

# **EFEITO DE FÓSFORO E DE MICORRIZA VESÍCULO- ARBUSCULAR NO FEIJOEIRO**

**ADRIANA PARADA**

**Orientador: Profa. Dra. ELKE J. B. N. CARDOSO**

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

**PIRACICABA  
Estado de São Paulo - Brasil  
Janeiro - 1984**

*Aos meus pais,  
irmãos,  
e ao meu noivo,*

*DEDICO.*

## AGRADECIMENTOS

- À Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Elke Cardoso, pela orientação, estímulo e amizade que nos foram demonstrados;
- À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" e a seus Mestres;
- À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pela concessão de bolsa de estudos;
- Ao Departamento de Fitopatologia e Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes, pela oportunidade de trabalho que nos concederam e pelos trabalhos prestados;
- Ao Prof. Toshiaki Kinjo e Ronaldo Silveira, pela ajuda prestada nos cálculos de nivelamento da fertilidade dos solos empregados;
- Ao Prof. Décio Barbin, na orientação das análises estatísticas e ao Acadêmico Alessandro Orelli Júnior, pelas análises estatísticas processadas;
- Ao Wanderlei Dias da Silveira, pelo carinho, estímulo e ajuda prestada;
- Aos colegas e amigos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho, registramos aqui nossos agradecimentos.

## Í N D I C E

	Pág.
RESUMO .....	xiii
SUMMARY .....	xv
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1 - Considerações Gerais sobre as Micorrizas Vesículo-Arbusculares .....	4
2.2 - A Simbiose <i>Rhizobium</i> -Leguminosa .....	9
2.3 - Micorrizas em Leguminosas .....	18
2.4 - Eficiência de Fungos Micorrízicos Vesículo-Arbusculares .....	29
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	40
3.1 - Efeito de Doses Crescentes de Fósforo no Solo .....	41
3.1.1 - Planta .....	41
3.1.2 - Solo .....	41
3.1.3 - Bactéria fixadora de nitrogênio atmosférico..	42
3.1.4 - Fungo micorrízico vesículo-arbuscular .....	42
3.1.5 - Procedimento .....	42
3.1.5.1 - Preparo do solo e vasos de plantio	43
3.1.5.2 - Calagem e adubação básica .....	43
3.1.5.3 - Preparo dos inóculos .....	44
3.1.5.4 - Inoculação, instalação e condução da cultura .....	45
3.1.5.5 - Colheita do experimento .....	46

	Pág.
3.2 - Eficiência de Fungos Micorrízicos Vesículo-Arbusculares	47
3.2.1 - Planta .....	47
3.2.2 - Solo .....	47
3.2.3 - Bactéria fixadora de nitrogênio atmosférico..	47
3.2.4 - Fungo micorrízico vesículo-arbuscular .....	49
3.2.5 - Procedimento .....	49
3.2.5.1 - Preparo do solo, vasos e adubação..	49
3.2.5.2 - Preparo dos inóculos .....	50
3.2.5.3 - Inoculação, instalação e condução da cultura .....	51
3.2.5.4 - Colheita do experimento .....	52
3.3 - Avaliação dos Parâmetros Analisados .....	52
3.3.1 - Análise do crescimento e produção das plantas	52
3.3.2 - Avaliação da fixação biológica do nitrogênio atmosférico .....	53
3.3.3 - Avaliação do estabelecimento da micorriza ..	53
3.3.3.1 - Determinação da infecção micorrizica na raiz .....	53
3.3.3.1.1 - Método de coloração de raiz .....	53
3.3.3.1.2 - Determinação da porcentagem de infecção das raízes .....	54

	Pág.
3.3.3.2 - Contagem de esporos .....	55
3.3.4 - Determinação do teor de NPK .....	55
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	57
4.1 - Efeito de Doses Crescentes de Fósforo no Solo ....	57
4.2 - Eficiência de Fungos Micorrízicos Vesículo-Árbuscu- lâres .....	74
5. CONCLUSÕES .....	112
6. LITERATURA CITADA .....	114
7. APÊNDICE I .....	132
8. APÊNDICE II .....	136

## LISTA DE TABELAS

TABELA		Pág.
1	Análise química do solo Areia Quartzosa - Série Ribeirão Claro .....	41
2	Composição química e granulométrica dos solos Terra Roxa Estruturada - Série Luiz de Queiroz (TRE), Areia Quartzosa - série Ribeirão Claro (AQ) e Latossol Vermelho Escuro (LVE), coletados na região de Piracicaba, São Paulo, a uma profundidade de 0-20 cm .....	48
3	Eficiência de cinco espécies de fungo micorrízico associadas a diferentes cultivares de feijão, comparada através de vários parâmetros (média de quatro repetições) .....	84
4	Eficiência de cinco espécies de fungo micorrízico associadas a diferentes cultivares de feijão, comparada através do teor e quantidade absorvida de N, P e K pela planta (média de quatro repetições) .....	87

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Pág.
1	Peso seco da parte aérea (g) de feijoeiro (cv. Carioca), em função da época de colheita, na presença (M) ou ausência (N) de micorriza, dentro da dose de fósforo empregada ( $P_0 = 5$ ; $P_1 = 16$ e $P_2 = 27$ ppm P); d.m.s. (0,05) = 1,37 .....	90
2	Peso seco da parte aérea (g) de feijoeiro (cv. Carioca), em relação à dose de fósforo empregada, na presença (M) ou ausência (N) de micorriza, em cada época de colheita ( $E_1 = 30$ DAS; $E_2 = 50$ DAS e $E_3 = 70$ DAS); d.m.s. (0,05) = 1,37 .....	91
3	Peso seco de grão/planta (g) de feijoeiro (cv. Carioca), em relação à época de colheita, na presença (M) ou ausência (N) de micorriza, de acordo com a dose de fósforo ( $P_0 = 5$ ; $P_1 = 16$ e $P_2 = 27$ ppm P); d.m.s. (0,05) = 0,86 .....	92
4	Peso seco de grão/planta(g) de feijoeiro (cv. Carioca), em relação à dose de fósforo empregada, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$ DAS; $E_2 = 50$ DAS e $E_3 = 70$ DAS); d.m.s. (0,05) = 0,86 .....	93
5	Quantidade relativa de P (%) na parte aérea de feijoeiro (cv. Carioca), em função da época de colheita, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza em cada dose de fósforo empregada ( $P_0 = 5$ ; $P_1 = 16$ e $P_2 = 27$ ppm P) .....	94



FIGURA		Pág.
6	Quantidade relativa de P (%) na parte aérea do feijoeiro (cv. Carioca), com relação à dose de fósforo empregada, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$ DAS; $E_2 = 50$ DAS e $E_3 = 70$ DAS) .....	95
7	Teor relativo de K (%) na parte aérea do feijoeiro (cv. Carioca), em função da época de colheita, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, em cada dose de fósforo empregada ( $P_0 = 5$ ; $P_1 = 16$ e $P_2 = 27$ ppm P) .....	96
8	Teor relativo de K (%) na parte aérea do feijoeiro (cv. Carioca), em função da dose de fósforo empregada, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$ DAS; $E_2 = 50$ DAS e $E_3 = 70$ DAS) .....	97
9	Teor relativo de N (%) na parte aérea do feijoeiro (cv. Carioca), em função da época de colheita, na presença (M) ou ausência (N) de micorriza, em cada dose de fósforo empregada ( $P_0 = 5$ ; $P_1 = 16$ e $P_2 = 27$ ppm P) .....	98
10	Teor relativo de N (%) na parte aérea do feijoeiro (cv. Carioca), em função da dose de fósforo empregada, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$ DAS; $E_2 = 50$ DAS e $E_3 = 70$ DAS) .....	99

FIGURA		Pág.
11	Quantidade total de P (mg) na parte aérea do <u>feijoei</u> ro (cv. Carioca), em função da época de colheita, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, em cada dose de P empregada ( $P_0 = 5$ ; $P_1 = 16$ e $P_2 = 27$ ppm P)	100
12	Quantidade total de P (mg) na parte aérea do <u>feijoei</u> ro (cv. Carioca), em função da dose de fósforo aplicada, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$ DAS; $E_2 = 50$ DAS e $E_3 = 70$ DAS) .....	101
13	Quantidade total de K (mg) na parte aérea de <u>feijoei</u> ro (cv. Carioca), em função da época de colheita, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, em cada dose de fósforo empregada ( $P_0 = 5$ ; $P_1 = 16$ e $P_2 = 27$ ppm P) .....	102
14	Quantidade total de K (mg) na parte aérea de <u>feijoei</u> ro (cv. Carioca), com relação à dose de fósforo empregada, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$ DAS; $E_2 = 50$ DAS e $E_3 = 70$ DAS) .....	103
15	Quantidade total de N (mg) na parte aérea de <u>feijoei</u> ro (cv. Carioca), em função da época de colheita, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, em cada dose de fósforo empregada ( $P_0 = 5$ ; $P_1 = 16$ e $P_2 = 27$ ppm P) .....	104

FIGURA		Pág.
16	Quantidade total de N (mg) na parte aérea de feijoeiro (cv. Carioca), com relação à dose de fósforo empregada, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$ DAS; $E_2 = 50$ DAS e $E_3 = 70$ DAS) .....	105
17	Peso seco de nódulos/planta (mg), em função da época de colheita, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, segundo a dose de fósforo empregada ( $P_0 = 5$ ; $P_1 = 16$ e $P_2 = 27$ ppm P); d.m.s. (0,05) = 35,69 ...	106
18	Peso seco de nódulos/planta (mg), em função da dose de fósforo empregada, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$ DAS; $E_2 = 50$ DAS e $E_3 = 70$ DAS); d.m.s. (0,05) = 35,69 .....	107
19	Porcentagem de infecção na raiz de feijoeiro (cv. Carioca), em função da época de colheita, em cada dose de fósforo empregada ( $P_0 = 5$ ; $P_1 = 16$ e $P_2 = 27$ ppm P); d.m.s. (0,05) = 10,5 .....	108
20	Porcentagem de infecção na raiz de feijoeiro (cv. Carioca), em função da dose de fósforo empregada, dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$ DAS; $E_2 = 50$ DAS e $E_3 = 70$ DAS); d.m.s. (0,05) = 10,5 .....	109

FIGURA		Pág.
21	Número de esporos/100 ml de solo, em função da época de colheita, em cada dose de fósforo empregada ( $P_0 = 5$ ; $P_1 = 16$ e $P_2 = 27$ ppm P); d.m.s. (0,05) = 2.210 .....	110
22	Número de esporos/100 ml de solo, em função da dose de fósforo empregada, dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$ DAS; $E_2 = 50$ DAS e $E_3 = 70$ DAS); d.m.s. (0,05) = 2.210 .....	111

EFEITO DE FÓSFORO E DE MICORRIZA VESÍCULO-ARBUSCULAR NO  
FEIJOEIRO

Autora: ADRIANA PARADA

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Elke J.B.N. Cardoso

R E S U M O

Foram conduzidos dois experimentos em casa-de-vegetação, em solo esterilizado, visando verificar o efeito do fósforo e da simbiose micorrízica na interação *Rhizobium*-feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) e verificar a eficiência de fungos endomicorrízicos em diferentes sistemas solo-planta, a fim de se tentar estabelecer uma adequada interação solo-planta-fungo.

O primeiro experimento constou do emprego de doses crescentes de fósforo (5, 16 e 27 ppm P) numa Areia Quartzosa, utilizando-se o Cv. Carioca, colhido em três épocas do ciclo da cultura (30, 50 e 70 dias após sementeira) na presença e ausência de *Glomus macrocarpum*, com a presença do *Rhizobium phaseoli* em todos os tratamentos. No segundo experimento empregaram-se três cultivares de feijão (Carioca, Goiano Precoce e Black Turtle Soup) cultivados em três

solos diferentes (Areia Quartzosa, Terra Roxa Estruturada e Latossol Vermelho Escuro) infectados com quatro fungos endomicorrízicos (*Glomus leptotichum*, *Glomus macrocarpum*, *Gigaspora margarita* e *Gigaspora heterogama*) mantendo-se uma testemunha (sem micorriza) e inoculando-se *Rhizobium phaseoli* em todos os tratamentos.

Os resultados obtidos permitiram as seguintes conclusões: *Glomus macrocarpum* na presença de *Rhizobium phaseoli* favoreceu todos os parâmetros analisados, sendo que as doses de fósforo mais elevadas promoveram melhor crescimento, produção, absorção de nutrientes e nodulação do feijoeiro, ao mesmo tempo que favoreceram a infecção e esporulação do fungo; as interações do sistema solo-fungo-planta são bastante complexas, sendo que qualquer alteração no sistema triplíce pode alterar a eficiência da interação; *Glomus leptotichum* mostrou ser o endófito mais eficiente, verificando-se ainda que o cultivar que mais se destacou foi o Black Turtle Soup e o solo que propiciou melhor desenvolvimento das plantas foi o Latossol Vermelho Escuro.

THE EFFECT OF PHOSPHORUS AND VESICULAR-ARBUSCULAR  
MYCORRHIZA ON BEAN

Author: ADRIANA PARADA  
Adviser: Prof. Dr. Elke J.B.N. Cardoso

S U M M A R Y

Two greenhouse experiments were conducted with sterilized soil to observe the effect of phosphorus fertilization and the VA mycorrhiza on *Rhizobium*-bean (*Phaseolus vulgaris*) symbiosis and to study the efficiency of VA mycorrhizal fungi in different soil-plant systems, aiming at finding an adequate soil-plant-VA fungus interaction.

In the first experiment three phosphate dosages (5, 16 and 27 ppm P) was applied to a soil classified as Quartz Sand and the bean cultivar was "Carioca". Plants were harvested at three periods during the plant cycle (at 30, 50 and 70 days after sowing) and were cultivated in the presence and absence of *Glomus macrocarpum* and with *Rhizobium phaseoli* in all treatments.

The second experiment consisted of three bean cultivars (Carioca, Goiano Precoce and Black Turtle Soup), cultivated in three

soil types: Quartz Sand (Entisol), "Terra Roxa Estruturada" (Oxisol) and Dark Red Latosol (Alfisol), infected with four VA fungi (*Glomus leptotichum*, *Glomus macrocarpum*, *Gigaspora margarita* and *Gigaspora heterogama*), keeping a control treatment (without VA fungus). All treatments were inoculated with *Rhizobium phaseoli*.

