INOCULAÇÃO DE FUNGOS MVA E ABSORÇÃO DE NITROGÊNIO (^{15}N)
E ENXOFRE (^{35}S) PELO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)

SONIA CRISTINA PERON

Orientadora: Dr^a SIU MUI TSAI

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

P I R A C I C A B A
ESTADO DE SÃO PAULO - BRASIL
DEZEMBRO-1988

P453i

Peron, Sonia Cristina

Inoculação de fungos MVA e absorção de nitrogênio (^{15}N) e enxofre (^{32}S) pelo feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.). Piracicaba, 1988.

72p.

Diss. (Mestre) - ESALQ.
Bibliografia.

1. Enxofre em feijão - Absorção 2. Feijão - Micorriza - Inoculação 3. Feijão - Nutrição 4. Micorriza - Inoculação 5. Nitrogênio em feijão - Absorção I. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba

CDD 635.652

INOCULAÇÃO DE FUNGOS MVA E ABSORÇÃO DE NITROGÊNIO (^{15}N)
E ENXOFRE (^{15}S) PELO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)

SONIA CRISTINA PERON

Aprovada em: 21/03/89

Comissão Julgadora:

. Prof. Dr. Tasso Leo Krüger

ESALQ/USP

Profª Drª Siu Mui Tsai

CENA/USP

Dr. Eli Sidney Lopes

IAC

Profª Drª Siu Mui Tsai

Orientadora

DEDICO ao
Edilberto, meu esposo e
a meus pais **Nelson** e **Vérgínia**,
por tudo que representam para
mim.

AGRADECIMENTOS

A Dra. Siu Mui Tsai Saito, pela orientação;

A Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" e aos seus
Mestres;

Ao CENA, pela oportunidade de trabalho e pelos trabalhos pres
tados;

A EMBRAPA, pela concessão da bolsa de estudos e FAPESP pela
concessão de auxílio à pesquisa;

Ao Chiquinho pela ajuda na realização das análises químicas;

Aos funcionários da Seção de Microbiologia do Solo;

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a e-
xecução deste trabalho,

SUMÁRIO

Página

RESUMO.....	vii
SUMMARY.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1. Ocorrência natural e estabelecimento da simbiose.	6
2.2. Efeito da micorriza no desenvolvimento de legumi- nosas.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1. Planta.....	18
3.2. Solo.....	18
3.3. Vasos.....	19
3.4. Tratamentos e delineamento experimental.....	19
3.5. Instalação dos experimentos.....	20
3.5.1. Preparo e adubação do solo.....	20
3.5.2. Inoculação das plantas.....	21
3.6. Condução dos experimentos e parâmetros avaliados.	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4.1. Experimento 1: efeito do S em feijoeiro inoculado com fungos MVA.....	25
4.1.1. Crescimento e produção de matéria seca e vagens.....	25

4.1.2. Acúmulo de N, P e S na planta.....	28
4.1.3. Acúmulo de N e infecção micorrízica.....	36
4.2. Experimento 2: efeito de níveis de N em feijoeiro inoculado com fungos MVA.....	40
4.2.1. Produção de matéria seca e de vagens.....	40
4.2.2. Acúmulo de N e P na planta.....	44
4.2.3. Acúmulo de N e P nas vagens.....	47
4.2.4. Fixação de N_2 e utilização de N-fertilizante (NDN ₂ , NDF E EUF).....	47
4.2.5. Fixação Biológica do N_2 (FBN).....	53
4.2.6. Infecção Micorrízica em presença de N-mineral.....	55
5. CONCLUSÕES.....	57
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

INOCULAÇÃO DE FUNGOS MVA E ABSORÇÃO DE NITROGÊNIO (^{15}N) E ENXOFRE (^{35}S) PELO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)

AUTORA: Sonia Cristina Peron

ORIENTADORA: Dra Siu Mui Tsai

RESUMO

Com o objetivo de estudar a absorção de nitrogênio (^{15}N) e enxofre (^{35}S) em feijoeiro, foram realizados dois experimentos nas instalações do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, utilizando-se de um solo hidromórfico proveniente de várzea, com os seguintes tratamentos: 1) controle sem inoculação micorrízica; 2) inoculação com *Acaulospora morrowae*; 3) inoculação com *Glomus macrocarpum*; 4) inoculação com *Scutellospora heterogama*; 5) inoculação com *Gigaspora margarita*. Em todos os tratamentos o feijoeiro foi inoculado com uma mistura de estirpes de *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* C-05 e C-88. O delineamento experimental foi um fatorial de 5x4 para o experimento com ^{35}S , correspondendo a 5 tratamentos de inoculação micorrízica e 4 épocas de amostragem respectivamente, com 4 repetições. Para o experimento com ^{15}N , utilizou-se um fato-

rial 5x5 sendo 5 doses crescentes de N e 5 tratamentos de inoculação com fungo micorrízico, com 3 repetições. O experimento foi conduzido em condições de cada de vegetação num esquema experimental inteiramente casualizado. Para o experimento com ^{35}S as amostragens foram feitas aos 14, 36, 58 e 79 dias após o plantio, e para o experimento com ^{15}N foi feita uma única amostragem no final do ciclo do feijoeiro. Os parâmetros analisados foram: peso da matéria seca (parte aérea e vagens), teores de N, P e S, nitrogênio proveniente da fixação e porcentagem de colonização micorrízica no sistema radicular do feijoeiro. Um maior acúmulo de N, principalmente na época pós-florescimento, na parte aérea das plantas dependeu da presença do fungo. Entretanto, com relação ao acúmulo de P e S não houve efeito da micorrização. A inoculação com *Glomus macrocarpum* resultou em um acúmulo de N na parte aérea duas vezes superior e possibilitou maior porcentagem de N proveniente da fixação.

INOCULATION OF VAM AND NITROGEN (^{15}N) AND SULPHUR (^{35}S)
ABSORPTION BY BEANS (*Phaseolus vulgaris* L.)

AUTHOR: SONIA CRISTINA PERON

ADVISER: DR. SIU MUI TSAI

SUMMARY

In order to study the uptake of nitrogen (^{15}N) and sulphur (^{35}S) in mycorrhizal bean plants (*Phaseolus vulgaris*), two experiments were carried out using a hydromorphic soil from lowland, with the following inoculation treatments: 1) no mycorrhizal inoculation; 2) with *Acaulospora morrowae*; 3) with *Glomus macrocarpum*; 4) with *Scutellospora heterogama*; 5) with *Gigaspora margarita*. All treatments were inoculated with *Rhizobium leguminosarum* by. *phaseoli* strains C-05 and C-88. In the experiment with ^{35}S , it was used a factorial design 5x4, 5 mycorrhizal treatments and 4 harvest times respectively and in the experiment with ^{15}N , it was used a factorial design 5x5, 5 levels of N and 5 mycorrhizal inoculation treatments. The experiments were set up under greenhouse conditions, using a randomized statistical design. The plants in the experiment with ^{35}S were harvested at 14, 36,

58 and 79 days after sowing and in the experiment with ^{15}N they were harvest at the end of the growth period. The parameters analysed were as follow: dry matter weight (shoot and pods); N, P and S content (shoot), efficiencies of N and S utilization, nitrogen derived from fixation and mycorrhizal infection in the roots. The results showed a greater N content on shoot of inoculated plants. However there was no response on the P and S contents. The inoculation with *Glomus macrocarpum* resulted in a better N content on shoot and greater percentage of nitrogen derived from fixation.

1. INTRODUÇÃO

Sendo o feijão um dos alimentos básicos da população brasileira, como uma importante fonte vegetal de proteína, vários estudos vem sendo realizados, visando melhorar seu valor nutritivo, através do aumento do teor e qualidade da proteína.

A adubação nitrogenada pode ser uma via alternativa, para aumentar o teor proteico e a produção (CARELLI et alii, 1981). O nitrogênio é o nutriente absorvido em maior quantidade, vindo logo a seguir o potássio, cálcio, magnésio, enxofre e fósforo (GALLO e MIYASAKA, 1961), sendo que o período de sua máxima absorção ocorre durante a época do florescimento (HAAG et alii, 1967; COBRA NETO et alii, 1971).

De maneira geral, o feijoeiro responde a doses relativamente baixas de nitrogênio, até 30 kg/ha (IGUE, 1968).

Por ser o feijão, uma leguminosa nodulante, pode adquirir nitrogênio através da associação simbiótica com bactérias do gênero *Rhizobium* e ou assimilar o NO_3^- do solo.

Existem estimativas de que a simbiose na cultura do feijoeiro poderia ser responsável pela fixação de 40 a 80 kg de N/ha (WESTERMANN et alii, 1981).

RUSCHEL et alii (1982) determinaram que feijão do cultivar Carioca fixou até 91 kg/ha de nitrogênio durante o ciclo de 90 dias, o que corresponde a 68% do nitrogênio total da planta.

Atualmente tem-se dado devida importância, para a obtenção de variedade de feijão, que apresentem alto potencial de fixação do N_2 atmosférico, por volta de 70% (FONSECA, 1985). Por outro lado, doses elevadas de nitrogênio podem interferir no sistema simbiótico, diminuindo a capacidade de fixação do N_2 (SAITO e RUSCHEL, 1980; VEIGA, 1980; NOGUEIRA et alii, 1980).

A absorção do enxofre é relativamente alta aos 25 dias, mas o período de maior absorção ocorre no final do florescimento e início da formação de vagens, permanecendo a sua absorção até o final do ciclo (GALLO e MIYASAKA, 1961).

As leguminosas exigem quantidades elevadas de enxofre durante seu desenvolvimento. O enxofre é requerido para a conversão em proteína, do nitrogênio não proteico, quer absorvido do solo, quer fixado da atmosfera pelo sistema simbiótico (WERNER, 1986).

Contudo, as reservas de enxofre na maioria dos solos do Estado de São Paulo, são extremamente baixas segundo estudos de MALAVOLTA (1953).

Dentre os principais problemas nutricionais do feijoeiro, com reflexos na Fixação Biológica do Nitrogênio, esta na capacidade da planta em explorar um pequeno volume do solo.

A totalidade do sistema radicular de feijão, cultivar carioca, encontra-se a 50 cm de profundidade, sendo que a zona mais ativa de absorção de nutrientes chega a 20 cm de profundidade (AVILAN ROVIRA, 1975).

Nos últimos anos tem-se prestado especial atenção ao efeito das micorrizas vesicular-arbusculares sobre as leguminosas, em especial ao aumento da área de exploração do solo propiciado pela associação, beneficiando plantas que apresentem sistema radicular pouco desenvolvido.

BAYLIS (1975) e HAYNES (1980) consideram que as leguminosas são bem mais dependentes da associação micorrizica, em relação as gramíneas, por apresentarem um menor sistema radicular.

Alguns experimentos tem salientado o efeito das micorrizas aumentando a nodulação, fixação do N_2 , como resultado do incremento na nutrição de fósforo, cobre, zinco e enxofre (BETHLENFALVAY e YODER, 1981; LOPES et alii, 1983; SIQUEIRA e PAULA, 1986).

