MICORRIZAS VESICULARES-ARBUSCULARES EM CANA-DE-AÇÚCAR

FAUSTINO ANDREOLA

Orientadora: Profa. Dra. ELKE JURANDY BRAN NOGUEIRA CARDOSO

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

**PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Abril, 1982**

Aos meus pais,
e aos meus irmãos,

DEDICO.

A G R A D E C I M E N T O S

À Profa. Dra. Elke J.B.N. Cardoso, pela orientação, estímulo e amizade, que nos foram demonstrados.

À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" e aos seus Mestres.

À CAPES e à EMPASC, pela concessão da bolsa.

Ao Prof. Dr. Caio O.N. Cardoso e às colegas Rosa M. Valdebenito e Sueli S. Freitas, pelas sugestões, revisões do texto e amizade.

Ao Prof. Dr. Décio Barbin e à Profa. Clarice G.B. Demétrio, pela orientação nas análises estatísticas.

À Profa. Cleonice I. Biazus e aos Mestres do Departamento de Microbiologia e Parasitologia (UFPel), pelo estímulo e amizade.

Ao IAA/PLANALSUCAR, aos seus técnicos, em especial ao Engº Agrº Luiz Carlos F. da Silva, aos seus funcionários, pela oportunidade de trabalho que nos concederam e pelos trabalhos prestados.

À Biomédica Maria do Carmo R. Martinez, pelo carinho e estímulo.

Aos colegas, aos amigos e a outras pessoas que de alguma maneira contribuíram para que o trabalho fosse concluído, deixamos registrado o nosso profundo agradecimento.

Í N D I C E

	Página
RESUMO.....	vi
SUMMARY.....	viii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1. As associações micorrízicas.....	3
2.2. Biologia, distribuição e classificação das micorrizas vesiculares-arbusculares.....	5
2.3. Fisiologia das micorrizas vesiculares-arbus- culares.....	8
2.4. Efeito das micorrizas vesiculares-arbuscula- res sobre o desenvolvimento das plantas.....	10
2.5. Técnicas usadas em levantamentos ecológicos de micorrizas vesiculares-arbusculares.....	13
2.6. Fatores que influem no desenvolvimento das micorrizas vesiculares-arbusculares.....	14
2.6.1. Efeito da fertilidade do solo.....	14
2.6.2. Tipo e manejo de solos e culturas....	16
2.6.3. Fatores ambientais.....	20
2.7. Esterilização do solo.....	23
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1. Levantamento de campo.....	26
3.2. Experimentos em casa-de-vegetação.....	32

	Página
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
4.1. Levantamento de campo.....	37
4.2. Experimentos em casa-de-vegetação.....	50
5. CONCLUSÕES.....	58
6. LITERATURA CITADA.....	60
7. APÊNDICE.....	72

MICORRIZAS VESICULARES-ARBUSCULARES EM CANA-DE-AÇÚCAR

Autor: FAUSTINO ANDREOLA

Orientadora: PROFA. DRA. ELKE JURANDY BRAN
NOGUEIRA CARDOSO

RESUMO

Pesquisaram-se os fungos micorrízicos do tipo vesicular-arbuscular de ocorrência natural, associados às raízes de cana-de-açúcar, através de um levantamento qualitativo e quantitativo desses fungos, bem como de sua variação numérica em função da variação da temperatura e da umidade, aplicação de adubação mineral e de vinhaça.

De todos os fatores estudados, os que mais influenciaram sobre o desenvolvimento das micorrizas vesiculares-arbusculares, foram a variação da temperatura e da umidade. Nenhuma interação foi observada em relação a P, K, Ca, Mg e pH, incluindo a vinhaça, com número de esporos e percentagem de infecção micorrízica em cana-de-açúcar.

Verificou-se um elevado número de esporos (433-1620 esporos/100 ml de solo) e um baixo índice de infecção

das raízes (3-45%). Embora a quantidade de esporos tenha sido bastante elevada, houve pequena variação de espécies encontradas. Foram encontrados apenas os fungos *Acaulospora scrobiculata*, *Gigaspora gilmorei*, *Glomus fasciculatus* e *Glomus leptotichus*, além de uma espécie de *Gigaspora*, ainda não descrita.

Foram feitos ainda dois ensaios em casa-de-vegetação, usando-se solo de canavial. No primeiro ensaio, usou-se apenas solo natural e solo autoclavado. No segundo, usou-se solo natural, solo esterilizado por 4 métodos diferentes, solo esterilizado pelos mesmos 4 métodos, recebendo, entretanto, suspensão de solo filtrado e um tratamento com solo estéril, recebendo inóculo de *Gigaspora gilmorei*. No primeiro ensaio, verificou-se uma diminuição de desenvolvimento das plantas no solo natural provavelmente devido à grande incidência de patógenos como: *Pratylenchus zaei*, *Fusarium* spp. e *Pythium* spp. cujas lesões excediam a 50% das raízes. No segundo experimento tomaram-se dados de altura das plantas 60 dias após o transplante. Apenas o tratamento com solo natural diferiu de todos os outros, mostrando desenvolvimento menor.

VESICULAR-ARBUSCULAR MYCORRHIZA IN SUGARCANE

Author: FAUSTINO ANDREOLA

Adviser: PROF. DR. ELKE JURANDY BRAN

NOGUEIRA CARDOSO

SUMMARY

This dissertation presents a qualitative and quantitative survey of naturally occurring vesicular-arbuscular fungi in the rhizosphere of sugarcane. Spore number variations were studied in relation to temperature and rainfall of the growing season and the effect of vinasse application and mineral fertilizers upon spore numbers and root infection was investigated.

Of all the factors under investigation only temperature and moisture influenced the development of VA - mycorrhiza. There was no interaction between P, K, Mg and pH levels of the soil, including vinasse, and spore numbers or root-infection percentages in sugarcane.

High spore counts (433-1,620 spores/100ml soil) were obtained, but root infection was generally low (3-45%) .

In spite of the great number of spores there was only a limited amount of fungal species present, as follows: *Acaulospora scrobiculata*, *Gigaspora gilmorei*, *Glomus fasciculatus* and *Glomus leptotichus*, plus a new unidentified species of *Gigaspora*.

Two experiments with sugarcane were conducted in the green-house. In the first experiment sugarcane was planted in natural and autoclaved soil, while the second consisted of natural soil, soil sterilized by four different methods and sterile soil reinoculated with a soil filtrate, in addition to one treatment inoculated with *Gigaspora gilmorei*. In the first experiment there was a much lower growth of plants in natural soil, probably due to a great incidence of root pathogens like *Pratylenchus zeae*, *Fusarium* spp. and *Pythium* spp., which affected more than 50% of the root systems. In the second experiment plant heights were measured 60 days after installation. The only significant growth effect which could be observed was again the smaller size of the plants in natural soil, when compared to all others.

1. INTRODUÇÃO

As associações micorrízicas do tipo vesicular-arbuscular são o grupo mais comum das associações simbióticas que se estabelecem entre raízes de plantas e espécies de fungos da família Endogonaceae (MOSSE, 1973a).

Desde que se observou o efeito benéfico das micorrizas vesiculares-arbusculares sobre o desenvolvimento das plantas (MOSSE, 1957), pesquisadores de todo o mundo têm - se proposto a pesquisar esse assunto e muitos trabalhos mostram que plantas micorrízicas tendem a desenvolver-se melhor que plantas não micorrízicas. A maioria das culturas de interesse econômico forma micorrizas do tipo vesicular-arbuscular e conseqüentemente necessita ser pesquisada.

A variação populacional dos fungos micorrízicos vesiculares-arbusculares no solo rizosférico e a eficiência na absorção de nutrientes são funções de muitos fatores e

cológicos (MAYMAN, 1975; KRUCKELMANN, 1975), podendo ser profundamente influenciados pelo cultivo.

Como a cana-de-açúcar é uma cultura de grande interesse econômico e se encontra em fase de franca expansão, inúmeros trabalhos estão sendo feitos para se conseguir o máximo rendimento.

Em virtude da importância econômica que a cultura representa para o País, o presente trabalho teve por objetivo pesquisar as micorrizas vesiculares-arbusculares de ocorrência natural nesta cultura, através de um levantamento quantitativo e qualitativo desses fungos, bem como de variação do número de esporos e percentagem de infecção em função da variação do clima e da fertilidade do solo.

Adicionalmente, procurar-se-á verificar o efeito dos fungos micorrízicos sobre o desenvolvimento da cana-de-açúcar, em condições controladas de casa-de-vegetação.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Neste capítulo serão apresentados alguns tópicos que caracterizam, de maneira geral, as micorrizas vesiculares-arbusculares.

2.1. AS ASSOCIAÇÕES MICORRÍZICAS

O termo micorriza (do grego, mykes = fungos; rhiza = raiz) é empregado para se referir às associações simbióticas não antagônicas que se estabelecem a nível de raiz entre espécies de fungos e plantas. Para o estabelecimento da associação, o fungo penetra no sistema radicular, invadindo o córtex inter e/ou intracelularmente, estabelecendo relações tróficas com a planta (LOPES, 1981).

As micorrizas, segundo BJÖRKMAN (1970), são divididas em cinco grupos: ectomicorrizas e endomicorrizas, descritas por Frank (1885); pseudomicorrizas e ecto-endomicorrizas, descritas por Mellin (1917 e 1923, respectivamente); e micorrizas peritróficas, descritas por Jahn (1934).

As ectomicorrizas são formadas por uma série de

fungos, principalmente basidiomicetos, que se associam com um grande número de árvores, destacadamente com as coníferas (HARLEY, 1969). Elas formam uma espessa manta miceliana ao redor das raízes, de onde partem hifas que se difundem no solo em todas as direções e hifas que penetram no córtex, intercelularmente (BJÖRKMAN, 1970). A formação de ectomicorrizas é facilmente observada pela presença da manta e alterações morfológicas na raiz, as quais se expressam por curtas ramificações dicotômicas das raízes laterais, completamente recobertas pela manta fúngica (TINKER, 1980).

As endomicorrizas diferem das ectomicorrizas por não formarem manta ao redor e não provocarem alterações morfológicas nas raízes. Caracterizam-se por formar uma tênue rede miceliana permanente ao redor das raízes, com hifas finas que se difundem no solo e que penetram no córtex, inter e intracelularmente. Neste grupo encontram-se as micorrizas do tipo vesicular-arbuscular, que, sem dúvida alguma, são as mais importantes (BJÖRKMAN, 1970; TINKER, 1980).

De acordo com BJÖRKMAN (1970), as ecto-endomicorrizas são consideradas como uma forma intermediária entre as ectomicorrizas e as endomicorrizas. Elas formam uma pequena manta ao redor das raízes, que não apresentam ramificações dicotômicas, e as hifas penetram inter e intracelularmente no córtex. A penetração intracelular é uma característica usada para diferenciá-las das ectomicorrizas, que apresentam penetração intercelular apenas. Segundo o mesmo autor, alguns pes

quisadores julgam que estes organismos sejam ectomicorrizas, que não se desenvolveram bem por causa de condições ambientais adversas.

Já as pseudomicorrizas caracterizam-se por não formarem manta ou rede, nem provocarem alteração morfológica na raiz. As hifas penetram no córtex da raiz intercelularmente (BJÖRKMAN, 1970).

As micorrizas peritróficas são uma fraca associação entre as raízes e certos fungos. Estes vivem na superfície das raízes, sem penetrá-las, ou em sua rizosfera (BJÖRKMAN, 1970).

2.2. BIOLOGIA, DISTRIBUIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DAS MICORRIZAS VESICULARES-ARBUSCULARES

As micorrizas vesiculares-arbusculares desenvolvem-se a partir da infecção inicial da raiz por uma hifa ou tubo germinativo de esporos, formando extenso micélio inter e intracelular, dentro do córtex, dando origem a duas estruturas características, as vesículas e os arbúsculos. As vesículas são corpos arredondados de cerca de 50 μ de diâmetro que se formam entre as células e apresentam função de armazenamento de metabólitos. Os arbúsculos originam-se de um tronco de hifa que se ramifica a partir da hifa intercelular. Essa hifa penetra na célula e em seu interior se ramifica dicotômica e repetidamente para formar uma densa massa de hifas finas, que

se degeneram em pouco tempo. Acredita-se que essas estruturas sejam os sítios responsáveis pelas trocas de nutrientes entre o fungo e a planta (TINKER, 1980). Ao redor das raízes, o fungo forma uma rede miceliana composta de dois tipos de hifa: uma hifa grossa, considerada permanente, que sustenta os esporos, e desta partem hifas de menor diâmetro, de vida efêmera, que se difundem no solo, consideradas hifas absorventes (NICOLSON, 1967).

As micorrizas vesiculares-arbusculares são encontradas em todas as zonas climáticas do globo, e, pelo que se sabe, em todos os solos que contenham vegetação. Foram observadas na maioria dos tipos de vegetação do mundo. Plantas de famílias economicamente importantes como gramíneas e leguminosas e muitas outras famílias, especialmente espécies cultivadas em regiões de clima tropical, têm sido demonstradas como sendo hospedeiras potenciais (GERDEMANN, 1968; MOSSE, 1973a; MOSSE, 1975; TINKER, 1980).