From the results of the experiments the following conclusions were drawn: *Glomus macrocarpum* in the presence of *Rhizobium phaseoli* increased all analyzed parameters and at the highest phosphate dosage plant growth, grain production, nutrient absorption and nodulation were increased the most, occurring also the highest infection rates of the roots and spore production; the interactions of the soil-plant-fungus system are extremely complex and the modification of any one of its components may alter the efficiency of the system; *Glomus leptotichum* was shown to be the most effective endophyte when several fungi were tested; it was observed that Black Turtle Soup was the most productive cultivar and the soil in which the plant present better development was Dark Red Latosol.



## 1. INTRODUÇÃO

A absorção de nutrientes do solo pelas raízes é função da sua morfologia e fisiologia, sendo que essa absorção é influenciada pelos microrganismos da rizosfera que estão em contato, tanto superficial como dentro dos tecidos da raiz (DAFT e EL-GIAHMI, 1975). A maioria das leguminosas possui em suas raízes dois tipos de microrganismos simbióticos: bactérias fixadoras de  $N_2$  atmosférico e fungos que formam micorriza.

[A micorriza que comumente está presente não só nas raízes de leguminosas, como também na maioria das culturas de interesse econômico é a chamada micorriza vesículo-arbuscular (VA), que é a mais comum das associações simbióticas que se estabelecem entre raízes de plantas e algumas espécies de fungos da família *Endogonaceae* (MOSSE, 1973a).

A presença de micorriza VA em várias leguminosas tem demonstrado auxiliar o crescimento e produtividade (ROSS e HARPER, 1970), bem como aumentar a nodulação, concentração de leghemoglobina, atividade da nitrogenase (redução do acetileno) e redutase de nitrato (CARLING *et alii*, 1978; DAFT e EL-GIAHMI, 1974).

Do ponto de vista nutricional, a grande importância da micorriza é justamente aumentar a absorção de nutrientes do solo, principalmente o fósforo, elevando o nível dos mesmos em todas as partes da planta (MOSSE, 1977b). Assim, ressalta-se a influência destes fungos em solos deficientes em fósforo, o que já foi observado por CRUSH (1974) com leguminosas que se desenvolveram em tais solos.

De um modo geral, os solos brasileiros são bastante deficientes em fósforo, o que faz com que a maioria das plantas cultivadas reajam bem à adubação fosfatada, apesar da eficiência na absorção do fósforo contido no fertilizante ser baixa (LOPES, 1980).

Entre os vários fatores que podem aumentar a eficiência de uma adubação fosfatada, as micorrizas têm papel de destaque, desde que perfeitamente manejadas, pois aumentam a área de absorção das raízes, explorando maior volume de solo (TINKER, 1975).

Uma das formas primárias e simples de manejá-las seria a seleção prévia de espécies de fungos mais adaptados e eficientes a um determinado sistema solo-planta, pois embora já se tenha indícios de não haver especificidade com relação às micorrizas VA, existem evidências que o grau de eficiência de um determinado endófito va

ria com o hospedeiro e com o tipo de solo (MOSSE,1972a; MOSSE, 1977a; SCHENCK *et alii*, 1975).

Dentre as leguminosas, o feijão constitui-se em um dos produtos agrícolas que, embora de grande expressão na alimentação básica do brasileiro e com conseqüente importância no abastecimento interno de todo país, ainda não assumiu uma posição econômica de destaque. Posiciona-se como cultura relegada a um plano secundário, sendo seu cultivo feito de forma precária, não perdendo seu caráter de subsistência.

Assim, ressalta-se ainda mais a necessidade de ser feito um manejo adequado da cultura, bem como o manejo das simbioses, visando-se aumentos crescentes da produtividade, o que pode ser obtido a médio e longo prazo, através de uma pesquisa mais incrementada e direcionada.

Deste modo, o trabalho teve como objetivos verificar o efeito do fósforo e da associação micorrízica na simbiose *Rhizo-**biu*m-feijoeiro e estudar a eficiência de fungos micorrízicos VA em diferentes sistemas solo-planta, na tentativa de se estabelecer uma adequada interação solo-planta-fungo.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 - Considerações Gerais sobre as Micorrizas Vesículo-Arbusculares (VA)

Microorganismos existentes na rizosfera das plantas podem aumentar a absorção de nutrientes pelas raízes, desde que condições favoráveis predominem. Representantes bastante expressivos deles são os chamados fungos micorrízicos. Tais fungos e raízes de plantas estabelecem uma associação benéfica denominada de micorriza (MOSSE, 1973a).

O termo micorriza (do grego, mikes = fungo; rhiza = raiz) é empregado para referir-se a três grandes grupos de associações simbióticas entre espécies de fungo e raiz de plantas: (a) Ectomicorrizas - caracterizam-se pela presença de um manto compacto, formado de micélio visível que recobre as raízes infectadas, sendo que

as hifas se desenvolvem intercelularmente no córtex da raiz; estabelecem-se em algumas espécies arbóreas (HARLEY, 1969); (b) Ectoendomi<sup>corrizas</sup> - formam um manto externo de hifas, e as hifas internas penetram inter e intracelularmente; pertencem a este grupo as micorrizas arbutóides que se estabelecem em algumas espécies de plantas da família *Ericaceae*; (c) Endomicorrizas - caracterizam-se pela formação de uma rede de hifas soltas no solo, ao redor das raízes, e com desenvolvimento intra e intercelular de hifas no córtex da raiz.

As Endomicorrizas são representadas por três tipos de micorrizas: as micorrizas das orquidáceas formadas em orquídeas por espécies benignas do fungo *Rhizoctonia* e de outros gêneros (WARCUP e TALBOT, 1967); as micorrizas do tipo Ericóide formadas com espécies da família *Ericaceae* e o fungo *Pezizella ericae* (READ, 1974) e as micorrizas vesículo-arbusculares, sobre as quais se limita esta revisão.

Dos vários tipos de micorriza, a vesículo-arbuscular (VA) é a mais comum e amplamente dispersa, devido principalmente à diversidade de ambientes em que é encontrada, como também à enorme gama de plantas em que ocorre (Schlicht, 1889, citado por RHODES e GERDEMANN, 1980), incluindo desde rizóides de Briófitas até a grande maioria das Angiospermas (GERDEMAN, 1968).

A taxonomia dos fungos micorrízicos VA ainda é inteiramente baseada na morfologia dos esporos e das hifas de sustentação, devido ao fato de ainda não serem cultivados em cultura axênica (AL-

LEN *et alii*, 1979). Segundo TRAPPE e SCHENCK (1982), as espécies de fungo formadores de micorriza VA pertencem à família *Endogonaceae*, da ordem Endogonales, constante dos gêneros: *Glomus*, *Gigaspora*, *Sclerocystis*, *Acaulospora*, *Entrophospora* e *Glaziella*.

Sob condições favoráveis ocorre a germinação dos esporos no solo e emissão do tubo germinativo que cresce e pode, eventualmente, entrar em contato com raízes de um hospedeiro suscetível. Há formação do apressório e penetração da hifa não septada intra e intercelularmente na epiderme. A hifa cresce através da epiderme, penetrando no córtex da raiz, onde a ramificação é inter e intracelular (RHODES e GERDEMANN, 1980). A hifa, crescendo dentro de uma célula cortical individual pode ramificar-se dicotomicamente, sendo que as últimas ramificações possuem um micron de diâmetro. Estas estruturas são chamadas arbúsculos e se assemelham a uma massa granulada de protoplasma, cuja digestão libera nas células do hospedeiro as reservas do fungo (BUTLER, 1939). As hifas internas e externas podem ainda dar origem às vesículas que são expansões apicais ou intercaladas da hifa, de forma globosa ou elipsóide, contendo gotículas de óleo, e sendo, aparentemente, estrutura de armazenamento. Externamente, as hifas formam um manto frouxo ao redor das raízes, chegando a se estender no solo até sete cm da raiz (RHODES e GERDEMANN, 1975). As hifas também se estendem sobre a superfície da raiz e penetram repetidamente nela, sendo chamadas de hifas corredoras (NILCOLSON, 1959). São facilmente distinguíveis das demais estrutu-

ras fúngicas, por serem hifas dimórficas e de parede grossa. O micélio externo forma esporos (clamidosporos e azigosporos), que nascem de forma livre ou em esporocarpos.

Geralmente, não se observam alterações morfológicas no sistema radicular micorrízico, podendo ocorrer em algumas espécies coloração amarelada nas raízes infectadas (GERDEMANN, 1968) e estruturas semelhantes às galhas em raiz de tomateiro (Riazi-Hanadani *et alii*, 1977, citado por LOPES, 1980).

A grande importância da micorriza vesículo-arbuscular reside no fato dela promover um melhor crescimento da planta, em função do maior fornecimento de nutrientes. MOSSE (1957) parece ter sido a primeira a comparar as composições minerais de planta (no caso, macieira) micorrízica ou não, observando que certos nutrientes estavam em maior concentração e outros em menor, sugerindo que a resposta ao crescimento refletiu uma melhora na nutrição da planta. Notou-se que o fósforo é o mais importante nutriente envolvido, sendo encontrado em altas concentrações nas plantas micorrízicas (MOSSE, 1973b). Aumento ou diminuição nas concentrações acumuladas dos nutrientes no hospedeiro, outros que não o fósforo, também resulta da infecção micorrízica, pelos efeitos da simbiose ou decorrentes das mudanças na concentração de fósforo na planta (RHODES e GERDMAN, 1980).

Nas plantas colonizadas, estabelece-se uma estrutura que dá à raiz uma superfície extra de absorção que é composta por uma rede de hifas que se estende além da zona de depleção, retirando

do o nutriente de uma parte do solo distante da raiz e levando-o diretamente para o seu interior, pois o micélio externo está ligado ao interno. Esse aumento na superfície de absorção é bastante importante no caso de nutrientes de baixa difusão no solo, como o fósforo (SANDERS e TINKER, 1971) e zinco (GILMORE, 1971). Assim, o micélio, através de seus finos ramos é capaz de explorar micro-ambientes normalmente não atingidos pelas raízes (MOSSE, 1973a).

Embora não seja dada muita ênfase, as micorrizas podem, em alguns casos, prejudicar o crescimento das plantas, indicando que o fungo estaria se comportando como um parasita (SCHENCK e KELLAN, 1978).

Primeiramente, suspeitou-se que micorrizas teriam capacidade de solubilizar fosfatos insolúveis (MURDOCK *et alii*, 1967), pelo crescimento apresentado por plantas infectadas em solos com pouca disponibilidade de fósforo. Posteriormente, através de pesquisas com  $^{32}\text{P}$ , demonstrou-se que plantas infectadas e não infectadas absorvem fosfato da mesma fonte: a solução do solo (SANDERS e TINKER, 1971; HAYMAN e MOSSE, 1972 e POWELL, 1975).

Com relação a outros efeitos favoráveis, as micorrizas VA podem reduzir o índice de mortalidade das mudas por ocasião do transplante, provavelmente devido à diminuição da resistência interna da planta ao fluxo de água (MENGE *et alii*, 1978; SAFIR *et alii*, 1972); auxiliar na agregação do solo (MOSSE e HAYMAN, 1979) e agregação de resíduos de carvão, lixo urbano e dunas de areia (KHAN, 1981);



aumentar a resistência de plantas às doenças de raízes causadas por fungos (DAVIS e MENGE, 1981) e nematóides (HUSSEY e RONCADORI, 1978); exercerem efeito favorável na nodulação e fixação biológica do  $N_2$  atmosférico por *Rhizobium* em leguminosas (MOSSE *et alii*, 1976).

As micorrizas VA, segundo LOPES *et alii* (1983), resultam de uma condição de equilíbrio entre o fungo, a planta e o ambiente (clima e solo), sendo que cada um dos componentes é afetado e/ou controlado por fatores que podem atuar separadamente, inter-relacionados direta ou indiretamente. Fatores como: disponibilidade de nutrientes (MOSSE, 1973b), pH do solo (BOWEN, 1980), umidade (REID e BOWEN, 1979), aeração (SAIF, 1981), fatores biológicos, manejo do solo e cultura, fatores genéticos da planta e muitos outros afetam o estabelecimento, o funcionamento e a multiplicação das micorrizas VA.

## 2.2 - A Simbiose *Rhizobium*-Leguminosa

Devido ao papel essencial que as bactérias do genero *Rhizobium* desempenham na fixação biológica do nitrogênio atmosférico, há um crescente interesse no estudo dos processos e fatores envolvidos na associação de microrganismos deste gênero e plantas leguminosas.

A fixação biológica do  $N_2$  é de grande importância na agricultura, uma vez que têm contribuído em grande escala para a aquisição do nitrogênio ao sistema solo-planta. Sem dúvida nenhuma, a sim

biose *Rhizobium*-leguminosa é uma associação extremamente eficiente, fixando, em termos globais, cerca de 55-140 kg de  $N_2$ /ha/ano; porém, sabe-se que valores bem maiores podem ser obtidos (QUISPEL, 1974).

A fixação biológica do nitrogênio atmosférico é da responsabilidade de organismos procariotos que possuem capacidade de sintetizar a enzima nitrogenase, que reduz o  $N_2$  a amônia ( $NH_3$ ). Para síntese e funcionamento deste sistema biológico, são necessários certos requisitos (POSTGATE, 1974), tais como: (1) fornecimento dos micronutrientes Fe e Mo que fazem parte da molécula da nitrogenase; (2) um modo de gerar ATP extra, o qual é consumido no funcionamento da enzima; (3) temperatura apropriada para o micro-simbionte mesofílico e conseqüentemente para a fixação do  $N_2$ ; (4) um modo de excluir o oxigênio do contacto com a enzima, visto que ambos os componentes proteicos dela são irreversivelmente danificados pelo oxigênio.

Como o nitrogênio é um elemento essencial à vida e a escassez de proteína é um problema mundial, tornou-se importante conhecer e controlar todos os fatores que influem nesta associação simbiótica, pois a fixação industrial torna-se, a cada dia mais onerosa.

A influência do ambiente na fixação simbiótica do  $N_2$  já foi há muito tempo evidenciada. A resposta da simbiose ao ambiente é determinada pela constituição genética e fisiológica da planta. Entretanto, observou-se que modificações nesta resposta foram obtidas de acordo com a estirpe de *Rhizobium* empregada (PATE, 1961; SAITO e CARDOSO, 1977). Portanto, espera-se obter maior eficiência sim-

biótica usando-se não só variedades selecionadas, como também estirpes de *Rhizobium* de maior eficiência para dado ambiente.