Desta forma, este experimento teve como objetivo avaliar a utilização de enxofre (^{35}S) e nitrogênio (^{15}N) por plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) inoculadas com dife-

rentes espécies de fungos micorrízicos vesicular - arbusculares, bem como a fixação do nitrogênio, em solo não esterilizado.

2. REVISÃO DE LITERATURA

As raízes das plantas não podem ser consideradas isoladas no solo sem a participação de agentes microbianos, além dos fatores químicos e físicos que se interagem. A superfície externa das raízes das plantas estão intimamente relacionadas ao sistema dinâmico do solo, associadas a vários grupos de microrganismos, dentre eles certos fungos também têm demonstrado papel importante para nutrição mineral das plantas. Fungos estes que se associam inter ou externamente às raízes da maioria das plantas, possibilitando as mesmas maior área de exploração do solo. Esta associação pode ser do tipo **Ectomicorizas**, quando envolve fungos mais evoluídos como no caso dos **Basidiomicetos** e **Ascomicetos**, bem como plantas hospedeiras mais específicas (*Pinus* e algumas florestais), e do tipo **Micorrizas Vesículo-arbuscular**, quando apresenta estruturas fúngicas no exterior e interior das raízes (hifas, vesículas e arbúsculos), sempre relacionados a fungos primitivos **Ficomicetos** e os mais diversos hospedeiros (OCAMPO, 1980; LOPES et alii, 1983).

A penetração do fungo na raiz fica restrita as regiões mais externas do córtex, nunca causando lesões e danos a mesma, ou mesmo relações de parasitismo (OCAMPO, 1980).

Os fungos micorrízicos vesicular-arbusculares, não podem ainda serem cultivadas em meios artificiais, necessitando de uma planta hospedeira, para sua multiplicação através de esporos, enquanto que as ectomicorrizas já o são cultiváveis em condições artificiais (LOPES et alii, 1983).

A função nutricional da micorriza vesicular-arbuscular está intimamente relacionada a um aumento da superfície de exploração das raízes das plantas no solo, através do prolongamento destas por intermédio das redes de hifas, características do crescimento dos fungos no solo (MOSSE, 1981).

Este tipo de associação tem um valor particular em leguminosas, principalmente porque a nodulação e a fixação simbiótica do nitrogênio pelo *Rhizobium* spp., requer um suprimento adequado de nutrientes do solo (HAYNES, 1980; BROWN et alii, 1981; CORNET et alii, 1985).

Micorrizas V.A. podem ter um significado particular para a agricultura tropical, porque fósforo e nitrogênio são nutrientes escassos, limitando o crescimento das plantas neste ambiente (MOSSE, 1981).

2.1. OCORRÊNCIA NATURAL E ESTABELECIMENTO DA SIMBIOSE

Sabe-se que em ecossistemas naturais as raízes da maioria das plantas estão normalmente micorrizadas. Encon-

trando-se em **Criptógamas**, **Pteridófitas**, algumas **Gimnospermas** e na maioria das **Angiospermas**. Mas dentro destas, existem plantas mais suscetíveis à infecção que outras (GERDEMANN, 1968; BAYLIS, 1975; GIANINAZZI-PEARSON, 1985).

A entrada do fungo na raiz se dá normalmente através das células epidérmicas ou dos pêlos radiculares. O fungo passa entre as células epidérmicas da raiz, ainda que haja algumas espécies deste fungo que penetram diretamente através destas. Nas células do parênquima cortical ativo provoca uma lise da lamela média. Possivelmente haja enzimas implicadas neste processo, já que se observa uma granulação da parede celular, assim como agregados citoplasmáticos no ponto de penetração. Associado com isto está a formação de um engrossamento (papila) que se estende na parte interna da parede celular epidérmica. Depois da penetração, a hifa fúngica invagina o plasmalema, citoplasma e tonoplasto da célula hospedeira, permanecendo no exterior do protoplasto, mas no interior da célula hospedeira. A princípio há um contato direto entre a parede do fungo e o plasmalema do hospedeiro, mas, mais tarde, com a formação do haustório, se forma uma matriz amorfa no espaço entre o plasmalema do hospedeiro e a parede do fungo. Depois a hifa cresce formando as circunvoluções características. À medida que estas crescem, formam um grupo de hifas cujo citoplasma tem um complemento normal de orgânulos. A hifa intercelular cresce apicalmente de forma rápida, e ao largo destas hifas longitudi-

nais, surgem ramos os quais penetram nas células corticais para formar os arbúsculos. A formação do arbúsculo é precedida pela formação de um septo, cujo desenvolvimento centrípeto pode ser continuado na hifa organizada. Neste ponto de penetração, um colar de material do hospedeiro rodeia a parede fúngica; este colar é o remanescente da papila formada no interior da parede do hospedeiro nas primeiras etapas de penetração, e se estende como uma capa fina a uma distância variável desde o "tronco" do arbúsculo até os primeiros ramos arbusculares, desaparecendo nos ramos mais finos (OCAMPO, 1980).

É possível que nos processos de alongação e crescimento da hifa no interior da célula hospedeira, intervenham enzimas fosfatásicas ácidas (GIANINAZZI et alii, 1979).

Às vezes a hifa intracelular se hipertrofia, engloba a célula hospedeira e dá lugar a vesículas intracelulares, as quais estão rodeadas por uma parede fina; o citoplasma destas é escasso, tem gotas de lipídeos e muitos grânulos de polifosfato. As vesículas possivelmente sejam órgãos de reserva (MOSSE, 1963).

O citoplasma do hospedeiro que rodeia o arbúsculo é rico em orgânulos, há abundantes ribossomos e retículo endoplasmático. Também se observam numerosos orgânulos rodeados por uma membrana simples (citossomas). Alguns têm aspecto de "microcorpos" e são provavelmente glixissomas, e/ou peroxissomas. Outros são considerados como esferossomas, enquanto que outros

de conteúdo irregular recordem aos lisossomas e parecem conter fosfatases ácidas. Também se tem encontrado uns plastídeos de aspecto não usual, identificados como cromoplastos, em algumas plantas hospedeiras (OCAMPO, 1980).

Também tem lugar o desaparecimento do amido na célula hospedeira, assim como uma maior presença de açúcares como consequência da hidrólise do amido e um aumento da respiração da planta (MOSSE, 1963).

A eficiência da micorriza na transferência de nutrientes para a planta depende da interação entre o fungo e o hospedeiro; morfologia da raiz e suscetibilidade à infecção micorrízica, e da taxa de colonização das raízes, proporcionando uma maior eficiência na absorção e transporte de nutrientes (GIANINAZZI-PEARSON, 1985).

Muitas pesquisas têm demonstrado detalhes sobre as células corticais das plantas infectadas pelos fungos micorrízicos, através do uso de microscopia eletrônica, cortes histológicos e testes bioquímicos evidenciando-se que:

1. Enzimas pecticas promovem a maceração dos tecidos das raízes hospedeiras;
2. Há alteração da permeabilidade das paredes celulares das raízes hospedeiras;
3. Há penetração de haustórios fúngicos nas células corticais das raízes hospedeiras (BOWEN, 1985).

Os fungos micorrízicos vesicular-arbusculares ge

ralmente promovem um aumento da fixação biológica de nitrogênio nas leguminosas, isto porque aumentam o teor de P disponível para a planta, favorecendo a simbiose *Rhizobium* x leguminosa, tendo sido evidenciado um efeito competitivo entre o fungo e a bactéria simbiote pelo carbono disponível na planta, alterando portanto a taxa fotossintética do vegetal (PAUL et alii, 1985).

Segundo JANOS (1985) a condição de baixa disponibilidade nutricional dos solos tropicais, altas taxas de decomposição e lixiviação, resultam em um certo grau de dependência micorrízica por parte das plantas tropicais.

Como simbiontes obrigatórios, os fungos MVA obtêm nutrientes orgânicos essenciais de seus hospedeiros (LOPES et alii, 1983).

As plantas colonizadas apresentam maior taxa fotossintética do que as não colonizadas por MVA (ALLEN et alii, 1981).

Entretanto, a disponibilidade de nutrientes como o P e o N, influenciam na colonização das raízes pelos fungos endomicorrízicos vesicular-arbusculares (MOSSE, 1973).

Doses elevadas de fósforo podem reduzir a colonização e estabelecimento dos fungos na raiz, provavelmente devido a enzimas fosfatases ácidas e as lectinas, controlando a formação das micorrizas nas raízes, inibindo o crescimento do tubo germinativo dos esporos (LOPES et alii, 1983), ou ainda

modificando a permeabilidade das membranas das células corticais (RATNAYAKE et alii, 1978).

Se a infecção micorrizica é regulada pelo teor de P nos tecidos da raiz e pela permeabilidade da membrana celular (PAUL, 1985; BOWEN, 1985; JANOS, 1985 e SIQUEIRA et alii, 1984), então haveria um micotrofismo obrigatório, pela imediata utilização de fósforo absorvido pela associação, entretanto, isto não acontece (JANOS, 1985).

As plantas possuem um mecanismo de auto-controle da colonização, para minimizar o efeito depressivo da simbiose em condições de altas doses de P disponível (SIQUEIRA, 1983).

De acordo com um modelo conceitual, proposto por SIQUEIRA e COLOZZI-FILHO (1986), a infecção micorrizica e o estabelecimento da simbiose é função da absorção de P pela planta, onde em extrema deficiência do elemento (menos que 3 ppm) a colonização é baixa e de natureza parasítica, devido a reduzida capacidade fotossintética e crescimento das raízes, podendo o fungo competir por fotossintatos com a planta. Para níveis de P entre 3 e 10 ppm, existe uma reduzida **zona de transição** entre o parasitismo e o mutualismo. Entre 10 e 100 ppm, há uma **zona de benefícios crescentes**, estabelecendo-se uma simbiose mutualística máxima. Todavia, entre 100 e 300 ppm de P no solo, também evidencia-se uma **zona de transição** entre o parasitismo e o mutualismo, porque a colonização é inibida e o fungo infec

tante presente na raiz é capaz de causar dreno de fotossintatos, causando prejuízo para a planta.

Outros nutrientes podem também afetar o estabelecimento das micorrizas vesicular-arbusculares, como altos níveis de nitrogênio, que reduzem a colonização das raízes. O alto nível de nitrogênio disponível parece inibir a infecção micorrízica em plantas cultivadas sob condições controladas ou em campo (BARROW e RONCADORI, 1977 e OCAMPO e HAYMAN, 1980).

Diferenças na rizosfera, pH, aminoácidos, ácidos carbônicos e teor de nitrogênio nas plantas, podem ter influência na infecção micorrízica (BOWEN e SMITH, 1981).

A ação depressiva do nitrogênio parece depender do tipo de solo (MOSSE e CLARKE, 1978).

GIOVANNETTI et alii (1981) estudando o efeito de altas concentrações de N na produção de esporocarpo de *Glomus mosseae*, observaram que 114 ppm de N, em sorgo, foram suficientes para inibir a colonização das raízes.

