de areia com solução de P, KOSKE (1981) observou em Gigaspora gigantea que concentrações de até 500 ppm de P, não influenciaram na taxa de germinação.

Quando aplicado em doses elevadas, o P além de reduzir a colonização de raízes, pode reduzir ainda a produção de esporos e micélio externo (SIQUEIRA et alii, 1984; MENGE, 1978).

Não se conhece o mecanismo exato pelo qual o P interfere na colonização das raízes, porém evidências demonstram que este efeito está relacionado, muito mais a aspectos da planta que do fungo.

Nenhum efeito foi obtido na germinação de Glomus epigaeum com a adição de até 900 ppm de N na forma

de NH_4NO_3 ou de 152 ppm de K (DANIELS & TRAPPE, 1980), enquanto que para o crescimento do tubo germinativo uma dosagem de 24 ppm de N, foi prejudicial no meio de cultivo (SIQUEIRA et alii, 1982).

2.2.2 pH

O efeito do pH, geralmente utilizado na verificação da distribuição das espécies fúngicas, é de difícil avaliação, uma vez que as propriedades químicas do solo variam em função deste fator.

As MVA ocorrem numa ampla faixa de pH, sendo que algumas espécies são dependentes deste fator para o seu desenvolvimento.

Glomus mosseae não é encontrado colonizando solos com pH abaixo de 5,5 enquanto que Glomus tenuis tem predominado em solos extremamente ácidos (MOSSE, 1981; LAMBERT & COLE Jr., 1980).

Em levantamentos efetuados por COLOZZI FILHO et alii (1986) em ecossistemas naturais e agroecossistemas do estado de Minas Gerais, foi verificado que o pH do solo afetou a composição da população de fungos MVA nativa. Um maior número de espécies ocorreu a pH entre 5,0 e 6,0, sendo que, Acaulospora scrobiculata e Acaulospora morrowae

predominaram em solos com pH 6,0 enquanto que Acaulospora spinosa, Scutellospora pellucida e Gigaspora sp. predominaram a pH 5,0.

O pH ótimo para o desenvolvimento de uma dada espécie tem sido demonstrada como aquele do qual a espécie se origina.

Glomus mosseae originário de solos alcalinos, germinou de maneira satisfatória, em água-ágar contendo extrato de solo, numa faixa de pH entre 6 e 9 enquanto que Scutellospora coralloidea e Scutellospora heterogama originárias de solos de acidez mais elevada apresentaram um ótimo de pH entre 4 a 6 (GREEN et alii 1976; GERDEMANN & TRAPPE, 1974).

Com relação à colonização radicular WANG et alii (1986) demonstraram que fungos isolados de solos alcalinos infectavam pobremente as raízes quando em solo ácido, porém espécies originárias de solos ácidos colonizaram eficientemente em vários níveis de pH do solo.

Menor quantidade de micélio externo foi desenvolvida por Glomus fasciculatum isolado de solo ácido quando a associação micorrízica foi estabelecida em condições de pH mais elevado que aquele do qual o fungo se originava (GRAHAN et alii 1982).

Glomus macrocarpum, isolado de uma areia quartzosa com pH abaixo de 5,5, respondeu positivamente, em termos de germinação, a elevações do pH quando testado em dois outros tipos de solo (LAMBAIS & CARDOSO, 1988; NAVARRO et alii, 1987).

Adaptações ecofisiológicas relacionadas com o pH em alguns casos são sugeridas como dependentes da temperatura (KOSKE, 1981; DANIELS & TRAPPE, 1980).

Glomus mosseae apresentou maior percentagem de germinação a temperaturas mais baixas em condições de pH alcalino e a temperaturas mais elevadas a pH neutro (GREEN et alii, 1976).

2.2.3 Mn e outros ions inorgânicos

Enquanto que, a produção de um vigoroso micélio externo, pode ser vantajoso em termos de promoção de crescimento em plantas, sob condições limitantes de certos fatores tais como P e água, isto pode ser desvantajoso em situações onde a solução do solo contém elevados níveis de elementos metálicos tais como Zn, Cu, Fe, Al e Mn potencialmente tóxicos. A solubilidade de muitos destes metais aumenta com a diminuição do pH, e portanto os ambientes naturalmente ácidos estarão mais

sujeitos a permitir esta toxicidade.

Para o caso dos fungos endomicorrízicos, as concentrações de alguns destes elementos encontrados na maioria dos solos são consideradas fungitóxicas in vitro.

HEPPER & SMITH (1976) observaram redução, tanto na percentagem de germinação quanto no crescimento do tubo germinativo de Glomus mosseae, em meio agarizado contendo 0,136 ug/g de Mn ou 0,70 ug/g de Zn.

A germinação de esporos de Glomus caledonium foi reduzida em meio de cultivo contendo 0,14 ug/g de Mn ou 0,5 ug/g de Cu. Este efeito não foi permanente e os esporos uma vez transferidos para água-agar, germinaram normalmente, sugerindo um efeito fungistático que poderia reduzir a colonização das raízes (HEPPER, 1979).

A presença de plantas colonizadas por fungos micorrízicos em condições edáficas diversas sugere a presença de um mecanismo para adaptação ecofisiológica.

Neste sentido, em condições naturais, uma vantagem competitiva foi demonstrada por um endófito de micélio fino com relação a Glomus albidum. A colonização micorrízica pelo endófito fino foi mantida inalterada até 40 dias após a aplicação de 50 ppm de Mn no solo (McGEE, 1986).

A mesma fonte de inóculo com Glomus albidum mantida por alguns anos, em tipos de solos com características químicas diversas demonstraram sensibilidade diferenciada a metais (HEPPER, 1979).

WANG et alii (1985) propuseram que a toxidez do Al pode ter sido responsável pela inibição de endófitos de hifas grossas no solo com pH abaixo de 5,5, pelo fato de que a infecção por estes fungos foi virtualmente eliminada a níveis de Al acima de 2 ppm, chamando a atenção para o fato de que a inibição da infecção pode ser parcialmente um reflexo da sensibilidade do hospedeiro a metais, e que, este fungo micorrízico apresentou maior sensibilidade a Al do que qualquer fungo ecto ou ericóide até agora examinado.

Bioensaios em placas contendo areia, indicaram que 1,5 ppm de Al em solução já apresentou efeito inibitório para Glomus mosseae, enquanto o mesmo efeito em Gigaspora margarita só ocorreu em concentrações de Al superiores a 30 ppm (SIQUEIRA et alii, 1985).

De maneira geral o efeito de ions metálicos no desenvolvimento das MVA tem seu estudo limitado, principalmente pela impossibilidade do cultivo axênico das espécies, onde as concentrações iônicas poderiam ser melhor

monitoradas.

MOSSE (1981) trabalhando com solos tropicais citou os problemas de salinidade e de toxicidade de Al e Mn que estes solos apresentam. A autora constata o conhecimento limitado que se tem a respeito dos efeitos que estes ions causam nos fungos MVA tanto no estabelecimento da simbiose quanto na eficiência micorrízica sugerindo que a atenção deva se voltar para o conhecimento das espécies nativas, pois espécies com mecanismos adaptativos a estas condições, sem dúvida, devem ocorrer.

Neste sentido, em plantas ericáceas que geralmente estão presentes em solos ácidos, BRADLEY et alii (1982) demonstraram que a presença da infecção micorrízica pode conferir tolerância à toxicidade causada por Cu e Al. Pezizella ericae, o fungo ericóide, confere à planta uma habilidade inerente para desenvolver-se em concentrações metálicas bem mais elevadas do que aquelas em que as plantas não micorrizadas conseguem tolerar. A produção de micélio de P. ericae não foi afetada em presença de 400 ppm de Al demonstrando um nível de tolerância superior àqueles dos fungos ectomicorrízicos L. laccata e A. muscaria.

A resistência em fungos ectomicorrízicos e ericóides apresenta diferenças intergenéricas. Neste

sentido Suillus bovinos demonstra uma resistência menor que Amanita muscaria a Cu e Zu o que pode ocorrer devido a uma seleção do ambiente natural para alguns fungos, baseada no nível de tolerância a metais (READ et alii, 1985).

2.3 TOXICIDADE DE Mn EM PLANTAS

Nos solos brasileiros o manganês ocorre na faixa de 10 a 400 ppm de manganês total ou 0,1 a 100 ppm de manganês solúvel (MALAVOLTA, 1980).

Um levantamento feito por VALADARES & CAMARGO (1981) no estado de São Paulo, mostrou variações de Mn solúvel de 3 a 190 ug/g nos horizontes superficiais do solo.

Apresenta-se no solo em três valências sujeitas a um equilíbrio dinâmico: 1) Mn^{+2} , que aparece na forma trocável e na solução do solo em grande parte (92%) como complexo ou quelato orgânico; 2) Mn^{+3} , possivelmente como óxido Mn_2O_3 ; 3) Mn^{+4} , como pirolusita, um óxido muito estável (MALAVOLTA, 1980).

As variações de uma valência para a outra dependem das condições do solo, tais como, teor de matéria orgânica, potencial de oxirredução, grau de umidade e arejamento, atividade microbiana e pH do meio (FOY, 1984).

É absorvido e translocado nas plantas na forma bivalente chegando até as raízes através do fluxo de massa que é influenciado pela concentração do elemento no solo e pela taxa de transpiração da planta (MALAVOLTA et alii, 1974).

A toxicidade de Mn ocorre normalmente em combinação com aquela causada pelo Al tóxico em solos com pH inferior a 5,5 cujos materiais de origem são suficientemente ricos em Mn total. Todavia, a valores de pH superiores a 5,5, o alumínio não prejudica o desenvolvimento das plantas em virtude de sua precipitação praticamente completa, ao passo que a toxicidade de Mn pode ainda ocorrer (FOY, 1984).

Certas espécies, exclusivamente tropicais desenvolvem-se normalmente em condições de valores de pH, nos quais o milho e a soja certamente não conseguiriam desenvolver-se. Muitas dessas espécies evoluíram em solos ácidos, razão pela qual apresentam genes responsáveis pela tolerância a elevados níveis de Al e Mn (SANCHEZ, 1981).

Usando a técnica de enxertia foi demonstrado, em dois cultivares de soja, que a tolerância diferencial à toxidade de Mn era determinada principalmente pelo genótipo da parte aérea que controla o acúmulo de íons

nas folhas (HEENAN & CARTER, 1976).

Pode existir mais de um mecanismo responsável pela tolerância ao excesso de Mn. Em certas plantas ele tem sido atribuído à absorção reduzida do elemento (FOY et alii, 1978) ou a menor translocação do excesso absorvido para a parte aérea (ANDREW & HEGARTY, 1969) ou ainda à maior tolerância a teores elevados em seus tecidos (FOY et alii, 1973).

Os níveis críticos, deficientes e tóxicos de Mn são definidos como a concentração do elemento nas folhas, associada com uma redução de 10% na produção de matéria seca devida à deficiência ou toxicidade respectivamente, sendo que para o cultivar de soja Bragg foi de 10 e 160 ppm de Mn nas folhas (OHKI, 1981). Deve-se ressaltar que o nível crítico pode ser variável na dependência de fatores, tais como espécie, cultivar, condições do solo e outros.