No Brasil, observou-se a presença de fungos micorrízicos vesiculares-arbusculares em um grande número de plantas que vivem em solos do cerrado (THOMAZINI, 1974), em café (CARDOSO, 1978), em gramíneas e leguminosas forrageiras tropicais (MILLER *et alii*, 1979) e em cana-de-açúcar (DAINESE e CARDOSO, 1981).

Algumas espécies podem formar tanto ectomicorrizas quanto micorrizas vesiculares-arbusculares, ao mesmo tempo (TINKER, 1980). Entretanto, certas famílias são raramente

infectadas com fungos vesiculares-arbusculares, especialmente as famílias Cruciferae e Chenopodiaceae, que contêm muitas plantas cultivadas de importância econômica (MOSSE, 1975; TINKER, 1980).

A taxonomia dos fungos de micorrizas vesiculares-arbusculares é ainda incerta, pois nenhum desses fungos foi cultivado em cultura pura (MOSSE, 1973a; ALLEN *et alii*, 1979) e a classificação taxonômica depende totalmente da morfologia dos esporos formados ao redor das raízes pela maioria desses fungos (TINKER, 1980).

MOSSE e BOWEN (1968a) idealizaram uma chave descritiva, com base nas características dos órgãos reprodutivos, produzidos por esses fungos micorrízicos e que foi amplamente empregada por muitos autores, devido a sua grande utilidade no reconhecimento do endófito com que se está trabalhando.

Os trabalhos que antecederam à revisão de fungos da família Endogonaceae, feita por GERDEMANN e TRAPPE (1974), classificavam todas as espécies que formavam micorrizas vesiculares-arbusculares como pertencentes ao gênero *Endogone* (GERDEMANN, 1968; NICOLSON e GERDEMANN, 1968; DAFT e NICOLSON, 1972). Pertencente à ordem Mucorales, a família Endogonaceae contém sete gêneros e, dentre estes, apenas quatro são formadores de micorrizas vesiculares-arbusculares. São os gêneros: *Glomus* Tul. e Tul., *Gigaspora* Gerd. e Trap., *Sclerocystis* Berk e Broome e *Acaulospora* Gerd. e Trap., com pelo menos 26 espécies classificadas entre eles (NICOLSON e SCHENCK, 1979). A

classificação das espécies é feita, principalmente, com base nas características morfológicas dos esporos e das hifas de sustentação (GERDEMANN e TRAPPE, 1974).

2.3. FISILOGIA DAS MICORRIZAS VESICULARES-ARBUSCULARES

Em virtude da impossibilidade de se cultivar esses fungos em culturas axênicas, o estudo de sua fisiologia tem sido muito prejudicado. Basicamente, esse estudo gira em torno dos processos de absorção, translocação e transferência de nutrientes, especialmente o fósforo, pois as micorrizas vesiculares-arbusculares são consideradas especializadas no suprimento desse elemento para as plantas (MOSSE, 1973a) e no processo de transferência de nutrientes orgânicos da planta hospedeira para o fungo (LEWIS, 1975; BEVEGE *et alii*, 1975).

A absorção do fósforo pelas hifas é um processo que requer energia, pois a concentração do elemento no citoplasma chega a ser até 3×10^3 vezes maior que sua concentração na solução do solo (RHODES e GERDEMANN, 1980). Através de correntes citoplasmáticas, o fósforo, na forma de grânulos de polifosfato, é rapidamente translocado para o interior das raízes (RHODES e GERDEMANN, 1980).

O processo de transferência ocorre através dos arbúsculos (MOSSE, 1973a), existindo duas hipóteses sobre o mecanismo de troca. A primeira é a grande área de contato entre o fungo e o hospedeiro proporcionada pelas inúmeras rami-

ficações arbusculares, facilitando as trocas de nutrientes. GIANINAZZI-PEARSON e GIANINAZZI (1978) consideram que seja o principal processo de transferência de fósforo, pois detectaram a presença de uma fosfatase alcalina (fosfomonoestera - se), específica da infecção micorrízica. A segunda hipótese é que os arbúsculos sofrem autólise, liberando para o interior das células do hospedeiro seu conteúdo celular (RHODES e GERDEMANN, 1980).

Como os fungos micorrízicos vesiculares-arbusculares são simbioses obrigados, assume-se que os nutrientes orgânicos por eles requeridos são provenientes do hospedeiro. Evidência disso é o acúmulo de carbono marcado (^{14}C) nas hifas do fungo, quando a planta foi submetida à atmosfera contendo $^{14}\text{CO}_2$ (COX *et alii*, 1975). Poucos detalhes, porém, são conhecidos do processo de transferência de nutrientes da planta hospedeira para o fungo.

Por analogia com ectomicorrizas poder-se-ia assumir que a maior fonte de carbono endógeno é a sacarose. Evidência indireta da utilização desse composto seria o aumento dos níveis de hexoses livres e invertase nas raízes de plantas micorrizadas (LEWIS, 1975).

Como material de reserva, o resultado da análise histoquímica mostra que uma grande proporção do volume fúngico é ocupado por lipídios: triglicerídios, diglicerídios, ácidos graxos livres e fosfatidil etanolamina (fosfolipídio) (COOPER e LÖSEL, 1978).

2.4. EFEITO DAS MICORRIZAS VESICULARES-ARBUSCULARES SOBRE O DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS

O sistema micorrízico vesicular-arbuscular envolve três componentes: a planta, o fungo e o solo. A interação entre os três determina o efeito sobre o desenvolvimento da planta.

Desde que se observou que plantas micorrízicas desenvolvem-se melhor que plantas não micorrízicas (MOSSE, 1957), muitas investigações acerca desse assunto foram feitas e, hoje, pelo menos dois pontos são distintos: (a) efeitos inerentes à absorção de nutrientes para as plantas e (b) efeitos não nutricionais (MOSSE e HAYMAN, 1979).

Tanto as plantas micorrízicas como as não micorrízicas utilizam as mesmas fontes de nutrientes no solo. Porém, o volume de solo explorado pelas plantas micorrízicas se torna maior e determina um aumento da absorção desses nutrientes. Conseqüentemente, essas plantas resultam em um maior desenvolvimento que as não micorrízicas, especialmente em solos com baixos teores de fósforo (GERDEMANN, 1968). Evidências disso são os relatos de SANDERS e TINKER (1971 e 1973) com fósforo e de GILMORE (1971) com zinco, dois elementos sabidamente de baixa difusão no solo.

Com relação a efeitos não nutricionais, as micorrizas vesiculares-arbusculares podem reduzir o índice de mortandade das mudas por ocasião do transplante, auxiliar na agregação do solo e aumentar a resistência das plantas às doenças.

Algumas vezes, ocorre morte da muda por oca -
sião do transplante devido à deficiência de água. A redução
no índice de mudas mortas é obtido quando estas são micorrízi-
cas (MENGE *et alii*, 1978a) e se tornam mais vigorosas (DEAL *et*
alii, 1972), provavelmente devido à diminuição da resistência
interna da planta ao fluxo da água (SAFIR *et alii*, 1972).

Os fungos micorrízicos do tipo vesicular-arbus-
cular têm maior capacidade que a maioria dos outros fungos em
unir o solo em agregados semi-estáveis. Isso é atribuído a
substâncias gomosas, possivelmente polissacarídeos, formadas
pelos fungos ou bactérias associadas, que tornam as plantas mi-
corrízicas particularmente úteis na reabilitação de locais e-
rodidos (MOSSE e HAYMAN, 1979).

Efeito favorável na agregação de resíduos de
carvão, lixo urbano e dunas de areia são conseguidos com plan-
tas micorrízicas com espécies de fungos que apresentam maior
quantidade de hifas externas (KHAN, 1978 e 1981).

A infecção micorrízica pode diminuir o efeito
patogênico de algumas doenças de raízes causadas por fungos
(MATARÉ e HATTINGH, 1978; DAVIS e MENGE, 1981) e nematóides (RON-
CADORI e HUSSEY, 1977; HUSSEY e RONCADORI, 1978). Provavelmen-
te, esse efeito seja devido ao aumento de vigor das plantas mi-
corrízicas, tornando-as menos sensíveis a deficiências resul-
tantes da morte de algumas raízes ou parte delas (MOSSE e HAY-
MAN, 1979). Os prejuízos produzidos por nematóides em cana-de-
-açúcar são conhecidos na maioria dos países produtores, in-

cluindo o Brasil, principalmente por espécies do gênero *Pratylenchus*, atuando isolado ou em associação com outros agentes patogênicos, como fungos que causam podridão das raízes, do gênero *Pythium* (RANDS, 1961; KOIKE e ROMAN, 1970; HARRIS, 1974; VALLE-LAMBOY e AYALA, 1980; CARDOSO e VALDEBENITO, 1982; VALDEBENITO, 1982). No entanto, não se conhece ainda o efeito das micorrizas vesiculares-arbusculares sobre a interação desses agentes patogênicos com cana-de-açúcar.

As micorrizas vesiculares-arbusculares exercem efeito favorável na nodulação e fixação de nitrogênio por *Rhizobium* em leguminosas (DAFT e EL-GIAHMI, 1975). Esse efeito foi atribuído a um aumento na absorção de fósforo, tornando adequado o balanço entre nitrogênio e fósforo nas plantas micorrízicas (MOSSE *et alii*, 1976) e o resultado da tríplice simbiose entre leguminosa-rizóbio-fungo micorrízico resulta num aumento de crescimento da planta (SMITH e DAFT, 1977).

Além dos efeitos benéficos que as micorrizas vesiculares-arbusculares exercem sobre as plantas, existem evidências de que, em determinadas condições, elas atuam causando efeito depressivo na produção, indicando que a relação hospedeiro-endófito transformou-se de mutualismo para parasitismo, especialmente pelo aumento de fertilizante fosfatado (CRUSH, 1976). Esse efeito pode ser devido à toxidez causada pelo excesso de fósforo absorvido pela planta micorrízica (MOSSE, 1973b) ou pela falta de um adequado balanço entre as quantidades de fósforo e nitrogênio nos tecidos da planta, possível -

mente devido a um decréscimo na absorção de nitrogênio (AZCÓN *et alii*, 1978) ou ainda pela demanda do fungo por produtos fotossintetizados, uma vez que todo o carbono requerido por ele é proveniente da planta (TINKER, 1980).

2.5. TÉCNICAS USADAS EM LEVANTAMENTOS ECOLÓGICOS DE MICORRIZAS VESICULARES-ARBUSCULARES

A influência dos diversos fatores que atuam sobre o desenvolvimento das micorrizas vesiculares-arbusculares tem sido medida através do levantamento populacional de esporos e da intensidade de infecção das raízes da planta hospedeira (MOSSE e BOWEN, 1968b; HAYMAN, 1970; MEJSTRIK, 1972; SUTTON e BARRON, 1972; HAYMAN *et alii*, 1975; KIANMEHR, 1981).

Os esporos dos fungos micorrízicos vesiculares-arbusculares são normalmente extraídos do solo pelo procedimento do peneiramento úmido e decantação (GERDEMANN e NICOLSON, 1963) e contados ou analisados sob microscópio estereoscópico, após transferência do material retido na peneira para placa de Petri (MOSSE e BOWEN, 1968b). Algumas tentativas foram feitas para separar os esporos e detritos retidos nas peneiras como: centrifugação em um gradiente de sacarose (OHMS, 1956) e a técnica de flutuação-adesão (SUTTON e BARRON, 1972).

A percentagem de infecção micorrízica é determinada após um processo de clarificação e coloração das raízes (BEVEGE, 1968; PHILLIPS e HAYMAN, 1970) e os métodos mais

comumente empregados para quantificar as micorrizas vesiculares-arbusculares baseiam-se na determinação da proporção em que os segmentos do córtex das raízes são tomadas por estruturas fúngicas (micélio, arbúsculos ou vesículas), determinação esta que é feita ao microscópio, em segmentos de raízes montadas em lâminas ou em placas (AMBLER e YOUNG, 1977; BIERMANN e LINDERMAN, 1981). Também tem sido usada a colorimetria para medir a conversão da quitina fúngica para glucosamina (HEPPER, 1977) ou para medir a pigmentação amarela das raízes micorrízicas (BECKER e GERDEMANN, 1977).

2.6. FATORES QUE INFLUEM NO DESENVOLVIMENTO DAS MICORRIZAS VESICULARES-ARBUSCULARES

2.6.1. EFEITO DA FERTILIDADE DO SOLO

Existem muitos relatos sobre a ocorrência de micorrizas vesiculares-arbusculares em diversas culturas e diferentes tipos de solos através do mundo. Entretanto, estudos quantitativos sobre o efeito de diferentes tratamentos com fertilizantes sobre os propágulos micorrízicos e a infecção radicular, em condições de campo, são poucos. O efeito de fertilizante tem sido estudado mais em casa-de-vegetação, porém, em condições de vasos, onde as respostas de crescimento das plantas são, antes de tudo, diferentes das condições de campo. Por exemplo, o volume de solo explorado pelas raízes é pequeno nos

vasos e o solo com que se está trabalhando é, normalmente, esterilizado. As observações de campo são importantes para uma medida realística da significância das micorrizas na agricultura (HAYMAN, 1975).