O teor de amônio e nitrato disponíveis no solo, é variável dependendo do tipo de solo e desenvolvimento da planta. Nos solos cultiváveis o nitrato predomina e o amônio é preferencialmente absorvido, por muitos microrganismos do solo. O nitrato absorvido pelas plantas superiores e pelos fungos micorrízicos se deve a um transporte ativo, que resulta frequentemente na acumulação deste íon no interior das células (BOWEN e SMITH, 1981).

A assimilação de nitrato resulta na produção de íons hidroxil (1 OH^- por NO_3^-), os quais são exudados alterando o pH da rizosfera. Se a absorção de nitrato ocorre no interior do fungo micorrízico e, a regulação do pH é feita pela exudação de OH^- , então a relação entre cátion/carboxilato estocado, quando há infecção micorrízica, resulta em uma considerável economia de fotossintatos, sem necessariamente resultar em um aumento da absorção de nitrogênio pelas plantas (BOWEN e SMITH, 1981).

A forma de N influencia, sendo que o NH_4^+ é mais inibitório do que o NO_3^- , para a colonização e a formação de arbusculos do fungo no interior da raiz hospedeira (BROWN et alii, 1981).

AMES et alii (1984), estudando fontes de N e valor "A" em sorgo, inoculados ou não com fungos micorrízicos vesicular-arbusculares, observaram que o N derivado do solo e o valor "A" foram significativamente mais elevados, para as plantas infectadas e sob níveis médios de adubação nitrogenada, sugerindo não haver discriminação na absorção, pelas fontes de N aplicadas ao solo.

As hifas do fungo micorrízico vesicular-arbuscular, estendem-se pela rizosfera absorvendo o N e transportando-o a raiz. O transporte de N mais ativo, pelas plantas infectadas, depende do teor de N do solo. Em solos agrícolas é alta a taxa de nitrato, não havendo problema de absorção de N pelas

plantas; por outro lado, em ecossistemas naturais, onde o amônio pode ser a fonte primária de N disponível, fungos endomycorrízicos podem ter um importante papel na absorção de N, retenção e recapturação do elemento na rizosfera, minimizando a taxa de N perdido por lixiviação (AMES et alii, 1983).

O aumento da área de absorção de nutrientes do solo, promovido pela micorriza, permite ainda que outros nutrientes limitantes em solos pobres cheguem até as raízes das plantas, como o S, observado por GRAY e GERDEMANN (1973) em "seedlings" de trevo e milho, RHODES e GERDEMANN (1978) em cebola.

2.2. EFEITO DA MICORRIZA NO DESENVOLVIMENTO DE LEGUMINOSAS

A fixação do nitrogênio, por *Rhizobium* em leguminosas, requer certos nutrientes como o fósforo e o enxofre e possivelmente outros, em quantidades elevadas (ROBSON, 1978).

A porcentagem de P nos nódulos é duas ou três vezes maior que nas raízes jovens, e compostos ricos em P fornecem energia suficiente para o processo de fixação (MOSSE, 1981). O enxofre é utilizado na conversão em proteína, do nitrogênio fixado pelo sistema simbiótico (WENER, 1986).

O sistema radicular das leguminosas é relativamente pobre, o que sustenta o fato de que muitas leguminosas

respondem favoravelmente a uma infecção micorrízica (BAYLIS, 1975; HAYNES, 1980; MOSSE, 1981).

Fungos micorrízicos aumentam a nodulação e fixação do N_2 , como resultado do incremento na nutrição de fósforo, cobre, zinco, enxofre e outros, os quais são requeridos pelas plantas, em quantidades mais elevadas, quando o processo de fixação de N_2 , pelo *Rhizobium*, está ativo (BETHENFALVAY e YODER, 1981; LOPES et alii, 1983).

DAFT e EL-GIAHMI (1974), observaram que feijão inoculado com fungos micorrízicos apresentou 6% mais proteína total por planta e soja 2% mais proteína por grão.

Segundo SMITH et alii (1979), a inoculação com fungos micorrízicos aumentou a nodulação e a eficiência dos nódulos, mesmo antes que a planta estivesse totalmente crescida.

Há dependência de fungos micorrízicos para que ocorra boa fixação simbiótica de N_2 , sendo o número, peso e atividade dos nódulos afetados na ausência destes (MARTINS e SAITO, 1985).

Muitos experimentos têm revelado o favorecimento no desenvolvimento do feijoeiro, quando em presença de fungos endomicorrízicos (ZAMBOLIM et alii, 1985; SILVEIRA e CARDOSO, 1987).

Essa influência positiva dos fungos micorrízicos vesicular-arbusculares, está diretamente relacionada com a maior absorção de nutrientes do solo. A presença do fungo faz

com que a porcentagem de P na planta dobre em relação às plantas sem o fungo, beneficiando indiretamente a fixação de N_2 atmosférico (FERREIRA, 1987).

Entretanto, BETHENFALVAY et alii (1985), avaliando efeitos antagônicos entre a colonização micorrízica e a nodulação em soja, observaram que quando as plantas foram inoculadas primeiramente com o fungo este inibiu a nodulação, ou quando a nodulação foi prematura, também inibiu o desenvolvimento da infecção micorrízica na raiz. Além de uma significativa correlação negativa entre a colonização pelo fungo e a atividade dos nódulos, resultando em um baixo teor de P e alto teor de açúcar nas plantas. Isto sugere que diferenças no estabelecimento dos simbiossiontes, em relação ao tempo de inoculação, possa ser de relativa importância para estudo; bem como quando inocula-se leguminosas em solos pobres, alguns efeitos adversos podem ser observados, como resultado de uma competição por carboidratos disponíveis nas raízes, entre os simbiossiontes.

CORNET et alii (1985) estudando a fixação do nitrogênio em *Acacia*, sob condições de campo, em solo arenoso, constatou que a porcentagem do N total derivado da fixação foi mais elevada nos tratamentos inoculados apenas com *Rhizobium*, do que nos tratamentos inoculados com *Rhizobium* e *Glomus mosseae*.

A nodulação e a infecção micorrízica dependem da disponibilidade de carboidratos solúveis na raiz hospedeira. Na ausência de fotossintatos, a disponibilidade de açúcar

depende da atividade do endófito e do metabolismo da planta. Desta forma, a absorção de fósforo pela micorriza, em leguminosas noduladas, parece iniciar uma cadeia de inter-relações entre os simbioss, com a atividade determinada pelo nível de carboidratos disponíveis (BETHLENFALVAY et alii, 1985).

SIVAPRASAD e RAI (1985), preocupados em determinar a taxa de fotossintatos em *Cajanus cajan*, inoculado com *Glomus fasciculatum* e *Rhizobium*, observaram um sinergismo entre a micorriza e o *Rhizobium*, promovendo um aumento na taxa de fotossintatos da planta aos 25, 35 e 60 dias. Isto determinou uma alta atividade da nitrogenase aos 35 dias, quando a colonização das raízes, pelo fungo micorrízico, já encontrava-se bastante difundida, não ocorrendo aos 25 e aos 60 dias, onde neste último período, observou-se a senescência dos nódulos radiculares e a limitação de fotossintatos, tornando dificultada a manutenção da tríplice simbiose (*Rhizobium* x Leguminosa x Micorriza), prejudicando o desenvolvimento da planta.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados 2 experimentos, conduzidos em condições de casa de vegetação no CENA-USP, Piracicaba, SP. O primeiro estudou o efeito do enxofre (^{35}S) e o segundo de doses de N (^{15}N) em feijoeiro com fungos micorrízicos vesicular-arbusculares (MVA).

3.1. PLANTA

Utilizou-se a variedade Carioca de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Como planta não fixadora para o cálculo de porcentagem de nitrogênio fixado, segundo o método de FRIED e MIDDELBØE (1977), foi utilizada a variedade de trigo BH 1146, fornecida pela Secretaria da Agricultura de Minas Gerais.

3.2. SOLO

O solo foi coletado na várzea da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" e classificado como do tipo hidromórfico. Este, não foi esterilizado para condução dos experimentos.

A análise química do solo, realizada pelo departamento de Química e Nutrição Mineral de plantas da ESALQ-USP, apresentou as seguintes características:

pH = 5,0; P:73 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$; K:0,36; Ca:5,0; Mg:2,68; Al:2,63 (e.mg/100g); matéria orgânica 2,1%; capacidade de troca de cátions (CTC) = 10,7 e.mg/100g e a saturação em base (V) = 75,4%.

3.3. VASOS

Foi utilizado um total de 155 vasos de barro, devidamente vedados, para evitar perda dos elementos marcados utilizados (^{15}N e ^{35}S) e outros nutrientes, por lixiviação. Esses vasos tinham a capacidade de 3 kg de solo.

3.4. TRATAMENTOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os tratamentos de inoculação com fungos micorrízicos vesicular-arbusculares (MVA) foram:

- 1) Sem inoculação de MVA;
- 2) Inoculado com *Acaulospora morrowae*, proveniente do CEPATU-BELÉM-PA;
- 3) Inoculado com *Glomus macrocarpum*, proveniente do IAC-SP;
- 4) Inoculado com *Scutellospora heterogama*, pro

veniente do IAC-SP;

5) Inoculado com *Gigaspora margarita*, proveniente do IAC-SP. (Todos os fungos são descritos em SCHENCK e PEREZ, 1987).

No experimento 1, com enxofre marcado (^{35}S) e diferentes épocas de amostragem, seguiu-se um delineamento fatorial 5×4 , sendo cinco tratamentos de inoculação MVA por quatro épocas de amostragem, inteiramente casualizado, com 4 repetições. Para o experimento 2, com diferentes doses de nitrogênio marcado (^{15}N), seguiu-se um fatorial 5×5 , cinco tratamentos de inoculação por 5 doses crescentes de nitrogênio, inteiramente casualizado, com 3 repetições.

3.5. INSTALAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

3.5.1. PREPARO E ADUBAÇÃO DO SOLO

O substrato para a condução dos experimentos foi preparado misturando-se solo e areia quartizosa, na proporção de 1:1 em peso. Conforme interpretação da análise química do solo utilizado e de acordo com a recomendação de adubação para cultura de feijão, ajustou-se a concentração de 37,5 ppm de P; 47,3 ppm de K e micronutrientes do substrato.

Este substrato foi repartido em duas proporções iguais, para condução de dois experimentos:

A porção do substrato destinada ao experimento 1, recebeu adubação nitrogenada por ocasião do desbaste das plantas (15 dias após plantio) a base de 10 ppm de N. O enxofre marcado foi adicionado ao solo na forma de solução de MgSO_4 (32,4 ppm), sendo pipetada a 8 cm de profundidade da superfície dos vasos, antes do plantio das sementes, resultando em uma marcação de 1,8 m.Ci/kg de solo.

No experimento 2, a adubação nitrogenada foi feita nas doses de 0, 7, 14, 28 e 56 ppm, sob a forma de cloreto de amônio ($^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$) enriquecido a 5% de átomos de ^{15}N em excesso.

3.5.2. INOCULAÇÃO DAS PLANTAS

No plantio, as sementes de feijão foram misturadas com sacarose a 20% e turfa inoculada com estirpes de *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* C-05 (CENA/USP) e SEMIA-487 (IPAGRO-RS), e cobertas por uma fina camada de carbonato de cálcio, usado para proteger mecanicamente e criar ambiente

favorável às bactérias, mantendo pH adequado.