Nesse sentido, o grau de tolerância entre espécies e cultivares de plantas pode depender de interações entre o Mn e outros elementos tais como P, Fe, Si e Ca, sendo responsáveis por uma grande diversidade de sintomas que podem ser alterados pela adição destes elementos (FOY, 1984).

O antagonismo Mn-Fe é amplamente conhecido, sendo observado frequentemente em solos ácidos contendo altos níveis de Mn disponível. Em geral, Fe e Mn estão inter-relacionados em suas funções metabólicas, apresentando uma taxa ideal, para a relação Mn/Fe entre 1,5 e 2,5 em plantas superiores (FOY et alii, 1978).

2.4 ASPECTOS FISIOLÓGICOS DAS MICORRIZAS NA ABSORÇÃO DE Mn

Segundo PACOVSKY (1987) as avaliações de diferenças nutricionais entre plantas micorrizadas e controles tornam-se dificultadas devido a dois fatores: (1) As plantas controle geralmente não tem uma compensação do P que nas plantas micorrizadas é incrementado; (2) O período em que é feita a avaliação pode acentuar diferenças transitórias.

De maneira geral, tem sido observado que a micorrização pode levar a planta a um nível mais elevado de tolerância a metais (BRADLEY et alii, 1981; BROWN & WILKINS, 1985; GILDON & TINKER, 1983). A presença da infecção pode causar uma redução da concentração de metais na parte aérea, em alguns casos como consequência de sua retenção no sistema radicular (BRADLEY et alii, 1982; BROWN & WILKINS, 1985), não permitindo acúmulos elevados na parte

aérea. Um levantamento relacionado à distribuição de Mn em plantas micorrizadas por fungos MVA (Tabela 1), pode dar uma idéia da ocorrência deste efeito. Na maioria dos casos, no entanto, não foram obtidas as concentrações do elemento no sistema radicular, e o mecanismo da proteção não foi avaliado.

De acordo com TAYLOR (1987), as hipóteses relativas à tolerância de plantas às condições extressantes de íons metálicos, podem ser agrupadas em duas classes: 1) atuação de mecanismos internos das células, onde os íons penetram no citoplasma mas são subsequentemente desativados; 2) atuação de mecanismos de exclusão, onde a tolerância está baseada na habilidade da planta em prevenir a entrada dos íons no citoplasma. Dentre os mecanismos de prevenção incluem-se: a) imobilização do elemento na parede celular; b) complexação de metais por quelatos exudados pelas raízes; c) formação de uma barreira redox na membrana plasmática, e d) formação de uma barreira de pH nesta membrana.

A presença da micorriza pode influenciar em todas estas fases, através de alterações fisiológicas do sistema radicular.

Tabela 1 - Efeito das micorrizas na concentração de Mn em plantas (parte aérea).

----- FONTE -----	----- PLANTA -----	Mn
MOSSE (1957)	maçã	-
GERDEMANN (1964)	milho	-
ROSS & HARPER (1970)	soja	+
KLEINSCHMIDT & GERDEMANN (1972)	citrus	-
MOSSE (1973)	várias hospedeiras	+
BIERMANN & LIDERMAN (1983)	gerânio	-
CARDOSO (1984)	soja	-
PACOVSKY et alii (1985)	sorgo	-
COLOZZI-FILHO & SIQUEIRA (1986)	café	-
DUECK et alii (1986)	gramíneas	-
PACOVSKY (1986)	soja	-
GOMES (1986)	soja	+
SIQUEIRA & OLIVEIRA (1986)	feijão	-
SMITH & RONCADORI (1986)	algodão	+
McGEE (1987)	solanácea	-
TEMLIGN & KILLHAM (1987)	eragrostis	-
ARINES et alii (1989)	trevo	-
LAMBAIS (1989)	estilosantes	-
NAVARRO et alii (1989)	feijão	-

 - diminuição do teor em relação ao controle.
 + aumento do teor em relação ao controle.

Em micorrizas ericóides vem sendo sugerido, que as paredes das células do fungos, são em comparação com as das plantas, os maiores sítios de complexação de elementos metálicos (BRADLEY et alii, 1982).

A produção de sideróforos por linhagens de basidiomicetos formadores de ectomicorrizas foi demonstrada em cultura axênica por SZANILD et alii (1981), o que pode significar um efeito das micorrizas na melhora da nutrição em Fe e possivelmente um efeito indireto na tolerância a níveis tóxicos de Mn.

Alterações dos exudatos radiculares, ocorrem quanti e qualitativamente quando as plantas tornam-se micorrizadas (GRAHAN, 1981), modificando a população de outros microorganismos que atuam na rizosfera (AMES et alii 1984) e, portanto, podendo alterar a disponibilidade ou utilização de nutrientes na micorrizosfera.

BRADLEY et alii, 1981 sugeriram que a redução da toxicidade de Zn em micorrizas ericóides estava relacionada com a retenção do elemento nas hifas do fungo. No entanto, DUECK et alii (1986) observaram em Glomus fasciculatum que o efeito protetor do fungo estava na dependência do tipo de solo utilizado e que provavelmente outros fatores além daqueles relacionados à fisiologia do

fungo, poderiam estar envolvidos.

O acúmulo de metais em raízes de Pezizella ericae foi demonstrado através de microscopia eletrônica, ocorrer em células da raiz mais do que em células do fungo.

Incrementos na absorção de elementos tóxicos, também são demonstrados na presença da micorriza. Neste sentido, KILLHAM & FIRESTONE (1983) observaram que a infecção por fungos MVA em condições de solo de elevada acidez, e em presença de altos teores de metais pesados, potencializaram a absorção de Cu, Ni, Pb, Zn, Fe e Co reduzindo o crescimento da planta.

Endófitos podem diferir em sua tolerância a metais pesados e em sua habilidade para participar na nutrição das plantas (GILDON & TINKER, 1981).

Os mecanismos da indução de tolerância em plantas, bem como as inter-relações com outros nutrientes que possam estar envolvidos no processo carecem de esclarecimentos.

3. MATERIAL E METODOS

Procurou-se avaliar o efeito do Mn nas fases de germinação de esporos (Estudo 1 - em laboratório) e na colonização de fungos MVA em soja (Estudo 2 - em casa-de-vegetação). Além disso, em uma terceira fase estudou-se um possível mecanismo de controle da translocação de metais (no caso, Mn) em sistema radicular com fungo MVA, através da determinação de Mn oxidado. Optou-se pelo uso de areia quartzosa, pela facilidade do seu uso em diversas medidas.

Tendo-se em vista que valores de pH acima de 5,5 podem alterar a disponibilidade de Mn no substrato, optou-se pela utilização de um suporte para a planta, praticamente inerte em termos de retenção de cátions, sendo os elementos nutricionais aplicados na forma de solução nutritiva de Steinberg (FOY et alii, 1967) contendo 1/3 da concentração de fósforo, tamponada a pH 5,0 e contendo as seguintes concentrações em ppm de elementos: 50,8 Ca; 7,6 Mg; 56,0 N; 3,8 S; 29,4 K; 10,0 P; 0,34 Cl; 0,13 Mn; 0,07 B; 0,04 Zn; 0,01 Cu; 0,005 Mo; 1,0 Fe.

3.1 ESTUDO 1 — EFEITO DO Mn NA GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE FUNGOS MICORRIZICOS VESICULO-ARBUSCULARES

3.1.1 Espécies fungicas estudadas

Os fungos MVA empregados fazem parte da micoteca da Seção de Microbiologia do Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes da ESALQ, provenientes de multiplicação em vasos, tendo o milho como planta multiplicadora.

- Acaulospora scrobiculata Trappe
- Acaulospora morrowae Spain & Schenck
- Scutellospora heterogama (Nicol. & Gerd.) Walker & Sanders
- Gigaspora margarita Becker & Hall
- Glomus macrocarpum Tul & Tul. var. macrocarpum
- Glomus etunicatum Becker & Gerdemann

3.1.2 Substrato empregado

Constituiu-se de areia grossa, que após peneiramento em malha de 2 mm, permaneceu 24 horas em HCl a 5% para a retirada de materiais orgânicos. Posteriormente, procedeu-se uma lavagem em água corrente até a constatação da retirada de todo o ácido através do monitoramento do pH

do sistema.

A areia foi esterilizada a 120°C por 2 h, e analisada quimicamente conforme resultados na Tabela 2.

Tabela 2 - Análise química da areia utilizada nos Estudos 1 e 2.

pH CaCl ₂	P $\mu\text{g}/\text{cm}^3$	B ⁺ -----	Ca ²⁺ emg(100cm ³)-----	H+Al ³⁺ -----	Cu -----	Fe -----	Mn -----	Zn -----
							$\mu\text{g}/\text{g}$	
5,0	4,8	-	0,15	0,16	0,07	0,6	0,3	0,6

M.O.% = 0,65

S = 0,31 emg (100 cm³)-1 soma das bases (Ca²⁺, Mg²⁺ e K⁺)

T = 1,09 emg capacidade de troca de cátions (S + H⁺ + Al³⁺)

V% = 28,0 saturação de bases (100.ST-1)

P, K, Ca foram extraídos pelo método da resina

Al + H⁺ foram extraídos em KCl 1N

Cu, Fe, Mn e Zn foram extraídos em DTPA.

3.1.3 Preparo dos esporos

Os esporos foram separados por peneiragem úmida (GERDEMANN e NICOLSON, 1963), recuperados em peneiras de porosidade variando entre 50 a 250 μ dependendo da espécie em estudo, centrifugados em solução de sacarose a 40% por 4 minutos e lavados em água estéril.

Para a completa remoção de fragmentos de

hifas e outras impurezas, os esporos foram transferidos para erlenmeyers (250 ml) contendo 50 g de sílica grossa e 50 ml de água sendo agitados durante 30 minutos.

A desinfestação superficial foi feita com solução de hipoclorito de sódio a 0,3% por 3 minutos e posterior lavagem em água destilada.

3.1.4 Montagem das placas de germinação

A areia lavada foi submetida aos tratamentos com Mn na forma de $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ para obtenção dos níveis 0,13; 15; 30 e 75 ug/g (ppm) e distribuída em placas de Petri com capacidade para 100 g do substrato.

A umidade da areia foi mantida em torno de 80% da capacidade máxima da retenção de água pela adição de 20 ml da solução nutritiva de Steinberg isenta de Mn.

Com o auxílio de um microscópio estereoscópico os esporos foram transferidos em grupos de 20 para membranas filtrantes (Sartorius) de 47 mm de diâmetro e 3,0 um de porosidade.

As membranas foram dobradas na forma de envelope e introduzidas entre duas camadas de areia. As placas foram embrulhadas em papel alumínio e incubadas durante 30 dias a 30 °C.

3.1.5 Parâmetros avaliados

Após 30 dias, os esporos foram considerados germinados pela visualização em microscópio estereoscópico (45x), da emergência do tubo germinativo.

Os dados obtidos em percentagem foram submetidos à análise de variância em esquema fatorial precedidos da transformação $\text{arc sen } \sqrt{x/100}$, onde x é a percentagem de germinação.

As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, utilizando-se a análise de variância ($P < 0,05$).