Dentre os fertilizantes que mais afetam o desenvolvimento das micorrizas vesiculares-arbusculares, os fertilizantes fosfatados são os que têm recebido maior atenção da maioria dos pesquisadores (SANDERS e TINKER, 1971 e 1973; MOSSE, 1973a e 1973b; COOPER, 1975; HAYMAN *et alii*, 1975; RHODES e GERDEMANN, 1980; TINKER, 1980). Esses autores demonstram que, à medida que se aumenta a disponibilidade de fósforo no solo, decresce a percentagem de infecção micorrízica das raízes. Entretanto, esse decréscimo na infecção deve-se principalmente à concentração de fósforo nos tecidos da planta e não propriamente à sua concentração no solo (MOSSE e HAYMAN, 1979; RHODES e GERDEMANN, 1980; TINKER, 1980).

Com relação ao número de esporos no solo, HAYMAN (1975), num levantamento de campo em um solo que durante 12 anos recebeu 5 níveis diferentes de fósforo, não encontrou diferença, resultado esse que concorda com os obtidos por BLACK e TINKER (1979) mas que é contrário aos obtidos por KRUCKELMANN (1975), que mostra que o número de esporos diminui com o aumento dos níveis de fósforo.

Outro nutriente estudado é o nitrogênio. Conforme HAYMAN (1970 e 1975) e HAYMAN *et alii* (1975), tanto a infecção micorrízica quanto o número de esporos no solo dimi-

nuem com o aumento das doses de nitrogênio aplicadas. Também um aumento na percentagem de infecção foi observado quando são aplicados níveis decrescentes de nitrogênio em solo com suprimento adequado de fósforo (HAYMAN, 1970). Este efeito foi atribuído ao inadequado balanço entre nitrogênio e fósforo nos tecidos do hospedeiro (Bevege, 1971, citado por HAYMAN, 1975). Os resultados obtidos pelos autores supra citados são contestados por SPARLING e TINKER (1975), que não observaram nenhuma influência do nitrogênio na infecção micorrízica.

Com relação aos outros nutrientes: potássio, cálcio, magnésio, enxofre e micronutrientes, sabe-se que as micorrizas vesiculares-arbusculares auxiliam no suprimento para as plantas, porém o efeito destes sobre o desenvolvimento do endófito é discutível (RHODES e GERDEMANN, 1980).

2.6.2. TIPO E MANEJO DE SOLOS E CULTURAS

Ensaio de campo têm demonstrado que diferentes tipos de solos, cultivo, rotação de cultura e outras práticas de uso corrente na agricultura, afetam o desenvolvimento das micorrizas vesiculares-arbusculares.

KRUCKELMANN (1975) afirmou que solos argilosos contêm significativamente mais esporos que solos arenosos, o que contradiz SUTTON e BARRON (1972) e STRZEMSKA (1975) ao afirmarem, respectivamente, que o tipo de solo não influi no número de esporos e na percentagem de infecção.

Solos cultivados apresentam maior número de esporos e de espécies que solos com vegetação natural (MOSSE e BOWEN, 1968b). KRUCKELMANN (1975) observou que o número de esporos era maior em solos onde o preparo era feito com uma aração rasa, do que em solos sob cultivo mínimo e neste, maior que no solo cujo preparo era com enxada rotativa. Observou, ainda, que a adição de palha picada aumenta proporcionalmente a frequência de esporos no solo, com as mesmas técnicas de cultivo.

A matéria orgânica aplicada em solos argilosos tende a aumentar o número de esporos, mais do que quando aplicado em solos arenosos. Pronunciado aumento é observado quando se usa matéria orgânica aliada à adubação mineral e pequeno aumento deve-se à adubação mineral sozinha (KRUCKELMANN, 1975). HAYMAN (1975) observou maior infecção arbuscular em solo que recebeu matéria orgânica.

Em condições de campo, a rotação de cultura não provoca mudanças na frequência de esporos (KRUCKELMANN, 1975). HAYMAN *et alii* (1975) observaram que não havia modificação no número de esporos mesmo quando se fazia consorciação com plantas não hospedeiras, como o nabo, porém a percentagem de infecção diminuía na planta hospedeira (cebola) quando esta era consorciada com uma planta não hospedeira.

O fato do número de esporos não se alterar quando se cultiva uma planta não hospedeira indica que esses esporos têm a capacidade de permanecerem viáveis no solo por um

longo período de tempo. A diminuição da infecção na planta hospedeira cultivada em consorciação com uma planta não hospedeira sugere que esta possivelmente pode liberar substâncias tóxicas para os fungos micorrízicos (HAYMAN, 1975).

Em concordância com os dados acima, BLACK e TINKER (1979) observaram que as raízes de cevada tornavam-se menos infectadas quando em rotação com couve (planta não hospedeira). Entretanto, OCAMPO e HAYMAN (1980) verificaram que o cultivo de plantas hospedeiras, em casa-de-vegetação, com solo esterilizado, previamente cultivado com uma planta não hospedeira, não afeta e inclusive aumenta a percentagem de infecção, mesmo nos tratamentos onde as raízes das plantas não hospedeiras permaneceram intactas. Os autores advertem para a hipótese de que as plantas não hospedeiras podem aumentar o vigor do fungo, pois a percentagem de infecção da planta hospedeira cultivada nesse solo torna-se maior que quando se usa inóculo armazenado à 20°C.

Esta aparente divergência de conclusões a que chegam os autores deverá ser melhor investigada para elucidar o verdadeiro efeito da planta não hospedeira sobre os fungos micorrízicos.

A monocultura tende a agir seletivamente sobre determinada espécie de fungo micorrízico (KRUCKELMANN, 1975) indicando certa especificidade entre este e a planta hospedeira (MOSSE e HAYMAN, 1979). O número dos esporos e percentagem de infecção são, antes de tudo, influenciados pela idade da

planta (STRZEMSKA, 1975), observados em maior intensidade no final do ciclo da cultura (HAYMAN, 1970; BLACK e TINKER, 1979; SMITH, 1980).

Altos níveis de infecção micorrízica com baixo número de esporos têm sido relatados em vários habitats (MOSSE e BOWEN, 1968b). Em hospedeiros perenes, onde as raízes vivas e infectadas estão presentes durante todo o ano, existe uma menor pressão seletiva para a produção de esporos que quando as raízes morrem ao final da estação de crescimento ou quando o hospedeiro anual morre. É provável que as micorrizas vesiculares-arbusculares em gramíneas permanentes não sejam induzidas a formar esporos ou formam muito pouco, pois as novas raízes que surgem tornam-se infectadas pelo micélio de outras raízes, antes que pela germinação de esporos (MOSSE e BOWEN, 1968b; SPARLING e TINKER, 1975).

O uso de fungicidas é uma prática agrícola necessária para o controle de doenças causadas por fungos em muitas culturas. Eles são usados no tratamento de sementes, tratamento do solo ou aplicações na parte aérea. Todos os fungicidas testados até hoje no tratamento de sementes e do solo mostram efeito depressivo, inibindo parcial ou totalmente o desenvolvimento das micorrizas vesiculares-arbusculares (NESEHEIM e LINN, 1969; NEMEC, 1980; RHODES e LARSEN, 1981), além de diminuir a absorção de fósforo pelos fungos micorrízicos (BOATMAN *et alii*, 1978). Aplicações na parte aérea de plantas de trigo, com fungicidas sistêmicos como o Benomyl, reduzem

marcadamente a infecção das raízes (JALALI e DOMSCH, 1975). Entretanto, Shepard (1972), citado por ROLIM (1976), considera que a translocação dos fungicidas sistêmicos ocorre ascendentemente pelo apoplasto. Desta maneira, os fungicidas sistêmicos aplicados na parte aérea das plantas não atingem as raízes. Porém, Jalali (dados não publicados), citado por JALALI e DOMSCH (1975), encontrou mudanças no metabolismo de aminoácidos da planta pulverizada com fungicidas sistêmicos e considera que essa alteração no metabolismo é um dos princípios pelos quais esses fungicidas atuam contra a invasão dos fungos. Como tais alterações metabólicas se refletem em toda a planta, essas deverão influir na infecção das raízes por fungos micorrízicos

2.6.3. FATORES AMBIENTAIS

Os fungos micorrízicos vesiculares - arbusculares, bem como outros organismos, são suscetíveis às condições ambientais, tais como temperatura, umidade, pH e luminosidade, havendo um ponto ótimo para o seu desenvolvimento, bem como colonização da planta.

Levantamentos de campo efetuados em várias regiões climáticas indicam que o número de esporos dos fungos micorrízicos permanece dentro de uma faixa mais ou menos constante durante o inverno, quando a temperatura é baixa, tendo um leve aumento na primavera, atingindo um máximo no verão,

quando se associam altas temperaturas e umidade, para tornar a cair no outono (HAYMAN, 1970; KIANMEHR, 1981), enquanto que a percentagem de infecção é baixa no inverno, moderada na primavera, alta no verão e permanecendo a mesma ou ligeiramente maior (MEJSTRIK, 1972) ou ainda com um pico máximo (HAYMAN, 1970; KIANMEHR, 1981) no outono. Entretanto, SPARLING e TINKER (1975) observaram maior percentagem de infecção no verão.

O grande aumento da percentagem de infecção, principalmente nos meses de verão, está associado a altas temperaturas e umidade que ocorrem nesse período (RABATIM, 1979; KIANMEHR, 1981). MOSSE e BOWEN (1968b) verificaram que as plantas apresentam um grau bastante elevado de infecção, porém o número de esporos diminui nas regiões onde cai muita chuva e locais muito úmidos da Austrália e Nova Zelândia.

A alta intensidade luminosa, associada a altas temperaturas, tende a aumentar a infecção vesicular-arbuscular (HAYMAN, 1974) e, em casa-de-vegetação, uma diminuição na infecção durante o outono e inverno foi associada à baixa intensidade luminosa (Winter e Meloh, 1958; Meloh, 1963 citados por HAYMAN (1974)

SCHENCK e SCHROEDER (1974) relataram que na Flórida o máximo desenvolvimento de uma espécie de fungo micorrízico vesicular-arbuscular na raiz da soja ocorreu entre 30 e 35°C, decrescendo com os aumentos de temperatura até atingir valores nulos à 41°C. Este resultado apresenta uma temperatura ótima paralela à de germinação de esporos de *Gigaspora*

coralloidea e *Gigaspora heterogama*, isoladas na Flórida, que é de 34°C (SCHENCK *et alii*, 1975), consideravelmente maior que para *Glomus mosseae*, cuja temperatura ótima é de 25°C para germinação de esporos (GREEN *et alii*, 1976).

Outro fator de significativa importância no estabelecimento do fungo micorrízico em associação às raízes das plantas é o pH do solo. Em condições de campo, nenhum efeito foi observado sobre a infecção micorrízica, pela elevação de pH causada por aplicação de calcáreo (SPARLING e TINKER, 1975; STRZEMSKA, 1975). Porém, BLACK e TINKER (1979) encontraram correlação positiva entre percentagem de infecção e valores de pH, e KRUCKELMANN (1975) observou que o número de esporos no solo aumenta com o aumento de pH. Entretanto, GREEN *et alii* (1976), estudando a germinação de esporos de alguns fungos micorrízicos vesiculares-arbusculares, em laboratório, verificaram que a maior percentagem de germinação para o fungo *Glomus mosseae* ocorreu a pH 7 e para *Gigaspora coralloidea* e *Gigaspora heterogama* a pH 5,0 e 6,0, respectivamente.

Portanto, os resultados demonstram que a germinação de *G. mosseae* é favorecida por condições neutras e alcalinas e temperatura relativamente baixa, enquanto que a germinação dos esporos de *G. coralloidea* e *G. heterogama* é favorecida por condições ácidas e altas temperaturas.

Os resultados são consistentes com os ambientes dos quais as três espécies são originárias, o que concorda com a suposição de que a temperatura e o pH do solo devam estar en-

tre os fatores que mais limitam a distribuição de espécies de fungos micorrízicos vesiculares-arbusculares.

2.7. ESTERILIZAÇÃO DO SOLO

Quando se quer estudar a eficiência na absorção de nutrientes de determinados fungos micorrízicos, geralmente se trabalha com solo esterilizado para garantir a eliminação de todos os outros fungos micorrízicos de ocorrência natural naquele solo, sendo quase impossível encontrar-se um solo que não contenha estes microrganismos (NICOLSON, 1967; GERDEMANN, 1968; MOSSE, 1973a; TINKER, 1980).

Com freqüência, estes solos esterilizados são suplementados com um filtrado que contenha os microrganismos de ocorrência natural neste solo, porém, livre de fungos micorrízicos, com a finalidade de aproximar-se às condições microbianas do solo natural (LOPES, 1981).

Como este trabalho envolve experimentos em casa-de-vegetação com solo estéril, julgou-se necessário introduzir aqui, algumas considerações sobre a esterilização do solo, encontradas na literatura (LAWERENCE, 1956; TUTTLE, 1969; JOHNSON e CURL, 1972).