Para uma leguminosa fixar  $N_2$  eficientemente, desde que esteja bem nodulada, os seguintes requisitos são necessários, de acordo com SPRENT (1979); (1) fornecimento suficiente de fotossintatos (função da área foliar, luminosidade e  $CO_2$ ) e transporte eficiente para o nódulo; (2) boas condições para respiração do nódulo, permitindo que os compostos fotossintetizados sejam convertidos em energia e poder redutor para a fixação de  $N_2$ ; (3) condições ambientais adequadas para fixação do  $N_2$  atmosférico, e (4) transporte eficiente dos produtos para fora dos nódulos e redistribuição através da planta, o que requer bom funcionamento do sistema vascular.

A complexidade do sistema solo-leguminosa-*Rhizobium*, no qual interagem vários fatores, torna difícil a identificação de quais deles são críticos para a simbiose e, conseqüentemente, para a quantificação do  $N_2$  fixado. No entanto, muitos fatores físicos, químicos e biológicos têm sido estudados e de algum modo afetam a simbiose.

A umidade do solo é limitante para a nodulação, bem como para a fixação de  $N_2$ . Tanto a escassez como o excesso são prejudiciais (SPRENT, 1979), sendo que, no último caso, haverá uma diminuição no teor de oxigênio no solo, essencial ao metabolismo das raízes. SPRENT (1971) constatou que uma fina camada de água ao redor dos nódulos já é suficiente para suprimir a fixação do nitrogênio, devi-

do à queda no fornecimento de oxigênio. Também já se constatou que diminuição no potencial de água no solo gerou um decréscimo no número de cordões de infecção formados em *Trifolium subterraneum* (WORRAL e ROUGHLEY, 1976). Em condições de deficiência hídrica, a capacidade do *Rhizobium* sobreviver é variável com a espécie e a linhagem, como observado por DANSO e ALEXANDER (1974), os quais verificaram que *R. meliloti* é mais suscetível à seca do que *R. trifolii*. Entretanto, VARGAS e SUHET (1980) constataram que a ocorrência de períodos secos até 20 dias após a semeadura não chegou a afetar significativamente a nodulação em várias leguminosas estudadas. No caso de excesso de água, a infecção parece ser menos inibida do que o desenvolvimento ou funcionamento do nódulo (MINCHIN e PATE, 1975).

O efeito da temperatura no sistema simbiótico é complexo, sendo que a faixa ótima varia com a espécie hospedeira e a linhagem de *Rhizobium*. A fixação ocorre mais ativamente num determinado intervalo de temperatura, diminuindo muito a eficiência do processo em condições extremas (LIE, 1974). As temperaturas elevadas reduzem muito a formação do nódulo e a fixação do nitrogênio. Para DART e DAY (1971), a temperatura de máxima atividade da nitrogenase para um grande número de leguminosas está entre 20 e 30°C. Em muitas leguminosas tropicais, tais como caupi, pouca atividade do nódulo ocorre abaixo de 20°C (PANKHURST e SPRENT, 1976), enquanto a nodulação de leguminosas de clima temperado pode ocorrer mesmo à temperatura de 7°C (Roughley, 1970, citado por LIE, 1974).

O principal efeito da luz na fixação simbiótica do nitrogênio é na fotossíntese e, portanto, no suprimento de carboidratos, gerando energia para a nodulação e atividade do nódulo. Dentro de certos limites, uma correlação direta pode ser obtida entre intensidade luminosa, nodulação e fixação de nitrogênio (LIE, 1971). Além do efeito fotossintético da luz na nodulação, foi observado por Lie (1964), citado por LIE (1974), que a nodulação é excelente na presença de luz vermelha mas torna-se reduzida sob luz azul e vermelho-distante.

Pouco é conhecido a respeito do efeito da salinidade do solo na nodulação e atividade da nitrogenase (SPRENT, 1979). Já se observou que em solos salinos, taxa de acúmulo de nitrogênio foi muito baixa (MINCHIN e PATE, 1975) devido a altas concentrações de sais e alta evaporação, resultando na deposição de sal na superfície da raiz. Em certos locais, a salinidade do solo é dada pela presença de carbonatos e bicarbonatos de sódio, que reduziram o número de nódulos em *Medicago sativa* (Singh *et alii*, 1973, citados por SPRENT, 1979), sendo que, neste caso, teria ocorrido um efeito combinado da salinidade e do pH (no caso, bastante elevado - aproximadamente 10,0).

Dentre várias características do solo, a influência do pH na fixação do nitrogênio é de muita importância agrícola, visto que a maioria dos solos tropicais apresenta baixos valores de pH. Os efeitos adversos do pH na nodulação e fixação do N<sub>2</sub> não podem ser atribuídos somente à concentração de íons H<sup>+</sup>, mas a efeitos indire-

tos, como deficiência de cálcio, magnésio ou molibdênio, ou aos efeitos tóxicos do alumínio solúvel e do manganês.

LIE (1971) observou que a diminuição do crescimento de leguminosas em solos ácidos é devida, principalmente, à sua incapacidade de formar nódulos nessas condições. Respostas significativas à calagem na fixação do  $N_2$  foram verificadas por RUSCHEL *et alii* (1966), concluindo que os aumentos observados no teor de N total e número de nódulos foram devidos a efeitos indiretos da calagem que, corrigindo o pH do solo, possibilitaram a absorção de cálcio e magnésio. O pH mais adequado à simbiose encontra-se na faixa de 5,0 a 8,0, variando com a planta hospedeira e a estirpe de *Rhizobium*.

Com relação aos nutrientes, a simbiose é dependente de uma série deles. Provavelmente, o nutriente limitante mais comum em muitos solos é o fósforo, pois atua na nodulação, fixação de  $N_2$  e crescimento da planta. Já foi observado que é alto o conteúdo de fósforo nos nódulos, quando comparado com o de suas raízes de sustentação, sendo também alto o requerimento de ATP para a fixação de  $N_2$  (Munns, citado por SPRENT, 1979).

A quantidade de cálcio necessária para o crescimento da bactéria e do hospedeiro, separadamente, é bem menor do que a requerida pela simbiose. Maior concentração de cálcio é necessária no período diretamente após inoculação (início da formação do nódulo), enquanto menor concentração é necessária para crescimento e atividade do nódulo (Lowther e Loneragan, 1968, 1970, citados por LIE, 1974).

Parece que a ação específica do cálcio na nodulação é devida à exigência deste elemento na divisão celular da raiz, necessária para a formação do nódulo.

Em alguns casos, resposta ao enxofre já foi observada, bem como ao potássio, o qual pode estimular a atividade do nódulo, possivelmente pelo aumento no fornecimento de carboidratos.

Andrew (1976), citado por FRANCO (1978), constatou que o zinco tem efeito na nodulação mas não na porcentagem de nitrogênio na parte aérea de várias leguminosas forrageiras. Já o manganês e um componente de muitas enzimas do ciclo de Krebs, não tendo um papel específico na simbiose, embora FRANCO e DOBEREINER (1971) já detectaram que nodulação de feijão é bastante prejudicada pela toxicidade de manganês. Deficiência de boro impede a formação adequada de nódulos, os quais permanecem pequenos e com poucos bacteróides (Brenchley e Thornton, 1925, citado por FRANCO, 1978).

Plantas deficientes em cobre possuem nódulos pequenos que incorporam carbono vagarosamente em amino-ácidos e proteínas, possuem poucos bacteróides, acumulam amido e apresentam deficiência em citocromo C oxidase (CARTWRIGHT e HALLSWORTH, 1970). Também cobalto é essencial para a fixação do  $N_2$ , pois constitui o grupo prostético associado com um nucleotídeo na vitamina  $B_{12}$  que funciona como coenzima (cobalamida), necessária para síntese da succinil-CoA, que está envolvida na síntese do núcleo tetrapirrólico, o qual eventualmente produz o grupo heme, que faz parte da molécula da leghemoglobi

na (MALAVOLTA, 1980).

Entre os micronutrientes, o molibdênio e o ferro destacam-se por fazerem parte da nitrogenase, que contém duas proteínas — a MoFe-proteína e a Fe-proteína (YATES, 1980). O ferro, na forma FeS, ainda é um constituinte da leghemoglobina (BERGERSEN, 1971) e da ferredoxina da bactéria, que funciona como um redutor da nitrogenase (EVANS e RUSSEL, 1971).

Inúmeros pesquisadores, estudando o efeito do nitrogênio mineral na nodulação de leguminosas, demonstraram que a eficiência simbiótica máxima está relacionada com a deficiência de nitrogênio no meio (NUTMAN, 1956). A formação de nódulos e a atividade da fixação de nitrogênio são muito reduzidas na presença de doses elevadas de nitrogênio combinado. Entretanto, pequenas quantidades de fertilizantes nitrogenados podem ser benéficas para o crescimento da planta, porque suprem a necessidade inicial de nitrogênio que ocorre antes dos nódulos se tornarem ativos, bem como contribuem no desenvolvimento do tecido nodular (LIE, 1974).

Deve-se ressaltar que estirpes de *Rhizobium* podem diferir em suas reações ao nitrogênio combinado (PEREIRA, 1979). Em feijoeiro, FRANCO e DOBEREINER (1968) observaram que doses de 10 ppm de nitrogênio aumentaram a nodulação, enquanto doses maiores foram altamente prejudiciais. Já PEREIRA (1979) observou que o feijoeiro deve receber uma adubação nitrogenada de até pelo menos 30 ppm no solo, além da inoculação, para elevar o nível de nitrogênio na planta



atê valores semelhantes aos fornecidos pela adubação nitrogenada recomendada.

Portanto, com relação ao efeito do nitrogênio combinado na fixação de  $N_2$ , os resultados ainda são bastante conflitantes.

O estabelecimento de uma combinação eficiente hospedeiro-*Rhizobium* é difícil, principalmente em condições de campo. O efeito nocivo de outros microrganismos existentes no solo chega a ser limitante para o estabelecimento da simbiose (SPRENT, 1979). O antagonismo, competição, predação, parasitismo e ação fágica podem influir grandemente na colonização e sobrevivência do *Rhizobium* no solo. Além disso, a competição entre as diferentes linhagens de *Rhizobium* por sítios de infecção nodular no hospedeiro suscetível é decisiva no estabelecimento da simbiose (VIDOR *et alii*, 1979), assim como a eficiência das linhagens (SAITO e CARDOSO, 1977).

Um outro fator que também pode interferir no estabelecimento da simbiose é o número de *Rhizobium* no solo (NUTMAN e ROSS, 1969). A quantidade de *Rhizobium*, segundo WEAVER *et alii* (1972) é uma função direta da presença do hospedeiro adequado, sendo que nos locais onde as leguminosas são introduzidas, as espécies adequadas de *Rhizobium* estão frequentemente ausentes ou esparsas e ineficientes na fixação do  $N_2$  (DATE, 1970), necessitando-se de inoculação artificial para elevar o potencial do inóculo inicial.

Apesar da grande importância da fixação do  $N_2$ , existem poucas informações precisas que a definam quantitativamente (STE

WART *et alii*, 1967). Vários métodos podem ser usados em laboratório para avaliar a fixação simbiótica do nitrogênio, e são descritos por HARDY *et alii* (1968). Tais métodos são: análise pelo método de Kjeldahl, que fornece a porcentagem de nitrogênio ou nitrogênio total; enriquecimento com  $^{15}\text{N}$ , que é determinado por espectrofotometria de massa; incorporação de  $^{13}\text{N}$ , analisado por medidas de radioatividade, o qual é o método mais sensível, porém, de aplicação extremamente limitada, devido ao fato do  $^{13}\text{N}$  possuir meia vida curta (10 minutos).

Além destes métodos, há ainda o da redução do acetileno, que é baseado no fato dos organismos que fixam  $\text{N}_2$  também reduzem acetileno a etileno (KOCK e EVANS, 1966), uma vez que o acetileno também é substrato para a nitrogenase. As concentrações de tais gases são determinadas por cromatografia gasosa e este método vem sendo usado, considerando-se que existe uma relação constante entre a quantidade de etileno produzido e a quantidade de nitrogênio fixado (FLETT *et alii*, 1975).

### 2.3 - Micorrizas em Leguminosas

Relações simbióticas mutualísticas são estabelecidas entre leguminosas e duas categorias diferentes de microrganismos do solo: bactérias fixadoras de  $\text{N}_2$  atmosférico e fungos micorrízicos vesículo-arbusculares (VA).

Referências têm sido feitas à interação *Rhizobium*-mi-

corriza, desde que Asai (1944), citado por MOSSE (1973a), sugeriu que a associação micorrízica é uma condição necessária para uma eficiente nodulação em muitas leguminosas. Assim, pode-se considerar que leguminosas são basicamente, associações tríplices.

A principal contribuição do fungo micorrízico VA para a planta hospedeira em solos deficientes em fósforo, como já foi visto, é alcançar e translocar, através da sua hifa extracortical, nutrientes relativamente imóveis, os quais, de outra forma, estariam menos acessíveis para o hospedeiro (MOSSE, 1973a).

Esta característica das micorrizas é bastante adequada às nossas condições, uma vez que a maioria dos solos brasileiros é de baixa fertilidade. Dos macronutrientes, o fósforo talvez seja o mais limitante para o estabelecimento e desenvolvimento adequado de leguminosas (LEME ROCHA, 1971), bem como à fixação do  $N_2$  atmosférico, sendo no geral encontrado em baixos níveis no solo.

Assim, a micorriza vem, justamente, aumentar a nodulação e fixação do  $N_2$ , como resultado do incremento na nutrição de fósforo (BETHLENFALVAY e YODER, 1981), bem como de cobre, zinco, enxofre e outros, os quais são requeridos pelas plantas em quantidades mais elevadas, quando o processo de fixação de  $N_2$  pela presença do *Rhizobium* está ativo (LOPES *et alii*, 1983).

ROSS (1971), observou que a concentração de N, P, Ca, Cu e Mn foi maior nas folhas de soja micorrízica do que não micorrízica. Os mesmos resultados foram obtidos por ROSS e HARPER (1970),

ainda em soja e DAFT *et alii* (1975) em soja e alfafa. O mesmo autor (ROSS, 1971) também observou que, exceto na menor dose de fósforo, as sementes de soja não micorrízica continham menor teor protéico do que as de soja micorrízica, enquanto o inverso ocorreu com relação ao conteúdo de óleo.