3.2 ESTUDO 2 - INFLUÊNCIA DA ASSOCIAÇÃO ENDOMICORRIZICA, EM SOJA, NA ABSORÇÃO DE Mn A NIVEIS TOXICOS

3.2.1 Espécies fúngicas estudadas

Foram utilizadas três espécies de fungos MVA arranjadas em 4 tratamentos:

- Glomus macrocarpum Tul & Tul
- Glomus etunicatum Becker & Gerdemann
- Gigaspora margarita Becker & Hall
- Controle sem fungo MVA.

3.2.2 Substrato empregado e dosagens de Mn

Utilizou-se como substrato para o plantio da soja, areia lavada e esterilizada pelo processo descrito no Estudo 1, distribuída em vasos com capacidade para 2 kg.

As concentrações de Mn de 0,13; 4; 8 e 12 ug/g foram alcançadas com a adição de $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ diluído em solução nutritiva de Steinberg nas respectivas doses.

3.2.3 Planta indicadora

Como planta indicadora utilizou-se a soja [Glycine max L. (Merrill) cv. IAC 8], descrita como cultivar de tolerância média à Mn em níveis tóxicos.

As sementes, bem como demais informações sobre o cultivar foram obtidas na Seção de Leguminosas do Instituto Agronômico de Campinas.

3.2.4 Montagem e condução do experimento

A inoculação com o fungo MVA foi feita com uma suspensão de esporos obtidos por peneiragem úmida e decantação (GERDEMANN e NICOLSON, 1963).

Os esporos, separados em microscópio estereoscópico, foram desinfestados em solução de

hipoclorito de sódio a 0,3% e lavados em água destilada.

Para a inoculação de cada vaso utilizou-se 90 esporos fúngicos, aplicados a 5 cm da superfície do substrato, imediatamente antes da semeadura da soja. O tratamento envolvendo a mistura foi preparado utilizando-se trinta esporos de cada espécie.

Plântulas de soja, obtidas em "Gerbox" após 6 dias da semeadura, foram selecionadas segundo o estado sanitário e tamanho do hipocótilo e transplantadas para os vasos.

A nutrição das plantas no transcorrer do experimento foi mantida com a aplicação de solução nutritiva de Steinberg isenta de Mn, diluída a 1/3.

Durante os 50 dias de condução do experimento em casa-de-vegetação, os vasos foram regados, duas vezes por semana, com 50 ml da solução nutritiva e sempre que necessário com água destilada não permitindo perdas por drenagem.

3.2.5 Parâmetros avaliados

Aos 50 dias, as plantas foram cortadas na altura do colo e as raízes foram lavadas em água destilada

deionizada, por diversas vezes, até completa remoção de partículas de areia.

Raízes e partes aéreas foram secas em estufa com ventilação forçada, a 60 °C até peso constante, sendo então pesadas para determinação da matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria seca do sistema radicular (MSSR).

Na MSPA e MSSR determinou-se quimicamente os teores de P, Ca, Mg, Fe e Mn em análise multielementar simultânea, por espectrometria de emissão atômica, com plasma induzido de argônio, após digestão nitroperclórica. O teor de K foi obtido por fotometria de chama por emissão atômica.

A digestão sulfúrica para determinação dos teores de N foi realizada para MSPA, obtendo-se os resultados pelo método colorimétrico com indofenol azul em autoanalisador Technicon. A quantidade total de nutrientes acumulados nos tecidos foi calculada com base no teor destes no tecido e a produção de matéria seca.

Não foi possível a determinação de N na MSSR devido à pequena quantidade de biomassa existente.

A colonização micorrízica foi avaliada utilizando partes de raízes secas seguindo o método de coloração proposto por PHILLIPS e HAYMANN (1970), que

consiste em:

- separar 0,2 g de raízes já secas em estufa;
- aquecer em 20 ml de KOH 10% a 90 ° C por 30 minutos;
- lavar em água corrente e mergulhar em HCl a 1% por 3 minutos;
- escorrer o ácido e adicionar 20 ml de lactoglicerol azul (ácido lático, glicerina, água 1:1:1 e "trypan blue" a 0,05%);
- aquecer a 90 ° C por 5 minutos.

O preparo das lâminas e a determinação da percentagem de colonização foram feitas de acordo com BIERMANN e LINDERMAN (1981).

O efeito da micorrização no crescimento, teor e acúmulo total de nutrientes foi determinado através das equações de regressão ajustadas, relacionando-se estes parâmetros obtidos para as plantas micorrizadas (M) e não micorrizadas (NM), tendo como variáveis dependentes das doses de Mn aplicadas.

Médias de tratamentos de fungos foram comparadas pelo teste de Tukey.

Os dados relacionados à colonização micorrizica e as relações entre MSPA/MSSR, Mn/P, Mn/Ca, Mn/Fe e Mn/MSPA, foram normalizados pela transformação $\text{arc se}\sqrt{x/100}$.

3.3 ESTUDO 3 - OCORRÊNCIA DE Mn NO ESTADO OXIDADO EM MICORRIZAS

3.3.1 Espécie fúngica

Com base nos resultados obtidos no Experimento 2, optou-se pela utilização do fungo Glomus macrocarpum Tul & Tul var. macrocarpum.

3.3.2 Substrato empregado e dosagens de Mn

Neste caso, adotou-se como substrato uma mistura de sílica e vermiculita (3:1) em vasos com capacidade para 2 kg.

As dosagens de Mn (0,13; 15 e 30 ug/g) foram adicionadas na forma de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ diluído em solução nutritiva de Steinberg conforme Estudo 2.

3.3.3 Plantas indicadoras

Utilizou-se dois cultivares de soja, IAC-13

e IAC-31 Foscarin, descritas como sensível e tolerante à presença de Mn em níveis tóxicos, respectivamente.

As sementes e informações a respeito do comportamento dos cultivares, foram fornecidas pela Seção de Leguminosas do Instituto Agronômico de Campinas.

3.3.4 Montagens e condução do experimento

Sementes de soja dos dois cultivares foram pré-germinadas durante 48 horas, selecionando-se 48 plântulas uniformes, as quais, foram transplantadas para os vasos.

O fungo micorrízico foi inoculado por ocasião do transplante, utilizando-se 10 g de inóculo misto (solo contendo esporos, hifas e pedaços de raízes) colocado imediatamente abaixo da radícula transplantada.

Os vasos controle, receberam 10 g do mesmo solo, com pedaços de raízes e isentos de fungo micorrízico.

Durante 20 dias, a nutrição das plantas foi mantida com a aplicação de solução nutritiva (conforme Estudo 2), contendo a dosagem regular de Mn (0,13 ppm).

Aos 21 dias do transplante foram aplicadas as respectivas doses de Mn na forma de $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ em

diluição na solução nutritiva.

A partir da aplicação das dosagens os vasos passaram a receber regas com solução isenta de Mn.

Aos 40 dias do plantio procedeu-se a colheita e separação das plantas em raízes e partes aéreas.

3.3.5 Parâmetros Avaliados

As partes aéreas após secagem em estufa, foram pesadas e moídas para determinação química de elementos conforme Estudo 2.

A deposição de Mn oxidado nas raízes foi estimada de acordo com o método de KENTEN e MANN (1959), adotando-se modificações realizadas por HORIGUCHI (1987).

O método é baseado no fato de que, o $Mn(3+)$, presente nas raízes, ao ser extraído na forma de manganipirofosfato apresenta absorvância máxima a 258 nm. Quando $Mn(3+)$ em pyrofosfato é reduzido para $Mn(2+)$ pela adição de hidrazina esta absorvância sofre um decréscimo.

Em vista disto, as raízes, após serem lavadas em água destilada deionizada foram mergulhadas em 100 ml de tampão pirofosfato (50 mM a pH 7,0) e na sequência:

- A extração foi obtida com a utilização de oscilador ultrassônico (40 KHZ) sendo repetida por 3 vezes.
- O extrato foi reunido em volume único e centrifugado a 2.000 x g por 10 minutos.
- O espectro de absorbância a 258 nm foi obtido da solução sobrenadante utilizando-se espectrofotômetro HP 8451A com malha de diodos, equipado com célula de fluxo 1780S (percurso ótico 10 mm, volume interno 80 ul) teclado alfa-numérico Hewlett-Packard 98155A e "disc drive" HP 9122C.
- A quantidade de Mn oxidado foi obtida a partir da diferença na absorbância de duas amostras, com e sem a adição de sulfato de hidrazina (0,5 ml de solução 0,1 M/0,5 ml de amostra).

A colonização micorrizica foi avaliada nas duas repetições adicionais utilizando-se o método de coloração de raízes proposto por PHILLIPS e HAYMANN (1970), determinando-se a percentagem de infecção conforme AMBLER e YOUNG (1977).

Os dados obtidos foram analisados segundo o

esquema fatorial 3x2x2 utilizando-se o Teste Tukey a 5% de probabilidade.

Dados referentes à percentagem de infecção, quantidade de Mn no estado oxidado e relações Mn/P, Mn/Ca, Mn/Fe e Mn/MSPA foram normalizados usando-se a transformação arc sen $\sqrt{x/100}$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ESTUDO 1. EFEITO DE NÍVEIS DE MANGANÊS NA GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE FUNGOS MVA

Avaliou-se a percentagem de germinação dos esporos de populações de Acaulospora morrowae, Acaulospora appendiculata, Scutellospora heterogama, Gigaspora margarita, Glomus macrocarpum e Glomus etunicatum.

Os dados foram analisados utilizando-se uma transformação estatística ($\text{arc sen } \sqrt{X/100}$) cujos valores de F são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3 - Valores de F obtidos na análise de variância da percentagem de germinação de esporos.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	F
Mn	3	22,84*
Fungo (F)	5	25,73*
Mn x F	15	3,19*

Coefficiente de Variação 13,5

* = significativo com $p \leq 0,01$

Conforme se pode observar houve efeito altamente significativo, tanto para os fatores Fungo e Mn quanto para a interação Mn x Fungo. Sendo que, segundo o valor de F o efeito mais significativo foi do fungo.

O efeito do Mn é mostrado na Figura 1. A tendência observada foi de haver uma diminuição da germinação dos esporos com o aumento da concentração de Mn no meio de cultivo, com perdas do potencial germinativo de 32,5; 49,3 e 74,2% nas doses 15, 30 e 75 respectivamente, em relação ao controle sem Mn. Nota-se ainda que a germinação mesmo no tratamento controle, foi de 45,8% o que pode evidenciar uma baixa adaptabilidade das espécies às condições de cultivo utilizadas no experimento.

O efeito fungistático produzido por Mn em fungo MVA foi demonstrado inicialmente por HEPPEL & SMITH (1976) a uma concentração de 0,14 ug/g inibindo completa ou parcialmente a germinação de Glomus mosseae. Posteriormente, HEPPEL (1979) obteve o mesmo efeito para Glomus caledonium, sendo que, a inibição foi parcial a 0,14 ug/g e total a 1,4 ug/g.

Letras iguais não diferem estatisticamente (Tukey $p \leq 0,05$)

Figura 1 - Variação da percentagem de germinação de esporos nas diferentes doses de Mn.

Os resultados obtidos neste experimento, demonstram uma tolerância bem mais elevada das espécies em estudo, visto que a germinação ocorreu mesmo com a utilização de 75 ug/g de Mn no meio de cultivo.