A esterilização do solo é uma prática agrícola usada para eliminar pragas, doenças e invasoras de canteiros de produção de mudas e quando se usa o solo como substrato para o desenvolvimento de projetos de pesquisa. Cada método (calor,

fumigação ou irradiação) oferece certas desvantagens, principalmente no que se refere a alteração do solo de seu estado natural.

A esterilização do solo pelo calor, no intuito de eliminar os organismos maléficos às plantas, elimina também, os organismos benéficos e provoca alterações químicas e físicas nesse solo. O aparecimento de altas concentrações de amônia após a esterilização é atribuído, em primeiro lugar, à liberação de amônia trocável e, em segundo, à explosão da população de bactérias amonificadoras, resistentes ao calor pela formação de endosporos.

A quantidade de compostos orgânicos e inorgânicos, solúveis em água, aumenta com a esterilização pelo calor e ocorre um aumento na absorção desses compostos pelas plantas que crescem nesse solo. Alguns compostos se tornam mais solúveis e em maiores quantidades, o que provoca um desequilíbrio nos tecidos da planta, aparecendo sintomas de toxidez, como é o caso do manganês, principalmente quando o solo é ácido. Esse desequilíbrio é maior ou menor, dependendo da natureza do solo e da quantidade de calor aplicada. Solos ácidos, com alto teor de matéria orgânica e alta umidade, com um tempo mais prolongado de esterilização, liberam mais compostos que solos mais alcalinos, com baixo teor de matéria orgânica e baixa umidade. O calor também diminui a capacidade de retenção de água pela decomposição do húmus, responsável pela cimentação das partículas de areia, silte e argila em agregados e alte-

ra as características dos poros do solo esterilizado, aumentando a aeração.

O método de esterilização do solo por irradiação é um procedimento útil de esterilização diferencial para eliminar fungos, bactérias e vírus, sem alterar drasticamente a estrutura do solo. Solo esterilizado por irradiação, manifesta certa atividade enzimática (fosfatase e urease) na presença do substrato adequado. Não provoca toxidez às plantas, pois não libera nutrientes extra.

A esterilização química de solos, método largamente empregado na agricultura devido ao custo mais baixo que os demais métodos, não provoca aumento de sais solúveis. Entretanto, tem sido observado um aumento de matéria orgânica solúvel em água, pela adsorção dos gases químicos, sobre colóides orgânicos e inorgânicos.

Em vista das considerações acima expostas, procurou-se observar o efeito sobre o desenvolvimento da cana-de-açúcar, da eliminação dos agentes patogênicos e de alterações físicas e químicas do solo provocadas pela esterilização.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A parte básica deste trabalho constou de um levantamento quantitativo e qualitativo de fungos micorrízicos, pela contagem de esporos desses fungos e análise da percentagem de infecção de raízes, de ocorrência natural em associação com cana-de-açúcar. Como complementação, instalaram-se dois ensaios em casa-de-vegetação, sendo o primeiro com solo autoclavado e solo natural e o segundo com solo natural e esterilizado por 4 métodos diferentes, além da inoculação com suspensão de solo ou fungo micorrízico.

3.1. LEVANTAMENTO DE CAMPO

Nesta parte do trabalho, procurou-se investigar o número de esporos e a percentagem de infecção de raízes, além dos tipos de enfôfitos presentes, e analisar a va-

riação em número de esporos e percentagem de infecção, devido, à variação de temperatura e precipitação, à aplicação de vinhaça e de adubo mineral (N e P).

Para tanto, o trabalho foi conduzido em um ensaio de adubação mineral (N e P) e aproveitamento de vinhaça em cana-de-açúcar, instalado em Latosol vermelho escuro-orto (LE) (COMISSÃO DE SOLOS, 1960), no município de Araras (SP), pelos pesquisadores da Seção de Solos e Adubação do Instituto do Açúcar e Alcool/Programa Nacional de Melhoramento da Cana - de - Açúcar (IAA/PLANALSUCAR).

O experimento foi instalado com cana - de - açúcar, variedade NA56-79, segunda soca, em 18/08/80 e colhido em 04/08/81, tendo os seguintes tratamentos:

Vinhaça (m ³ /ha)	Complementação (kg/ha)	
	N (Uréia)	P ₂ O ₅ (Supertriplo)
0	0	0
	60	0
	30	30
100	0	0
	60	0
	30	30

O delineamento experimental foi o de parcelas subdivididas com 4 repetições. Cada parcela possuía 66,5 m²

de área útil.

Coletaram-se 15 colmos por parcela, na época da colheita, para a determinação do pol% de caldo e pol% de cana (IAA/PLANALSUCAR, 1977).

Durante o transcorrer do ensaio, foram coletados os dados de temperatura e precipitação pelo Posto Meteorológico do IAA/PLANALSUCAR.

Para análise de micorrizas (número de esporos e percentagem de infecção), foram feitas 6 amostragens do solo, incluindo raízes, com intervalo de 2 meses, a partir de setembro de 1980. Cada amostra, de aproximadamente 1 kg de solo, constituiu-se de quatro subamostras por parcela, nas linhas, à profundidade de 0-20 cm, retirada com um trado de balde de 9,5 cm de diâmetro.

As amostras foram trazidas para o laboratório, separaram-se as raízes, as quais foram conservadas em AFA (90 ml de álcool etílico à 70%, 5 ml de formol e 5ml de ácido acético glacial) segundo BEVEGE (1968). O solo, acondicionado em sacos de polietileno, foi mantido em câmara fria, à temperatura de 12°C.

De cada amostra retirou-se uma porção de aproximadamente 100 g de solo, que foram enviadas para o laboratório de análise química do solo do IAA/PLANALSUCAR, para análise.

Os esporos foram extraídos das amostras de solo, tendo-se como base a técnica do peneiramento úmido e de-

cantação, descrita por GERDEMANN e NICOLSON (1963). As peneiras usadas tinham os seguintes diâmetros de orifício: 0,71 mm (nº 25, ABNT), para retenção dos detritos maiores, 0,250 mm (nº 60, ABNT), onde permaneceram os esporos maiores, e a de 0,053 mm (nº 270, ABNT), para retenção dos esporos menores.

Em virtude do solo ser muito argiloso, conter alta percentagem de matéria orgânica e ao grande número de esporos desse solo, tornou-se necessário modificar o método. Tal modificação constituiu na suspensão dos esporos, juntamente com grande parte da matéria orgânica, em uma solução de sacarose comercial (açúcar União) à 50%, separando-se assim os esporos dos detritos de solo mais pesados, após decantação, permitindo que se fizesse uma análise mais rápida e com maior facilidade dos esporos contidos na amostra de solo. Convém ressaltar que tal procedimento provoca algumas perdas de esporos. Estas, porém, são relativamente pequenas, pois a contagem dos esporos que ficaram nos resíduos de 5 amostras processadas foram de 1 a 4%. O método de separação dos esporos, usado para todas as amostras processadas, foi seguido como descrito abaixo.

Os esporos, detritos e partículas de solo retidos na peneira de 0,053 mm foram recolhidos, com o auxílio de uma piceta para um becker de 100 ml, com uma quantidade de 10 a 20 ml de água, o suficiente para recolher todo o material retido. Em seguida, adicionaram-se 20 ml da solução de sacarose comercial à 50%, agitou-se com um bastão de vidro por al-

guns segundos e deixou-se em repouso, por cerca de 10 minutos. Após este período, fez-se uma leve agitação na suspensão, sem afetar o decantado, para impedir que os esporos suspensos, ficassem aderidos às paredes do becker. Ver-teu-se, então, a suspensão sobre a peneira de 0,053 mm, lavou-se e recolheu-se novamente o material retido para um becker de 100 ml. O conteú-do desse becker foi diluído e, em 4 ou 5 vezes, foi vertido so-bre uma placa nematológica dividida em 6 partes iguais. Os esporos foram analisados e contados sob microscópio estereoscó-pico com os aumentos de 75 e 150 vezes. O número de esporos foi obtido contando-se os esporos contidos em duas divisões da placa nematológica e multiplicando-se por 3, obtendo - se, desta maneira, o total de esporos na placa. A soma dos totais de cada placa examinada deu o número de esporos retidos na peneira de 0,053 mm. Esse total, mais o obtido na peneira de 0,250 mm, cujo peneirado foi recolhido em placa de Petri e e-xaminado nos aumentos de 18 a 36 vezes, deu o total de esporos na amostra.

Os esporos com características semelhantes foram separados com o auxílio de uma micropipeta de Pasteur. Cerca de 300 esporos de cada tipo foram colocados em vasos con-tendo solo arenoso previamente esterilizado e em cada vaso semearam-se 5 sementes de milho para que os fungos se desenvol-vessem em suas raízes. Os vasos foram mantidos em casa-de-ve-getação com irrigações diárias, até que o milho completasse o seu ciclo. Após o milho ter completado o seu ciclo, coleta-

ram-se amostras do solo de cada vaso e os esporos foram extraídos, conforme o método descrito acima. Analisaram-se a pureza e os tipos de fungos que se desenvolveram no sistema radicular do milho.

Esporos extraídos desse solo, mais esporos extraídos das amostras do levantamento de campo, foram separados por suas características morfológicas semelhantes, colocados em lâminas com lactofenol, cobertos com uma lamínula e vedadas com esmalte. Essas preparações, após os esporos terem sido fotografados, foram enviadas para o Dr. Schenck (Flórida) e o Dr. Rhodes (Ohio), para identificação.

A percentagem de infecção de raízes foi avaliada, tendo-se como base a técnica de PHILLIPS e HAYMAN (1970), porém com algumas variações. O clareamento das raízes foi feito em KOH à 10%, à temperatura ambiente, por 48 horas (Kruckelmann, 1973, citado por AMBLER e YOUNG, 1977). Em lugar de se usar água oxigenada a 10 volumes por 10-40 minutos e ácido clorídrico diluído, utilizou-se uma solução de hipoclorito de sódio à 3%, acidificado com algumas gotas de ácido clorídrico à 5N (BEVEGE, 1968) até que as raízes atingissem a coloração amarelo-palha, o que não demora mais que 2 minutos. As raízes assim clarificadas foram coradas com "trypan blue". Para a avaliação da infecção foram tomadas, ao acaso, amostras das raízes já coradas, cortadas em segmentos de aproximadamente 1 cm, montadas em lâminas com lactofenol incolor e observadas ao microscópio em aumentos de 125 e 500 vezes. Os da

dos foram expressos em percentagem da porção do comprimento das raízes que estavam infectadas pelos fungos micorrízicos, tomando-se para cada amostra a média de duas repetições. Cada repetição constou de uma média de avaliações efetuadas em 10 segmentos de raízes.

3.2. EXPERIMENTOS EM CASA-DE-VEGETAÇÃO

Os objetivos desses experimentos foram: observar o desenvolvimento da cana-de-açúcar em solo com a presença e ausência de fungos micorrízicos, em vista do grande número de esporos encontrados no solo cultivado com cana-de-açúcar, e o efeito sobre o desenvolvimento da cana-de-açúcar, da eliminação dos agentes patogênicos e de alterações físicas e químicas do solo, provocados pela esterilização.

No primeiro experimento, foi utilizado o excesso de solo da terceira amostragem (19/01/81) e os tratamentos foram: solo natural e solo autoclavado.

De cada amostra de solo coletado no experimento com cana-de-açúcar, referido no item 3.1., prepararam-se 2 vasos de volume igual a 2 litros cada. Um vaso de cada amostra foi submetido à autoclavagem para esterilização e outro não. Cada tratamento (solo natural e solo estéril) se constituiu de 24 repetições.

Pregerminaram-se, em caixas de areia estéril, toletes de cana-de-açúcar, variedade NA56-79, por 20 dias. Ca

da vaso recebeu um desses toletes enraizado e com uma gema, cujo tamanho variava de 5 a 10 cm. Os vasos, irrigados diariamente, permaneceram em casa-de-vegetação durante 135 dias, quando se processou a colheita.

As partes aéreas das plantas e as raízes, após remoção dos vasos e lavagem, foram secas em estufa à 60°C e seu peso determinado.

De cada tratamento, tomaram-se aleatoriamente 10 sistemas radiculares e de cada um deles retiraram-se 2 pedaços de raízes de aproximadamente 4 cm de comprimento para avaliação da podridão de raízes, segundo método descrito por VALDEBENITO (1982).

O índice de sintomas nas raízes foi avaliado de acordo com a seguinte escala de notas (VALDEBENITO, 1982):

- . 0 - raízes brancas, sem lesões marrom-escuras ou avermelhadas.
- . 1 - até 1/4 das raízes com lesões marrom-escuras ou avermelhadas.
- . 2 - de 1/4 a 2/4 das raízes com lesões marrom-escuras ou avermelhadas.
- . 3 - mais de 2/4 das raízes com lesões marrom-escuras ou avermelhadas.

Para a avaliação da percentagem de infecção micorrízica, coletaram-se algumas amostras de raízes, de ambos

os tratamentos. O método de avaliação da percentagem de infecção foi o mesmo utilizado para o trabalho de levantamento de campo, descrito no item 3.1.

Obtiveram-se também, no ato da colheita, amostras compostas, tanto do solo natural como do solo estéril, para exame dos esporos de fungos micorrízicos. A técnica usada foi a mesma descrita no item 3.1.