A inoculação de MVA foi efetuada por ocasião da adubação e plantio, espalhando-se 5 gramas de solo inóculo (contendo esporos e pedaços de raízes infectadas) sobre uma camada de substrato situada a 8cm de profundidade da superfície dos vasos. A inoculação proporcionou aproximadamente 1500 esporos/vaso.

Os vasos das plantas não fixadoras do experimento 2, não receberam a inoculação de MVA.

3.6. CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS E PARÂMETROS AVALIADOS

Após 15 dias da germinação das sementes efetuou-se o desbaste para 2 plantas por vaso.

No experimento 1 foram feitas amostragens durante o desenvolvimento da planta em 4 épocas: 14, 36, 58 e 79 dias após o plantio. Retirou-se 4 repetições de cada tratamento em cada época de amostragem para análise de:

- peso da matéria seca da parte aérea (e vagens aos 79 dias);

- determinação dos teores de fósforo, nitrogênio e enxofre da matéria seca da parte aérea (e vagens aos 79

dias);

- análise do enxôfre derivado do fertilizante (SDF%) e da eficiência de utilização do fertilizante (EUF%) parte aérea e vagens (aos 79 dias);

- Determinação da porcentagem de infecção micorrizica do sistema radicular de acordo com métodos de GIOVANNETTI e MOSSE (1980) e ABBOTT e ROBSON (1981).

A determinação dos teores de N, P e S da matéria seca da parte aérea e vagens foi feita de acordo com a metodologia da determinação colorimétrica de ZAGATTO et alii, (1981):

A análise isotópica de ^{35}S das amostras foi feita por cintilação líquida, em aparelho cintilador Beckman LS 230, da Seção de Radioisótopos do CENA.

No experimento 2 avaliou-se, após a colheita final:

- peso de matéria seca da parte aérea e vagens;

- teores de fósforo e nitrogênio, da parte aérea e vagens;

- eficiência de utilização do fertilizante (EUF%) na vagem;

- nitrogênio derivado de fixação (NDF e NDN_2)

na planta;

- estimativa da fixação biológica do nitrogênio, utilizando-se planta não fixadora (trigo) de acordo com FRIED e MIDDELBOE (1977);

- porcentagem de infecção micorrizica das raízes de feijão, de acordo com GIOVANNETTI e MOSSE (1980) e ABBOTT e ROBSON (1981).

A determinação de P e N na parte aérea e vagens foi feita de acordo com ZAGATTO et alii (1981) e a determinação de ^{15}N das amostras feita pela Divisão de Ciências Ambientais do CENA (Piracicaba, SP), usando o método de Dumas para combustão do material vegetal.

A metodologia para a medida da fixação de N_2 , utilizada neste experimento, proposta por FRIED e MIDDELBOE (1977), prevê o uso de planta fixadora e não fixadora de N_2 atmosférico, ambas recebendo doses equivalentes de fertilizante marcado. Para tanto, foram mantidos 5 vasos cultivados com trigo (planta não fixadora), sendo um vaso para cada dose de adubação nitrogenada estudada.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. EXPERIMENTO 1: EFEITO DO S EM FEIJOEIRO INOCULADO COM FUNGOS MVA

4.1.1. CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE MATÉRIA SECA E VAGENS

Na Tabela 1 estão apresentados os dados da produção de matéria seca nas diferentes épocas de amostragem.

De um modo geral a produção de matéria seca pelo feijoeiro foi baixa, o que concorda com os resultados obtidos por FERREIRA (1987), em experimentos com feijão sob condições de cultivo semelhantes, observando o efeito prejudicial da temperatura elevada da casa de vegetação sobre o desenvolvimento das plantas.

Não houve diferenças significativas devido à inoculação com fungos MVA nas diferentes épocas estudadas, com exceção do tratamento com *Gigaspora margarita* em relação ao não inoculado, aos 58 dias do plantio, quando foi máxima a produção de matéria seca da parte aérea do feijoeiro. Na amostragem posterior

(79 dias), essa diferença não foi mantida. Estes resultados concordam com os resultados obtidos por PARADA (1984), que observou uma produção de matéria seca máxima aos 50 dias. Nesta época a planta apresenta um melhor desenvolvimento vegetativo, sendo ainda esta fase do ciclo do feijoeiro, marcada pelo início do enchimento e maturação das vagens (VIEIRA, 1978).

O período de máxima absorção de nutrientes da cultura do feijoeiro corresponde ao período de máximo acúmulo diário de matéria seca, entre 40 e 55 dias, durante o florescimento (ROSOLEM, 1987). Isto sugere que uma melhor exploração dos nutrientes do solo, como resultado da simbiose MVAxLEGUMINOSA, possa favorecer um melhor desenvolvimento da planta nesta época do ciclo, como pode ser observado neste experimento, aos 58 dias, que sempre na presença de MVA, foi maior a produção da matéria seca, em relação ao tratamento sem inoculação (Tabela 1).

O fato de que o fungo simbiote *Gigaspora margarita*, tenha sido o melhor para a produção de matéria seca, ao 58 dias de cultivo, poderia estar relacionado a maior resistência às elevadas temperaturas da Casa de Vegetação, durante o cultivo, em relação aos fungos *Acaulospora morrowae* e *Scutellospora heterogama*, sendo semelhante apenas a colonização por *Glomus macrocarpum* (Figura 2).

Tabela 1 - Produção de matéria seca (parte aérea e vagem) em *Phaseolus vulgaris* durante o ciclo vegetativo, para quatro épocas de amostragem (14, 36, 58 e 79 dias). Médias de 4 repetições.

TRATAMENTO	DIAS APÓS O PLANTIO				
	PARTE AÉREA				VAGEM
	14	36	58	79	79
	g/planta				
Não inoculado	0,16	0,73	1,81b ¹	1,05	2,08
<i>Acaulospora morrowae</i>	0,15	0,60	2,52ab	1,14	2,09
<i>Glomus macrocarpum</i>	0,14	0,85	2,10ab	1,05	1,91
<i>Gigaspora margarita</i>	0,15	0,76	2,78a	1,22	2,20
<i>Scutellospora heterogama</i>	0,16	0,74	2,20ab	1,17	2,31
DMS	-	-	0,90	-	-
CV (%)	12,7	17,2	18,2	10,8	14,9

1 - Medidas seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p = .05$).

Diferenças no estabelecimento dos simbioss em relação a época de inoculação e colonização das raízes, influenciando no desenvolvimento das plantas, também foram observadas por BETHLENFALVAY et alii (1985) em soja inoculada com *Glomus mosseae*.

Todavia, este efeito de promover um melhor crescimento vegetativo da cultura não foi mantido até o final do ciclo (79 dias), provavelmente porque boa parte da produção de fotossintatos da planta teria sido enviado para a produção de vagens, ao mesmo tempo que o sistema radicular da planta começaria a se degenerar, estabelecendo-se assim, uma competição por carboidratos disponíveis entre a planta e o simbiote, conforme o que também foi observado por SIVAPRASAD e RAI (1985) em *Cajanus cajan*; BETHLENFALVAY et alii (1985) em soja e SIQUEIRA e COLOZZI-Filho (1986) em café.

4.1.2. ACÚMULO DE N, P E S NA PLANTA

De modo geral, as diferenças entre tratamento somente puderam ser observadas no período vegetativo das plantas, não ocorrendo aumentos no acúmulo dos nutrientes na vagem (Tabelas 2, 3 e 4).

Somente foram observadas diferenças no acúmulo de N na parte aérea da planta devido aos tratamentos de inoculação (Tabela

2). Quanto ao P e S, os dados obtidos mostram que estes dois parâmetros não foram influenciados pela inoculação de MVA (Tabelas 3 e 4).

De acordo com MALAVOLTA et alii (1974), um feijoeiro adequadamente nutrido apresenta 0,36% de P nas folhas, enquanto que um feijoeiro deficiente em P possui 0,13%. Desta forma, pode-se constatar que estas plantas apresentaram, conteúdo deficiente, em média 0,19% de P aos 58 dias de seu período vegetativo.

Estes resultados discordam dos encontrados por FERREIRA (1987), que observou deficiência de P apenas nas plantas de feijão não inoculados com fungos micorrízicos.

Provavelmente, o uso de um substrato não esterilizado neste experimento, permitiu a livre competição por exudados das raízes do feijão na rizosfera, especialmente entre as espécies de fungos nativos do solo utilizado.

A competição entre espécies de fungos micorrízicos vesicular-arbusculares, no córtex das raízes das plantas, depende do grau de fertilidade do solo e da capacidade competitiva entre as diferentes espécies. Se o teor de fertilidade do solo for suficientemente alto, duas ou mais espécies podem coexistir em diferentes regiões da raiz (JANOS, 1985) ou representar um investimento sem retorno para a planta (STRIBLEY et alii, 1980; BUWALDA e GOH, 1982; PAUL et alii 1985 e SIQUEIRA, 1987).

Tabela 2 - Acúmulo de nitrogênio, na parte aérea e vagem, em *Phaseolus vulgaris*, durante o ciclo vegetativo, para as quatro épocas de amostragem (14, 36, 58 e 79 dias). Média de 4 repetições.

TRATAMENTO	DIAS APÓS PLANTIO				
	PARTE AÉREA				VAGEM
	14	36	58	79	79
	- - - - - mg/planta - - - - -				
Não inoculado	6,8a ¹	19,0b	38,1bc	13,9c	40,87
<i>Acaulospora marrowae</i>	3,9b	15,2b	34,3c	44,5a	51,36
<i>Glomus macrocarpum</i>	3,2bc	12,2b	85,7a	26,1b	47,96
<i>Gigaspora margarita</i>	2,1c	34,1a	66,2ab	27,7b	51,88
<i>Scutellospora heterogama</i>	7,0a	17,3b	53,6bc	19,2c	36,73
DMS	1,15	10,23	31,1	8,67	-
	11,5	24,0	25,6	15,4	19,9

1 - Medidas seguidas das mesmas letras não diferem entre pelo teste de Tukey ($p = .05$).

Tabela 3 - Acúmulo de fósforo, na parte aérea e vagem, em *Phaseolus vulgaris*, durante o ciclo vegetativo, para as quatro épocas de amostragem (14, 36, 58 e 79 dias). Média de 4 repetições.

TRATAMENTO	DIAS APÓS PLANTIO				
	PARTE AÉREA				VAGEM
	14	36	58	79	79
	----- mg/planta -----				
Não inoculado	0,79	1,54	3,50	1,36	5,48
<i>Acaulospora morrowae</i>	0,80	1,41	4,47	1,41	5,46
<i>Glomus macrocarpum</i>	0,82	1,77	4,12	1,37	5,20
<i>Gigaspora margarita</i>	0,70	1,56	4,50	1,37	5,07
<i>Scutellospora heterogama</i>	0,70	1,53	4,35	1,41	5,21
CV (%)	12,3	21,2	20,1	12,9	16,5

Tabela 4 - Acúmulo de enxofre, na parte aérea e vagem, em *Phaseolus vulgaris*, durante o ciclo vegetativo, para as quatro épocas de amostragem (14, 36, 58 e 79 dias). Médias de 4 repetições.