O comportamento das espécies fúngicas em termos de percentagem de germinação, dentro das condições do experimento está demonstrado na Figura 2. As melhores taxas de germinação foram obtidas por G. margarita e G. heterogama com taxas duas vezes superiores às espécies intermediárias, G. macrocarpum, A. appendiculata e A. morroae e dez vezes superiores a G. etunicatum.

O efeito do Mn em diferentes populações de fungos MVA apresenta poucos relatos e em alguns casos tem demonstrado uma correlação negativa entre aumento de seus teores com a percentagem de infecção micorrizica (WANG, 1985; LAMBAIS, 1987).

De uma maneira geral, o efeito de ions metálicos tanto na germinação quanto no crescimento do tubo germinativo depende principalmente da origem do fungo ou de uma adaptação a diferentes condições do solo, num determinado período de tempo (HEPPER & SMITH, 1976).

Os efeitos tóxicos causados pelo Mn na germinação de esporos e crescimento do tubo germinativo,

tem sido relacionados com características da parede de esporo, tais como permeabilidade (HEPPER, 1979) sugerindo que a ação fungistática de metais pode estar relacionada com sua capacidade de formar ligações covalentes com grupos ionogênicos na superfície das células.

Dentre as espécies avaliadas (Tabela 4) pode-se observar diferenças quanto a sensibilidade ao Mn. Todas as espécies demonstraram tolerância a 15 ug/g do elemento, sendo que S. heterogama e G. margarita mantiveram elevado potencial para a germinação mesmo a 75ug/g. Essas duas últimas espécies citadas, são amplamente conhecidas devido a ocorrência em solos de baixos valores de pH (GREEN et alii, 1976) onde aumentos na solubilidade Mn e outros elementos metálicos pode ocorrer.

A germinação de A. morrowae e G. etunicatum foi totalmente inibida, no parâmetro avaliado, a 75 ug/g.

Acaulospora é um gênero difundido nas mais variadas condições edáficas (FERNANDES et alii, 1987) e demonstrado como de alta adaptabilidade a solos ácidos (LAMBAIS, 1987).

Neste experimento porém, a germinação de A. appendiculata, sofreu decréscimo de 50% e 95% na presença de 15 e 30 ug/g de Mn respectivamente.

Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Figura 2 - Variação da percentagem de germinação de esporos para diferentes espécies de fungos MVA.

Tabela 4 - Efeito de níveis de Mn na germinação de esporos de fungos MVA. (%)

FUNGO MVA	0	NIVEL DE Mn (ug/g)		
		15	30	75
<u>A. morrowae</u>	49,0a	29,4 a	30,8a	-
<u>A. appendiculata</u>	61,6a	32,9 a	8,4b	5,8b
<u>S. heterogama</u>	38,2a	46,5 a	54,5a	38,5a
<u>G. margarita</u>	71,5a	58,8 a	55,5a	44,1a
<u>G. macrocarpum</u>	43,1a	24,5ab	24,8ab	10,8b
<u>G. etunicatum</u>	20,6a	7,4ab	1,9 b	-

Letras iguais, na linha, não diferem estatisticamente (Tukey $p \leq 0,05$).

As espécies de Glomus comportaram-se de forma semelhante com redução de germinação em aproximadamente 50% na presença de 15 ug/g de Mn.

O gênero Glomus é descrito como gênero de alta sensibilidade a ions metálicos incluindo-se os de Al, Fe, Cu, Zn (SIQUEIRA et alii, 1984; HEPPEL, 1979; LAMBAIS, 1987), e G. macrocarpum é descrito como de tolerância média à acidez do solo em geral (SIQUEIRA & HUBBEL, 1985). Neste trabalho demonstrou-se que endófitos diferem em sua habilidade e tolerância para adaptar-se a condições de

estresse de Mn.

SIQUEIRA et alii (1984) observaram presença de fungistase de natureza abiótica em solo ácido, apontando o Al como principal fator inibitório.

O Mn, presente em concentrações elevadas em solos tropicais juntamente com o Al são fatores que devem ser considerados em programas visando a introdução de novas espécies fúngicas ou ainda o manejo das espécies nativas.

4.2 ESTUDO 2. EFEITO DE NIVEIS DE Mn EM SOJA MICORRIZADA

4.2.1 Peso da Matéria Seca

O efeito supressivo do Mn na produção de biomassa de soja foi observado a partir da primeira dose (4 ug/g) tendo a dose de 8 ug/g afetado drasticamente todas as plantas, com sintomas típicos de toxicidade.

A Tabela 5 mostra as diferenças entre fungos quanto às contribuições na produção de biomassa de soja aos 60 dias, observadas principalmente na dose mais elevada de Mn (12 ug/g). Na dose 0 somente G. margarita se destacou dos demais, demonstrando menor eficiência na simbiose. Este fato persistiu nas demais doses em plantas inoculadas com este fungo.

Tabela 5 - Eficiência micorrizica em soja na produção de matéria seca da parte aérea dentro dos níveis de Mn. Médias de 4 repetições.

Fungos	Peso Matéria Seca (g/pl)				
	Doses de Mn (ug/g)				
	0 (Z)	4 (Z)	8 (Z)	12 (Z)	Médias (Z)
Controle	1,87 (100)	1,40 (100)	1,14 (100)	1,06 (100)	1,37 (100) ab
<i>G. macrocarpum</i>	1,91 (102)	1,59 (113)	1,57 (137)	1,62 (152)	1,67 (122) a
<i>G. etunicatus</i>	1,95 (104)	1,44 (102)	1,19 (104)	0,99 (93)	1,39 (101) ab
<i>G. margarita</i>	1,53 (82)	1,14 (81)	1,02 (89)	0,82 (77)	1,13 (82) b

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente (Tukey $p \leq 0,05$).

Controle = Controle sem inoculação.

r2 para médias de doses = 0,91**

** significativo a 0,01 %

G. macrocarpum, porém, promoveu o desenvolvimento da planta, mesmo em doses mais elevadas de Mn (8 e 12 ug/g) com média geral 22% superior ao controle.

4.2.2 Infecção micorrizica

Os dados de infecção micorrizica (Tabela 6) indicam uma baixa expressão da simbiose. O fungo G. margarita obteve as melhores taxas de infecção e no geral nenhuma das espécies estudadas foi afetada pela presença dos níveis de Mn. Altas temperaturas na casa-de-vegetação e

o estado nutricional mantido nas condições experimentais podem ter influido no estabelecimento da simbiose.

Tabela 6 - Infecção micorrizica em soja na presença dos níveis de Mn.

	Mn0	Mn4	Mn8	Mn12	Médias
Controle	0	0	0	0	0 c
<u>G. macrocarpum</u>	6,36	4,49	4,29	3,12	4,57b
<u>G. etunicatum</u>	4,99	5,41	3,55	3,77	4,43b
<u>G. margarita</u>	8,89	7,26	6,04	7,28	7,37a

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente (Yukey $p \leq 0,05$).

4.2.3 Concentração e acúmulo de nutrientes

Somente as médias obtidas para concentrações e acúmulos de P, K e N estão inseridas na Tabela 7 uma vez que não foram observadas diferenças na absorção de Ca, Fe e Mg. Os valores obtidos para todas as variáveis deste estudo, constam do apêndice 1.

Quanto ao P, não se observou diferenças em termos de concentração nas plantas micorrizadas. Devido a diferenças na biomassa, maiores acúmulos de P foram obtidos em tratamentos com o fungo mais eficiente (G. macrocarpum).

Tabela 7 - Concentração e acúmulo de P, K e N, na parte aérea de soja micorrizada dentro dos níveis de Mn (PA).

Tratamento		Médias	
		(%)	(mg/planta)
Controle		0,088a	1,15ab
<u>G. macrocarpum</u>	P	0,078a	1,32a
<u>G. etunicatum</u>		0,086a	1,19ab
<u>G. margarita</u>		0,084a	0,99b
Controle		1,24b	16,6b
<u>G. macrocarpum</u>	K	1,44a	24,2a
<u>G. etunicatum</u>		1,41a	19,7ab
<u>G. margarita</u>		1,42a	16,7b
Controle		3,13bc	42a
<u>G. macrocarpum</u>	N	2,77c	45a
<u>G. etunicatum</u>		3,25b	42a
<u>G. margarita</u>		4,14a	47a

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente (Tukey, $p \leq 0,05$).

Teores mais elevados de K foram observados em todas as plantas micorrizadas. Nitrogênio foi o elemento

preferencial, concentrado por G. margarita, porém este fato não refletiu no total de N acumulado na planta.

Na Tabela 8 estão os dados de Mn (concentração e acúmulo na planta), em função dos níveis toleráveis de Mn e fungos estudados. A concentração de manganês foi estudada por análise de regressão linear para comparações entre fungos (Figura 3).

Tabela 8 - Concentração (ppm) e acúmulo (mg) de Mn em plantas de soja micorrizadas dentro dos níveis de Mn. Médias de 4 repetições.

Concentração					
Dose de Mn					
	Mn0	Mn4	Mn8	Mn12	Médias
Controle	226a	1046a	2671a	3064ab	1752a
<u>G. macrocarpum</u>	142a	641a	1703b	2100c	1147b
<u>G. etunicatum</u>	161a	854a	1699b	2458bc	1294b
<u>G. margarita</u>	195a	1180a	1998ab	3329a	1675a
Acúmulo					
Dose de Mn					
	Mn0	Mn4	Mn8	Mn12	Médias
Controle	415a	1468a	3048a	3256a	2046a
<u>G. macrocarpum</u>	265a	997a	2702a	3353a	1829ab
<u>G. etunicatum</u>	308a	1141a	2027a	2376a	1639b
<u>G. margarita</u>	352a	1334a	2058a	2742a	1621ab

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente (Tukey $p \leq 0,05$).

Figura 3 - Concentração de Mn na parte aérea da soja segundo a análise regressão linear para doses de Mn aplicadas.

Houve variação entre os fungos quanto à concentração de Mn, quando se usou a dose de 8 ug/g de Mn no substrato. As duas espécies de Glomus (G. macrocarpum e G. etunicatum) se comportaram semelhantemente quanto a absorção de Mn^{2+} , causando diminuição significativa na concentração deste elemento na planta. Quanto ao acúmulo de Mn, devido ao efeito de diluição na planta, os resultados só foram significativos na média geral dos fungos, com destaque para G. etunicatum.

4.2.4 Índice de Tolerância dos Fungos MVA

Nas doses elevadas de Mn (8 e 12 ug/g), destacaram-se G. macrocarpum e em seguida, G. etunicatum. G. margarita mostrou-se um fungo altamente concentrado deste elemento, quando em condições de toxidez no substrato (Tabela 9).

4.2.5 Relações entre Mn e P, Ca e Fe

Somente foi possível detectar diferenças significativas na relação Mn/Ca, quando em doses elevadas de Mn nos diferentes fungos, nas doses de 8 e 12 ug/g de Mn (Tabela 10). O Fe não foi alterado pela presença dos fungos.

Tabela 9 - Índice de tolerância ao Mn em plantas de soja micorrizadas.