Para exame nematológico, enviou-se ao Departamento de Zoologia (ESALQ) uma amostra do solo natural antes e outra após o crescimento da cana-de-açúcar em casa-de-vegetação.

Como a diferença de desenvolvimento das plantas entre os 2 tratamentos foi muito grande, maior no solo estéril que no solo natural, resolveu-se instalar o segundo experimento em casa-de-vegetação, usando-se, desta vez, solo natural, solo esterilizado por 4 métodos diferentes de esterilização, os quais foram: autoclavagem (2 h à 120°C), vapor flutuante, radiação gama (1,5 Megarad) e fumigação (Brometo de metila), solo esterilizado pelos 4 métodos mais suspensão de solo (detalhes mais adiante) e um tratamento de solo esterilizado por brometo de metila infestado com esporos de fungos micorrízicos.

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com 5 repetições.

O solo (LE) usado neste ensaio, foi coletado dentro do canavial, próximo ao experimento de a-

dubação e aproveitamento de vinhaça, referido no item 3.1., à profundidade de 0-30cm, após limpeza da superfície. Foram enviadas ao laboratório de análise química do solo do IAA/PLANALSUCAR, amostras do solo natural e amostras coletadas a pós o solo ter sido esterilizado.

Foram utilizados vasos de alumínio com dimensões internas aproximadas de 15,0 e 9,0 cm de diâmetros, na boca e na base respectivamente e 16,0 cm de altura. Os vasos foram previamente lavados e esterilizados em autoclave.

O solo foi peneirado (peneira de malhas 0,5 cm) e aquele destinado à esterilização por radiação gama foi acon dicionado em sacos de polietileno com aproximadamente 2 litros de solo cada e enviado ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) para esterilização. Os solos esterilizados por autoclavagem e vapor fluente foram tratados nos próprios vasos. Já o solo para esterilização com brometo de metila foi colocado dentro de um saco de polietileno e dentro dele foi adicionado o fumigante, sobre placa de Petri, na dose de 20 ml para 33 kg de solo, com o auxílio de dosificador adequado para esse fim. O saco permaneceu hermeticamente fechado du rante 48 horas. Após esse período, abriu-se o saco, agitou-se o solo e deixou-se aberto por mais 48 horas para que o excesso de brometo de metila fosse eliminado. O solo, após esse procedimento, foi colocado nos vasos e levado à casa-de-vegetação.

Colmos de cana-de-açúcar da variedade NA56-79,

colhidos próximos ao experimento referido no item 3.1., foram divididos em toletes com aproximadamente 1 cm acima e abaixo do nó. Selecionaram-se os toletes sadios e colocaram-se em caixas de areia autoclavada, para pré-germinação por 30 dias, e então foram transplantados para os vasos.

Para propiciar uma condição básica de microrganismos contaminantes, porém livre de micorrizas, tomou-se uma amostra de solo natural, suspendeu-se em água e peneirou-se em peneira de 0,053 mm. Essa suspensão foi filtrada em papel de filtro (Whatman nº 1) e 50 ml por vaso dessa suspensão foram colocados em 5 vasos de cada método de esterilização, após o transplante das mudas.

Antes do transplante, 5 vasos com solo esterilizado por brometo de metila receberam 100 ml de solo com esporos de *Gigaspora gilmorei*. Estes, no entanto, não receberam suspensão de solo. O número de esporos por 100 ml de solo foi aproximadamente de 350. Fez-se apenas um tratamento desse tipo, devido à pouca quantidade de inóculo que havia disponível.

As gemas foram transplantadas com uma altura variando de 3 a 10 cm. Os vasos foram mantidos em casa-de-vegetação, fazendo-se irrigações diárias conforme necessário.

O experimento foi conduzido por um período de 60 dias, quando se tomou a altura das plantas.

O referido experimento será mantido por aproximadamente mais 120 dias, quando então será colhido e serão obtidos os resultados finais.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. LEVANTAMENTO DE CAMPO

A variação da quantidade de esporos de fungos micorrízicos durante as 6 amostragens realizadas no experimento e a percentagem de infecção das raízes da cana-de-açúcar referente às 3 últimas amostragens encontram-se na Figura 1, onde são associadas às variações mensais de temperatura média e pluviométrica e na Tabela 1 os mesmos dados são apresentados juntamente com a variação dos valores de pH, P, K, Ca e Mg, acompanhados durante o transcorrer do experimento.

Figura 1 - Número de esporos de fungos micorrízicos e percentagem de infecção de raízes de cana-de-açúcar e a variação de temperatura e precipitação de julho a dezembro de 1980 e janeiro a julho de 1981.

Tabela 1 - Médias de valores de pH, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, número de esporos/100 ml de solo e percentagem de infecção, referentes às 6 épocas de amostragens (médias de 24 repetições).

Amostragens	pH	Fósforo (ppm)	Potássio (ppm)	Cálcio (ppm)	Magnésio (ppm)	Número de esporos/ /100 ml	Infecção (% de segmentos)
setembro - 80	6,28 c	84,87 ab	79,33 b	1.266,50 a	282,04 e	681 e	-
novembro - 80	6,30 c	86,66 ab	137,66 a	1.221,12 abc	307,00 cd	986 cd	-
janeiro - 81	6,35 bc	80,75 b	67,41 bc	1.158,08 d	288,25 de	1.057 bc	-
março - 81	6,50 a	96,25 a	62,50 bc	1.232,79 ab	327,29 bc	1.089 ab	19,10 a
maio - 81	6,43 ab	95,00 ab	62,79 bc	1.191,29 bcd	351,00 a	1.175 a	17,51 a
julho - 81	6,46 a	88,58 ab	58,29 c	1.097,08 e	330,70 ab	914 d	12,76 b
C.V. (%)	1,86	20,28	25,26	5,42	8,42	11,11	33,85
D.M.S. (0,05)	0,10	15,16	16,83	54,66	22,32	92,23	3,92

As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si à 5% de probabilidade.

Não são apresentados os resultados de infecção de raízes referentes às 3 primeiras amostragens, porque não se conseguiu obtê-las, devido ao não desenvolvimento das raízes nas duas primeiras amostragens e à perda involuntária das mesmas na terceira amostragem, devido à demora na separação, que resultou no apodrecimento destas raízes, em virtude do excesso de umidade do solo amostrado.

Verifica-se, na Figura 1, que, à medida que aumentam a temperatura e a umidade, aumenta o número de esporos no solo. Entretanto, em fevereiro iniciaram a decrescer tanto a umidade quanto a temperatura e o número de esporos continuou crescendo para atingir valores máximos em maio e tornar a cair em julho.

Levantamentos de campo em solos de clima temperado (HAYMAN, 1970) e de clima tropical (KIANMEHR, 1981) mostram que o máximo de esporos obtidos foi nos meses de verão quando se associam altas temperaturas e umidade, tendendo a decrescer no outono, para atingir valores mínimos no inverno.

Entretanto, o que se observa pelos dados obtidos, é que no verão, quando se associam altas temperatura e umidade, não se conseguiu o maior número de esporos e sim o pico máximo ocorreu no outono, para no inverno tornar a decrescer, quando caem tanto a umidade quanto a temperatura.

A precipitação que ocorreu entre os meses de fevereiro a junho possivelmente seja suficiente para manter um bom teor de umidade sem afetar a aeração do solo, propor -

cionando um melhor desenvolvimento dos fungos micorrízicos, uma vez que estes são aeróbicos.

A percentagem de infecção das raízes da cana-de-açúcar tende a decrescer à medida que decrescem a umidade e a temperatura. Tal tendência também foi observada por SPARLING e TINKER (1975), em um levantamento de campo com gramíneas, e um aumento na percentagem de infecção, observado principalmente nos meses de verão, foi associado a altas temperaturas e umidade que ocorrem nesse período (RABATIN, 1979; KIANMEHR, 1981). Entretanto, não se pode comparar diretamente os dados obtidos neste trabalho com os encontrados na literatura, em virtude da falta dos mesmos nas 3 primeiras amostragens.

Outro fator que provavelmente tenha contribuído para que a percentagem de infecção das raízes tendesse a decrescer é o ciclo da cultura. Sabe-se que, à medida que a cana-de-açúcar avança para o final da estação de crescimento, o sistema radicular vai morrendo e raízes novas se desenvolvem mais lentamente e em menor intensidade (DILLEWIJN, 1952). No entanto, MOSSE e BOWEN (1968b) e SPARLING e TINKER (1975) acham que, em hospedeiros perenes, onde as raízes vivas e infectadas estão presentes durante todo o ano, existe uma menor pressão para a formação de esporos do que quando as raízes morrem ao final da estação de crescimento ou quando o hospedeiro anual morre. Postulam que é provável que os fungos micorrízicos vesiculares-arbusculares em gramíneas permanentes não sejam induzidos a formar esporos ou formam muito pouco, pois as

novas raízes que surgem tornam-se infectadas pelo micélio proveniente de outras raízes, antes que pela germinação de esporos. Todavia, isso não é o que se verifica aqui, onde uma percentagem de infecção de raízes relativamente baixa, variando de 3 a 45%, com uma concentração de esporos bastante elevada, variando de 433 a 1.620 por 100 ml de solo (só comparada às obtidas por SUTTON e BARRON, 1972, em solos cultivados com trigo ou tomate e BLACK e TINKER, 1979, com cevada) parece ser uma característica da associação entre micorrizas vesiculares-arbusculares e a cana-de-açúcar, pelo menos em solos férteis, pois resultados semelhantes foram obtidos por DAINESE e CARDOSO (1981) em levantamentos da população micorrízica em 8 variedades estudadas.

A análise periódica dos valores de pH, fósforo, potássio, cálcio e magnésio do solo (Tabela 1) não apresentam nenhuma correlação com o número de esporos e percentagem de infecção das raízes. Diferenças significativas foram observadas apenas com relação à época de amostragem e à quantidade de potássio, que foi significativamente maior no tratamento com vinhaça que no sem vinhaça (Tabela 2).

Embora se observe uma tendência do número de esporos e percentagem de infecção serem maiores no tratamento com vinhaça, estatisticamente as médias não são diferentes entre si.

KRUCKELMANN (1975) observou um aumento no número de esporos em solos argilosos, quando se adiciona matéria

Tabela 2 - Médias de potássio, rendimento, pol% cana, pol% caldo, número de esporos e percentagem de infecção de raízes dos tratamentos com e sem vinhaça.

Tratamentos	Potássio (ppm)	Rendimento (t/ha)	Pol% de cana	Pol% de caldo	Nº de esporos por 100 ml de solo	Infecção de raízes (%)
sem vinhaça	41,45 b	49,91 b	15,39 a	18,27 a	934 a	13,92 a
com vinhaça	114,20 a	82,33 a	15,73 a	18,54 a	1.034 a	19,00 a
C.V. (%)	25,26	26,87	6,96	4,04	11,11	33,85
D.M.S. (0,05)	17,60	9,93	1,23	0,75	276,17	8,20

orgânica, e HAYMAN (1975) conseguiu maior infecção micorrízica em solos que receberam matéria orgânica. Isso, entretanto, é dependente do tipo de solo com que se está trabalhando (KRUCKELMANN, 1975).

Na Tabela 3, onde se apresenta o efeito da adubação mineral sobre o número de esporos e a percentagem de infecção, observa-se que, à medida que aumenta a concentração de fósforo no solo, tende a cair o número de esporos e nenhuma relação se verifica com a percentagem de infecção. Os dados, entretanto, não diferem significativamente.

Tabela 3 - Efeito da adubação mineral sobre o número de esporos e percentagem de infecção.

Subtratamentos	Fósforo (ppm)	Nº de esporos 100 ml de solo	Infecção de raízes (%)
0	79,39 a	1.019 a	16,01 a
60 kg N/ha	80,14 a	980 a	18,32 a
30 kg N + 30 kg P ₂ O ₅ /ha	107,54 a	952 a	15,04 a
C.V. (%)	20,28	11,11	33,81
D.M.S. (0,05)	59,51	181,58	3,77

Observa-se na literatura (SANDER e TINKER, 1971 e 1973; MOSSE, 1973a e 1973b; COOPER, 1975; HAYMAN *et alii*, 1975; RHODES e GERDEMANN, 1980; TINKER, 1980) que, à medida que se aumenta a disponibilidade de fósforo no solo, decresce a percentagem de infecção micorrízica das raízes. O número de esporos também tende a decrescer (KRUCKELMANN, 1975), embora dados não consistentes tenham sido relatados por HAYMAN (1975) e BLACK e TINKER (1979).

Sendo a percentagem de infecção de raízes o parâmetro mais comumente usado pelos autores para avaliar a eficiência da simbiose entre o fungo endomicorrízico e a planta hospedeira, a falta de relação que existe entre os teores de fósforo no solo e a percentagem de infecção de raízes da cana-de-açúcar, uma vez que as micorrizas vesiculares-arbusculares são consideradas especializadas na absorção desse elemento, é provavelmente devido ao teor muito alto desse nutriente no solo estudado.