Também já se constatou que amendoim duplamente infectado apresentou alta concentração de nitrogênio na parte aérea, em todos os níveis de fosfato adicionado (DAFT e EL-GIAHMI, 1976), do mesmo modo que feijoeiro micorrízico teve 6% mais proteína na parte aérea (DAFT e EL-GIAHMI, 1974). Similarmente, alfafa micorrízica adubada com fosfato solúvel ou insolúvel, teve uma maior porcentagem de nitrogênio em todos os níveis de fósforo adicionado (SMITH e DAFT, 1977). Em condições de campo, porém, inoculação com fungo micorrízico aumentou a porcentagem de nitrogênio na parte aérea de soja (BAGY ARAJ *et alii*, 1979) mas não de caupi (ISLAM *et alii*, 1980) nem de leucena (OWUSU-BENNOAH e MOSSE, 1979).

O fato da micorriza não aumentar a concentração de nitrogênio de plantas não leguminosas, nem tampouco o crescimento de soja não nodulante sob condições de deficiência de nitrogênio (SCHENCK e HINSON, 1973) levanta dúvidas com relação ao efeito direto do fungo na absorção deste elemento. Deste modo, de acordo com RHODES e GERDEMANN (1980), aumento na absorção de nitrogênio pelas leguminosas não parece ser um efeito direto de translocação pela hifa, mas sim, como já foi citado anteriormente, um efeito secundário de amen

to na fixação de  $N_2$  pelo *Rhizobium*, resultante do maior fornecimento de fósforo.

Este efeito indireto da micorriza sobre a fixação de  $N_2$  também foi confirmado por CARLING *et alii* (1978), os quais constataram que soja na presença de *Rhizobium japonicum* e de *Glomus fasciculatum* mostrou aumento no peso seco total, peso seco de nódulo, como também altos níveis de atividade da nitrogenase e redutase de nitrato, quando comparada com soja não micorrízica, sendo que resposta similar foi obtida quando se substituiu a micorriza por fosfato. O mesmo foi observado por CRUSH (1974) em várias leguminosas e por DAFT e EL-GIAMI (1974) quando constataram que fosfato solúvel simulou os efeitos do fungo.

Há muito já se verificou o efeito promotor das micorrizas VA sobre a fixação biológica do  $N_2$ . Em solos medianamente deficientes em fósforo (13 ppm), CRUSH (1974) observou que micorriza VA estimulou fortemente a nodulação e o crescimento de *Centrosema pubescens*, *Stylosanthes guyanensis*, *Trifolium repens* e *Lotus pedunculatus*. As leguminosas tropicais foram muito mais dependentes de micorrizado que as de clima temperado, e isto parece estar relacionado ao grau de desenvolvimento do pelo radicular, pois plantas com poucos ou com pelos radiculares curtos são mais dependentes de micorriza, principalmente em solos com pouco fósforo disponível (BAYLIS, 1972). CRUSH (1974) também constatou que quando *Trifolium repens* e *Lolium perene* cresceram juntos, a micorriza preferencialmente, estimulou o cresci-

mento da leguminosa.

DAFT e EL-GIAHMI (1974, 1975) observaram que plantas de alfafa, amendoim e feijão infectados com *Glomus macrocarpum* e *Rhizobium* tiveram aumento significativo no crescimento, produção, nodulação, taxa de redução do acetileno e concentração de leghemoglobina, quando comparadas com plantas infectadas somente por *Rhizobium*. De forma semelhante, BAGYARAJ *et alii* (1979) observaram que, em condições de campo, a dupla simbiose aumentou significativamente o crescimento de soja e seu conteúdo de nitrogênio. Entretanto, BETHLENFALVAY *et alii* (1982b), trabalhando com meio para enraizamento e empregando alto nível de hidroxapatita, observaram que a soja, na presença de micorriza VA (*Glomus fasciculatum*), teve seu crescimento inibido em relação ao controle, o qual atingiu um máximo na nona semana. A partir dessa época, a inibição diminuiu e, após a décima-quinta semana, plantas micorrízicas tiveram maior peso seco e conteúdo de fósforo do que as não micorrízicas. A informação sugere que, quando esta inibição inicial no crescimento ocorre, provavelmente isto seja um resultado da demanda de carboidrato do hospedeiro pelo fungo, ao mesmo tempo que a relação parte aérea/raiz e a capacidade fotossintética do hospedeiro são baixas.

Quando a disponibilidade de fósforo é baixa, o aumento na absorção deste elemento pelas leguminosas colonizadas pelo fungo micorrízico VA incrementa o crescimento da planta e estimula a fixação de  $N_2$ . A isto tem-se denominado de crescimento micotrófico (COOPER, 1975).

MOSSE *et alii* (1976), trabalhando com solos deficientes em fósforo, notaram que os nódulos de *Centrosema* eram grandes e pesavam tanto quanto as raízes, contendo uma maior concentração de fósforo que as mesmas, o que está coerente com trabalhos que mostram a necessidade de grandes quantidades deste elemento para a nodulação e fixação de  $N_2$  (DEMETRIO *et alii*, 1972; DE MOOY e PESEK, 1966). Segundo Stalder (1952) e Diener (1950), citados por MOSSE *et alii* (1976), é o crescimento do tecido nodular que requer fósforo, enquanto a frequência de infecção da bactéria não é afetada pela concentração deste elemento no meio. Parece que esta dependência pelo fósforo se deve ao fato de que os bacteróides possuem alto requerimento deste nutriente (BERGERSEN, 1971). Porém, ainda não se sabe se o aumento na absorção de nutrientes pela presença da micorriza na leguminosa afeta diretamente os bacteróides, se estes interferem na micorriza ou se ambos interagem por meio da nutrição do hospedeiro.

Portanto, a natureza dos efeitos do fósforo na simbiose *Rhizobium*-leguminosa ainda é controversa. Resultados de SMITH e DAFT (1977) e SMITH *et alii* (1979) indicaram que a inoculação de alfafa e trevo com fungos micorrízicos aumentou a nodulação e atividade da nitrogenase semanas antes de se observar alguma resposta do crescimento das plantas. O aumento na atividade da enzima não foi correlacionado com os teores de fósforo do nódulo, sugerindo que outros nutrientes e/ou mecanismos estejam envolvidos. Isto também sugere que o nódulo deve ter usado os nutrientes absorvidos pela micorriza de imediato.

Não está bem definido se o efeito benéfico das micorrizas na fixação simbiótica do  $N_2$  em leguminosas é devido ao melhor estado nutricional da planta colonizada, ou se outro fator possa estar envolvido (LOPES *et alii*, 1983). Raiz de leguminosa com elevada colonização micorrízica mostrou uma pigmentação amarela característica (NICOLSON, 1967). Esta mudança na composição da raiz pode afetar a rizosfera se a micorriza alterar a permeabilidade e produção de exsudatos (MOSSE, 1973a). Portanto, é possível que, além do efeito no fornecimento de fósforo ao hospedeiro, a micorriza VA influencie a simbiose leguminosa-*Rhizobium*, alterando o ambiente rizosférico para a bactéria!

Considerável atenção tem sido dada às associações triplíceis envolvendo planta, bactérias fixadoras de  $N_2$  atmosférico e endomicorrizas. Entretanto, muitos fatores influenciam tais associações (DAFT, 1978): fornecimento de carbono (compostos orgânicos) para a raiz, concentração de nitrogênio e fósforo, sombreamento que diminui a nodulação (CHU e ROBERTSON, 1974; SPRENT, 1973), baixa luminosidade e temperatura (HAYMAN, 1974), desfolhamento, fotoperíodo, irradiação e outros.

Já se constatou que o nitrogênio em excesso diminui a nodulação, o mesmo ocorrendo com o fósforo, o qual, em altos teores, prejudica as associações micorrízicas. Assim, cada endófito produz seu máximo efeito sob condições de deficiência de ambos os elementos, sendo que os níveis em que esse máximo efeito ocorre dependem do hos



pedreiro. Deste modo, embora muitas leguminosas dependam da micorriza para melhor absorverem fósforo, em solos marginais e com pouco fósforo disponível, essa dependência varia de espécie para espécie de leguminosa (MOSSE, 1977b). Nesse particular, uma série de trabalhos é revista por MOSSE (1977b, 1981). Um exemplo é o *Stylosanthes guyanensis* que cresce muito pouco e virtualmente não nodula em muitos solos esterilizados, mesmo fornecendo fosfato extra, a menos que as plantas sejam micorrízicas (MOSSE *et alii*, 1976).

A concentração de fósforo no substrato parece ser determinante dos efeitos da colonização micorrízica. Quando o fósforo é extremamente limitante, o crescimento de ambos simbiossios é inibido (BETHLENFALVAY e YODER, 1981); a baixos níveis de fósforo disponível ocorre um aumento no crescimento micotrófico do hospedeiro (BETHLENFALVAY *et alii*, 1982b); a níveis intermediários de fósforo a proliferação fúngica pode ocorrer à custa do hospedeiro, sem aumento na absorção de fósforo (BOWEN, 1980), causando inibição do crescimento induzido por uma atividade micorrízica parasítica; a níveis altos do elemento o crescimento fúngico é inibido e o maior crescimento do hospedeiro não é devido a micotrofia (BETHLENFALVAY *et alii*, 1982b).

O efeito da inoculação com *Glomus mosseae* no crescimento e absorção de fósforo em trevo subterrâneo foi examinado empregando-se fontes de fosfato com diferentes solubilidades, por PAIRUNAN *et alii* (1980). Micorriza marcadamente aumentou o crescimento e o conteúdo de fósforo da parte aérea, para todas as fontes.

ROSS (1971) inoculou soja com *Rhizobium* e uma espécie de fungo endomicorrízico aplicando superfosfato triplo em doses crescentes. Observou que ocorreu uma relação inversamente proporcional entre doses crescentes de fósforo e produtividade das plantas. Observou que as plantas micorrízicas, a baixa concentração de fósforo no solo, tiveram uma resposta mais favorável do que a soja não micorrízica com a mais alta dose de fósforo. Este mesmo efeito também já foi observado em outras culturas que não leguminosas (MOSSE, 1973b; KHAN, 1972).

BETHLENFALVAY e YODER (1981) cultivaram soja duplamente infectada por *Rhizobium* e *Glomus fasciculatum*, em meio para enraizamento estéril (perlite/areia) com doses crescentes de fósforo, e constataram que a planta micorrízica apresentou maior taxa de fixação de N<sub>2</sub> atmosférico, massa de planta e de nódulo e conteúdo de fósforo. Atividade do nódulo (redução do acetileno) aumentou logaritmicamente com o aumento na concentração de fósforo na solução. Diferenças entre soja micorrízica e não micorrízica não foram detectadas em nenhum parâmetro medido na maior concentração de fósforo (500 µM), onde a infecção das raízes foi muito leve. Os mesmos autores ainda observaram que os aumentos causados pelo fungo foram maiores na concentração de 20 µM de P.

A fonte de fósforo pode causar respostas diferentes da planta. ROSS e GILLIAN (1973), observaram que o maior crescimento de soja micorrízica ocorreu com superfosfato triplo, enquanto que com

outras fontes de fósforo (rocha fosfatada, fosfato de alumínio e fosfato de ferro) não diferiram dos controles, com exceção da rocha fosfatada.

Segundo DAFT e EL-GIAHMI (1976) e SMITH e DAFT (1977), o fósforo influi, principalmente, na interação tríplice leguminosa-*Rhizobium*-micorriza, sendo que a quantidade do elemento a ser aplicada depende do hospedeiro e do solo empregado. Em feijão (planta jovem) fósforo [124 mg  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ /kg de areia] causou aumento na nodulação e redução do acetileno na presença de *Glomus mosseae* (DAFT e EL-GIAHMI, 1974). Já o amendoim infectado com *Rhizobium* e *Glomus mosseae*, após 190 dias, mostrou marcada nodulação com o fornecimento de 494 mg  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ /kg de areia (DAFT e EL-GIAHMI, 1976), sendo que a infecção das raízes não diminuiu com o aumento nos níveis de fosfato. Os resultados obtidos levaram os autores a concluir que a micotrofia é uma situação complexa, influenciada tanto pelo hospedeiro como pelos fatores ambientais.

BETHLENFALVAY *et alii* (1982a) observaram uma depressão no crescimento, nodulação e fósforo total de feijoeiro cultivado em meio para enraizamento (mistura de areia/perlite) empregando-se doses crescentes de hidroxiapatita. Constataram que para qualquer dose de fósforo, o controle sempre foi superior ou não diferiu das plantas micorrízicas. Com relação à fixação do  $\text{N}_2$  atmosférico, é conveniente ressaltar que redução do acetileno, evolução de  $\text{H}_2$  e fixação de  $\text{N}_2$  foram maiores para plantas não micorrízicas e, consequentemen-

te, a atividade específica do nódulo e eficiência relativa da fixação de  $N_2$  superiores em plantas micorrízicas. Entretanto, segundo os autores, estes resultados foram obtidos em uma condição sub-ótima de fotossíntese, uma vez que houve inibição do crescimento da planta micorrízica em todos os tratamentos de fósforo, devido à competição por carboidratos.

Segundo DAFT (1978), a máxima dose de fósforo aplicada (906 mg  $Na_2HPO_4$ /kg de solo) permitiu que em alfafa duplamente infectada, a fixação de  $N_2$  fosse mais eficiente ao nível de infecção de 36%. Entretanto, no mesmo solo, 113 mg  $Na_2HPO_4$ /kg do solo produziram maiores diferenças no crescimento e nas atividades fisiológicas entre plantas duplamente infectadas e aquelas só com *Rhizobium*. Plantas significativamente mais infectadas e noduladas tiveram maior porcentagem de C, N, e menor C/N e maior P por unidade de peso seco.

HALL *et alii* (1977), CRUSH e CARADUS (1980) e RANGELY *et alii* (1982) constataram que o crescimento de trevo branco foi significativamente maior na presença de endófito numa dose baixa de fosfato, diminuindo no mais alto nível.

Em leguminosas noduladas e micorrízicas não é sempre possível separar os efeitos na produção de matéria seca total do nitrogênio extra produzido por uma melhor nodulação, e do fósforo extra absorvido pela micorriza, não havendo dúvida, segundo MOSSE(1981), de que os dois sistemas simbióticos interagem.