----- Índice de Tolerância -----					
Dose de Mn -----					
	Mn0	Mn4	Mn8	Mn12	Médias
Controle	142a	787a	2354a	2895b	1544ab
<u>G. macrocarpum</u>	83a	420a	1087c	1340c	732c
<u>G. etunicatum</u>	90a	530a	1437bc	2648b	1176b
<u>G. margarita</u>	171a	1119a	1984ab	4034a	1827a

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente (Tukey $p \leq 0,05$).

Controle = Controle sem inoculação.

O índice de tolerância foi calculado a partir de MASCARENHAS et alii (1983).

As duas espécies de Glomus, promovendo maiores absorções de P e Ca, apresentaram também menores relações desses elementos com Mn. Quanto ao Ca, as médias de Mn/Ca demonstraram uma menor absorção de Mn por esses fungos, mantendo-se o equilíbrio iônico quanto ao Ca.

4.2.6 Desenvolvimento do Sistema Radicular

O fungo G. macrocarpum promoveu os maiores acúmulos de Mn nas raízes, quando comparado com os demais tratamentos, em função do seu maior desenvolvimento radicular. Provavelmente, esse elemento foi metabolizado nas hifas internas do fungo nas raízes, não translocando

Tabela 10 - Relações entre Mn(ppm) e P(%), Ca(%) e Fe(ppm) na parte aérea da soja.

----- Mn/P -----					
Dose em ppm -----					
	Mn0	Mn4	Mn8	Mn12	Total
Controle	29a	129a	304a	322a	196a
<u>G. macrocarpum</u>	20a	76a	207a	268a	143b
<u>G. etunicatum</u>	19a	85a	190a	281a	144b
<u>G. margarita</u>	25a	144a	228a	390a	197a

Mn/Ca -----					
Dose em ppm -----					
	Mn0	Mn4	Mn8	Mn12	Total
Controle	1,57a	8,11a	16,80a	21,65a	12,03a
<u>G. macrocarpum</u>	1,15a	5,21a	12,32b	14,72b	8,35b
<u>G. etunicatum</u>	1,15a	6,14a	11,72bc	16,77b	8,94b
<u>G. margarita</u>	1,43a	8,79a	15,72abc	23,87a	12,45a

Mn/Fe -----					
Dose em ppm -----					
	Mn0	Mn4	Mn8	Mn12	Total
Controle	0,46a	1,75a	4,32a	4,76a	2,82a
<u>G. macrocarpum</u>	0,38a	2,04a	3,84a	5,67a	2,98a
<u>G. etunicatum</u>	0,39a	1,67a	4,49a	4,34a	2,72a
<u>G. margarita</u>	0,51a	1,68a	3,37a	3,37a	2,82a

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente (Tukey $p \leq 0,05$).

Controle = Controle sem fungo

porém para outras partes da planta (parte aérea, por exemplo), no período do experimento (Tabela 11).

Tabela 11 - Produção de matéria seca do sistema radicular com respectivos teores e acúmulos de Mn.

Matéria seca - sistema radicular (g/pl)					
	Mn0	Mn4	Mn8	Mn12	Médias
Controle	0,55 a	0,422a	0,310a	0,305a	0,397b
<u>G. macrocarpum</u>	0,715a	0,510a	0,432a	0,518a	0,544a
<u>G. etunicatum</u>	0,603a	0,408a	0,333a	0,295a	0,409b
<u>G. margarita</u>	0,613a	0,270a	0,328a	0,215a	0,356c

Mn (ppm)					
	Mn0	Mn4	Mn8	Mn12	Médias
Controle	322a	2348a	5640a	6790b	3798a
<u>G. macrocarpum</u>	212a	2209a	5186a	8396a	4001a
<u>G. etunicatum</u>	245a	2605a	5387a	6220bc	3614a
<u>G. margarita</u>	255a	3065a	5111a	5027c	3364a

Mn (ug/planta)					
	Mn0	Mn4	Mn8	Mn12	Médias
Controle	130a	1010a	1736a	2067b	1236b
<u>G. macrocarpum</u>	137a	1042a	2244a	4466a	1972a
<u>G. etunicatum</u>	138a	960a	1777a	1850b	1181b
<u>G. margarita</u>	161a	839a	1672a	1087b	940b

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente (Tukey $p \leq 0,05$).

Controle = Controle sem inoculação.

4.2.7 Considerações

Diferenças em relação à absorção de Mn em plantas micorrizadas tem sido amplamente divulgadas (Tabela 1). Os dados são geralmente obtidos em condições de solo onde diversos fatores como disponibilidade de nutrientes, efeitos da população microbiana e/ou presença de material orgânico podem interferir na compreensão dos resultados.

Nas condições deste experimento procuramos avaliar o binômio fungo-planta quando em presença de Mn potencialmente tóxico.

As espécies de Glomus interferiram no processo de absorção de Mn diminuindo a concentração e o acúmulo na parte aérea. Glomus macrocarpum tem demonstrado eficiência em plantas de soja (CARDOSO, 1984). Para Gigaspora margarita um efeito semelhante aos obtidos neste trabalho em relação à absorção de Mn foram observados pela autora citada.

O índice de tolerância ao Mn, calculado segundo MASCARENHAS et alii (1983) confirmam o efeito detrimental da espécie ineficiente que na presença de 12 ppm de Mn no substrato apresentou valores três vezes maiores do que G. macrocarpum.

Com relação ao balanço nutricional observou-

-se uma melhora na nutrição em Ca e P para plantas inoculadas com G. macrocarpum e G. etunicatum, o que segundo PACOVSKY (1986), podem ser elementos relacionados a manifestação da tolerância ao Mn.

4.3 ESTUDO 3 - EFEITOS DA MICORRIZAÇÃO NA OXIDAÇÃO DE Mn EM SOJA

4.3.1 Infecção Micorrízica

As médias em percentagem de raiz infectada foram de 8% a 14%, conforme Figura 4. Não foram demonstradas diferenças na colonização micorrízica em relação aos cultivares de soja utilizados, ou dentro das doses de Mn adotadas no experimento. Estas doses, por terem sido aplicadas apenas após o vigésimo dia após a inoculação do fungo, não devem ser consideradas inexpressivas para o processo da micorrização já que neste período provavelmente as plantas já estavam colonizadas.

4.3.2 Peso da Matéria Seca

Na Tabela 12, observa-se que o fungo promoveu um aumento na produção de matéria seca da parte

aérea em 14% para as médias dos cultivares. Sem demonstrar efeito, estatisticamente significativo no desenvolvimento do sistema radicular, interferiu na distribuição de metabólitos no cultivar tolerante diminuindo a relação entre produção de matéria seca do sistema radicular e parte aérea.

* Letras iguais não diferem estatisticamente para o cultivar (Tukey $p \leq 0,05$).

Figura 4 - Efeito de G. macrocarpum na absorção de P em dois cultivares de soja.

Tabela 12 - Efeito de G. macrocarpum na produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) e raízes (MSSR) e na relação MSSR/MSPA.

Cultivares de Soja						
	IAC 13		FOSC		Médias	
	C	GM	C	GM	C	GM
MSPA	2,24	2,48	2,92	3,40	2,58	2,94*
MSSR	0,63	0,67	1,03	0,83	0,83	0,75
SR/PA	0,27	0,26	0,35	0,24*	0,31*	0,25

* Aumento significativo na comparação entre duas médias na linha.

C = controle sem fungo; GM = inoculado com G. macrocarpum

4.3.3 Absorção de Nutrientes

Para a absorção de P, a inoculação demonstrou efeitos apenas no cultivar tolerante (Figura 5) com um incremento de 21% no acúmulo. Com relação aos demais elementos (Tabela 13), pode-se observar que, independente do cultivar de soja, a micorrização promoveu maiores acúmulos de K (15,5%) e Ca (16,1), não influenciando em relação a Mg, Fe, Zn e B. Nos cultivares a presença do fungo micorrizico causou efeitos inversos na absorção de Cu resultando em maior acúmulo no cultivar sensível e menor no

cultivar tolerante sendo que uma tendência semelhante foi demonstrada para Zn.

* Letras iguais não diferem estatisticamente para as médias entre cultivares (Tukey $p \leq 0,05$).

Figura 5 - Efeito das doses de Mn na infecção micorrizica em dois cultivares de soja.

Tabela 13 - Efeito de G. macrocarpum no acúmulo de nutrientes em dois cultivares de soja.

Nutrientes por Plantas	Cultivares de Soja					
	IAC 13		FOSC		Médias	
	C	GM	C	GM	C	GM
K (mg)	37,1	42,1	61,4	74,6	49,3	58,4*
Ca (mg)	22,8	24,8	25,0	32,1	23,9	28,5*
Mg (mg)	22,8	24,2	21,9	26,3	22,3	25,3
Fe (ug)	789	842	536	669	663	755
Cu (ug)	58,3*	42,3	33,1	63,7*	45,7	53,4*
Zn (ug)	116	80	89	148*	102	114
B (ug)	148	156	148	198	148	177

* Aumento significativo na comparação entre duas médias na linha (Tukey $p \leq 0,05$).

C = Controle sem fungo; GM = inoculado com G. macrocarpum

4.3.4 Absorção de Mn

A micorrização não influenciou nos parâmetros referentes à presença de Mn na parte aérea. As plantas micorrizadas apresentaram uma concentração de Mn em seus tecidos, na mesma proporção que as não micorrizadas (Figura 6) com valores em média de 111, 614 e 1199 ppm de Mn na parte aérea nas dosagens de 0,13; 15 e 30 ppm de Mn no

substrato respectivamente. Com relação ao acúmulo de Mn, os tratamentos de fungo, obedeceram a mesma tendência, com médias da ordem de 308, 1690 e 3238 ug de Mn por planta, respectivas às doses citadas (Figura 7).

Figura 6 - Efeito de G. macrocarpum na concentração de Mn na parte aérea da soja em diferentes dosagens de Mn no substrato.

* Letras minúsculas comparam os tratamentos de fungo.
 Letras maiúsculas comparam os tratamentos nas doses de Mn.
 Letras iguais não diferem estatisticamente (Tukey $p \leq 0,05$)

Figura 7 - Efeito de G. macrocarpum no acúmulo de Mn na parte aérea da soja em diferentes dosagens de Mn no substrato.

No sistema radicular, as plantas apresentaram praticamente o dobro da concentração de Mn da parte aérea (Figura 8) observando-se ainda que houve efeito da inoculação do fungo MVA quando promovendo um acréscimo de 181% em relação às plantas controle. O mesmo efeito foi observado para acúmulo de Mn (Figura 9) na mesma proporção.

* Letras iguais não diferem estatisticamente para os tratamentos de fungos (Tukey $p \leq 0,05$).

Figura 8 - Efeito de G. macrocarpum na concentração de Mn no sistema radicular da soja em diferentes dosagens de Mn no substrato.

* Letras iguais não diferem estatisticamente para os tratamentos de fungos (Tukey $p \leq 0,05$).

Figura 9 - Efeito de G. macrocarpum no acúmulo de Mn.