Sabe-se que grandes respostas no desenvolvimento das plantas, provocadas pelas micorrizas vesiculares-arbusculares, ocorrem em solos deficientes em fósforo (MOSSE, 1973b; TINKER, 1980). Entretanto, os níveis de fósforo no solo em que há uma resposta à infecção micorrízica ou ao desenvolvimento da planta micorrizada são dependentes do tipo de solo, espécies de endófito e de planta envolvidos (TINKER, 1980). Por exemplo, MENGE *et alii* (1978b) verificaram que em um solo arenoso, cuja disponibilidade de fósforo era de 4,6 ppm,

que recebeu vários níveis diferentes de fósforo, duas espécies de *Citrus* inoculadas com *Glomus fasciculatus*, e que não receberam nenhum fósforo adicional, corresponderam àquelas não inoculadas que receberam 56 ppm para uma espécie (CITRANGE) e 278 ppm para a outra espécie (SOUR ORANGE), em resposta ao crescimento. Yost e Fox (1979), citados por TINKER (1980), observaram em trevo cultivado em um solo tropical que o efeito da infecção micorrízica cessa quando os níveis de fósforo na solução do solo variam de 0,1 a 1,6 ppm, dependendo da espécie de fungo endomicorrízico envolvido. HAYMAN (1975) observou uma queda de 60% de infecção micorrízica em cevada quando o nível de fósforo no solo passou de 8 para 13 ppm.

No entanto, nenhuma relação desse tipo pôde ser feita aqui, pois o nível de fósforo desse solo é muito elevado para que a cana-de-açúcar responda à infecção micorrízica, uma vez que essa cultura responde a fósforo até os níveis de 16 a 35 ppm, dependendo do tipo de solo e variedade envolvidos (SILVA, L.C.F., Secção de Solos e Adubação - IAA/PLANALSUCAR - informação pessoal).

Um fator que deve ser analisado com cuidado quando se procura estabelecer níveis de fósforo em que há resposta à infecção ou ao efeito da infecção é o método de extração desse fósforo. De acordo com TINKER (1980) o método que mais se aproxima da capacidade de aproveitamento de fósforo por plantas micorrizadas é o de Olsen, que usa bicarbonato de sódio como extrator. No nosso caso, o extrator usado foi

H₂SO₄ 0,5N, que mais se aproxima da capacidade de extração da cana-de-açúcar, de acordo com BITTERCOURT *et alii* (1977). Daí, então, o alto teor de fósforo desse solo. É possível que, em solos de baixa fertilidade, as micorrizas vesiculares-arbusculares possam ter papel de relevada importância na absorção de nutrientes em cana-de-açúcar e, portanto, precisam ser investigadas.

Com relação aos demais nutrientes estudados, nenhuma interação significativa foi observada, incluindo o pH e número de esporos no solo e/ou percentagem de infecção, embora BLACK e TINKER (1979) tenham observado uma correlação positiva entre valores de pH e percentagem da infecção, e KRUCKELMANN (1975) tenha encontrado aumento no número de esporos à medida que aumentam os valores de pH. Isso, também, segundo os autores, é dependente do tipo de solo envolvido.

Observou-se um significativo aumento na produção da cana-de-açúcar nos tratamentos com vinhaça (Tabela 4). Todos os outros fatores estudados não afetaram a produção. Esse efeito da vinhaça pode ter sido devido a maior quantidade de potássio (Tabela 2), como também devido ao favorecimento de outros fatores, como por exemplo, o aumento da atividade microbiana ou uma melhor estruturação do solo.

Os esporos dos fungos que causam micorrizas vesiculares-arbusculares em cana-de-açúcar, encontrados neste levantamento, foram identificados pelo Dr. N.C. Schenck, Universidade da Flórida (USA), como pertencentes às espécies *Glomus*

fasciculatus; *Glomus leptotichus*, *Acaulospora scrobiculata* e *Gigaspora gilmorei*. Entretanto, Dr. L.H. Rhodes da Universidade de Ohio (USA) acha que, além dessas quatro espécies, existem também *Acaulospora laevis* e *Glomus microcarpus*. Ambos os pesquisadores consideram que entre essas espécies, apareceu uma nova espécie, pertencente ao gênero *Gigaspora*. Esta espécie ainda não foi descrita, por não ter sido possível obtê-la em

Tabela 4 - Efeito da vinhaça e adubação mineral sobre o rendimento médio da cana-de-açúcar, pol% de caldo e pol% de cana.

Tratamentos	Subtratamentos	Rendimento (t/ha)	Pol% de cana	Pol% de caldo
sem vinhaça	0	50,00 b	15,57 a	18,48 a
	60 kg N/ha	49,25 b	15,39 a	18,35 a
	30 kg N + 30 kg P/ha	50,50 b	15,20 a	18,00 a
com vinhaça 100 m ³ /ha	0	77,25 a	16,03 a	18,64 a
	60 kg N/ha	87,00 a	15,88 a	18,55 a
	30 kg N + 30 kg P/ha	82,75 a	15,29 a	18,43 a
C.V. (%)		26,87	6,96	4,04
D.M.S. (0,05)		9,93	1,23	0,75

cultivo único nas raízes do milho. Seus esporos apresentam o bulbo de inserção em forma de saia, com as paredes mais grossas, características bem diferentes das outras espécies de *Gí*

gaspora até então conhecidas.

A proporção de esporos claros e grandes pertencentes aos gêneros *Acaulospora* e *Gigaspora* variou entre 4 à 30%, enquanto que para o gênero *Glomus* foi de 70 à 96%. Isso parece indicar uma associação preferencial entre espécies do gênero *Glomus* e a rizosfera da cana-de-açúcar. Isso, entretanto, não pode ser considerado conclusivo, porque ainda não se conhece o benefício que as micorrizas vesiculares-arbusculares representam para a cana-de-açúcar.

Os índices de infecção observados para a cana-de-açúcar (3-45%, tendo como índice médio o valor de 16%) é semelhante ao observado por DAINESE e CARDOSO (1981) para a variedade NA56-79 (16,6%). Convém lembrar, entretanto, que embora a infecção seja uma avaliação essencial em trabalhos com micorrizas, o índice de infecção das raízes é um dado subjetivo e as comparações de dados apresentados por diferentes autores devem ser efetuados com ressalvas, particularmente quanto ao seu valor absoluto (LOPES, 1981). No geral, as avaliações dos métodos atualmente disponíveis dão uma idéia superestimada do volume de raízes efetivamente colonizadas pelo fungo (GIOVANNETTI e MOSSE, 1980).

4.2. EXPERIMENTOS EM CASA-DE-VEGETAÇÃO

Os resultados obtidos no primeiro experimento em casa-de-vegetação (Tabela 5) mostram uma grande diferença de peso seco tanto das raízes como da parte aérea das plantas de cana-de-açúcar cultivadas em solo natural e solo autoclavado.

Tabela 5 - Valores médios de peso seco (g) de raízes e parte aérea de plantas de cana-de-açúcar com 19 semanas de crescimento após transplante, em casa-de-vegetação. Média de 24 repetições.

Tratamentos	Peso seco (g)	
	Raízes	Parte aérea
Solo natural	2,53	2,93
Solo autoclavado	8,07	9,96
C.V. (%)	31,53	37,84
D.M.S. (0,05)	0,97	1,42

O menor desenvolvimento radicular acompanhado de elevado índice de podridão das raízes, observado no tratamento com solo natural, cujas lesões excediam a 2/4 das raízes, e que recebeu a nota 3 (numa escala de notas que varia -

vam de 0 (zero) = sem podridão a 3 = mais que 50% de lesões marrom-escuras ou avermelhadas) é provavelmente conseqüência da interação entre nematóides, principalmente *Pratylenchus zeae* e os fungos *Pythium* spp. e *Fusarium* spp., pois nas condições em que o experimento foi instalado e conduzido é difícil analisar os diversos fatores isoladamente.

Pelo levantamento de fungos presentes no sistema radicular (Tabela 6), o gênero *Fusarium* foi o mais encontrado, pois, de 80 lesões, obtiveram-se 28 isolados e, destes, 10 eram *Fusarium* spp. e apenas 2 pertenciam ao gênero *Pythium*.

Tabela 6 - Número de isolados obtidos no levantamento de fungos das raízes da cana-de-açúcar após cultivo em casa-de-vegetação.

Fungos identificados	Solo natural (nº de isolados)	Solo autoclavado (nº de isolados)
<i>Fusarium</i>	10	3
<i>Penicillium</i>	3	1
<i>Epicoccum</i>	3	-
<i>Pythium</i>	2	-
<i>Rhizoctonia</i>	1	2
<i>Thrichoderma</i>	1	-
<i>Geotrichum</i>	1	-
<i>Lacellinopsis</i>	1	-
<i>Curvularia</i>	-	1
Não identificados	6	2
TOTAL	28	9

Convém ressaltar que o levantamento não foi seletivo para um tipo de fungo especial mas sim do complexo de fungos que se associam às raízes da cana-de-açúcar.

O maior aparecimento de *Fusarium* talvez se deva em parte à sua presença no solo, e em parte à infestação natural da cana-de-açúcar, pois os toletes não sofreram tratamento térmico nem desinfecção com fungicidas. Essa hipótese é levantada em razão do seu aparecimento entre os isolados obtidos no tratamento com solo autoclavado. Neste tratamento, apenas 9 isolados foram conseguidos de 40 lesões selecionadas.

O resultado do complexo de nematóides do solo (Tabela 7) mostra que pelo menos 4 tipos diferentes de nematóides encontrados são patogênicos à cana-de-açúcar, com destaque para a espécie *Pratylenchus zae* que, além de aparecer em maiores quantidades, é um dos mais sérios causadores de danos à cultura.

Embora HARRIS (1974) não tenha encontrado nenhuma diferença de peso seco de plantas de cana-de-açúcar causada por *Pratylenchus zae*, VALLE-LAMBOY e AYALA (1980) observaram que a cana foi altamente prejudicada quando o nematóide cresceu em suas raízes. Também CARDOSO e VALDEBENITO (1982) verificaram uma grande redução do peso seco da parte aérea de plantas de cana-de-açúcar quando o inóculo do fungo endomicorrízico *Glomus fasciculatus* estava contaminado com *P. zae*.

As diferenças entre os diversos autores provavelmente estejam relacionadas às quantidades e formas de inó-

culo, e às variedades de cana-de-açúcar estudadas (CARDOSO e VALDEBENITO, 1982).

Tabela 7 - Nematóides identificados no levantamento feito no solo natural antes e após o cultivo da cana-de-açúcar em casa-de-vegetação.

Nematóides identificados	ANTES	APÓS
<i>Pratylenchus zeae</i> *	++++ (a)	++++
<i>Paratrichodorus</i> *	++++	+++ (b)
<i>Aphelenchus</i>	++ (c)	++
<i>Trichonemoides</i> *	+	-
<i>Xiphinema</i> *	- (e)	+
<i>Dorylaimoidea</i>	+	+
<i>Rabditidea</i>	-	+
Nematóides parasitados por fungos	+	+
Rotíferos	-	+

* - Nematóides causadores de parasitismo em cana-de-açúcar.

a - (++++) - nematóides presentes em grande quantidade.

b - (+++) - presentes em média quantidade.

c - (++) - presentes em pouca quantidade.

d - (+) - presentes.

e - (-) - ausentes.

A podridão das raízes da cana-de-açúcar, uma das mais importantes doenças encontradas, atribuída a *Pythium*, especialmente *P. graminicola*, principal agente, é amplamente

discutida por RANOS (1961) e os danos se agravam quando se as sociam nematóides (KOIKE e ROMAN, 1970; VALLE-LAMBOY e AYALA, 1980).

Lui *et alii* (1971), citados por VALLE-LAMBOY e AYALA (1980), comentam que a podridão das raízes da cana-de-açúcar é provavelmente causada por um complexo de patógenos in teragindo, incluindo espécies de nematóides, *Pythium* e *Fusa - rium*.

Uma interação de tal natureza é que nos leva a crer que seja a causa mais provável do menor desenvolvimento da cana-de-açúcar no solo natural.

Embora se saiba pela literatura (LAWRENCE, 1956; TUITTE, 1969; JOHNSON e CURL, 1972) que a esterilização pelo calor pode provocar um aumento na concentração de sais solúveis, alcançando níveis capazes de causar toxidez às plantas, especialmente em solos de pH baixo e/ou de elevado teor de ma téria orgânica, não é o que se verificou com relação ao tipo de solo (LE) deste experimento.

Para confirmar que o grande desenvolvimento da cana-de-açúcar no solo estéril não foi devido à liberação de nutrientes, resolveu-se instalar um novo experimento, cujos re sultados da análise química do solo antes e após cada método de esterilização encontram-se na Tabela 8.

Neste experimento, quando se usou, além do calor, a esterilização por radiação gama e por brometo de metila, verificou-se que a altura média das plantas (Tabela 9) não

Tabela 8 - Resultados da análise química do solo natural e após a esterilização.