TRATAMENTO	DIAS APÓS PLANTIO				
	PARTE AÉREA				VAGEM
	14	36	58	79	79
	- - - - - mg/planta - - - - -				
Não inoculado	0,98	2,61	5,51	3,46	4,92
<i>Acaulospora morrowae</i>	0,99	2,03	6,07	2,95	4,92
<i>Glomus macrocarpum</i>	0,99	2,97	5,64	2,90	4,49
<i>Gigaspora margarita</i>	0,99	2,62	6,69	2,80	4,70
<i>Scutellospora heterogama</i>	0,99	2,46	5,91	3,82	3,91
CV(%)	12,8	20,5	26,5	49,2	29,6

Na Tabela 2, pode-se observar que apesar das diferenças terem sido constatadas já aos 14 dias no acúmulo de N, os maiores contrastes foram obtidos após este período, principalmente entre 58 e 79 dias. Isto concorda com os resultados obtidos por BETHLENFALVAY et alii (1985) que encontraram uma maior concentração de N em plantas de soja inoculadas com *Glomus mosseae*, logo após 20 dias de crescimento vegetativo, sugerindo uma interação positiva entre a atividade do endófito e a aquisição de N pela associação.

Aos 58 dias, *Glomus macrocarpum* superou os demais tratamentos, acumulando mais que o dobro da quantidade de N na parte aérea (85,7 mg/planta), em relação ao controle. Não houve porém, correspondência entre tratamentos aos 79 dias, quando *Acaulospora morrowae* foi o melhor entre os demais, superando inclusive *Glomus macrocarpum* (Tabela 2).

Quanto a utilização do S do fertilizante (Tabela 5), observa-se uma tendência de melhor aproveitamento de S nos tratamentos com *Scutellospora heterogama* em relação ao não inoculado, aos 58 dias do ciclo vegetativo da planta, apesar da diferença não ter sido estatisticamente significativa.

Em geral, o aproveitamento do nutriente (SDF%) foi relativamente baixo, para todos os tratamentos com média de 30% para a planta toda no final do ciclo.

Tabela 5 - Influência da inoculação de fungos MVA no ^{35}S , na parte aérea e vagem em *Phaseolus vulgaris*, derivado do fertilizante (SDF) e na eficiência de utilização do fertilizante (EUF), para três épocas de amostragens (36, 58 e 79 dias). Média de 4 repetições.

TRATAMENTO	DIAS APÓS PLANTIO									
	PARTE AÉREA					VAGEM				
	36	58	79	36	58	79	36	58	79	79
	- - - - -	-SDF(%) -	- - -	- - -	-EUF(%) -	- - -	-SDF(%) -	- - -	-EUF(%) -	-
Não inoculado	33,3	29,5	22,4	11,6	22,1	9,8	31,3	19,5	19,5	
<i>Acaulospora morrowae</i>	39,4	34,7	27,2	10,8	27,5	10,3	31,9	20,9	20,9	
<i>Glomus macrocarpum</i>	33,7	31,2	27,3	13,4	22,3	10,5	33,0	19,2	19,2	
<i>Gigaspora margarita</i>	37,9	31,5	24,2	13,2	28,2	9,1	32,8	19,8	19,8	
<i>Scutellospora heterogama</i>	39,4	32,0	22,7	12,7	30,0	9,5	41,0	21,2	21,2	
CV (%)	12,7	16,4	20,4	22,7	23,3	31,8	13,9	21,9	21,9	

As leguminosas exigem quantidades bastante elevadas de enxofre, para o seu perfeito desenvolvimento (WERNE, 1986). A absorção do enxofre é relativamente alta aos 25 dias, mas o período de maior absorção também ocorre no final do florescimento e no início da formação de vagens (GALLO e MIYASAKA, 1961).

Um bom efeito na produção de feijão vem sendo encontrado com a aplicação de enxofre juntamente com uma mistura de micronutrientes (VITTI et alii, 1982). Segundo ROBSON (1978), embora o enxofre seja um dos componentes da nitrogenase, o requerimento deste elemento pela planta pode favorecer o crescimento e o acúmulo de P e N na parte aérea.

Embora, o efeito citado acima não tenha sido observado para o tratamento com *Scutellospora heterogama*, onde ocorreu uma maior absorção do enxofre do fertilizante, é sabido que a micorriza promove um melhor aproveitamento de nutrientes do solo, favorecendo maior desenvolvimento da cultura em relação a tratamentos sem a inoculação de MVA.

GRAY e GERDEMANN (1973), estudando a absorção de enxofre marcado (^{35}S) em trevo e milho, inoculados com *Glomus mosseae*, observaram uma maior eficiência de utilização do enxofre (EUF) nos tratamentos inoculados, com uma contagem de 1779 cpm/mg peso de matéria seca em relação ao tratamento sem inoculação com 251 cpm/mg peso de matéria seca, significativo a 0,01%.

4.1.3. ACÚMULO DE N E INFECÇÃO MICORRÍZICA

As Figuras 1 e 2 mostram o acúmulo de N e a infecção micorrízica em cada tratamento inoculado e não inoculado durante o crescimento do feijoeiro.

Apesar dos acúmulos de N, nos tratamentos inoculados, serem crescentes para os fungos *Acaulospora morrowae* (Tabela 2), não observou-se variação correspondente, quanto à infecção micorrízica entre os tratamentos.

Observa-se uma baixa expressão de *Scutellospora heterogama*, no final do ciclo, no acúmulo de N, podendo ser atribuído em parte à sua baixa eficiência (Figura 1).

Nem sempre o fungo micorrízico, que se mostra mais eficiente com relação ao crescimento, produção, absorção de nutrientes, nodulação e fixação de N_2 apresenta maior porcentagem de infecção nas raízes (PARADA, 1984).

As diferenças dos níveis de infecção são dependentes principalmente do tipo de solo, e também influenciadas pela espécie de fungo inoculada (MOSSE, 1972, SAITO et alii, 1982).

A eficiência da micorriza, na absorção de nutrientes para as plantas, depende de fatores como a capacidade da planta em interagir com o fungo e da eficiência do fungo em absorver P para a planta (GIANINAZZI-PEARSON, 1985).

A morfologia das raízes e susceptibilidade e infecção, taxa de crescimento da planta, mecanismos de absorção e reservas nutricionais das sementes são fatores que podem determinar maior ou menor grau de dependência da planta pela micorriza.

A infecção micorrízica em relação ao tratamento sem inoculação, parece ser uma condição favorável para que a planta aproveite melhor o nitrogênio. A Figura 2 mostra esta tendência com *Gigaspora margarita* e *Glomus macrocarpum*, que aparentemente foram capazes de infectar mais eficientemente as plantas, durante um período inicial de cultivo.

O nitrogênio é o nutriente absorvido em maior quantidade pela planta, principalmente nos primeiros 50 dias de desenvolvimento vegetativo (ROSOLEM, 1987), constatando-se uma necessidade máxima de N após o florescimento (FRANCO et alii, 1979), o que culmina com o período de maior fixação do nitrogênio pelo sistema simbiótico *Rhizobium* x leguminosa, sendo o elemento, transportado preferencialmente para as vagens (HUNGRIA et alii, 1985).

O potencial de crescimento da planta e a fixa-

○ INFEÇÃO MICORRÍZICA NAS RAÍZES

● ACÚMULO DE N NA PLANTA

--- INOCULADA COM FUNGO

— NÃO INOCULADA

Figura 1 - Colonização micorrízica e absorção de N na parte aérea em *Phaseolus vulgaris*, inoculado com fungos MVA, aos 14, 36, 58 e 79 dias após o plantio.

○ INFECÇÃO MICORRÍZICA NAS RAÍZES

● ACÚMULO DE N NA PLANTA

---- INOCULADA COM FUNGO

— NÃO INOCULADA

Figura 2 - Colonização micorrízica e absorção de N em *Phaseolus vulgaris*, inoculado com fungos MVA, aos 14, 36, 58 e 79 dias após plantio.

ção simbiótica de N_2 , não podem ser realizada na ausência completa de fontes de N-mineral. O N do solo (nitrato), constitui um nutriente essencial, que possibilita o estabelecimento de uma planta vigorosa durante os primeiros estádios de crescimento (FONSECA, 1985).

Desta forma, a micorriza possibilita o suprimento necessário de nitrogênio que provavelmente, vem a ser um fator bastante crítico para o desenvolvimento da planta (BROWN et alii, 1981),

4.2. EXPERIMENTO 2: EFEITO DE NÍVEIS DE N EM FEIJOEIRO INOCULADO COM FUNGOS MVA

4.2.1. PRODUÇÃO DE MATÉRIA SECA E DE VAGENS

Os dados referentes à produção de matéria seca na parte aérea e vagens estão mostrados nas tabelas 6 e 7. Não houve efeito das diferentes doses de N estudadas e da inoculação, neste parâmetro. Constatou-se apenas uma tendência para maior produção de matéria seca da parte aérea na dose de 28 ppm, exceto para o tratamento com *S. heterogama*, o mesmo ocorrendo para produção de vagem. Ainda para esta dose de 28 ppm de N, os tratamentos inoculados propiciaram uma maior produção de vagens, em relação ao controle, apesar destas observações não se-

rem comprovadas estatisticamente.

A dose de 56 ppm de N foi prejudicial em relação a dose de 28 ppm de N, para a produção de vagens.

É sabido que, determinadas doses de nitrogênio diminuem a nodulação e prejudicam o estabelecimento da micorriza, afetando o desenvolvimento da planta, entretanto, este efeito depende muito do hospedeiro (MOSSE, 1981; AMES et alii, 1984).

BROWN et alii (1981), constataram uma menor eficiência de absorção do adubo nitrogenado em plantas de sorgo inoculadas com fungos MVA, para tratamentos com baixo nível de nitrogênio (140 ppm), observando ainda, que um ótimo nível de crescimento das plantas foi obtido na dose de 560 ppm de N.

VIEIRA (1978), estudando 38 variedades de feijão, observou que o nitrogênio, quando em doses elevadas (42 ppm), prejudicou o desenvolvimento das plantas, isto confirma a tendência observada neste experimento, constatando-se uma menor produção de vagens e desenvolvimento das plantas na dose de 56 ppm de N.

A necessidade máxima de N em feijão ocorre após o florescimento, sendo interessante a idéia do parcelamento das aplicações do adubo, estimulando assim o estabelecimento dos sistemas simbióticos nas raízes das plantas (SAITO e RUSCHEL, 1980).

Desta forma é desejável a utilização de doses baixas de N mineral, que além de nutrir a planta, ativam os sistemas simbióticos e sua longevidade (FONSECA, 1985).

Tabela 6 - Produção de matéria seca da parte aérea em *Phaseolus vulgaris*, para as diferentes doses de N-mineral estudadas (0, 7, 14, 28 e 56 N/kg de solo). Média de 3 repetições.