Observou-se que os cultivares de soja tolerante e sensível a Mn, comportaram-se de maneira semelhante em relação a absorção do elemento, nas condições estabelecidas neste experimento, e ainda que, não foram observadas diferenças em relação ao aspecto das plantas no desenvolvimento de sintomas em consequência dos elevados teores apresentados pelas plantas. Em presença das doses mais elevadas de Mn no substrato, algumas plantas apresentaram necrose na altura do colo, sintoma que não estava relacionado com o cultivar de soja ou tratamento fungico utilizado.

4.3.5 Oxidação de Mn nas raízes

Os dados obtidos estão na Figura 10. Observou-se que a ocorrência de Mn no estado oxidado foi alterada somente, devido à presença das doses do elemento no substrato não sofrendo influência quer da presença da micorrização ou do cultivar de soja em estudo.

4.3.6 Considerações

Uma possível explicação para a ocorrência de acúmulos de Mn no sistema radicular é a formação de complexos metálicos (FOY et alii 1978). Metais de alta eletronegatividade tais como Cu e Co, apresentam diferenças

em relação à mobilidade de translocação, quando comparados com Mn e Zn, podendo formar compostos estáveis a nível de raiz, sendo portanto, acumulados nesta região (Chino, 1981 citado por Horiguchi, 1987). Sabe-se no entanto que as raízes podem oxidar Fe^{2+} a Fe^{3+} e acumular óxidos férricos.

Tem sido observado que a presença da infecção micorrízica pode causar uma redução da concentração de Mn na parte aérea (Tabela 1) em alguns casos como consequência de sua retenção no sistema radicular (BRADLEY et alii, 1982), no entanto, apesar de algumas sugestões, os mecanismos envolvidos são totalmente desconhecidos.

No presente estudo, procurou-se, através de medidas comparativas avaliar a ocorrência de Mn no estado oxidado em plantas micorrizadas ou não.

Nas condições deste experimento, a análise, a nível de raiz, demonstrou que os tratamentos com ou sem fungo MVA acumularam idênticas quantidades de Mn na forma oxidada, não demonstrando qualquer indício da existência deste mecanismo de proteção.

O cultivar tolerante foi favorecido pela micorrização, quanto à nutrição em P, o que segundo diversos autores pode estar relacionado com alterações das

* Letras minúsculas comparam os tratamentos de fungos
 Letras maiúsculas comparam os tratamentos nas doses de Mn
 Letras iguais não diferem estatisticamente (Tukey $p \leq 0,05$)

IAC 13-TEST. - Cultivar de soja não inoculada com fungo MVA

IAC 13-GM - Cultivar de soja inoculada com G. macrocarpum

FOSC-TEST. - Cultivar de soja IAC 31-Foscarim não inoculada com fungo MVA.

FOSC-GM - Cultivar de soja IAC 31-Foscarim inoculada com G. macrocarpum

Figura 10 - Efeito de G. macrocarpum e de cultivares de soja na deposição na raiz de Mn no estado oxidado em presença de doses crescentes de Mn no substrato.

concentrações de Mn na planta (PACOVSKY, 1986; CARDOSO, 1984).

A absorção de outros nutrientes tais como K e Ca foram potencializados pela micorrização enquanto que Cu e Zn variaram apenas em função dos cultivares utilizados. Para Mg, Fe, Zu e B não houve efeito de tratamento.

Os resultados obtidos não permitem conclusões definitivas sobre a influência de qualquer um dos fatores avaliados no mecanismo de tolerância em plantas micorrizadas. Observa-se no entanto, um indicio de que tanto a tolerância da planta quanto a eficiência do fungo demonstram estar inter-relacionadamente envolvidos nas respostas.

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste trabalho conclui-se que:

1. As espécies de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares diferem quanto à sensibilidade ao Mn no processo de germinação de esporos, sendo que Gigaspora margarita e Scutellospora heterogama foram mais tolerantes ao Mn em relação a Glomus macrocarpum, que por sua vez demonstrou ser menos sensível que Glomus etunicatum, Acaulospora morrowae e Acaulospora appendiculata.
2. A presença da colonização micorrízica influenciou na absorção e translocação de Mn pelas plantas de soja;
3. O efeito de fungos micorrízicos na absorção de Mn em soja depende da espécie fungica utilizada, sendo que a inoculação das espécies de Glomus macrocarpum e Glomus etunicatum propiciaram menores teores de Mn, na parte aérea, enquanto que a inoculação com Gigaspora margarita promoveu maiores concentrações.

4. A presença da colonização micorrizica por Glomus macrocarpum propiciou maior actmulo e concentração de Mn no sistema radicular da soja, quando em presença de 12 ug/g do elemento no substrato.
5. A oxidação do Mn no sistema radicular, como mecanismo proposto de toxificação para a parte aérea, demonstrou ocorrer nas mesmas proporções, independente da micorrização das plantas ou do cultivar de soja utilizado.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ABBOT L. K. & ROBSON, A. D. Infectivity and effectiveness of five endomycorrhizal fungi: competition with indigenous fungi in field soils. Australian Journal Agricultural Research, Melbourne, 32:621, 1981.
- AMBLER, J. R. & YOUNG, J. L. Techniques for determining root lenght infected by vesicular-arbuscular mycorrizae. Soil Science Society of America Journal, Madison, 41:551-6, 1977.
- AMES, R. N.; REID, C. P. P.; INGHAM, E. R. Rhizosphere bacterial population responses to rot colonization by a vesicular-arbusc. mycorrhizal fungus. New Phytologist, Cambridge, 96:555-63, 1984.
- ANDREW, C. S. & HEGARTY, M. P. Comparative responses to manganese excess of eight tropical and four temperate pasture legume species. Australian Journal of Agricultural Research, Melbourne, 20:687-96, 1969.
- ARINES, J.; VILARINO A. & SAINZ. Effect of different

inocula of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on manganese content and concentration in red clover (Trifolium pratense L.) plants. New Phytologist, Cambridge, 112:215-9, 1989.

AZCON R. & OCAMPO, J. A. Factors affecting the vesicular-arbuscular infection and mycorrhizal dependency of thirteen wheat cultivars. New Phytologist, Cambridge, 87:677-85, 1981.

AZCON, R.; BAREA, J. H.; AZCON AGUILAR, C.; DIAS-RODRIGUEZ, R. H. Effects of mycorrhizal inoculation on N-fixation by a Forage legume under field conditions as evaluated by using a 15-n technique. In: Physiology and Genetics, Dijon, ESH, 1986. p. 457-460.

BAREA, J. H.; AZCON-AGUILAR, C.; ROLDAN-FAJARDO, B. Avances recientes en el estudio de la micorrizas V.A. I formacion, funcionamiento y efectos en nutricion vegetal (1). Anales de Edafologia y Agrobiologia, Madrid, 44:659-77, 1985.

BIERMANN, B. & LINDERMAN, G. Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizal: a proposed method towards standardization. New Phytologist, Cambridge, 88:63-7,

1981.

BOWEN, G. D. Mycorrhizal roles in tropical plants and ecosystems. In: KOLA, P. M. ed. Tropical mycorrhiza research, Oxford, Oxford University Press, 1980. p. 165-90. 1980

BRADLEY, R.; BURT, A. J.; READ, D. J. Mycorrhizal infection and resistance to heavy metal toxicity in *Calluna vulgaris*. Nature, New York, 292(5821):355-7, 1981.

BRADLEY, R.; BURT, A. J. & READ, D. J. The biology of mycorrhiza in Ericaceae. New Phytologist, Cambridge, 91:197-209, 1982.

CARDOSO, E. J. B. N. Efeito de micorriza vesículo-arbuscular e de fosfato de rocha nas culturas de soja e feijão. Piracicaba, 1984. 220p. (Livre Docência - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).

COLOZZI-FILHO, A. & SIQUEIRA, J. O. Micorrizas vesículo-arbusculares em mudas de cafeeiro. I. Efeitos de *Gigaspora margarita* e adubação fosfatada no crescimento e nutrição. Revista Brasileira de Ciência do Solo,

Campinas, 10:199-205, 1986.

DAFT, M. J. & EL-GIAHMI, A. A. Effects of Glomus infection on three legumes. In: SANDERS, F. E.; MOSSE, B.; TINKER, P. B. eds. Endomycorrhizas. London, Academic Press, 1975. p. 581-92.

DANIELS, B. A. & MENGE, J. A. Hyperparasitization of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Phytopathology, Saint Paul, 70:584-7, 1980.

DANIELS, B. A. & TRAPPE, J. H. Factors affecting spore germination of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, Glomus epigaeus, Mycologia, New York, 72(3):457-71, 1980.

DOUDS, JR. D. D. & CHANEY, W. Z. The effect of high nutrient addition upon seasonal patterns of mycorrhizal development, host growth, and root phosphorus and carbohydrate content in Praxiuns Pennysilvania marsh. New Phytologist, 103:91-106, 1986.

DUECK, T. A.; VISSER, P.; ERNST, N. H. O.; SCHAT, H. Vesicular-Arbuscular mycorrhizas decrease zinc toxicity to grasse growing in zinc-polluted soil. Soil Biology

and Biochemistry, Oxford, 18(3):331-3, 1986.

FERNANDES, A. B.; SIQUEIRA, J. O.; SCHENCK, N. C. Relação entre a ocorrência de MVA e características de solo, planta e manejo de lavouras cafeeiras do sul do Estado de Minas Gerais. In: REUNIAO BRASILEIRA SOBRE MICCORIZAS, 2, São Paulo, 1987. Programa e resumos. São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente e Agricultura, 1987. p. 5.

FOY, C. D.; FLEMING, A. L. BURNS, G. R. & ARMIGER, W. H. Characterization of differential aluminum among varieties of wheat and barley. Soil Science Society America, Madison, 31:513-21, 1967.

FOY, C. D.; CHANEY, R. L.; WHITE, M. C. The physiology of metal toxicity in plants. Annual Review of Plant Physiology, Palo Alto, 29:511-66, 1978.

FOY, C. D.; FLEMING, A. L.; SCHARTZ, J. W. Opposite aluminum and manganese tolerances of two wheat varieties. Agronomy Journal, Madison, 65:123-6, 1973.

FOY, C. D.; CHANEY, R. L.; WHITE, M. C. The physiology of metal toxicity in plants. Annual Review of Plant

Physiology, Palo Alto, 29:511-68, 1978.

FOY, C. D. Physiological effects of hydrogen, aluminum and manganese toxicities in acid soil. In: ADAMS, F. ed. Soil acidit and liming, 1. ed. Madison. American Society Of Agronomy, 1984. p. 57-97 (Agronomy, 12).

GEDERMANN, J. N. & NICHOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal endogene species extracted from soil by wet sieving and decanting. Transaction British Mycological Society, Cambridge, 46:235-44, 1963.

GERDERMANN, J. W. The effect of mycorrhiza on the growth of maize. Mycologia, New York, 56:342-9, 1964.

GERDERMANN, J. W. V. & TRAPPE, J. M. The endogonaceae in the Pacific North-West. New York, Botanical Garden and the Mycological Society of America, 1974. 76p. (Micology memorandum, 5).

GILDON, A. & TINKER, R. B. A heavy metal-tolerant strain of a mycorrhizal fungus. Transaction British Mycological Society, Cambridge, 77:648-95, 1981.