## 2.4 - Eficiência de Fungos Micorrízicos Vesículo-Arbusculares

O conceito de especificidade como é aplicado às associações simbióticas envolvendo plantas superiores, inclui o grau de adaptação do microrganismo a um hospedeiro particular ou grupo de plantas hospedeiras, permitindo que estas derivem o benefício máximo da associação (MOSSE, 1972a), englobando, portanto, o conceito de especificidade hospedeira — a restrição do endófito em associar-se com uma determinada espécie ou grupo de plantas, e eficiência — grau de vantagem (nutricional ou outra) para a planta, devido à associação com o fungo (MOSSE, 1975).

Há, porém, pouca evidência de especificidade hospedeira com micorrizas vesículo-arbusculares, e recentemente infecção micorrízica foi encontrada em algumas espécies da família *Cruciferae* e *Chenopodiaceae* que eram até então, consideradas imunes à infecção (MOSSE, 1975).

Diferenças intergenéricas e interespecíficas na eficiência do fungo micorrízico VA têm sido demonstradas usando-se soja como planta hospedeira. Assim, CARLING e BROWN (1980) demonstraram que a inoculação com *Glomus* foi mais eficiente do que com *Gigaspora* para aumentar o peso seco da parte aérea e produção de grão de soja, sendo que *Glomus mosseae* foi o fungo endomicorrízico que promoveu o máximo crescimento da soja, fato também observado por SCHENCK e SMITH (1982).

KUO e HUANG (1982), cultivando soja em casa-de-vegetação e no campo, empregando solo misturado com resto de arroz, observaram que *Glomus* e *Acaulospora scrobiculata* deram melhor resposta do que *Gigaspora pellucida*. Dentre os *Glomus*, as espécies *G. fasciculatum* e *G. mosseae* foram superiores ao *G. etunicatum* e aos demais fungos em promover o crescimento da planta. Complementando, CARLING *et alii* (1979) observaram que soja inoculada com *Glomus fasciculatum* ou *Glomus caledonium* não foi afetada pela presença dos fungos, embora tenham ocorrido diferenças na habilidade de estimular o crescimento do endófito (colonização da raiz).

Em condições de campo, RANGELEY *et alii* (1982) constataram que o trevo branco inoculado com *Glomus etunicatum* produziu 75% mais matéria seca por hectare do que quando infectado com *Glomus mosseae*.

Estudos de eficiência micorrízica com *Vigna unguiculata*, empregando-se sete espécies de endófitos VA, indicaram *Gigaspora margarita*, *Gigaspora heterogama* e *Glomus macrocarpum* como as espécies melhor adaptadas às condições dos latossolos de tabuleiro do extremo sul da Bahia (EZETA e SANTOS, 1980).

HUGHES *et alii* (1978) constataram diferenças entre a eficiência de *Gigaspora calospora* e *Glomus fasciculatum*, onde morango inoculado com o último, apresentou maior porcentagem de infecção e maior concentração de N e P em relação à testemunha.

Eficiência simbiótica é afetada, segundo MOSSE (1981), por fatores que controlam o alastramento do fungo no solo, pela translocação e liberação de fósforo na raiz do hospedeiro e patogenicidade latente do fungo em relação ao hospedeiro.

Tratando-se, porém, de micorriza, o fungo existe como uma entidade contínua entre a raiz e o solo, o que propicia sua função de auxiliar a absorção de nutrientes pela planta (SANDERS e TINKER, 1971; RHODES e GERDEMAN, 1980). Assim, a eficiência da micorriza VA pode ser determinada mais pelas interações entre um fungo e o solo do que entre o fungo e seu hospedeiro, uma vez que este tipo de micorriza possui uma gama considerável de hospedeiros (MOSSE, 1972b).

As associações micorrízicas são dependentes de uma série de fatores relacionados aos diferentes aspectos do sistema solo-planta-atmosfera. Ao mesmo tempo, devido à diversificação em espécies de fungos que compõem as micorrizas vesículo-arbusculares, é provável que estas tenham diferentes requerimentos para crescimento, divergindo, concomitante, nas suas reações às diferentes condições ambientais. Assim, interações específicas entre o endófito VA e o ambiente podem ocorrer e afetar sua eficiência simbiótica.

Para MOSSE (1972a), parece evidente que o grau de aumento na absorção de fosfato não é o mesmo para todos os fungos em qualquer solo, sendo que diversos fatores afetam a "performance" do endófito. Portanto, as interações entre solo e fungo são bastante complexas, uma vez que ambos estão intimamente relacionados.

Os efeitos do fósforo adicionado e da micorriza (HAYMAN e MOSSE, 1971), bem como a eficiência do fungo micorrízico em estimular a absorção de fósforo no hospedeiro (MOSSE, 1975; POWELL, 1977a) diferem, fundamentalmente, com o tipo de solo.

Um dos aspectos de importância é a concentração de fósforo disponível no solo. Neste particular, CLARKE e MOSSE (1981) constataram que numa situação de aguda deficiência do mesmo, qualquer endófito introduzido aumentará significativamente o crescimento, principalmente se a infecção ocorrer logo no início do ciclo da cultura. Sob tais condições, o aumento no crescimento pode ser mais controlado pelo fósforo disponível do que pela espécie de endófito. Todavia, num solo mais fértil (natural ou adubado), o fungo deve ser mais cuidadosamente selecionado, para que haja boa adaptação ao solo e/ou hospedeiro, uma vez que a eficiência da simbiose é função do fósforo disponível.

SPARLING e TINKER (1978) observaram que as espécies endomicorrízicas diferem quanto à sensibilidade a doses de fósforo, sugerindo que este fator deve ser de grande importância na introdução de espécies selecionadas no campo.

Na comparação de eficiência micorrízica, KUO e HUANG (1982) constataram que *Glomus mosseae* e *G. fasciculatum* inoculados em soja foram mais eficientes no crescimento e produção de grão, em alto nível de fósforo no solo (23 ppm P), ao passo que *Glomus mosseae* causou resposta adequada num nível mais baixo (10 ppm P), enquanto



*Gigaspora pellucida* não respondeu em qualquer nível aplicado.

CLARKE e MOSSE (1981), trabalhando com cevada em condições de campo, observaram que *Glomus caledonium* foi melhor inoculante do que *Glomus mosseae* e *G. fasciculatum*, a uma concentração de 39 ppm de P no solo, sendo que este mesmo endófito também foi o mais indicado para alfafa e cebola (OWUSU-BENNOAH e MOSSE, 1979).

Uma outra característica do solo, que já se demonstrou ter grande influência na eficiência de micorrizas, é o pH do solo. MOSSE (1972a,b) demonstrou que alguns endófitos se comportam melhor em meio neutro ou alcalino, enquanto outros são melhores a baixos valores de pH.

SKIPPER e SMITH (1979) demonstraram o efeito do pH do solo nestas associações, mostrando que soja em pH 5,1 deu melhor resposta com *Gigaspora giganteae* do que com *Glomus mosseae*. Neste pH, a soja não respondeu ao *G. mosseae*, embora tivesse havido infecção, ocorrendo falta de eficiência mas não de infectividade por parte do fungo. Segundo os autores, este fator ambiental poderia estar afetando tanto os componentes biológicos quanto a relação simbiótica.

A influência da temperatura do solo sobre a associação micorrízica, bem como sobre sua eficiência, também tem sido um ponto de estudo. O conhecimento básico a respeito do efeito da temperatura na colonização, esporulação e resposta da planta induzida pelo fungo VA pode ser útil na aplicação prática deles na agricultura. Assim, seria importante multiplicar os fungos selecionados a tempera

turas que favoreçam sua máxima produção. Neste sentido, FURLAN e FORTIN (1973) avaliaram o efeito de três temperaturas sobre cebola com *Gigaspora calospora*, concluindo que a máxima resposta da planta e esporulação do fungo ocorreram a 26°C. Já em soja, SCHENCK e SCHRODER (1974) relataram máxima esporulação de *Gigaspora margarita* a 35°C e máximo crescimento da planta a 30-32°C, enquanto em cebola inoculada com *Glomus mosseae*, HAYMAN (1974) obteve resposta mais eficiente a 23°C.

O efeito da temperatura do solo no estágio de pré-infecção foi examinado por SMITH e BOWEN (1979) em alfafa e trevo, os quais observaram que há correlação entre temperatura e aumento no número de pontos de entrada do fungo na raiz, sendo que o efeito foi maior entre 16 e 20°C.

SCHENCK e SMITH (1982) observaram que soja colonizada com *Glomus mosseae* apresentou resposta mais satisfatória, enquanto *Acaulospora laevis* diminuiu o crescimento e a produção da planta. Soja inoculada com *Glomus mosseae* teve maior número de nódulos do que a inoculada com os demais fungos, exceto a 30°C, onde foi superado por *A. laevis*. Observaram que houve considerável variação no comportamento da planta a várias combinações de temperatura e espécie de fungo, ocorrendo tanto estímulo como inibição do crescimento. Pelos resultados obtidos, cada fungo estudado alcançou um máximo de colonização da raiz e esporulação numa determinada temperatura, sendo que o número de esporos foi o fator mais afetado pela temperatura do solo.

Deste modo, fica claro que a temperatura do solo pode afetar a eficiência de um determinado endófito, uma vez que está relacionada com a germinação de esporos e colonização das raízes do hospedeiro, podendo causar precocidade ou não no estabelecimento do fungo na raiz, mascarando seu real comportamento.

A eficiência de um endófito pode estar relacionada diretamente com a extensão da infecção ou com o desenvolvimento do micélio no solo (MOSSE, 1972b; POWELL, 1976), embora possa não estar necessariamente relacionada à intensidade de infecção (MOSSE, 1972b).

OWUSU-BENNOAH e MOSSE (1979), trabalhando com alfafa e cebola, observaram que taxas semelhantes de infecção causadas por dois endófitos diferentes não tiveram, necessariamente, os mesmos efeitos no crescimento. Entretanto, a eficiência micorrízica não foi dependente do número de hifas de conexão entre solo e raiz (POWELL, 1977a).

Um outro aspecto da especificidade e eficiência micorrízica é o efeito comparativo entre endófitos indígenas e introduzidos. Segundo MOSSE (1975), se um endófito introduzido fosse mais benéfico ao crescimento da planta do que um indígena, isto poderia ter aplicação prática bastante importante, especialmente em solo não esterilizado.

Já foi observado que endófitos indígenas no solo não são sempre os mais favoráveis (MOSSE, 1975). POWELL (1977a) constatou que em solos de pastagens, um endófito introduzido promoveu melhor crescimento de trevo do que um fungo indígena.

Dos fungos testados em solo esterilizado, de textura média, *Gigaspora margarita* foi o mais eficiente em estimular o crescimento de gramíneas, Lotus e trevo branco, mas foi menos eficiente que o fungo indígena na promoção do crescimento do trevo vermelho (POWELL e SITHAMPARANATHAN, 1977). Já com relação à nodulação dos trevos, o fungo indígena foi mais favorável do que *Glomus fasciculatum* (E<sub>3</sub>) e *G. margarita*.

Uma vez estabelecida a infecção por um fungo eficiente, mesmo que em poucas raízes, este rapidamente compete com outros menos eficientes existentes no solo (POWELL e DANIEL, 1978).

A simbiose entre *Gigaspora margarita* e *Vigna unguiculata* superou aquelas entre as espécies indígenas de fungos, tanto no crescimento quanto na absorção de nutrientes por essa cultura (EZETA e SANTOS, 1980).

POWELL (1977b) analisou a eficiência de micorrizas em solos diversos, verificando que em três deles houve efeito significativo na produção de matéria seca de *Lolium perene* (azevém), resultante da inoculação com fungos nativos ou com *Glomus fasciculatum* (E<sub>3</sub>). Observou que a infecção com E<sub>3</sub> foi menor que com endófitos indígenas. Também comparou o efeito da população indígena com o de *Gigaspora margarita*, constatando-se que esta última foi mais eficiente em estimular o crescimento do trevo branco do que do azevém. Pode ainda observar que a eficiência de uma espécie variava em relação às outras num dos solos, à medida que se faziam colheitas sucessivas, o que

também foi constatado por POWELL e DANIELS (1978).

Segundo MOSSE (1981), para se comparar a eficiência entre o endófito introduzido e o indígena é necessário isolar este último e elevar sua infectividade a um nível comparável com o do introduzido, de modo que os "seedlings" tenham níveis de infecção similares ao serem transplantados. Se "seedlings" forem postos diretamente em solo não estéril de baixa infectividade, a infecção pelo endófito indígena e o estímulo no crescimento podem ser mais lentos do que na presença de um introduzido, o qual atua melhor quanto mais precoce for a infecção. Assim, a resposta no crescimento seria um resultado da inoculação e não indicaria a superioridade qualitativa do fungo introduzido.

A eficiência micorrízica também tem sido observada em ensaios com plantas perenes de expressão econômica. LOPES (1980) observou especificidade endomicorrízica em café, onde *Gigaspora margarita* foi o melhor endófito. Em citrus, PARADA *et alii* (1983), trabalhando primeiramente com três porta-enxertos (Tangerina Cleópatra, Citrus Volkamericano Palermo e Limão Cravo) observaram que *Gigaspora gilmorei* e *Glomus leptotichum* provocaram um grande desenvolvimento em seus hospedeiros, quando comparados com a testemunha ou qualquer outro fungo. Num segundo experimento, empregando Limão Cravo e Laranja Caipira, em três doses de fosfato solúvel, também obtiveram melhor resposta com *G. leptotichum* e *G. gilmorei*, cujo estímulo ao crescimento das plantas equiparou-se ou até superou o efeito da adubação fosfatada com 100 ppm P.

KLEINSCHMIDT e GERDEMANN (1972), em citrus, observaram benefícios da associação endomicorrízica quando inocularam espécies mais eficientes do que as existentes naturalmente no solo. Também NEMEC (1978) testou três espécies de *Glomus* em seis porta-enxertos, e observou diferenças quanto à dependência micorrízica destes últimos.

As relações de especificidade são de natureza complexa e envolvem interações tríplices planta-solo-fungo (LOPES, 1980). Verificou-se que é difícil fazer-se uma recomendação de inoculação com fungos endomicorrízicos, uma vez que qualquer alteração no sistema tríplice solo-fungo-plantas altera a eficiência da simbiose, sendo que cada situação específica deve ser analisada para se obter o máximo desempenho do sistema. (ANTUNES e CARDOSO, 1983).

A eficiência de um determinado fungo é também influenciada pelo hospedeiro, sendo que certas associações hospedeiro-fungo são mais eficientes do que outras (POWELL e SITHAMPARANATHAN, 1977; CRUSH, 1978).