TRATAMENTO	DOSES DE N (mg/kg SOLO)				
	0	7	14	28	56
	----- g/planta -----				
Não inoculado	1,16	1,34	1,42	1,59	1,44
<i>Acaulospora morrowae</i>	1,29	1,10	1,28	1,35	1,71
<i>Glomus macrocarpum</i>	1,27	1,19	1,18	1,66	1,67
<i>Gigaspora margarita</i>	1,29	1,45	1,31	1,67	1,21
<i>Scutellospora heterogama</i>	1,27	1,57	1,36	1,17	1,58
CV (%)	26,7	27,2	19,8	21,6	33,2

Tabela 7 - Produção de matéria seca de vagem em *Phaseolus vulgaris*, para as diferentes doses de N-mineral estudadas (0, 7, 14, 28 e 56 mg N/kg de solo). Média de 3 repetições.

TRATAMENTO	DOSES DE N-MINERAL (mg N/kg SOLO)				
	0	7	14	28	56
	----- g/planta -----				
Não inoculado	2,56	1,67	2,91	4,14	2,34
<i>Acaulospora morrowae</i>	1,93	1,67	2,51	7,31	2,44
<i>Glomus macrocarpum</i>	2,09	2,22	1,84	8,37	1,99
<i>Gigaspora margarita</i>	2,31	1,45	2,18	8,23	1,29
<i>Scutellospora heterogama</i>	1,79	1,57	2,68	5,35	2,07
CV (%)	30,0	48,3	27,5	37,1	40,3

4.2.2. ACÚMULO DE N E P NA PLANTA

Não foram observadas diferenças no acúmulo de N na parte aérea da planta, devido aos tratamentos (Tabela 8), mas fica bem evidente um maior acúmulo de N nas plantas dos tratamentos de inoculação em relação ao tratamento sem inoculação na dose 0.

Com relação ao P, de acordo com os dados obtidos, observou-se que também este parâmetro não foi influenciado pela inoculação dos fungos micorrízicos vesicular-arbusculares (Tabela 9); entretanto, pode-se observar uma tendência de melhor acúmulo de P nas doses 0, 14 e 56, para os tratamentos inoculados, em relação ao tratamento sem inoculação, acentuando-se este efeito na dose de 28 ppm de N, apesar destas diferenças não terem sido estatisticamente significativas.

De acordo com AMES et alii (1983), o transporte de N superior para as plantas micorrizadas, em relação às não micorrizadas, depende do teor de N do solo.

Provavelmente este fato explique a tendência de maior acúmulo de nutrientes das plantas inoculadas, nas doses mais baixas de adubação nitrogenada, em relação a uma dose mais elevada de 58 ppm de N.

FONSECA (1985), estudando 4 variedades de feijão sob diferentes doses de nitrogênio, constatou que doses acima de 24 ppm de N no solo não deveriam ser recomendadas para esta cultura, levando em consideração a fixação biológica do N_2 .

Tabela 8 - Acúmulo de N na parte aérea em *Phaseolus vulgaris*, para as diferentes doses de N-mineral estudadas (0, 7, 14, 28 e 56 mg N/kg de solo). Média de 3 repetições.

TRATAMENTO	DOSES DE N-MINERAL (mg N/kg SOLO)				
	0	7	14	28	N56
	----- mg/planta -----				
Não inoculado	10,58	21,71	21,97	24,14	24,02
<i>Acaulospora morrowae</i>	14,47	18,44	19,66	21,62	27,04
<i>Glomus macrocarpum</i>	13,84	18,86	21,11	26,68	23,93
<i>Gigaspora margarita</i>	13,51	21,83	18,69	25,67	21,06
<i>Scutellospora heterogama</i>	13,25	22,09	21,96	19,82	23,03
CV (%)	25,2	24,4	20,4	20,2	35,6

Tabela 9 - Acúmulo de P na parte aérea em *Phaseolus vulgaris*, para as diferentes doses de N-mineral estudadas (0, 7, 14, 28 e 56 mg N/kg de solo). Média de 3 repetições.

TRATAMENTO	DOSES DE N-MINERAL (mg N/kg SOLO)				
	0	7	14	28	56
	----- mg/planta -----				
Não inoculado	1,36	1,65	1,56	1,46	2,18
<i>Acaulospora morrowae</i>	1,76	1,43	1,80	1,88	2,77
<i>Glomus macrocarpum</i>	1,39	1,57	1,83	2,92	2,71
<i>Gigaspora margarita</i>	1,56	1,60	1,78	2,44	2,19
<i>Scutellospora heterogama</i>	1,52	1,80	2,09	1,73	2,21
CV (%)	34,1	28,8	24,4	33,7	39,4

4.2.3. ACÚMULO DE N E P NAS VAGENS

Também não foram observadas diferenças no acúmulo de N e P nas vagens (Tabelas 10 e 11), entretanto, apenas uma tendência de maior concentração de N e P para a dose de 28 ppm de N, nos tratamentos inoculados. O tratamento com *Glomus macrocarpum* apresentou o menor acúmulo de P na dose de 56 ppm de N, embora não haja diferença significativa entre os tratamentos.

O sistema simbiótico, leguminosa x fungo micorrízico possibilita adequadamente o suprimento necessário de nutrientes para a planta, sendo a disponibilidade de Nitrogênio, provavelmente o fator mais crítico para o estabelecimento e o desenvolvimento do sistema (BROWN et alii, 1981).

Plantas de sorgo inoculadas com MVA e adubadas com 3 doses de ^{15}N , cresceram melhor, quando a dose aplicada de adubo nitrogenado foi média, correspondente a 30ppm (AMES et alii, 1984).

4.2.4. FIXAÇÃO DE N_2 E UTILIZAÇÃO DE N-FERTILIZANTE (NDN_2 , NDF E EUF)

Pelo método da diluição isotópica, pode-se determinar a porcentagem de N na planta derivada da fixação de N_2 atmosférico (NDN_2) e aquela derivada do fertilizante (NDF) - Tabela 12.

Tabela 10 - Acúmulo de N na vagem em *Phaseolus vulgaris*, para as diferentes doses de N-mineral estudadas (0, 7, 14, 28 e 56 mg N/kg de solo). Média de 3 repetições.

TRATAMENTO	DOSES DE N-MINERAL (mg N/kg SOLO)				
	0	7	14	28	56
	----- mg/planta -----				
Não inoculado	51,1	36,6	76,6	44,2	24,0
<i>Acaulospora morrowae</i>	56,1	38,1	58,0	57,7	27,5
<i>Glomus macrocarpum</i>	42,6	53,5	40,4	61,0	23,9
<i>Gigaspora margarita</i>	44,3	38,1	43,8	66,8	21,0
<i>Scutellospora heterogama</i>	25,8	39,7	54,1	43,6	23,0
CV (%)	40,6	44,1	27,3	37,2	35,6

Tabela 11 - Acúmulo de P na vagem em *Phaseolus vulgaris*, para as diferentes doses de N-mineral estudadas (0, 7, 14, 28 e 56 mg N/kg de solo). Média de 3 repetições.

TRATAMENTO	DOSE DE N-MINERAL (mg N/kg SOLO)				
	0	7	14	28	56
	----- mg/planta -----				
Não inoculado	6,18	6,08	4,76	4,14	7,08
<i>Acaulospora morrowae</i>	4,84	6,16	4,38	7,31	7,55
<i>Glomus macrocarpum</i>	4,81	4,27	6,27	8,37	2,27
<i>Gigaspora margarita</i>	5,63	5,44	4,90	8,23	4,24
<i>Scutellospora heterogama</i>	4,72	6,84	4,12	5,35	5,24
CV (%)	30,4	29,7	52,8	34,8	35,8

Observou-se que na dose de 7 ppm de N, a porcentagem de N na planta deve-se a fixação do N_2 , em sua maior parte, o que também pode ser notado nas doses de 14 e 28 ppm de N. Entretanto, na dose de 56 ppm de N houve uma igualdade entre o N derivado da fixação e aquele derivado do fertilizante. Com relação a este parâmetro não houve efeito de inoculação de fungos MVA.

Para o NDF a inoculação com fungos MVA não propiciou nenhuma diferença, para o acúmulo de N proveniente desta fonte em relação ao controle, nas doses de 7, 14 e 56 ppm de N. No entanto, na dose de 28 ppm de N, a presença de fungos MVA possibilitou maior acúmulo de NDF, mas apenas o tratamento inoculado com *G. macrocarpum*, foi estatisticamente diferente em relação ao controle.

Não se constatou diferenças entre os tratamentos para a porcentagem de recuperação na vagem do N proveniente do fertilizante (EUF%), Tabela 13, para nenhuma das doses de N-mineral estudadas.

PARADA (1984), pela determinação indireta do N absorvido por feijoeiro inoculado com fungos micorrízicos, constatou que o N total absorvido foi significativamente maior na presença do fungo, com o seu valor máximo de absorção na fase de início do enchimento e maturação de grãos.

De acordo com WESTERMAN et alii (1981), algumas associações simbióticas podem suprir suficientemente o N, ou através da fixação biológica ou de uma melhor assimilação do solo, a fim de que a planta atinja seu potencial genético de produção no campo.

Tabela 12 - Porcentagem de N na planta derivada da fixação de N_2 (NDN₂) e do fertilizante (NDF) em *Phaseolus vulgaris*, para as diferentes doses de N-mineral estudadas (7, 14, 28 e 56 mg N/kg solo). Média de 3 repetições.

TRATAMENTO	DOSES DE NITROGÊNIO (mg N/kg solo)							
	7		14		28		56	
	NDN ₂	NDF	NDN ₂	NDF	NDN ₂	NDF	NDN ₂	NDF
Não inoculado	86,6	3,0	79,1	6,1	77,3	10,3b ¹	42,2	39,4
<i>Acaulospora morrowae</i>	87,3	2,9	73,5	7,7	68,9	19,2ab	41,0	40,5
<i>Glomus macrocarpum</i>	86,2	3,0	73,7	7,8	67,5	20,2a	22,5	51,9
<i>Gigaspora margarita</i>	85,1	3,3	73,0	8,0	73,0	16,6ab	32,5	46,7
<i>Scutellospora heterogama</i>	83,6	3,6	69,5	9,1	67,5	16,6ab	36,3	43,7
DMS (TUKEY 5%)	-	-	-	-	-	9,47	-	-
CV (%)	5,1	31,5	7,7	21,5	5,2	21,3	44,0	23,1

1 - Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (p = ,05)

Tabela 13 - Porcentagem de Nitrogênio proveniente do fertilizante (EUF) observado em vagens de *Phaseolus vulgaris*, inoculadas ou não com fungos micorrízicos e adubado com doses crescentes de nitrogênio (7, 14, 28 e 56 mg N/kg solo). Média de 3 repetições.