Solo	pH	P (ppm)	K (ppm)	Ca (ppm)	Mg (ppm)
Natural	6,90	300	42	1646	396
Autoclavado	7,10	320	50	1680	468
Vapor fluente	7,20	280	66	1590	412
Irrradiado	7,20	300	45	1641	420
Fumigado	7,20	320	40	1669	446

diferiu significativamente entre os tratamentos com solo esterilizado, mas diferiu da testemunha (solo natural). Isso leva a supor que os diferentes métodos de esterilização eliminaram os agentes patogênicos do solo, especialmente os nemat^oides, uma vez que se observou uma leve tendência em diminuir o desenvolvimento das plantas em todos os tratamentos de esterilização que receberam suspensão de solo filtrado.

Desta maneira nos leva a concluir que a principal razão para o melhor desenvolvimento da cana-de-açúcar no solo estéril é devido à eliminação de patógenos, uma vez que ainda não se pode observar o efeito dos fungos micorr^oizicos sobre a cana-de-açúcar.

A análise da percentagem de infecção micorr^oizica, efetuada no primeiro experimento, indicou no tratamento com solo natural apenas 7% de infecção, e nenhuma foi observada no solo autoclavado. Esse resultado foi bastante inferior

à média observada (16%) no levantamento de campo deste trabalho, bem como para o obtido por DAINESE e CARDOSO (1981), com a mesma variedade. O número de esporos encontrado (840 esporos/100ml de solo) no tratamento com solo natural manteve-se dentro da taxa obtida no levantamento de campo.

Tabela 9 - Altura (cm) média das plantas com 60 dias de crescimento após transplante - média de 5 repetições.

Tratamentos	Altura (cm)
Solo natural	91,20 b
Solo autoclavado	144, 25 a (*)
Solo autoclavado + suspensão de solo	120,80 a
Solo vapor fluente	142,20 a
Solo vapor fluente + suspensão de solo	139,00 a
Solo irradiado	143,60 a
Solo irradiado + suspensão de solo	140,00 a
Solo fumigado	141,00 a
Solo fumigado + suspensão de solo	125,00 a
Solo fumigado + micorriza	127,00 a
C.V. (%)	8,30
D.M.S. (0,05)	24,52

(*) Média de 4 repetições.

O fato da cana-de-açúcar ser gramínea e estas terem menor taxa de infecção radicular por possuírem sistema radi

cular fasciculado torna esta família menos dependente da infecção micorrízica que outras famílias como, por exemplo, as leguminosas, que apresentam sistema radicular menor e maior diâmetro das raízes.

Outra provável condição para a baixa infecção radicular da cana-de-açúcar é o alto nível de fósforo no solo, uma vez que a exigência da cultura para esse elemento é baixa .

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nos trabalhos aqui relatados permitem as seguintes conclusões:

- a) Alto número de esporos (433-1.620 esporos/100 ml de solo) com um relativamente baixo nível de infecção (3-45%) parece ser uma característica da associação micorrízica com a cana-de-açúcar, pelo menos neste solo (LE), que recebeu pesada adubação fosfatada.
- b) Embora o número de esporos seja muito elevado no solo, as espécies de fungos micorrízicos foram poucas, tendo sido encontradas as seguintes espécies: *Glomus leptotichus*, *Glomus fasciculatus*, *Gigaspora gilmorei* e *Acaulospora scrobiculata*.

- c) A variação da umidade e da temperatura associadas à esta -
ção de crescimento da cana-de-açúcar foram os fatores que
mais se correlacionaram com a variação populacional de es-
poros e percentagem de infecção.
- d) Não foi possível demonstrar efeito benéfico sobre o peso
seco da cana-de-açúcar, proporcionado por fungos micorrízi-
cos, neste tipo de solo. Portanto, em solos ricos em fósfo-
ro, a presença de fungos micorrízicos não parece exercer
grande influência no desenvolvimento da cana-de-açúcar, va-
riedade NA56-79.
- e) O menor desenvolvimento das plantas de cana-de-açúcar veri-
ficado no solo não esterilizado foi atribuído à presença
de nematóides (*Pratylenchus zae*) e/ou fungos (*Fusarium*
spp. e *Pythium* spp.).

6. LITERATURA CITADA

- ALLEN, M.F.; T.S. MOORE Jr.; M. CHRISTENSEN e N. STANTON, 1979. Growth of vesicular-arbuscular-mycorrhizal and nonmycorrhizal *Bouteloua gracilis* in a defined medium. *Mycologia*, 71: 666-669.
- AMBLER, J.R. e J.L. JOUNG, 1977. Techniques for determining root lenght infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 41: 551-556.
- AZCÓN, R.; A.D. MARIN e J.M. BAREA, 1978. Comparative role of phosphate in soil or inside the host on the formation and effects of endomycorrhiza. *Plant and Soil*, 49: 561-567.
- BECKER, W.N. e J.W. GERDEMANN, 1977. Colorimetric quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in onion. *New Phytol.*, 78: 289-295.

- BEVEGE, D.I., 1968. A rapid technique for clearing tanins and staining intact roots for detection of mycorrhizas caused by *Endogone* spp., and some records of infection in Australasian plants. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 51: 808-810.
- BEVEGE, D.I.; G.D. BOWEN e M.F. SKINNER, 1975. Comparative carbohydrate physiology of ecto- and endomycorrhizas. In: F.E. SANDERS; B. MOSSE e P.B. TINKER, (Eds.). *Endomycorrhizas*. Academic Press, London. p.149-174.
- BIERMANN, B. e R.G. LINDERMAN, 1981. Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, 84: 489-500.
- BITTENCOURT, V.C.; J. ORLANDO Fº e E. ZAMBELLO Jr., 1977. Determination of the available soil phosphorus for sugar cane in tropical soil extracted with H₂SO₄ 0,5N. In: *Congress of International Society of Sugar Cane Technologists*, São Paulo, 16: 1175-1186.
- BJÖRKMAN, E., 1970. Forest tree mycorrhiza - The condition for its formation and the significance for tree growth and afforestation. *Plant and Soil*, 55: 589-610.
- BLACK, R. e P.B. TINKER, 1979. The development of endomycorrhizal root systems. II. Effect of agronomic factors and soil conditions on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in barley and on the endophyte spore density. *New Phytol.*, 83: 401-413.
- BOATMAN, N.; D. PAGET; D.S. HAYMAN e B. MOSSE, 1978. Effect of systemic fungicides on vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and plant phosphate uptake. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 70: 443-450.

- CARDOSO, E.J.B.N., 1978. Ocorrência de micorriza em café. *Summa Phytopathologica*, 4: 136-137.
- CARDOSO, E.J.B.N. e R.M. VALDEBENITO, 1982. Endomicorrizas e nematôides em cana-de-açúcar (no prelo).
- COMISSÃO DE SOLOS, 1960. Carta de Solos do Estado de São Paulo. M.A., S.N.E.P.A. - S.N.R.A. (Boletim nº 12).
- COOPER, K.M., 1975. Growth responses to the formation of endotrophic mycorrhizas. In: F.E. SANDERS; B. MOSSE e P.B. TINKER (Eds.). *Endomycorrhizas*. Academic Press, London, p.391-407.
- COOPER, K.M. e D.M. LÖSEL, 1978. Lipid physiology of vesicular-arbuscular mycorrhiza. I. composition of lipids in roots of onion, clover, and ryegrass infected with *Glomus mosseae*. *New Phytol.*, 80: 143-151.
- COX, G.; F.E. SANDERS; P.B. TINKER e J.A. WILD, 1975. Ultrastructural evidence relating to host-endophyte transfer in a vesicular-arbuscular mycorrhiza. In: F.E. SANDERS; B. MOSSE e P.B. TINKER, (Eds.). *Endomycorrhizas*. Academic Press, London. p.297-312.
- CRUSH, J.R., 1976. Endomycorrhizal and legume growth in some soils of the Mackenzie Basin, Canterbury, New Zealand. *N.Z. Journal of Agricultural Research*, 19: 473-476.
- DAFT, M.J. e A.A. EL-GIAHMI, 1975. Effect of *Glomus* infection on three legumes. In: F.E. SANDERS; B. MOSSE e P.B. TINKER, (Eds.). *Endomycorrhizas*. Academic Press, London. p.581-592.

- DAFT, M.J. e T.H. NICOLSON, 1972. Effect of *Endogone* mycorrhizal on plant growth. IV. Quantitative relationships between the growth of the host and the development of the endophyte in tomato and maize. *New Phytol.*, 71: 287-295.
- DAINESE, M.B. e E.J.B.N. CARDOSO, 1981. Algumas observações sobre fungos endomicorrízicos em associação com cana-de-açúcar em Piracicaba, SP. *O Solo*, Piracicaba, 73: 24-27.
- DAVIS, R.M. e J.A. MENGE, 1981. *Phytophthora parasitica* inoculation and intensity of vesicular-arbuscular mycorrhizae in citrus. *New Phytol.*, 87: 705-715.
- DEAL, D.R.; C.W. BOOTHROYD e W.F. MAI, 1972. Replanting of vineyards and its relationships to vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Phytopathology*, 62: 172-175.
- DILLEWIJN, C. van, 1952. *Botany of Sugarcane*. USA, Waltham, 371p.
- GERDEMANN, J.W., 1968. Vesicular-arbuscular mycorrhizal and plant growth. *Ann. Rev. Phytopathology*, 6: 397-418.
- GERDEMANN, J.W. e T.H. NICOLSON, 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 46: 235-244.
- GERDEMANN, J.W. e T.H. NICOLSON, 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycologia Memoir*, 5: 76p.

- GIANINAZZI-PEARSON, V. e S. GIANINAZZI, 1978. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza. II. Soluble alkaline phosphatase specific to mycorrhizae infection in onion roots. *Physiological Plant Pathology*, 12: 45-54.
- GILMORE, A.E., 1971. The influence of endotrophic mycorrhizae on the growth of peach seedlings. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 96: 35-37.
- GIOVANNETTI, M. e B. MOSSE, 1980. An evaluation of technique for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, 84: 489-500.
- GREEN, N.E.; S.O. GRAHAM e N.C. SCHENCK, 1976. The influence of pH on the germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores. *Mycologia*, 68: 929-934.
- HARLEY, J.L., 1969. **The Biology of Mycorrhiza**. Leonard Hill, London. 334p.
- HARRIS, R.H.G., 1974. The effects on sugarcane of plant-parasitic nematodes in non-sterile monospecific cultures. *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Techn.*, 15: 327-337.
- HAYMAN, D.S., 1970. *Endogone* spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat as influenced by season and soil treatment. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 54: 53-63.
- HAYMAN, D.S., 1974. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VI. Effect of light and temperature. *New Phytol.*, 73: 71-80.

- HAYMAN, D.S., 1975. The occurrence of mycorrhiza in crops as affected by soil fertility. In: F.E. SANDERS; B. MOSSE e P.B. TINKER, (Eds.). *Endomycorrhizas*. Academic Press, p.495-509.
- HAYMAN, D.S.; A.M. JOHNSON e I. RUDLESDIN, 1975. The influence of phosphate and crop species on *Endogone* spores and vesicular-arbuscular mycorrhiza under field conditions. *Plant and Soil*, 43: 489-495.
- HEPPER, C.M., 1977. A colorimetric method for estimating vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *Soil Biol. Biochem.*, 9: 15-18.
- HUSSEY, R.S. e R.W. RONCADORI, 1978. Interaction of *Pratylenchus brachyurus* and *Gigaspora margarita* on cotton. *Journal of Nematology*, 10: 16-20.
- IAA/PLANALSUCAR, 1977. Relatório Anual. Estações Experimentais, Piracicaba, 100p.
- JALALI, B. e K.H. DOMSCH, 1975. Effect of systemic fungitoxics on the development of endotrophic mycorrhiza. In: F.E. SANDERS; B. MOSSE e P.B. TINKER, (Eds.). *Endomycorrhizas*. Academic Press, London. p.619-626.
- JOHNSON, L.F. e E.A. CURL, 1972. *Methods for research on the ecology of soil-borne plant pathogens*. Burgess Pub. Co., Minneapolis, Minnesota. 247p.
- KHAN, A.G., 1978. Vesicular-arbuscular mycorrhizas in plant colonising black wastes from bituminous coal mining in the Illawarra region of New South Wales. *New Phytol.*, 81: 53-63.

- KHAN, A.G., 1981. Growth responses of endomycorrhizal onion unsterilized coal waste. *New Phytol.*, 86: 363-370.
- KIANMEHR, H., 1981. Vesicular-arbuscular mycorrhizal spore population and infectivity of saffron (*Crocus sativus*) in Iran. *New Phytol.*, 85: 79-82.
- KOIKE, H. e J. ROMAN, 1970. Pathogenicity of *Pratylenchus brachyurus* and *Pythium graminicola* to sugarcane. *Phytopathology*, 60: 1562-1565.
- KRUCKELMANN, H.W., 1975. Effects of fertilizers, soils, soil tillage, and plant species on the frequency of *Endogone* chlamydospores and mycorrhizal infection arable soil. In: F.E. SANDERS; B. MOSSE e P.B. TINKER, (Eds.). *Endomycorrhizas*. Academic Press, London. p.511-525.
- LAWRENCE, W.J.C., 1956. *Soil Sterilization*. George Allen and Unwin Ltd., London. 171p.
- LEWIS, D.H., 1975. Comparative aspects of the carbon nutrition of mycorrhizas. In: F.E. SANDERS; B. MOSSE e P.B. TINKER, (Eds.). *Endomycorrhizas*. Academic Press, London. p.119-148.
- LOPES, E.S., 1981. Eficiência e especificidade das associações micorrízicas do tipo vesicular-arbuscular em gramíneas e leguminosas forrageiras, e no cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Piracicaba, ESALQ/USP, 111p. (Tese de Doutorado)
- MATARÉ, R. e J.M. HATTINGH, 1978. Effect of mycorrhizal status of avocado seedlings on root rot caused by *Phytophthora cinnamomi*. *Plant and Soil*, 49: 433-435.