Segundo MOSSE (1977a), ocorrem associações preferenciais de determinados endófitos com certos hospedeiros. SCHENCK *et alii* (1975), conduzindo experimentos em vasos com solo não esterilizado, observaram que a resposta de diferentes cultivares de soja variou com as várias espécies de fungo endomicorrízico.

A pesquisa na área da especificidade e eficiência micorrízicas possui duas propostas básicas: (1) devido ao fato das es-

pêcies de endófitos diferirem na sua capacidade de promover um desenvolvimento mais adequado da planta (MOSSE, 1973a), levanta-se a questão da inoculação artificial; a fim de se substituir a população autóctone por outra mais eficiente, e (2) existem determinadas situações em que a necessidade de inoculação é evidente, decorrente da ausência de espécie de fungo micorrízico ou presença de propágulos em número insuficiente (LOPES, 1980), como, por exemplo, em áreas depauperadas que necessitam ser revegetadas.

Entretanto, restrições ao uso da inoculação têm sido evidenciadas em diversos aspectos relacionados a essa área: (1) impossibilidade de cultivo artificial do endófito e precariedade no seu reconhecimento e avaliação, tornando a experimentação de campo trabalhosa e de difícil interpretação (LOPES, 1980); (2) dificuldades e falhas de metodologia usada na avaliação dos estudos de eficiência, o que limita e diminui a precisão do selecionamento das espécies (GIOVANNETTI e MOSSE, 1980); (3) falta de padronização do substrato utilizado; (4) avaliação da atividade principal da micorriza, na tentativa de se detectar o parâmetro chave que realmente mostra a eficiência do fungo empregado; (5) segundo GEDERMANN (1968), os testes prévios de seleção de endófitos devem ser efetuados em solo esterilizado para se isolar a interferência da população autóctone na real eficiência das espécies endomicorrízicas avaliadas; (6) falta de maiores informações sobre os endófitos indígenas e estudos sobre sua competitividade.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa-de-vegetação e laboratório, no Departamento de Fitopatologia e no Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, em Piracicaba.

Os objetivos do trabalho foram alcançados através de dois experimentos básicos. No primeiro, a observação do comportamento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) em relação à dupla simbiose *Rhizobium*-micorriza, aplicando-se três doses crescentes de fósforo ao solo, e, em seguida, estudo da eficiência de espécies de fungo endomicorrízico vesículo-arbuscular em diferentes cultivares de feijão e em vários solos, empregando-se a dose mais adequada de fósforo, determinada no primeiro experimento.



### 3.1 - Efeito de Doses Crescentes de Fósforo no Solo

#### 3.1.1 - Planta

Foi empregado o cultivar Carioca de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), obtido na Seção de Leguminosas do Instituto Agronômico de Campinas.

#### 3.1.2 - Solo

O solo empregado foi uma Areia Quartzosa - Série Ribeirão Claro, coletado no município de Santa Maria da Serra, São Paulo, a uma profundidade de 0-20 cm.

A análise química deste solo foi realizada pelo Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes da ESALQ/USP, Piracicaba, e os resultados estão apresentados na Tabela I.

Tabela I - Análise química do solo Areia Quartzosa - Série Ribeirão Claro.

pH	C%	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	/ Al <sup>+3</sup>	H <sup>+</sup>	V%
5,3	0,36	0,05	0,03	2,69	1,97	0,86	3,00	54,8

### 3.1.3 - Bactéria fixadora de nitrogênio atmosférico

Foram utilizadas quatro linhagens de *Rhizobium phaseoli* previamente purificadas:

Nº original	Procedência
Semia - 403	IPAGRO, Porto Alegre, RS
Semia - 492	IPAGRO, Porto Alegre, RS
127K-14	Nitragin Co, EUA

### 3.1.4 - Fungo micorrízico vesículo-arbuscular

Empregou-se a espécie de fungo endomicorrízico *Glomus macrocarpum* Tul e Tul, introduzida da Estação Experimental de Rothamsted, Inglaterra.

### 3.1.5 - Procedimento

Este experimento foi um fatorial 2x3x3, conduzido em casa-de-vegetação, com delineamento inteiramente casualizado. Constituiu de três doses crescentes de P no solo, sendo avaliado o efeito do fósforo e de *Rhizobium* na presença e ausência do fungo endomicorrízico, em três estágios do ciclo da planta.

Fizeram-se quatro repetições de cada tratamento, considerando-se como testemunha a ausência do fungo em cada dose de fósforo.

### 3.1.5.1 - Preparo do solo e vasos de plantio

Foram usados vasos de alumínio de tamanho médio, com capacidade para 2,0 kg de solo. Estes foram previamente lavados e esterilizados em autoclave a 121<sup>o</sup>C por 20 minutos.

O solo utilizado (item 3.1.2) foi misturado com areia na proporção de 3:1 (solo:areia), entretanto, anteriormente esterilizados em autoclave com vapor fluente por três dias.

### 3.1.5.2 - Calagem e adubação básica

Procedeu-se à calagem do solo, adicionando-se 1,47 g de  $\text{Ca(OH)}_2$ /vaso, que foi obtido pela curva de calagem do solo empregado, para elevação do pH a 6,5 e neutralização do alumínio livre. O solo necessário para o preenchimento de um vaso (2,0 kg) foi posto num saco de plástico, juntamente com o corretivo, e agitado vigorosamente para a completa homogeneização. Os vasos, depois de preenchidos com o solo, foram umedecidos com água destilada.

Após 20 dias, adubou-se o solo com sulfato de amônio (0,10 g/vaso), cloreto de potássio (0,22 g/vaso) e fósforo na forma de fosfato de cálcio monobásico, nas doses de 0,1 g/vaso (equivalente a 50 kg de  $\text{P}_2\text{O}_5$ /ha ou 11 ppm P) e 0,2 g/vaso (equivalente a 100 kg de  $\text{P}_2\text{O}_5$ /ha ou 22 ppm P). Como o solo já possuía 5 ppm P, as doses de fósforo empregadas no experimento passaram a ser: dose 0 = 5 ppm P; dose 1 = 16 ppm P e dose 2 = 27 ppm P. A adubação também foi efetuada pelo método da homogeneização pela agitação do solo em saco

plástico.

O solo foi mantido úmido e incubado por uma semana.

### 3.1.5.3 - Preparo dos inóculos

Embora se tenha adicionado uma pequena dose de sulfato de amônio, esta não foi considerada suficiente para suprir as necessidades em nitrogênio do feijoeiro. Parte do nitrogênio era esperado obter-se pela fixação biológica do N atmosférico, através da simbiose com a bactéria *Rhizobium phaseoli*.

As linhagens de *Rhizobium phaseoli* empregadas (item 3.1.3) estavam em meio YMA (Yeast-manitol-agar) modificado por NORRIS (1964), que contém a seguinte composição: Manitol - 10g; 0,5g de extrato de levedura; 3g  $\text{CaCO}_3$ ; 0,5g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 0,8g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,2g NaCl; 0,01g  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; azul de bromotimol 0,01g; 18g de agar em 1000 ml de água destilada.

Cada linhagem foi transferida separadamente para tubo com 5 ml de água destilada estéril, e 1 ml desta suspensão foi inoculado em frascos erlenmeyer de 250 ml contendo 50 ml do meio líquido (YMB: Yeast-Manitol-Broth). Esses frascos foram mantidos em agitação constante, à temperatura ambiente, por quatro dias, quando se observaram mudanças na coloração do meio e na turbidez.

O inóculo do fungo endomicorrízico empregado (item 3.1.4) foi obtido pela multiplicação de esporos do fungo em milho (vasos-estoque). Constou não somente de esporos (aproximadamente 6000

esporos/100 ml de solo), como também pedaços de raízes infectadas e micélio. Empregou-se 50 ml do solo contendo o inóculo. Na testemunha (ausência de fungo endomicorrízico) empregou-se 50 ml do solo testemunha também previamente plantado com milho, para que a mesma microflora contaminante e exsudatos de raiz de milho fossem fornecidos a todos os tratamentos.

#### 3.1.5.4 - Inoculação, instalação e condução da cultura

Dos vasos previamente preparados (item 3.1.5.1), retirou-se certa quantidade de solo, que foi substituída pelos 50 ml de solo contendo o inóculo de fungo endomicorrízico, colocado 3-5 cm abaixo do nível de semeadura.

As sementes de feijão foram desinfectadas com hipoclorito de sódio 2,5% por três minutos e enxaguadas inúmeras vezes com água destilada. Em seguida, foram imersas na suspensão de células das quatro linhagens de *Rhizobium* e mantidas assim por 20 minutos, para permitir a adsorção dos talos bacterianos à superfície da semente. A semeadura foi feita diretamente nos vasos, numa densidade de 5 sementes/vaso, aplicando-se, em seguida, 5 ml da suspensão bacteriana sobre as sementes. Irrigou-se diariamente, colocando-se de 100-150 ml de água destilada por vaso.

Após 13 dias da semeadura, procedeu-se ao desbaste, deixando-se uma planta por vaso e adicionaram-se 4 ml de suspensão de

células de *Rhizobium phaseoli* (preparada como já descrito no item 3.1.5.3) ao redor do colo da planta. Em seguida, junto à água de irrigação, adicionou-se 1 ml da solução nutritiva de micronutrientes (NORRIS, 1964) por litro de água.

Durante o período de condução do experimento, fez-se uma aplicação de Malation (2 ml/litro de água), aos 23 dias após a sementeira, para controle de pulgão e tripes.

### 3.1.5.5 - Colheita do experimento

O experimento foi colhido em três épocas do ciclo da cultura, para que se pudesse acompanhar a evolução dos diversos parâmetros analisados. Consideraram-se como épocas de colheita: 30 dias após sementeira (DAS) - início do florescimento; 50 DAS - início do enchimento das vagens, e 70 DAS - final da maturação e final de ciclo.

Na colheita, as plantas foram cortadas na altura do colo e toda a parte aérea posta em saco de papel etiquetado, para secagem e determinação de peso seco.

As raízes foram removidas, lavadas com água corrente, tiveram os nódulos retirados e devidamente ensacados, e mantidas em AFA (álcool-formol-ácido acético) para preservação.

O solo de cada vaso foi homogeneizado e uma porção dele coletado e acondicionado em saco plástico.

### 3.2 - Eficiência de Fungos Micorrízicos Vesículo-Arbusculares

#### 3.2.1 - Planta

O experimento foi conduzido empregando-se três cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*) - Carioca, Goiano Precoce e "Black Turtle Soup", obtidos no Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, da EMBRAPA, Goiânia (GO).

#### 3.2.2 - Solo

Foram empregados três solos diferentes, da região de Piracicaba, cuja composição química e granulométrica, conforme análises realizadas no Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes da ESALQ/USP, Piracicaba, encontra-se na Tabela 2. Empregaram-se:

- 1: Terra Roxa Estruturada - Série Luiz de Queiroz
- 2: Areia Quartzosa - Série Ribeirão Claro
- 3: Latossol Vermelho Escuro

#### 3.2.3 - Bactéria fixadora de nitrogênio atmosférico

Foram utilizadas três linhagens de *Rhizobium phaseoli*, previamente purificadas:

Nº original	Procedência
DF-14	ESALQ - Piracicaba, SP
Semia-403	IPAGRO - Porto Alegre, RS
Semia-492	CENA - Piracicaba, SP

Tabela 2 -- Composição química e granulométrica dos solos Terra Roxa Estruturada série Luiz de Queiroz (TRE), Areia Quartzosa - série Ribeirão Claro (AQ) e Latossol Vermelho Escuro (LVE), coletados na região de Piracicaba, São Paulo, a uma profundidade de 0-20 cm.

SOLO	COMPOSIÇÃO GRANULOMÉTRICA (*)		CLASSE TEXTURAL	pH	C	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Al <sup>++</sup>	H+Al	
	Areia	Silte										Argila
	%			meq/100 ml de terra								
TRE	15,3	20,2	64,5	argiloso	6,4	0,24	0,03	0,11	1,89	0,47	0,14	1,92
AQ	88,6	5,0	5,4	arenoso	4,4	0,33	0,02	0,03	0,01	0,04	1,08	6,72
LVE	67,0	8,1	24,9	franco-argilo-arenoso	4,6	1,05	0,03	0,11	0,44	0,42	1,68	6,16

(\*) FONTE: RANZANI *et alii* (1966).



### 3.2.4 - Fungo micorrízico vesículo-arbuscular

Foram avaliadas as seguintes espécies de fungo endomicorrízico: *Glomus macrocarpum* Tul e Tul, *Glomus leptotichum* Schenck e Smith, *Gigaspora margarita* Becker e Hall e *Gigaspora heterogama* (Nicol. e Gerd.) Gerd. e Trappe. Estas espécies foram mantidas e multiplicadas em vasos cultivados com milho.

### 3.2.5 - Procedimento

Este experimento constou de 45 tratamentos, num fatorial de 5x3x3 (4 fungos endomicorrízicos e testemunha x 3 solos diferentes x 3 cultivares de feijão), conduzido em casa-de-vegetação, pelo delineamento em blocos casualizados.

Foram feitas quatro repetições de cada tratamento, considerando-se como testemunha a ausência do fungo endomicorrízico.

#### 3.2.5.1 - Preparo do solo, vasos e adubação

Os recipientes utilizados foram vasos de alumínio, com capacidade para 2 kg de solo, previamente lavados e autoclavados.

Os solos empregados (item 3.2.2) foram peneirados, esterilizados em autoclave com vapor fluente por três dias e misturados com areia esterilizada, numa proporção de 2:1 (solo:areia) para Terra Roxa Estruturada e LVE, e de 3:1 para Areia Quartzosa.

Procedeu-se, em seguida, à adubação dos solos, que

foi feita de maneira a nivelar o teor de nutrientes, tomando por base a Terra Roxa Estruturada, a qual, pela análise química (Tabela 2), apresentou os níveis mais elevados de nutrientes, com exceção do teor de fósforo, que praticamente não diferiu entre os solos.

Os cálculos da adubação (Apêndice I) foram feitos com relação à CTC da Terra Roxa Estruturada, exceto o fósforo, que foi elevado a um teor de 10 ppm P (0,10 emg  $\text{PO}_4^{-3}$ /100 ml de solo), nos três solos, na forma de fosfato monobásico de cálcio.