TRATAMENTO	DOSES DE NITROGÊNIO (mg N/kg SOLO)			
	7	14	28	56
	----- % -----			
Não inoculado	18,4	28,1	28,2	33,1
<i>Acaulospora morrowae</i>	15,1	27,9	33,4	36,1
<i>Glomus macrocarpum</i>	19,7	22,9	38,8	40,4
<i>Gigaspora margarita</i>	19,5	25,1	33,8	31,6
<i>Scutellospora heterogama</i>	20,8	32,0	27,5	33,2
CV (%)	49,2	31,2	30,2	34,6

4.2.5. FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO N_2 (FBN)

Através da determinação da porcentagem de N derivado da fixação biológica, baseada no método por diluição isotópica de ^{15}N , segundo FRIED e MIDDELBOE (1977), calculou-se os valores de N na planta (kg N/ha) proveniente da FBN. Pode-se observar que a fixação de N_2 pelo sistema simbiótica foi relativamente menor na dose de 56 ppm de N, não constatando-se efeito dos tratamentos de inoculação, para nenhuma das doses (Tabela 14).

FONSECA (1985) observou que a variedade feijão Carioca foi a que apresentou um maior potencial de fixação de N_2 (74%) entretanto, foi a que apresentou menor aproveitamento de nitrogênio mineral do solo, sendo ainda inibida a fixação de N_2 a partir da dose de 24 ppm de N.

Estudos sobre o efeito da inoculação de fungos endomicorrízicos v.as em feijoeiro, demonstraram que MVA favorece a fixação de N_2 das leguminosas, tornando-as capazes de utilizar o N absorvido dependendo também do teor de outros nutrientes disponíveis no solo, como o P, que poderá afetar a fixação biológica do nitrogênio (FERREIRA, 1987).

Tabela 14 - Estimativa da fixação biológica do nitrogênio (kg N/ha) pelo método da diluição isotópica com trigo, em *Phaseolus vulgaris*, para as diferentes doses de N-mineral estudadas (7, 14, 28 e 56 mg N/kg solo). Médias de 3 repetições.

TRATAMENTO	DOSES DE N-MINERAL (mg N/kg SOLO)			
	7	14	28	56
	----- kg N/ha -----			
Não inoculado	12,32	19,50	13,08	8,04
<i>Acaulospora morrowae</i>	12,29	14,31	13,46	7,55
<i>Glomus macrocarpum</i>	15,66	11,18	14,54	4,24
<i>Gigaspora margarita</i>	12,88	11,02	16,68	4,57
<i>Scutellospora heterogama</i>	12,89	13,14	10,61	5,34
CV (%)	34,9	22,4	34,4	61,6

4.2.6. INFECÇÃO MICORRÍZICA EM PRESENÇA DE N-MINERAL

Constatou-se uma boa colonização micorrízica do feijoeiro independentemente da dose de N aplicada e dos diferentes tratamentos de inoculação (Tabela 15), entretanto pode-se notar que na dose de 28 ppm de N, todos os tratamentos inoculados apresentaram uma porcentagem de infecção superior ao controle (42,5%), em contraposição ao que foi observado nas doses 0 e 56 ppm de N, onde todos os tratamentos de inoculação apresentaram menor porcentagem de infecção das raízes em relação ao controle (66,6 e 72,3% respectivamente).

PARADA (1984) constatou máxima porcentagem de infecção aos 50 dias do ciclo vegetativo do feijoeiro, independentemente da dose de P estudada, aumentando a esporulação no final do ciclo, onde provavelmente há um começo do processo degenerativo do sistema radicular da planta, acompanhado por uma baixa atividade fotossintética da mesma, prejudicando a longevidade do sistema simbiótico (VIEIRA, 1978; BAGYARAJ et alii, 1979; BETHLENFALVAY et alii, 1985; SIVAPRASAD e RAI, 1985).

Por outro lado, nem sempre o fungo micorrízico, que mostra-se mais eficiente com relação ao desenvolvimento do hospedeiro, apresenta maior porcentagem de infecção do sistema radicular. (AZCON e OCAMPO, 1981; MIRANDA, 1982).

Tabela 15 - Porcentagem de infecção micorrizica nas raízes de *Phaseolus vulgaris*, para as diferentes doses de N-mineral estudadas, (0, 7, 14, 28 e 56 mg N/kg solo). Médias de 3 repetições.

Tratamento	DOSES DE N-MINERAL (mg N/kg SOLO)				
	0	7	14	28	56
	----- % -----				
Não inoculado	66,6	59,6	58,5	42,5	72,3
<i>Acaulospora morrowae</i>	61,5	42,5	65,9	62,9	55,7
<i>Glomus macrocarpum</i>	62,9	68,5	60,8	62,6	59,2
<i>Giaspora margarita</i>	61,5	53,6	49,5	65,3	50,0
<i>Scutellospora heterogama</i>	56,4	62,3	47,9	46,3	45,3
CV (%)	18,3	27,5	27,9	19,4	20,5

5. CONCLUSÕES

Mediante as condições específicas em que foram conduzidos os 2 experimentos e com base nos resultados obtidos, concluiu-se que:

a) *Gigaspora margarita* propiciou uma máxima produção de matéria seca, aos 58 dias ciclo da cultura;

b) A presença dos fungos micorrízicos inoculados, favoreceu o acúmulo de N, na parte aérea, mas não influenciaram no acúmulo de P e S;

c) A inoculação de *Glomus macrocarpum*, superou os demais tratamentos, proporcionando um acúmulo duas vezes superior de N na parte aérea da planta aos 58 dias;

d) No geral, o aproveitamento de nutrientes foi baixo, para todos os tratamentos;

e) A inoculação de fungos MVA não influenciou na absorção do ^{35}S ;

f) Não houve efeito das doses de N estudadas sobre a produção de matéria seca da parte aérea e vagens;

g) Nas doses de 7, 14 e 28 ppm de N, a porcentagem de N na planta deveu-se principalmente a fixação do N_2 atmosférico;

h) A inoculação com *Glomus macrocarpum* possibilitou maior acúmulo de NDF, na dose de 28 ppm de N;

i) Independentemente da dose N aplicada, ocorreu uma boa porcentagem de infecção micorrízica nas raízes do feijoeiro.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, L.K. & ROBSON, A.D. Infectivity and effectiveness of five endomycorrhizal fungi: Competition with indigenous fungi in field soils. Australian Journal of Agricultural Research, Melbourne, 32: 621-30, 1981.
- ALLEN, M.F.; SMITH, W.; MOORE, T.S. & CHRISTENSEN, M. Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Bouteloua gracilis*. New Phytologist, Oxford, 88: 683-93, 1981.
- AMES, R.N.; PORTER, L.K.; St JOHN, T.V. & REID, C.P.P. Nitrogen sources and "A" values for vesicular-arbuscular and non-mycorrhizal sorghum grown at three rates of ^{15}N -ammonium sulphate. New Phytologist, Oxford, 97: 269-76, 1984.
- AMES, R.N.; REID, C.P.P.; PORTER, L.K. & CAMBARDELLA, C. Hyphal uptake and transpor of nitrogen from two ^{15}N -labelled sources by *Glomus mosseae*, a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. New Phytologist, Oxford, 95: 381-96, 1983.

AVILAN ROVIRA, L.A. Estudos do sistema radicular do feijoeiro
(Phaseolus vulgaris L.) var. Carioca. Piracicaba, 1975,
86 p. [Doutorado ESALQ/USP].

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

BAGYARAJ, D.F.; MANJUNATH, A. & PATIL, R.B. Interaction
between a vesicular-arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium* and
their effects on soybean in the field. New Phytologist,
Oxford, 82: 141-45, 1979.

BARROW, J.B. & RONCADORI, R.W. Endomycorrhizal synthesis by
Gigaspora margarita in poinsetta. Abstracts third American
Cont. on Mycorrhizae, Georgia, p. 72, 1977.

BAYLIS, G.T.S. The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in
root systems derived from it. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.;
TINKER, P.B., ed. Endomycorrhizas. London, Academic Press,
1975. p. 373-89.

BETHLENFALVAY, G.J.; BROWN, M.S. & STAFFORD, A.E. *Glycine-Glomus-Rhizobium* symbiosis. II - Antagonistic effects between mycorrhizal colonization and nodulation. Plant Physiology, Lancaster, 79: 1054-58, 1985.

BETHLENFALVAY, G.J. & YODER, J.F. The *Glycine-Glomus-Rhizobium* symbiosis. I - Phosphorus effect on nitrogen fixation and mycorrhizal infection. Physiologia Plantarum, Copenhagen, 52: 141-45, 1981.

BOWEN, G.D. Physiological factors in infection and spread of VAM. In: NORTH AMERICAN CONFERENCE ON MYCORRHIZAE, 6., Bend, 1984. Proceedings, Oregon, Forest Research Laboratory, 1985. p. 181-84.

BOWEN, G.D. & SMITH, S.E. The effects of mycorrhizas on nitrogen uptake by plants. In: CLARK, F.E. & ROSSWALL, T., ed. Terrestrial Nitrogen Cycles. Stockholm, Ecoll. Bull. 33: 237-47, 1981.

BROWN, R.W.; SCHULTZ, R.C. & KORMANIK, P.P. Response of vesicular-arbuscular endomycorrhizal sweetgum seedlings to three nitrogen fertilizers. Forestry Science, 27(2): 413-20, 1981.

- BUWALDA, J.O. & GOH, K.M. Host-fungus competition for carbon as a cause of growth depressions in vesicular-arbuscular mycorrhizal ryegrass. Soil Biology & Biochemistry, Oxford, 14: 103-6, 1982.
- CARELLI, M.L.C.; FAHL, J.I. & TEIXEIRA, J.P.F. Efeito do nitrogênio no teor de proteína e composição em aminoácidos de sementes de feijão. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 16(6): 795-99, 1981.
- COBRA NETO, A.; ACCORSI, W.R. & MALAVOLTA, E. Estudos sobre a nutrição mineral do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) var. Roxinho. Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 28: 257-74, 1971.
- CORNET, F.; OTTO, C.; RINAUDO, G.; DIEM, H.G. & DOMMERGUES, Y. Nitrogen fixation by *Acacia holosericea* grown in field simulating conditions. Acta Oecologica, Oecologica Plantarum, 6(2): 211-18, 1985.
- DAFT, M.J. & EL-GIAHMI, A.A. Effect of Endogone mycorrhiza on plant growth. VII - Influence on infection on the growth and nodulation in french bean (*Phaseolus vulgaris*). New Phytologist, Oxford, 73: 1139-47, 1974.

- FERREIRA, R.M. Efeito da inoculação do fungo endomicorrízico *G. Leptotrichum* na absorção de P, fixação de N_2 e crescimento de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Piracicaba, 1987, 81 p. [Mestrado ESALQ/USP].
- FRANCO, A.A.; PEREIRA, J.C. & NEYRA, C.A. Seasonal patterns of nitrate reductase and nitrogenase activities in *Phaseolus vulgaris* L. Plant Physiology, Lancaster, 63: 421-24, 1979.
- FRIED, M. & MIDDELBOE, V. Measurement of amount of nitrogen fixed by a legume crop, Plant and soil, the Hague, 47: 713-15, 1977.
- FONSECA, S.M. Fixação biológica de N_2 e absorção de ^{15}N mineral em variedades de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Piracicaba, 1985, 108 p. [Mestrado ESALQ/USP].
- GALLO, J.R. & MIYASAKA, S. Composição química do feijoeiro e absorção de elementos nutritivos, do florescimento à maturação. Bragantia, Campinas, 20(40): 867-84, 1961.
- GERDEMANN, J.W. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. Annual Review Phytopathology, Palo Alto, 6: 397-418, 1968.