- MEJSTRIK, V.K., 1972. Vesicular-arbuscular mycorrhizas of the species of a *Molinietum coeruleae* L. I. Association: The Ecology. *New Phytol.*, 71: 883-890.
- MENGE, J.A.; R.M. DAVIS; E.L.V. JOHNSON e G.A. ZENTMYER, 1978a. Mycorrhizal fungi decrease growth and reduce transplant injury in avocado. *California Agriculture*, 32: 6-7.
- MENGE, J.A.; C.K. LABANAUSKAS, E.L.V. JOHNSON e R.G. PLATT, 1978b. Partial substitution of mycorrhizal fungi for phosphorus fertilization in the green-house culture of citrus. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 42: 926-930.
- MILLER, R.H.; E.J.B.N. CARDOSO e C.O.N. CARDOSO, 1979. Some observations on mycorrhizal infection of tropical forage legumes and grasses in Brazil. *Summa Phytopathologica*, 5: 168-172.
- MOSSE, B., 1957. Growth and chemical composition of mycorrhizal and non-mycorrhizal apples. *Nature*, 179: 922-924.
- MOSSE, B., 1973a. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Ann. Rev. Phytopathology*, 11: 171-197.
- MOSSE, B., 1973b. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IV. Soil given additional phosphate. *New Phytol.*, 72: 127-136.
- MOSSE, B., 1975. Specificity in vesicular-arbuscular mycorrhizas. In: F.E. SANDERS, B. MOSSE e P.B. TINKER, (Eds.). *Endomycorrhizas*. Academic Press, London. p.469-484.

- MOSSE, B. e G.D. BOWEN, 1968a. A key to the recognition of some *Endogone* spore types. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 51: 469-483.
- MOSSE, B. e G.D. BOWEN, 1968b. The distribution of *Endogone* spores in some Australian and New Zealand soils, and in an experimental field soil at Rothamsted. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 51: 485-492.
- MOSSE, B. e D.S. HAYMAN, 1979. Mycorrhiza in agricultural plants. In: P. MICOLAS, (Ed.). *Tropical Mycorrhizal Research*. Oxford University Press. p.213-230.
- MOSSE, B.; C.Ll. POWELL e D.S. HAYMAN, 1976. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IX. Interactions between VA mycorrhiza, rock phosphate and simbiotic nitrogen fixation. *New Phytol.*, 76: 331-342.
- NEMEC, S., 1980. Effect of 11 fungicides on endomycorrhizal development in sour orange. *Can. J. Bot.*, 58: 522-526.
- HESHEIM, O.N. e M.B. LINN, 1969. Deleterious effect of certain fungitoxicants on the formation of mycorrhizae on corn by *Endogone fasciculata* and on corn root development. *Phytopathology*, 59: 297-300.
- NICOLSON, T.H., 1967. Vesicular-arbuscular mycorrhiza - A universal plant symbiosis. *Sci. Prog.*, Oxf., 55: 561-581.
- NICOLSON, T.E. e J.W. GERDEMANN, 1968. Mycorrhizal *Endogone* species. *Mycologia*, 60: 313-325.

- NICOLSON, T.H. e N.C. SCHENCK, 1979. Endogonaceous mycorrhizal endophytes in Florida. *Mycologia*, 71: 178-198.
- OCAMPO, J.A. e D.S. HAYMAN, 1980. Influence of plant interactions on vesicular-arbuscular mycorrhizal infections. II. Crop rotations and residual effects on non-host plants. *New Phytol.*, 84: 333-343.
- OHMS, R.E., 1957. A flotation method for collecting spores of a phycomycetous mycorrhiza parasite from soil. *Phytopathology*, 47: 751-752.
- PHILLIPS, J.M. e D.S. HAYMAN, 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 55: 158-161.
- RABATIN, S.C., 1979. Seasonal and edaphic variation in vesicular-arbuscular mycorrhizal infection of grasses by *Glomus tenuis*. *New Phytol.*, 83: 95-102.
- RANDS, R.D., 1961. Root rot. In: J.P. MARTIN; E.V. ABBOT e C.G. HUGHES, (Eds.). **Sugar-cane diseases of the World**. Elsevier Pub. Co., Amsterdam, 1: 288-309.
- RHODES, L.H. e J.W. GERDEMANN, 1980. Nutrient translocation in vesicular-arbuscular mycorrhizae. In: C.B. COOK, W. PAPPAS e E.D. RUDOLPH, (Eds.). **Cellular Interaction in Symbiosis and Parasitism**. The Ohio State University Press, Columbus, Ohio. p.173-195.
- RHODES, L.H. e P.O. LARSEN, 1981. Effect of fungicides on mycorrhizal development of creeping bentgrass. *Plant Diseases*, 65: 145-147.

- ROLIM, P.R.R., 1976. Translocação de benomyl em cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Piracicaba, ESALQ/USP, 41p. (Dissertação de Mestrado)
- RONCADORI, R.W. e R.S. HUSSEY, 1977. Interaction of the endomycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* and root-knot nematode on cotton. *Phytopathology*, 67: 1507-1511.
- SAFIR, G.R.; J.S. BOYER e J.W. GERDEMANN, 1972. Nutrient status and mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. *Plant Physiology*, 49: 700-703.
- SANDERS, F.E. e P.B. TINKER, 1971. Mechanisms of absorption of phosphate from soil by *Endogone* mycorrhizas. *Nature*, 239: 278-279.
- SANDERS, F.E. e P.B. TINKER, 1973. Phosphate flow into mycorrhizal roots. *Pest. Sci.*, 4: 385-395.
- SCHENCK, N.C.; S.O. GRAHAM e N.E. GREEN, 1975. Temperature and light effects on contamination and spore germination of vesicular-arbuscular fungi. *Mycologia*, 67: 1189-1192.
- SCHENCK, N.C. e V.N. SCHROEDER, 1974. Temperature response of *Endogone* mycorrhiza on soybean roots. *Mycologia*, 66: 600-605.
- SMITH, T.F., 1980. The effect of season and crop rotation on the abundance of spore of vesicular-arbuscular (V-A) mycorrhizal endophytes. *Plant and Soil*, 57: 475-479.

- SMITH, S.E. e M.J. DAFT, 1977. Interactions between growth, phosphate content and nitrogen fixation in mycorrhizal and non-mycorrhizal *Medicago sativa*. *Aust. J. Plant Physiol.*, 4: 403-413.
- SPARLING, G.P. e P.B. TINKER, 1975. Mycorrhizas in Pennine Grassland. In: F.E. SANDERS; B. MOSSE e P.B. TINKER, (Eds.). *Endomycorrhizas*. Academic Press, London. p.545-560.
- STRZEMSKA, J., 1975. Mycorrhiza in farm crops grown in monoculture. In: F.E. SANDERS; B. MOSSE e P.B. TINKER, (Eds.). *Endomycorrhizas*. Academic Press, London. p.527-535.
- SUTTON, J.C. e G.L. BARRON, 1972. Population dynamics of *Endogone* spores in soil. *Can. J. Bot.*, 50: 1909-1914.
- THOMAZINI, L.I., 1974. Mycorrhiza in plants of the "Cerrado". *Plant and Soil*, 41: 707-711.
- TINKER, P.B., 1980. Role of rhizosphere microorganisms in phosphorus uptake by plants. In: *The role of phosphorus in agriculture*. ASA-CSSA-SSSA, Madison. p.617-655.
- TUITE, J., 1969. *Plant pathological methods*. Burgess Pub. Co., Minneapolis, Minnesota. 239p.
- VALDEBENITO, R.M., 1982. Estudo da podridão de raízes de cana-de-açúcar causada por *Pythium* spp. Piracicaba, ESALQ/USP. (Tese de Doutorado)
- VALLE-LAMBOY, S. e A. AYALA, 1980. Pathogenicity of *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus zeae*, and their association with *Pythium graminicola* on roots of sugarcane in Puerto Rico. *J. of Agric. of the Univ. of Puerto Rico*, 64: 338-347.

7. APÊNDICE

Apêndice 1 - Resultados da análise de esporos em 100 ml de solo, referente às seis épocas de amostragem.

SUBTRATAMENTOS		AMOSTRAGEM-I (03/07/80)		AMOSTRAGEM-II (12/11/80)		AMOSTRAGEM-III (19/01/81)		AMOSTRAGEM-IV (11/03/81)		AMOSTRAGEM-V (15/05/81)		AMOSTRAGEM-VI (08/07/81)							
		Gig. + Glemus		Gig. + Glemus		Gig. + Glemus		Gig. + Glemus		Gig. + Glemus		Gig. + Glemus							
		Atual.	Total	Atual.	Total	Atual.	Total	Atual.	Total	Atual.	Total	Atual.	Total						
A		563	51	614	769	55	824	853	60	913	933	105	1038	920	84	1004	737	77	814
		532	61	593	780	44	824	1097	41	1138	1027	58	1085	1259	61	1320	810	54	864
		771	30	801	826	53	879	949	40	989	887	51	938	798	60	858	942	44	986
		735	107	842	1017	144	1161	1054	172	1226	1141	119	1260	1471	91	1562	979	83	1042
B		380	53	433	680	75	755	750	86	836	857	97	954	919	103	1022	870	60	930
		600	72	672	895	107	1002	964	119	1083	891	112	1003	941	85	1026	780	60	840
		430	60	490	845	141	986	984	110	1094	823	131	954	879	144	1023	621	111	732
		747	60	807	907	140	1047	1110	94	1204	1004	152	1156	988	149	1137	840	98	938
C		501	45	546	831	108	939	850	121	971	883	127	1004	835	99	934	752	70	822
		400	43	443	355	127	482	445	105	549	685	113	797	690	114	804	474	60	534
		580	86	666	994	74	1068	998	93	1091	1098	101	1199	891	61	952	700	92	792
		751	101	851	1170	110	1280	1114	240	1354	1126	121	1247	1232	70	1302	970	71	1048
A		400	74	474	450	110	560	487	84	571	866	59	925	897	61	958	751	47	798
		807	41	848	1240	141	1381	1184	81	1265	1070	239	1309	1320	266	1586	1029	261	1290
		673	63	736	895	49	944	966	105	1071	1016	68	1089	996	144	1140	966	84	1050
		900	50	950	1087	86	1173	1244	68	1312	1146	141	1287	1209	84	1290	808	142	950
B		506	36	542	729	122	851	668	185	853	840	131	971	750	81	831	465	117	582
		569	141	710	941	141	1082	977	170	1147	1001	121	1122	992	340	1332	762	204	966
		747	111	858	932	89	1021	873	241	1114	1047	101	1144	1142	222	1364	980	94	1074
		746	82	828	1023	183	1206	1206	133	1339	1222	97	1319	1421	199	1620	935	141	1076
C		603	80	683	801	248	1049	619	281	900	663	304	966	964	74	1038	909	89	998
		500	87	587	977	171	1148	1130	64	1194	1011	133	1144	1147	203	1350	808	141	948
		691	76	767	948	98	1046	1038	147	1185	1087	110	1197	1226	88	1314	880	110	981
		532	221	753	823	150	973	898	75	973	965	80	1045	940	110	1050	761	90	611

A = Testemunha; B = 60 kg N (uréia)/ha; C = 30 kg N (uréia) + 30 kg P₂O₅ (supertríplo)/ha.

Apêndice 2 - Resultados da análise da infecção de raízes (%), referentes às amostragens IV, V e VI. Médias de duas repetições.

SUBTRATAMENTOS	Tratamento sem vinhaça			Tratamento com vinhaça		
	AMOST. IV	AMOST. V	AMOST. VI	AMOST. IV	AMOST. V	AMOST. VI
A	7,80	6,00	15,20	12,00	15,70	9,00
	22,20	22,0	11,00	45,10	33,70	13,00
	8,80	4,50	17,00	25,70	22,20	15,20
	7,60	12,70	4,50	21,10	16,70	15,70
B	25,30	26,00	16,20	25,70	26,70	13,00
	13,50	9,00	8,50	28,70	22,00	16,00
	5,50	11,00	13,70	24,00	24,70	15,70
	32,00	23,00	11,00	19,50	19,50	14,50
C	22,00	19,70	10,00	25,60	19,20	16,00
	21,10	18,50	7,00	16,20	20,00	16,20
	21,70	15,20	9,50	24,80	21,00	18,00
	4,50	6,20	13,20	4,50	5,20	7,20

A = Testemunha; B = 60 kg N (uréia)/ha;

C = 30 kg N (uréia) + 30 kg P₂O₅ (supertriplo)/ha.