Uma vez calculadas as quantidades a serem adicionadas de cada elemento, foi determinada a dosagem dos adubos para cada solo: TRE - 190,0 mg de  $\text{K}_2\text{SO}_4$ /vaso; AQ - 1,60 g de CaO, 275 mg de MgO e 540 mg de  $\text{K}_2\text{SO}_4$ /vaso; LVE - 1,47 g CaO, 136 mg MgO e 434 mg  $\text{K}_2\text{SO}_4$ /vaso. A adubação foi realizada pelo método da homogeneização do solo em saco plástico.

### 3.2.5.2 - Preparo dos inóculos

Tanto o inóculo de *Rhizobium phaseoli* como o dos fungos endomicorrízicos foram preparados como já descrito no item 3.1.5.3.

No caso dos fungos endomicorrízicos, como a contagem do número de esporos/100 ml de solo nos vasos-estoque variou de uma espécie para outra, foi necessário equilibrar a concentração de esporos nos inóculos. Assim, empregaram-se 10 ml de solo-inóculo para *Glomus macrocarpum*, 50 ml para *Glomus leptotichum*, 100 ml para *Gigaspora margarita* e 50 ml para *Gigaspora heterogama*, mantendo-se uma

quantidade de aproximadamente 1500 esporos para cada espécie de fungo por vaso. Do solo testemunha foram empregados 50 ml por vaso.

### 3.2.5.3 - Inoculação, instalação e condução da cultura

Nos vasos já preparados (item 3.2.5.1) foi inoculado o fungo endomicorrízico, e sobre este colocou-se uma camada do solo do próprio vaso.

As sementes de feijão foram desinfectadas com hipoclorito de sódio, 2,5% por três minutos, lavadas sucessivas vezes com água destilada e imersas na suspensão de *Rhizobium* (item 3.1.5.4). A seguir, foram semeadas diretamente no vaso numa densidade de 5 sementes por vaso, aplicando-se sobre as mesmas 5 ml da suspensão de *Rhizobium*. Irrigou-se diariamente com 100 - 150 ml de água destilada por vaso.

Aos 10 dias após semeadura, fez-se o desbaste das plantas, mantendo-se uma planta por vaso. Foi realizada, aos 20 dias, uma reinoculação com *Rhizobium*, adicionando-se 3 ml da suspensão da bactéria em meio YMB ao redor do colo da planta.

Aos 24 dias após semeadura, foi necessário fazer-se uma aplicação de Malation (1,5 ml/litro) para controle de pulgão e ácaro.

Neste experimento não se pretendia aplicar nenhuma forma de nitrogênio ao solo, permitindo que a fonte do elemento fosse o

N<sub>2</sub> atmosférico fixado pelo *Rhizobium*. Entretanto, a alta temperatura ambiente dentro da casa-de-vegetação, fez com que se duvidasse da viabilidade da fixação biológica do N<sub>2</sub>, como suprimento suficiente de nitrogênio, aplicando-se nitrato de amônio na dose de 10 ppm/vaso, aos 30 dias após semeadura.

#### 3.2.5.4 - Colheita do experimento

As plantas foram colhidas aos 55 dias após a semeadura. Na colheita, a parte aérea foi cortada na altura do colo e posta em saco de papel etiquetado. As raízes foram removidas, lavadas com água corrente e acondicionadas em frascos com AFA. Os nódulos foram destacados da raiz e postos em saco de papel.

O conteúdo de solo dos vasos foi examinado a fim de se coletar todos os nódulos que porventura tivessem se soltado da raiz, homogeneizado e uma porção do mesmo posta em saco plástico etiquetado.

### 3.3 - Avaliação dos Parâmetros Analisados

#### 3.3.1 - Análise do crescimento e produção das plantas

A parte aérea, incluindo as vagens, foi posta em saco de papel etiquetado e seca em estufa com circulação forçada de ar, a 60°C, até peso constante, tendo-se, em seguida, efetuada a pesagem. As vagens foram abertas, os grãos coletados e pesados.

### 3.3.2 - Avaliação da fixação biológica do N<sub>2</sub> atmosférico

A fixação biológica do N<sub>2</sub> foi avaliada pela nodulação ocorrida na planta e pela análise química do N na parte aérea.

Os nódulos destacados da raiz foram postos em saco de papel, secos em estufa com circulação forçada de ar, a 60°C, até peso constante e, em seguida, pesados.

### 3.3.3 - Avaliação do estabelecimento da micorriza

No que diz respeito à associação micorrízica, dois aspectos foram avaliados: a porcentagem de infecção micorrízica na raiz e o número de esporos do fungo em 100 ml do solo.

#### 3.3.3.1 - Determinação da infecção micorrízica na raiz

Para quantificação da infecção micorrízica, utilizou-se o método de coloração de raiz, descrito por PHILLIPS e HAYMAN (1970), seguido da determinação da porcentagem de infecção por um método descrito por GIOVANETTI e MOSSE (1980).

##### 3.3.3.1.1 - Método de coloração de raiz (PHILLIPS e HAYMAN, 1970)

Coletou-se uma certa porção da raiz que estava acondicionada em AFA, lavou-se com água corrente e cobriu-se com KOH 10% durante 8 horas. Em seguida, procedeu-se à lavagem com água corrente.

A raiz clara foi diretamente acidificada com HCl 0,1N por 10 minutos e lavada com água em seguida, enquanto a raiz escura foi coberta com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 volumes e alcalinizada durante 10-40 minutos, para então ser lavada, acidificada com HCl e novamente lavada com água corrente.

Posteriormente, procedeu-se à coloração com lactofenol mais trypan-blue 1%, imergindo na solução a raiz por 12 horas. Após, substituiu-se o lactofenol colorido pelo lactofenol incolor.

### 3.3.3.1.2 - Determinação da porcentagem de infecção das raízes (GIOVANETTI e MOSSE, 1980)

Da raiz colorida, pesou-se 0,5g. Esta quantidade de raiz foi cortada em pedaços e estes espalhados sobre uma placa de Petri. No fundo da placa foram marcadas linhas paralelas transversais, formando um quadriculado cujos quadrados mediam 0,5 polegada. A técnica consistiu em se contar sob microscópio estereoscópio o número de intersecções dos pedaços de raiz com as linhas horizontais ou verticais (numa só direção) do quadriculado, que tinham ou não, naquele ponto, a presença de estruturas fúngicas que fossem características dos fungos micorrízicos.

Posteriormente, para o cálculo da porcentagem de infecção na raiz, utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de infecção na raiz} = \frac{\text{Número de intersecções com presença de micorriza}}{\text{Número total de intersecções}} \times 100$$

### 3.3.3.2 - Contagem de esporos

Tomaram-se 100 ml de cada amostra de solo e procedeu-se à separação dos esporos usando-se a metodologia descrita por GERDEMANN e NICOLSON (1963), que consta de lavagens sucessivas da alíquota de solo com água e passagem da mesma por um conjunto de peneiras. Dado ao tamanho dos esporos a serem coletados, somente foram empregadas as peneiras de malha 100  $\mu$  e 50  $\mu$ . Estes esporos foram recolhidos num becker com água e adicionou-se 30 ml de uma solução de sacarose 50%, segundo método descrito por ANDREOLA (1982). Agitou-se vigorosamente e deixou-se em repouso por três minutos, para que as partículas de solo se depositassem, enquanto os esporos permaneciam em suspensão. Esta suspensão passou novamente pela peneira de 50  $\mu$ . O material retido na peneira foi coletado e procedeu-se à contagem dos esporos, com auxílio de uma placa estriada e dividida em seis partes, colocada sob microscópio estereoscópico. A contagem foi expressa em número de esporos em 100 ml do solo.

### 3.3.4 - Determinação do teor de NPK

A parte aérea das plantas (incluindo vagem e grão) foi moída em moinho de faca e analisada quanto ao teor de N, P e K, seguindo-se a metodologia de SARRUGE e HAAG (1974).

Para determinação do N, o material seco sofreu uma digestão sulfúrica em micro-digestor para obtenção do extrato, seguida

da destilação em micro-destilador Kjeldahl. O destilado obtido foi, então, titulado com  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,01N, para determinação da quantidade de amônia presente. A porcentagem de N na amostra foi dada pela fórmula:

$$\text{N\%} = \text{volume de } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ 0,01N gasto (ml)} \times 0,14$$

Na determinação de P e K, o extrato foi obtido pela digestão nítrico-perclórica do material seco, em micro-digestor. Em seguida, procedeu-se à determinação colorimétrica do fósforo pelo método do vanado-molibdato de amônio e a determinação do K por espectrofotometria de chama.



#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### 4.1 - Efeito de Doses Crescentes de Fósforo no Solo

Neste experimento foram empregadas três doses crescentes de fósforo ( $P_0$ : 5 ppm,  $P_1$ : 16 ppm e  $P_2$ : 27 ppm) em feijoeiro cv. Carioca, na presença (M) e ausência (N) de *Glomus macrocarpum*, colhido em três épocas ( $E_1$ : 30,  $E_2$ : 50 e  $E_3$ : 70 dias após sementeira).

##### Peso seco da parte aérea

A variação no peso seco da parte aérea do feijoeiro observada na ausência e presença de *Glomus macrocarpum*, nas doses de fósforo avaliadas em função do estágio de desenvolvimento da planta é apresentada nas Figuras 1 e 2. Constatou-se que nas três doses de fósforo empregadas, a presença da micorriza aumentou significativamente o peso seco da parte aérea em relação às plantas não micorriz

cas, ao mesmo tempo que o aumento na dose de fósforo causou aumentos proporcionais no peso seco, independente da simbiose, o que também foi observado por LATORRACA (1979) com *Vigna unguiculata*. Entretanto, resultado contrário foi obtido por ROSS (1971), o qual demonstrou que soja não micorrízica mostrou maior crescimento que as plantas micorrízicas com aumento na dose de fósforo, sendo que a resposta benéfica à presença da simbiose somente ocorreu em plantas cultivadas em solo com baixo nível de fósforo.

Quando foi analisada a interação micorriza - dose de fósforo (Figura 1), observou-se que todos os tratamentos diferiram estatisticamente entre si, com exceção do tratamento N-P1, o qual não diferiu significativamente de M-P0, e o tratamento N-P2 que causou um aumento no peso seco da parte aérea o qual não diferiu significativamente do produzido em feijoeiro no tratamento M-P1.

Comparando-se entre si as épocas de colheita dentro do binômio micorriza - dose de fósforo (Tabela 2 do Apêndice II), observou-se que na maioria dos tratamentos a matéria seca obtida aos 50 DAS não diferiu daquela obtida no final do ciclo, tanto na condição micorrízica quanto na não micorrízica (Figura 1). Entretanto, duas exceções ocorreram: o tratamento N-P0, no qual o peso seco da parte aérea praticamente não variou, não havendo diferença significativa entre as três épocas de colheita, e o tratamento N-P2, onde o máximo crescimento foi alcançado aos 70 DAS. Assim, de um modo geral, pode-se considerar que feijoeiro no tratamento M-P0 teve um comportamen-

to idêntico aos demais tratamentos com doses superiores de fósforo, alcançando, também um crescimento máximo a 50 DAS, o que é um resultado bastante oportuno quando se pretende, uma vez mais, demonstrar o efeito promotor da simbiose para o hospedeiro em solos com deficientes teores de fósforo.

Na Figura 2 podem ser observados os resultados da análise comparativa do efeito da dose de fósforo dentro de micorriza e época de colheita (Tabela 1 do Apêndice II). Constatou-se que P1 (16 ppm P), independentemente da presença da micorriza, mostrou efeito na produção de matéria seca que não diferiu de P2 (27 ppm P), mas superou significativamente P0 (5 ppm P), sendo que P1 e P2 não diferiram entre si. Entretanto isso não foi constatado no tratamento N-E1, no qual as doses de fósforo não diferiram no efeito sobre o crescimento e, no tratamento M-E3 onde o aumento no crescimento foi direta e significativamente proporcional ao aumento na dose de fósforo.

A obtenção de uma produção de matéria seca praticamente máxima aos 50 DAS (já que esta não diferiu da alcançada aos 70 DAS) concorda com VIEIRA (1978), o qual identifica esta fase do ciclo do feijoeiro com o início do enchimento e maturação das vagens; sendo que aos 60 dias após emergência é quando realmente a planta atinge máxima produção de matéria seca. DAFT e EL-GIAHMI (1974), do mesmo modo, observaram máximo peso da parte aérea de feijoeiro micorrízico aos 49 dias após transplante dos "seedlings", ocorrendo, como neste experimento, um menor aumento no peso da planta não micorrízica, quan

do comparado ao aumento gerado pela simbiose.

O fato das plantas responderem satisfatoriamente à adição de alta dose de fósforo na presença da micorriza e esta proporcionar melhor crescimento que as doses inferiores concorda com o observado por PARADA *et alii* (1983) em citrus e LOPES (1980) em café, os quais obtiveram resposta empregando doses de P ainda maiores, pelo menos para alguns fungos utilizados. O mesmo fato, por outro lado, contraria outros autores (HALL *et alii*, 1977; CRUSH e CARADUS, 1980 e RANGELEY *et alii*, 1982) que constataram crescimento significativamente maior na presença do endófito numa dose baixa de fósforo, diminuindo no maior nível.

MOSSE (1973b) sugere que um grande aumento na concentração de fósforo na planta pode deprimir o seu crescimento, tornando-se tóxico para ela, dependendo do tipo de solo. Segundo a autora, a quantidade capaz de causar toxidez à planta é menor em solos arenosos, onde o fósforo permanece disponível, do que nos argilosos. Num solo arenoso, onde a concentração de fósforo na planta aumenta muito mais, a planta micorrízica é melhor do que a não micorrízica somente com pequena adição de fosfato no solo. Assim, aplicando-se tal suposição aos resultados deste experimento, observa-se que, embora empregando-se um solo arenoso, a mais alta dose de fósforo usada (que corresponde ao dobro da dose recomendada para feijão), não foi suficiente para alcançar níveis tóxicos, promovendo ainda mais o crescimento do feijoeiro, principalmente na presença da micorriza. Isto, prova-

velmente, se deva ao fato de que o feijoeiro apresenta baixa eficiência na absorção de fósforo do solo devido ao sistema radicular pouco desenvolvido e ao ciclo vegetativo curto, justificando sua resposta à adubação fosfatada, embora seja considerada uma planta pouco exigente em fósforo (extraí em torno de 5 kg P/ha, segundo VIEIRA, 1978).

Portanto, nas condições deste experimento, aparentemente estas doses de fósforo (consideradas altas para o feijoeiro) ainda não atingiram os níveis em que pudessem tornar-se inibitórias à associação micorrízica com *Glomus macrocarpum*. Isto também é evidenciado pelos altos níveis de infecção na raiz e intensa multiplicação do fungo nos níveis mais elevados de fósforo empregados, conforme será apresentado posteriormente.