GIANINAZZI-PEARSON, V. Mycorrhizal effectiveness in phosphate nutrition: How, when and where? In: NORTH AMERICAN CONFERENCE ON MYCORRHIZAE, 6., Bend, 1984. Proceedings, Oregon, Forest Research Laboratory, 1985. p. 150-54.

GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V. & DEXHEIMER, J. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza. III - ultrastructural localization of acid and alkaline phosphatase in onion roots infected by *Glomus mosseae* (NICOL & GERD). New Phytologist, Oxford, 22, 127-32, 1979.

GIOVANNETTI, M.; BAGNOLI, G. & LEPORINI, C. Effect of increasing nitrogen concentrations on sporocarp production by *Glomus mosseae*. Micologia Italiana, 10(3): 25-28, 1981.

GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring V.A. mycorrhizal infection in roots. New Phytology, Oxford, 84: 489-500, 1980.

GRAY, L.E. & GERDEMANN, J.W. Uptake of sulphur - 35 by vesicular-arbuscular mycorrhizae. Plant and soil, The Hague, 39: 687-89, 1973.

HAAG, H.P.; MALAVOLTA, E.; GARGANTINI, H. & BLANCO, H.G. Absorção de nutrientes pela cultura do feijoeiro. Bragantia, Campinas, 26(30): 381-91, 1967.

HAYNES, R.J. Competitive aspects of the grass-legume association. Advances in Agronomy, New York, 33: 227-61, 1980.

HUNGRIA, M.; NEVES, M.C.P. & VICTORIA, R.L. Assimilação do nitrogênio pelo feijoeiro. II - Absorção e translocação do N mineral e do N₂ fixado. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 9(3): 201-9, 1985.

IGUE, T. Interações em grupos de experimentos de adubação do feijoeiro com N, P e K, seguindo o esquema fatorial 3x3x3. Piracicaba, 1968, 81 p. [Mestrado ESALQ/USP].

JANOS, D.P. Mycorrhizal fungi: Agents or symptoms of tropical community composition? In: NORTH AMERICAN CONFERENCE ON MYCORRHIZAE, 6., Bend, 1984. Proceedings, Oregon, Forest Research Laboratory, 1985. p. 98-103.

LOPES, E.S.; SIQUEIRA, J.O. & ZAMBOLIM, L. Revisão de Literatura - Caracterização das micorrizas vesicular-arbusculares (MVA) e seus efeitos no crescimento das plantas. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 7(1): 1-19, 1983.

- MALAVOLTA, E. Estudos químicos agrícolas sobre o enxôfre. Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 9: 40-130, 1953.
- 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. 752 p.
- MARTINS, E.C.S. & SAITO, S.M.T. Contribuição de micorriza VA no desenvolvimento e fixação de N_2 em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 1, Lavras, 1985. Anais, Lavras, FAEPE, 1986. p. 159.
- MIRANDA, J.C.C. Influência de fungos endomicorrízicos inoculados a campo, na cultura de sorgo e soja, em um solo sob cerrado. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 6: 19-23, 1982.
- MOSSE, B. Vesicular arbuscular mycorrhizas: An extreme form of fungal adaptation. In: NUTMAN, P.S. & MOSSE, B., ed. Symbiotic Associations, Symp. Soc. Gen. Microbiol., Cambridge University Press, 13: 146-70, 1963.

MOSSE, B. The influence of soil type and endogone strain on the growth of mycorrhizal plants in phosphate deficient soils. Review Ecology Biology Soil, 9: 529-36, 1972.

MOSSE, B. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. Annual Review Phythology, Palo Alto, 11: 171-96, 1973.

MOSSE, B. Vesicular-arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture. In: Research Bulletin (Hawaii Institute of Tropical Agriculture and Human Resources), 194: 5-82, 1981.

MOSSE, B. & CLARKE, C.A. Arable crops in U.K. Soils Rothamsted Repor for 1977, 1., p. 240-41, 1978.

NOGUEIRA, N.L.; SILVA, D.M.; SAITO, S.M.T. & MONTANHEIRO, M. N.S. Análise ao microscópio eletrônico dos efeitos do nitrogênio e da umidade do solo sobre o desenvolvimento do bacteróide em feijoeiro, estudo comparativo com a nodulação e atividade da nitrogenase. Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, 2(1): 50-6, 1980.

OCAMPO, J.A. Micorrizas VA I - Características generales. Anales de Edafologia y Agrobiologia, 30(1-2): 351-65, 1980.

OCAMPO, J.A. & HAYMAN, D.S. Effects of pesticides on mycorrhiza in field-grown barley, maize and potatoes. Transactions of the British Mycological Society, London, 72: 413-16, 1980.

PARADA, A. Efeito de fósforo e de micorriza vesículo-arbuscular no feijoeiro. Piracicaba, 1984, 138 p. [Mestrado ESALQ/USP].

PAUL, E.A.; HARRIS, D. & FREDEEN, A. Carbon flow in mycorrhizal plant associations. In: NORTH AMERICAN CONFERENCE ON MYCORRHIZAE, 6., Bend, 1984. Proceedings, Oregon, Forest Research Laboratory, 1985. p. 165-69.

RATNAYAKE, M.; LEONARD, R.T. & MENGE, J.A. Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. New Phytologist, Oxfordo, 81: 543-52, 1978.

RHODES, L.H. & GERDEMANN, J.W. Hyphal translocation and uptake of sulfur of vesicular-arbuscular mycorrhizae of onion. Soil Biology Biochemistry, Oxford, 10: 355-60, 1978.

ROBSON, A.D. Mineral nutrients limiting nitrogen fixation of legumes. In: ANDREW, C.S. & KAMPRATH, E.J. ed. Mineral nutrition of legumes in tropical and subtropical soils. Melbourne, CSIRO, 1978. p. 277-93.

ROSOLEM, C.A. Nutrição e adubação do feijoeiro. Piracicaba, Associação Brasileira para pesquisa de Potassa e Fosfato, 1987. 93 p. (Boletim nº 8).

RUSCHEL, A.P.; VOSE, P.B.; MATSUI, E.; VICTORIA, R.L. & SAITO, S.M.T. Field evaluation of N_2 -fixation and nitrogen utilization by *Phaseolus* bean varieties determined by ^{15}N isotope dilution. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 1., Goiânia, 1982. Anais, Goiânia, EMBRAPA-CNPAF, 1982. p. 217.

SAITO, S.M.T.; BONETTI, R.; URQUIACA, S. & VICTORIA, R.L. Nodulação e utilização de nitrogênio e fósforo em duas variedades de *Phaseolus vulgaris* sob déficit de água. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 1., Goiânia, 1982. Anais, Goiânia, EMBRAPA-CNPAF, 1982 p. 316.

SAITO, S.M.T. & RUSCHEL, A.P. Capacidade competitiva e sobrevivência no solo de uma estirpe de *Rhizobium phaseoli*, usadas como inoculante. Ciência e Cultura, São Paulo, 37(7): 888-92, 1980.

SCHENCK, N.C. & PÉREZ, Y. Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. INVAM, Gainesville, 1987. 245 p.

- SILVEIRA, A.P.D. da & CARDOSO, E.J.B.N. Influência do tipo de solo e do fungo micorrízico vesículo-arbuscular no desenvolvimento de três cultivares de feijão. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 11(1): 37-43, 1987.
- SIQUEIRA, J.O. Nutritional and edaphic factors affecting spore germination, germ tube growth and root colonization by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Gainesville, 1983. 124 p. [Ph Doctor - University of Florida].
- SIQUEIRA, J.O. Cultura axênica e monoxênica dos fungos micorrízicos vesículo-arbusculares. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 2., São Paulo, 1987, Resumos, São Paulo, 1987. p. 44-70.
- SIQUEIRA, J.O. & COLOZZI-FILHO, A. Micorrizas vesículo-arbusculares em mudas de cafeeiro. II - Efeito do fósforo no estabelecimento e funcionamento da simbiose. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 10(3): 207-11, 1986.
- SIQUEIRA, J.O.; HUBBELL, D.H. & VALLE, R.R. Effect of phosphorus on formation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 19: 1465-74, 1984.

SIQUEIRA, J.O. & PAULA, M.A. Efeito de micorrizas vesículo-arbusculares na nutrição e aproveitamento de fósforo pela soja em solo sob cerrado. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 10(2): 97-102, 1986.

SIVAPRASAD, P. & RAI, P.V. Photosynthesis and partitioning of photosynthate in VA mycorrhiza, *Rhizobium* and legume symbiosis. In: NORTH AMERICAN CONFERENCE ON MYCORRHIZAE, 6., Bend, 1984. Proceedings, Oregon, Forest Research Laboratory, 1985. p. 384.

SMITH, S.E.; NICHOLAS, D.J.D. & SMITH, F.A. Effect of early mycorrhizal infection on nodulation and nitrogen fixation in *Trifolium subterraneum* L. Australian Journal of Plant Physiology, Melbourne, 6: 305-316, 1979.

STRIBLEY, D.P. TINKER, P.B. & RAYNER, J.H. Internal phosphorus concentrations and carbon loss in plants infected by vesicular-arbuscular mycorrhiza. New Phytologist, Oxford, 86: 261-67, 1980.

ZAGATTO, E.A.G.; JACINTHO, A.O.; REIS, B.F.; KRUG, F.J.; BERGAMIN FILHO, H.; PESENDA, L.C.R.; MORTATTI, J. & GINÉ, M.F. Manual de análises de plantas e águas empregando sistemas de injeção em fluxo. Piracicaba, Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 1981. 45p.

ZAMBOLIM, L.; OLIVEIRA, A.A.R. & RIBEIRO, A.C. Efeito da infecção por fungos micorrízicos do tipo vesicular-arbuscular sobre o desenvolvimento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista Ceres, Viçosa, 32(181): 252-58, 1985.

WERNER, J.C. Factores do solo limitantes de fixação biológica do nitrogênio. In: REUNIÃO LATINO-AMERICANA SOBRE RHIZOBIUM, 2., Campinas, 1986. Anais, Campinas, 1986. p. 514-46.

WESTERMANN, D.T.; KLEINKOPF, G.E.; PORTER, L.K. & LEGGETT, G. E. Nitrogen sources for bean seed production. Agronomy Journal, Madison, 73(4): 660-64, 1981.

VEIGA, C.L. Potencial de utilização de nitrogênio na forma iônica e molecular, de cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Piracicaba, 1980, 118 p. [Doutorado ESALQ/USP],

VIEIRA, C. Cultura do feijão. Imprensa Universitária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1978. 146p.

VITTI, G.C.; FORNASIERI-FILHO, D.; FERREIRA, M.E.; RAGAZZI, D. & HING, L.T. Efeito de doses de gesso na cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista da Agricultura, Piracicaba, 57(3): 119-32, 1982.