GILDON, A. & TINKER, P. B. Interactions of vesicular

arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. New Phytologist, Cambridge, 95:247-68, 1983.

GRAHAM, J. A.; LEONARD, R. T.; MENGE, J. A. Membrane mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhizae formation. Plant Physiologist, Cambridge, 68:548-52, 1981.

GRAHAM, J. H.; LINDERMAN, R. G.; MENGE, J. A. Development of external hyphae by different isolates of mycorrhizal Glomus spp. in relation to root colonisation and growth of Troyer citrange, New Phytologist, Cambridge, 91:183, 1982.

GREEN, N. E.; GRAHAM, S. O.; SCHENCK, N. C. The influence of pH on the germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores. Mycologia, New York, 68:929-34, 1976.

HAYMAN, D. S. The occurrence of mycorrhizas in crops as affected by soil fertility. In: SANDERS, F. E.; MOSSE, B.; TINKER, P. B. eds. Endomycorrhiza, London, Academic Press, 1975. 461-510.

HAYMAN, D. S. Influence of soils fertility on activity and survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Phytopathology, Saint Paul, 72(8):1119-25, 1982.

HAYMAN, D. S. The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. Canadian Journal of Botany, Ottawa, 61:944-63, 1983.

HAYMAN, D. S. & TAVARES, M. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. XV. Influence of soil pH on the symbiotic efficiency of different endophytes. New Phytologist, Cambridge, 100:367-77, 1985.

HEENAN, D. P. & CARTER, O. G. Tolereance of soybean cultivars to manganese toxicity Crop Science, Madinson, 16:389-91, 1976.

HEPPER, E. M. Germination and growth of Glomus coledonium spores: the effects of inhibitions and nutrients. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, 11:269-77, 1979.

HEPPER, C. H. Limited independet growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, in vitro. New Phytologist, Cambridge, 93:537, 1983.

- HEPPER, C. M. & SMITH, G. A., Observations on the germination of Endogone spores. Transaction British Mycological Society, Cambridge, 66(2):189-94, 1976.
- HORIGUCHI, T. Mechanism of manganese toxicity and tolerance of plants II. Deposition of oxidized manganese in plant tissues. Soil Science Plant Nutrition, Tokio, 33(4):595-606, 1987.
- KENTE, R. H. & MANN, P. J. G. The oxydation of Manganese by peroxidase systems. Biochemical Journal, Essex, 46:67-73, 1959.
- KILLHAM, K. & FIRESTONE, M. K. Vesicular-arbuscular mycorrhizal mediation of grass response to aciditic and heavy metal deposition. Plant and Soil, Dordrecht, 72:39-48, 1983.
- KLEINCHMIDT, G. D. & GERDEMANN, J. W. Studing of citrus seedlings in fumigated Nursey soils related to the absence of Endomycorrhizae. Phytopahology, Saint Paul, 62:1447-53, 1972.
- KOSKE, R. E. Gigaspora gigantea: observations on spore germination of a V.A. - mycorrhizal Fungus. Mycologia,

New York, 73:288-300, 1981.

LAMBAIS, M. R. Condições edáficas que afetam o micotrofismo de Stylosanthes guianensis (Auble) SW. Piracicaba, 1987. 102p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).

LAMBAIS, M. R. & CARDOSO, E. J. B. N. Avaliação de germinação de esporos de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares e da colonização micorrizica de Stylosanthes guianensis em solo ácido e distrofico. Revista Brasileira Ciência do Solo, Campinas, 12:249-55, 1989.

LAMBAIS, M. R. & CARDOSO, E. J. B. N. Envolvimento das micorrizas vesículo-arbusculares na absorção preferencial de Fe em relação ao Mn. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 22., Recife, 1989,. Programa e Resumos, Campinas, SBCS, 1989.

LAMBERT, D. H. & COLE, Jr., H. Effects of mycorrhizas on establishment and performance of forage species in mine spoil. Agronomy Journal, Madison, 72:257-60, 1980.

LOCKWOOD, J. L. Fungistasis in soils. Biological Review, London, 52:1-43, 1977.

MALAJCZUK, N.; LINDERMAN, R. G.; KOUGH, J. TRAPPE, J. M.
Pressence of vesicular-arbuscular mycorrhizae in
Eucalyptus spp. and Acacia sp. and their absence Banksia
sp after inoculation with Glomus fasciculatum. New
Phytologist, Cambridge, 87:567-72, 1981.

MALAVOLTA, E.; HAAG, H. P.; MELLO, F. A. F. de; BRASIL
SOBRINHO, M. O. C. Nutrição mineral e adubação de
plantas cultivadas. São Paulo, Pioneira, 1974. 752p.

MALAVOLTA, E. Elementos de Nutrição mineral de plantas.
Piracicaba, Agronômica Ceres, 1980. 251p.

MALAVOLTA, E. & KLIEMANN, H. J. Desordens nutricionais no
cerrado Piracicaba, POTAFOS, 1987. 136p.

MASCARENHAS, H. A. A.; BRAGA, N. R.; BULISANI, R. A.;
FEITOSA, C. T.; HIROGE, R. BATAFLIA, O. C. In:
Seminário Nacional de Pesquisa de Soja, 2., Brasília,
1981. Abstracts. Brasília, 1981. p. 197.

MASCARENHAS, H. A. A.; MIRANDA, M. A. C. de; BULISANI, R.
A. Soybean tolerance to manganese in the Tropics. In:

Tropical and subtropical crooping systems proceedings of a symposium, Tsukuiba, Japan (26 September - 1 October). 313-18, 1983.

McGEE, P. A. Alteration of growth of *Solanum opacum* and *Plantgo drumondii* and inhibition of regrowth of hiphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi from dried root pieces by manganese. Plant and Soil, Dordrecht, 101:227-33, 1986.

MENGE, V. A. Commercial production of mycorrhizal inoculum may benefit citrus growers. Citrograph, Los Angeles, 15:139-43, 1978.

MOSSE, B. Groth and chemical composition of mycorrhizal and nonmycorrhizal apples. Nature, New York, 179:922-4, 1957.

MOSSE, B. Effects of different Endogene strains on the growth of *Paspalu notatum*. Nature, New York, 239:221-3, 1972.

MOSSE, B. Advances in the study of vesicular-arbuscul mycorrhiza. Annual Review of Phytopatholoty, Palo ALto,

11:171-96, 1973.

MOSSE, B. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IV. In: soil given additional phosphate. New Phytologist, Cambridge, 72:127-36, 1973.

MOSSE, B. Vesicular-arbuscular Mycorrhiza Research for Tropical Agriculture. Honolulu, Institute for Tropical Agriculture and Hyman Resources, 1981, 82p. (Research bulletin, 194).

NAVARRO, R. B.; PIMENTEL, I. C. REGO, I. C.; SAITO, S. M. T. Efeito do pH na germinação de esporos de fungos em solo da Amazônia. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 2. São Paulo, 1984. Progra.e Resumos, São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente e Agricultura, 1987. p. 102.

NAVARRO, R. B.; SALVADOR, J. O.; TSAI, S. M. Introdução de Glomus etunicatum em solo ácido e sua influência no desenvolvimento do feijoeiro. In: REUNIAO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 3. Piracicaba, 1989. Programas e Resumos. Piracicaba, CENA, 1989. p. 55.

OCAMPO, J. A.; MARTIN, J.; HAYMAN, D. S. Influence of plant interaction on vesicular-arbuscular mycorrhizal

infections. I. Host and non-host plants grown together, New Phytology, Cambridge, 84:27-8, 1980.

OHKI, K. Manganese critical levels for soybean growth and physiological process. Journal Plant Nutrition, New York, 3:271-84, 1981.

PACOVSKY, R. Micronutrient uptake and distribution in mycorrhizal or phosphorus-fertilized soybeans. Plant and Soil, Dordrecht, 95:379-88, 1986.

PACOVSKY, R. S.; FULLER, G.; STAFFORD, A. E.; PAUL, E. A. Nutrient and growth interactions in soybeans colonized with Glomus fasciculatum and Rhizobium japonicum. Plant and Soil, Dordrecht, 92:37-45, 1986.

PHILIPP, J. M. & HAYMANN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal Fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, Cambridge, 55:158-61, 1970.

RATNAYAKE, M; LEONARD, R. T.; MENGE, J. A. Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible reference to mycorrhizal formation. New Phytological,

Cambridge, 81:543-52, 1978.

READ, D. J.; FRANCIS, R.; FINDLAY, R. D. Ecological interaction in soil. British Ecological Society, Oxford, 4:193-217, 1985.

RHODES, L. H. & GERDEMANN, J.W. Phosphore uptake zones of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. New Phytologist, Cambridge, 75:555-61, 1975.

ROSS, J. P. & HARPER, J. A. Effect of Endogone mycorrhiza on soybean yields. Phytopathology, Saint Paul, 60:1552-6, 1970.

ROBSON, A. D. & LONERANG, J. F. Sensitivity of annual Medicago species to manganese toxicity as affected by calcium an pH. Australian Journal Agriculture Research, Melbourne, 21:223-32, 1970.

SAFIR, G. R. & DUNIWAY, J. M. Evaluation of plant response to colonization by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. B. Environmental variable. In: SCHENCK, N. C., ed. Methods and principles of mycorrhizal research, Saint Paul, American Phytopathology Society, 1982, p. 77-80.

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 Phytologist, Cambridge, 88:649-59, 1981.

SIF, S. R.; SHEIKH, N. A.; KHAN, A. G. Ecology of Endogone. Relationship of Endogone spore population with physical soil factors. Islamabad Journal Science, Islamabad, 2:1-5, 1975.

SAME, B. J.; ROBSON, A. D.; ABBOT, L. K. Phosphorus soluble carbohydrates and endomycorrhizal infection. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, 15(5):593-7, 1983.

SANCHEZ, P. A. Suelos del tropico: características y manejo. San Jose, IICA, 1981. 134p.

SANDERS, F. E. The effects foliar-applied phosphate on mycorrhizal infection of onions roots. In: SANDERS, F. E.; MOSSE, B.; TINKER, P. b

SIQUEIRA, J. O. Nutritional and edaphic factors affecting

spore germination, germ tube growth and root colonization by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Gainesville, 1983. (PhD - University of Florida).

SIQUEIRA, J. O.; HUBBELL, D. H.; MAHMUD, A. W. Effect of liming on spore germination, germ tube growth and root colonization by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Plant and Soil, Dordrecht, 76:115-24, 1984.

SIQUEIRA, J. O. & HUBBELL, D. H. Efeito diferenciado da acidez do solo sobre fungos formadores de micorrizas vesicular-arbusculares (MVA). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIENCIA DO SOLO, 20., Belém, 1985. Programa e resumos. Campinas, SBCS, 1985. p. 57.

SIQUEIRA, J. O.; SYLVIA, D. M.; GIBSON, J.; HUBBELL, D. H. Spores, germination and germ tubes growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Canadian Journal of Microbiology, Ottawa, 31:965-72, 1985.

SIQUEIRA, J. O. & OLIVEIRA, E. Crescimento, absorção de nutrientes e colonização micorrizica em dois cultivares de feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.) na presença e ausência de calagem. Ciência e Prática,

Lavras, 10(2):220-5, 1986.

SIQUEIRA, J. O.; HUBBELL, D. H.; SCHENCK, . Spore germination and germ tube growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal Fungus in vitro. Mycologia, New York, 74:952-9, 1982.

SIQUEIRA, J. O.; HUBBELL, D. H.; MAHMUD, A. W. Effect of liming on spore germination, germ tube growth and root colonization by vesicular-arbuscular mycorrhizal Fungi. Plant and Soil, Dordrecht, 76:115-24, 1984.

ST. JOHN, T. V. Root size, root hairs and mycorrhizal infection:re-examination of Bayliss hypothesis with tropical trees. New Phytologist, Cambridge, 84:483, 1980.

SZANISZLO, P. J.; POWELL, P. E.; REID, C. P. P.; CLINE, G. R. Production of hydroxamate siderophore iron chelators by ectomycorrhizal fungi. Mycologia, New York, p. 1158-74, 1981.

TAYLOR, G. J. Exclusion of metals from the symplasm: a possible mechanism of metal tolerance in higher plants. Journal of Plant Nutrition, New York, 10(9/16):1213-22,

1987.

TEKALIGN, M. & KILLHAM, K. S. Effect of soil liming and vesicular-arbuscular-mycorrhizal inoculation on the growth and micronutrient content of the teff plant. Plant and Soil, Dordrecht, 102:257-309, 1987.

TINKER, P. B. Role of rhizosphere micro organisms in phosphorus uptake by plants. In: KHASAWHEH, F. E.; SAMPLE, F. C.; KAMPRATH, E. J. eds. The role of phophorus in agriculture. Madision, American Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science of America, 1980, p. 617-654.

TISDALL, J. M. & OADES, J. M. Stabilisation of soils aggregades by the root systems of tyr grass. Australian Jorunal of Soil Research, Melbourne, 17:429, 1979.

TOMMERUP, I. P. & KIDBY, D. K. Production of aseptic spores of vesicular-arbuscular endophyles and their variability after chemical and physical stress. Applied and Environment Microbiology, Baltimore, 39:11, 1980.

TRAPPE, J. M. Three new Endogonaceae Glomus constrictus, Sclerocystes clavispora, Acaulospora scrobiculata,

Mycotaxon, Ithaca, 6:359, 1977.

VALADARES, J. M. A. & CAMARGO, O. C. Manganês em solos do Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIENCIA DO SOLO, 17, Salvador, 1981. Programas e resumos. Campinas, SBCS, 1981, p. 85.

WANG, G.; STRIBLEY, D. P.; TINKER, P. B.; WALKER, C. Soil pH and vesicular-arbuscular mycorrhizal. In: FITTER, A. H. ed. Ecological interactions in soil. Oxford, 1985, p. 219-24.

WANG, G.; WANG, S.; STRIBLEY, D. P. & TINKER, P. B. Efeito de pH do solo sobre micorriza vesicular-arbuscular (VA). In: REUNIAO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 1. Lavras, 1985. Anais. Lavras, ESALQ, 1986, p. 194. Lavras, M.G., p. 194.

Tabela 1. Eficiência de *G. macrocarpum* (F1), *G. etunicatum* (F2), e *G. margarita* (F3) na parte aérea da soja na presença de quatro níveis de manganês (M0: controle; M1: Mn 4 ppm; M2: Mn 8 ppm; M3: Mn 12 ppm).

Trat. n ^o	Peso seco (g)	Mn ppm	Mn µg	P %	P mg	K %	K mg	Ca %	Ca mg
M0F0	3,01	217	653	0,05	1,50	1,08	32,5	1,36	40,9
	1,83	176	322	0,09	1,64	1,12	20,4	1,31	23,9
	1,26	178	224	0,10	1,26	1,15	14,4	1,47	18,5
	1,38	335	462	0,10	1,38	1,15	15,8	1,55	21,3
M0F1	3,09	128	395	0,08	2,47	1,52	46,9	1,17	36,1
	1,42	141	200	0,07	0,99	1,70	24,1	1,16	16,4
	1,51	196	295	0,07	1,05	1,15	17,3	1,35	20,3
	1,62	105	170	0,07	1,13	1,59	25,7	1,23	19,9
M0F2	2,63	185	486	0,09	2,36	1,49	39,1	1,22	32,0
	2,10	98	205	0,08	1,68	1,28	26,8	1,50	31,5
	1,76	110	193	0,07	1,23	1,53	26,9	1,32	23,2
	1,37	251	343	0,09	1,23	1,38	18,9	1,54	21,0
M0F3	1,49	180	268	0,09	1,34	1,33	19,8	1,26	18,7
	1,80	176	316	0,07	1,26	1,33	23,9	1,36	24,4
	1,87	221	413	0,08	1,49	1,40	26,1	1,38	25,8
	1,99	206	409	0,08	1,59	1,30	25,8	1,43	28,4
M1F0	1,62	1162	1882	0,07	1,13	1,10	17,8	1,42	23,0
	0,93	1032	959	0,09	0,83	1,11	10,3	1,11	10,3
	1,38	1076	1484	0,08	1,10	1,22	16,8	1,29	17,8
	1,69	915	1546	0,09	1,52	1,05	17,7	1,38	23,3
M1F1	1,72	691	1188	0,08	1,37	1,35	23,2	1,30	22,3
	1,31	781	1023	0,09	1,17	1,65	21,6	1,08	14,1
	1,48	692	1024	0,09	1,33	1,14	16,8	1,37	20,2
	1,87	403	753	0,07	1,30	1,57	29,3	1,23	23,0
M1F2	1,23	961	1182	0,09	1,10	1,37	16,8	1,48	18,2
	1,12	1010	1131	0,09	1,00	1,59	17,8	1,26	14,1
	2,40	550	1320	0,08	1,92	1,42	34,0	1,28	30,7
	1,02	913	931	0,09	0,91	1,65	16,8	1,18	12,0
M1F3	0,76	1233	937	0,09	0,68	1,36	10,3	1,42	10,7
	1,21	1379	1690	0,08	0,96	1,27	15,3	1,27	15,3
	1,60	1023	1636	0,07	1,12	1,18	18,8	1,26	20,1
	1,01	1085	1095	0,09	0,90	1,44	14,5	1,42	14,3

	Mg %	Mg mg	Fe ppm	Fe µg	Cu ppm	Cu µg	Zn ppm	Zn µg	B ppm	B µg
M0F0	0,45	13,5	659	1883	11,2	33,7	90	270	47	141
	0,50	9,1	385	704	11,2	20,4	95	173	54	98
	0,53	6,6	254	320	11,2	14,1	113	142	60	75
	0,70	8,9	712	982	12,8	17,6	123	169	56	77
M0F1	0,38	11,7	347	1072	14,4	44,4	91	281	40	123
	0,43	6,1	392	556	14,4	20,4	108	153	47	66
	0,55	8,3	417	629	11,1	16,9	95	143	58	87
	0,40	6,4	299	484	14,4	23,3	106	171	47	76
M0F2	0,42	11,0	364	673	14,4	37,8	90	236	43	113
	0,58	12,1	385	808	12,8	26,8	97	203	44	92
	0,49	8,6	330	580	14,4	25,3	102	179	62	109
	0,45	6,1	345	472	14,4	19,7	108	147	48	65
M0F3	0,48	7,1	357	531	20,0	29,8	97	144	54	80
	0,47	8,4	308	554	10,2	18,3	93	167	45	81
	0,52	9,7	483	903	8,7	16,2	118	220	50	93
	0,52	10,3	396	788	16,0	31,8	102	202	55	109
M1F0	0,59	9,5	625	1012	17,6	28,5	108	174	57	92
	0,64	5,9	594	552	9,6	8,9	113	105	56	52
	0,70	9,6	717	989	27,2	37,5	147	202	59	81
	0,53	8,9	469	792	17,6	29,7	139	234	55	92
M1F1	0,51	8,7	413	710	12,8	22,0	132	227	43	73
	0,47	6,1	248	324	14,4	18,8	106	138	53	69
	0,53	7,8	319	472	9,6	14,2	101	149	47	69
	0,38	7,1	334	624	17,6	32,9	91	170	44	82
M1F2	0,64	7,8	699	859	14,7	18,0	138	169	55	92
	0,36	4,0	364	407	12,8	14,3	123	137	56	62
	0,42	10,0	402	964	8,4	20,1	90	216	42	100
	0,72	7,3	761	776	12,8	13,0	102	104	58	59
M1F3	0,72	5,4	749	569	16,0	12,1	125	95	55	41
	0,66	7,9	663	802	17,3	20,9	125	151	58	70
	0,64	10,2	967	1547	23,8	38,0	158	252	61	97
	0,72	7,2	548	553	11,7	11,8	108	109	63	63
M2F0	0,91	11,0	540	653	10,0	12,1	152	183	76	91
	0,79	9,4	568	681	15,5	18,6	162	194	62	74
	0,83	9,6	641	743	11,3	13,1	151	175	79	81
	1,09	10,9	752	752	10,0	10,0	247	247	94	94

Trat. nº	Mg %	Mg mg	Fe ppm	Fe µg	Cu ppm	Cu µg	Zn ppm	Zn µg	B ppm	B µg
M2F1	0,67	10,3	319	494	14,0	21,7	133	206	58	89
	0,73	12,4	862	1465	30,3	51,5	153	260	56	95
	0,59	7,7	265	347	10,0	13,1	142	186	50	65
	0,64	11,0	478	822	12,7	21,8	134	230	56	96
M2F2	0,89	10,5	412	490	10,0	11,9	154	183	70	83
	0,76	10,2	304	410	11,3	15,2	140	189	68	91
	0,80	9,4	386	455	10,0	11,8	150	177	56	66
	0,95	9,8	450	468	15,5	16,1	161	167	58	60
M2F3	0,57	7,2	691	884	16,0	20,4	140	179	68	87
	0,60	5,1	830	705	18,6	15,8	169	143	80	68
	0,49	4,7	537	520	11,7	11,3	126	122	83	80
	0,43	4,2	472	467	11,7	11,5	127	125	72	71
M3F0	0,75	8,4	501	566	14,0	15,8	157	177	50	56
	0,94	9,4	771	778	11,3	11,4	177	178	72	72
	0,97	10,7	875	971	19,8	21,9	200	222	74	82
	0,87	8,7	521	521	7,4	7,4	171	171	69	69
M3F1	0,56	7,9	280	397	10,0	14,2	122	173	64	90
	0,64	9,5	377	561	11,3	16,8	142	211	54	80
	0,65	9,8	452	687	10,0	15,2	129	196	64	97
	0,55	11,3	422	869	18,4	37,9	125	257	52	107
M3F2	0,87	6,3	733	535	13,6	9,9	192	140	72	52
	0,63	5,9	749	711	8,7	8,2	178	169	79	75
	0,72	10,0	376	526	12,7	17,7	147	205	62	86
	0,80	7,2	534	480	12,7	11,4	180	162	65	58
M3F3	0,72	5,6	530	413	13,2	10,2	164	127	81	63
	0,84	7,1	715	607	11,7	9,9	188	159	77	65
	0,66	5,7	615	535	14,6	12,7	148	128	69	60
	0,61	4,9	493	399	10,2	8,2	129	104	72	58