#### Peso seco de grão/planta

Os resultados referentes ao peso seco de grão/planta estão nas Figuras 3 e 4. Neste caso, como no peso seco da parte aérea, a produção aumentou com o nível de fósforo no solo, sendo que em cada dose de fósforo a presença da micorriza superou significativamente a produção da planta não micorrízica, com exceção na dose mais elevada de fósforo (27 ppm).

Pela comparação dos binômios micorriza - dose de fósforo pode-se verificar que a produção de grão obtida no tratamento N-PO (Figura 3) foi significativamente superada pelos demais trata-

mentos, ao mesmo tempo que a produção alcançada em M-P0 não diferiu significativamente do tratamento N-P1. As máximas produções obtidas foram nos tratamentos M-P2 e N-P2.

A produção de grão nas épocas de colheita dentro da micorriza e dose de fósforo (Figura 3 e Tabela 2 do Apêndice II) somente diferiu, estatisticamente, na terceira colheita (70 DAS), que corresponde ao final do ciclo, com exceção do tratamento N-P0, no qual a produção não diferiu significativamente entre épocas de colheita. Aos 70 DAS, nas plantas não micorrízicas a produção de grão foi direta e significativamente proporcional à dose de fósforo empregada, enquanto que nas plantas micorrízicas a produção de grão obtida em P1 (16 ppm) não diferiu estatisticamente de P2 (27 ppm), sendo ambas significativamente diferentes de P0 (5 ppm) (Figura 4 e Tabela 1 do Apêndice II).

Da mesma forma que para o crescimento da planta, alguns autores já constataram uma redução na produção de grãos em plantas micorrízicas devido a um aumento na dose de fósforo aplicada (ROSS, 1971; BETHLENFALVAY *et alii*, 1982a); esse fato, contudo, não ocorreu neste experimento, onde a dose mais elevada de fósforo (27 ppm) não causou maior produção na presença da micorriza, mas também não a diminuiu, não diferindo da produção obtida no feijoeiro não micorrízico. Entretanto, convém ressaltar que nesta dose de fósforo, as plantas produziram o maior peso de grãos.

As conclusões obtidas por BETHLENFALVAY *et alii* (1982a) em feijoeiro devem ser vistas com certa ressalva, pois, embora a presença da micorriza sempre causou depressão no parâmetro analisado, quando comparada com sua ausência, o experimento foi conduzido em condições sub-ótimas de luminosidade, o que promoveu uma fotossíntese deficiente, influenciando negativamente no crescimento e produção da cultura. Provavelmente, tenha ocorrido competição por carboidratos entre o fungo e o hospedeiro.

Deste modo, pode-se observar que a micorriza teve real importância somente até a dose intermediária de fósforo (P1), pois nesta a produção foi mais elevada do que a obtida em N-P1 (e também maior do que em M-PO), enquanto que na dose maior (P2) a presença da simbiose não foi expressiva.

#### Absorção de NPK

Com relação à absorção dos macronutrientes (NPK), devido à perda de amostras de alguns tratamentos somente foi possível fazer a análise estatística da terceira colheita.

O teor de fósforo na planta, de maneira geral, sempre foi maior nos feijoeiros micorrízicos do que nos não micorrízicos (Figura 5 e 6). Aos 70 DAS observou-se que o tratamento N-PO foi significativamente inferior aos demais tratamentos, em qualquer uma das doses na presença ou não da micorriza. O fato da concentração de fósforo no feijoeiro, no tratamento N-PO ter diminuído com o desenvolvi

mento da planta (Figura 5), sugere que nessas plantas a absorção de fósforo só ocorreu no início do ciclo (até 30 DAS) não acompanhando seu crescimento, o que diluiu a quantidade de fósforo absorvida.

Com relação à absorção de potássio, os resultados indicaram que houve tendência à diminuição no teor desse elemento nos tecidos da planta com o seu desenvolvimento, sendo que aos 70 DAS obteve-se as menores concentrações de potássio, as quais não diferiram entre si, em função dos tratamentos (Figura 7). Este mesmo comportamento também pode ser visualizado na Figura 8, onde se observa que a maior queda na %K ocorreu de 30 DAS para 50 DAS. Também constatou-se que P1 (16 ppm) promoveu a maior concentração do elemento nas plantas não micorrízicas até 50 DAS, enquanto que nas micorrízicas maior absorção ocorreu nos solos não adubados (P0). Na última colheita (70 DAS) observou-se comportamento inverso, ou seja, as plantas não micorrízicas absorveram mais K nos solos não adubados.

As Figuras 9 e 10 mostram os resultados obtidos com relação a absorção de nitrogênio pelo feijoeiro. Observou-se que as plantas do tratamento N-P0, aparentemente, tinham maior concentração de nitrogênio do que as dos demais tratamentos, havendo certa tendência a uma diminuição ou estabilização na %N com o aumento na dose de fósforo no solo. A maior concentração de nitrogênio dentro de cada tratamento, embora não estatisticamente comprovada, ocorreu aos 30 DAS (Figura 9).



O efeito de "diluição" foi claramente observado através da concentração dos macronutrientes na planta, e talvez os teores totais demonstrem mais claramente o efeito de cada tratamento na absorção de nutrientes pelo feijoeiro, conforme observado por EZETA e CARVALHO (1982).

Os resultados sugerem que a presença da micorriza, quando comparada com sua ausência, apresentou um efeito promotor na absorção de NPK em qualquer dose de fósforo no solo, havendo uma relação direta entre dose de fósforo empregada e conteúdo total de cada elemento na parte aérea (Figuras 12, 14 e 16).

Para os três macronutrientes, a absorção no tratamento N-PO diferiu significativamente de todos os demais tratamentos, permanecendo, aparentemente estável durante todo o ciclo da cultura (Figuras 11, 13 e 15); o tratamento M-PO não diferiu significativamente de N-P1 somente aos 70 DAS, sendo que ambos foram superados por M-P2, M-P1 e N-P2. A máxima quantidade total dos macronutrientes na parte aérea do feijoeiro foi obtida no tratamento M-P2. Para o K total, este tratamento não diferiu de M-P1 e N-P2 que também não diferiram entre si. Já no caso do P total e N total, M-P2 não diferiu de M-P1, mas ambos diferiram de N-P2, superando este último.

A importância das micorrizas vesículo-arbusculares es tã no fato delas promoverem um melhor crescimento do hospedeiro em função de um maior fornecimento de nutrientes (MOSSE, 1973a), princi palmente de fósforo, o que é encontrado em altas concentrações nas

plantas micorrízicas. Este fato já foi observado por ROSS (1971) e ROSS e HARPER (1970) em soja e por DAFT *et alii* (1975) em soja e alfafa.

Neste experimento, o teor de fósforo foi favorecido pela presença da micorriza, ao passo que o de nitrogênio e de potássio não aumentaram devido à simbiose, o que também foi observado por DAFT (1978) em feijão, alfafa e amendoim. Entretanto, as quantidades totais de cada macronutriente foram bastante favorecidas pela micorriza, o que também comprova o efeito da simbiose na absorção de outros elementos além do fósforo (SANDERS e TINKER, 1971).

O fato de ter ocorrido um aumento na concentração de NPK na parte aérea do feijoeiro, proporcionalmente ao aumento na dose de fósforo, discorda dos resultados de ROSS (1971), o qual obteve a maior concentração de N e P nas folhas de planta micorrízica à mais baixa dose de fósforo no solo.

Os resultados obtidos neste experimento sugerem que, para uma adequada nutrição da planta em nitrogênio e fósforo, a condição micorrízica é de grande importância, pois maior nível de ambos esses elementos ocorreu nos tratamentos M-P2 e M-P1.

#### Peso seco de nódulos por planta

A nodulação, em termos de peso seco de nódulo/planta pode ser avaliada através das Figuras 17 e 18. Observou-se que as plantas cultivadas no solo com nível de 5 ppm P apresentaram signifi

cativamente menor nodulação do que as cultivadas em solos com doses mais elevadas. Quando foi feita a comparação entre as diversas combinações micorriza - dose de fósforo observou-se que N-PO e M-PO não diferiram entre si, mas diferiram significativamente de todos os demais tratamentos. A máxima nodulação ocorreu no tratamento M-P2, o qual diferiu de todos os outros.

Assim, constatou-se que a dose PO (5 ppm) tanto na presença como na ausência da micorriza foi insuficiente para promover uma nodulação adequada, a qual somente foi obtida com doses maiores de fósforo no solo. Isto também foi verificado por BETHLENFALVAY e YODER (1981) e LATORRACA (1979), suportando a afirmativa de que a nodulação requer alta concentração de fósforo (BERGERSEN, 1971).

Dentro de cada dose de fósforo, houve diferença significativa entre as plantas micorrízicas e não micorrízicas somente na dose mais elevada (P2), sendo que em PO e P1 a interação *Rhizobium*-micorriza não ocorreu, e as plantas só com *Rhizobium* não diferiram das duplamente infectadas (Figura 17). Isto sugere que a exigência em fósforo foi tão elevada que, além do fósforo já fornecido pelo solo na maior dose empregada (27 ppm P), a nodulação ainda respondeu, provavelmente, ao fósforo adicional fornecido pela micorriza.

Quando se compararam as médias dentro da interação triplíce, observando-se a variação da nodulação nas épocas de colheita (Tabela 2, do Apêndice II) constatou-se que, com exceção dos tratamentos N-PO e M-PO, que não apresentaram diferença com relação à

nodulação durante o ciclo do feijoeiro, as plantas tiveram seu pico de produção de nódulos a 50 DAS (Figura 17), o que já se esperava, uma vez que aos 30 DAS ainda era bastante insipiente e aos 70 DAS os nódulos já estavam em senescência. Nesta fase do ciclo da cultura (50 DAS) que corresponde ao início do enchimento e maturação de vagens, a atividade da nitrogenase é máxima (CARLING *et alii*, 1978), não declinando até que se complete o enchimento da vagem (HARDY *et alii*, 1978).

Na comparação das doses de fósforo dentro da micorriza - época de colheita (Tabela 1 do Apêndice II), os resultados indicaram (Figura 18) que houve resposta significativa ao aumento na dose de fósforo entre os tratamentos micorrízicos na primeira e segunda colheita, onde a máxima nodulação foi alcançada na dose mais elevada de fósforo (27 ppm), como já foi dito anteriormente. Dentre os tratamentos não micorrízicos, somente em N-E2 houve diferença entre as doses empregadas, sendo que neste a nodulação não diferiu entre as doses P1 e P2, as quais superaram a dose P0.

A presença da dupla simbiose nas leguminosas promove maior nodulação e fixação do  $N_2$ , quando comparado aos tratamentos não micorrízicos mais inoculados com *Rhizobium* (DAFT e EL-GIAHMI, 1974 e 1975; MOSSE *et alii*, 1976). Porém, isto só foi observado no presente experimento, na dose P2, onde as plantas não micorrízicas (mas com *Rhizobium*) diferiram das micorrízicas; portanto, para a nodulação, a interação *Rhizobium*-micorriza só ocorreu na maior dose de P (27 ppm).

A fixação biológica do  $N_2$  pelo *Rhizobium* em feijoeiro também foi quantificada indiretamente pela determinação do teor de N e N absorvido. Como já foi comentado anteriormente, o teor de nitrogênio praticamente não diferiu em nenhum dos tratamentos, ao passo que N total absorvido foi significativamente maior na presença da micorriza, alcançando um valor máximo nos tratamentos M-P2 e M-P1 (significativamente iguais). Fazendo-se uma comparação entre o teor de N e de P observa-se que houve um certo paralelismo entre ambos, embora o teor de fósforo tenha sido influenciado pela presença da micorriza. Aparentemente, N absorvido, P absorvido e nodulação alcançaram um valor máximo aos 50 DAS. Portanto, é bastante possível que a absorção do fósforo tenha favorecido a nodulação e conseqüente fixação do  $N_2$  para a planta.

#### Porcentagem de infecção nas raízes e esporulação do fungo

No estudo das micorrizas vesículo-arbusculares, geralmente dois parâmetros são empregados para quantificar a presença do fungo em simbiose com a planta: a porcentagem de infecção nas raízes e o número de esporos do fungo no solo.

Quanto à porcentagem de infecção na raiz, os resultados (Figuras 19 e 20) sugerem que as duas maiores doses de fósforo (16 e 27 ppm) promoveram uma infecção na raiz do feijoeiro significativamente maior do que a ocorrida na menor dose (5 ppm P), comparando-se as médias gerais das três doses. Analisando-se a porcentagem de

infecção obtida entre época de colheita para cada dose de fósforo(Figura 19 e Tabela 2 do Apêndice II), constatou-se que em P0 a infecção máxima foi obtida aos 50 DAS, ao passo que em P1 aos 30 DAS, sendo que esta não diferiu da obtida aos 50 DAS. Já na dose mais elevada (P2) não houve diferença entre as épocas de colheitas para a porcentagem de infecção, sendo que os valores foram bastante próximos e não diferiram das infecções máximas obtidas nas demais doses. Na Figura 20 e Tabela 1 do Apêndice II, onde se tenta demonstrar o comportamento das doses de fósforo empregadas em relação à determinada fase do ciclo da cultura, observou-se que aos 30 DAS a máxima infecção foi obtida na dose P1, a qual não diferiu de P2, ao mesmo tempo que aos 50 DAS as doses não diferiram entre si e aos 70 DAS a infecção máxima e significativamente diferente das demais foi P2 (dose mais elevada de fósforo).

Com relação ao comportamento da infecção durante o ciclo da cultura já se esperava que esta alcançasse um valor máximo aos 50 DAS, uma vez que nesta fase do ciclo, a planta já atingiu seu máximo desenvolvimento vegetativo (VIEIRA, 1978) e conseqüentemente possui um sistema radicular mais volumoso, permitindo um amplo desenvolvimento da simbiose; aos 30 DAS o sistema radicular ainda está em desenvolvimento e aos 70 DAS, final do ciclo do feijoeiro, o sistema radicular começa a se degenerar ao mesmo tempo em que não há, praticamente, mais atividade fotossintética capaz de sustentar, satisfatoriamente, o micro-simbionte, tendendo a uma degenerescência e dimi-

nuição da infecção radicular. Esta tendência à diminuição na infecção no final do ciclo só não foi observada quando se aplicou uma dose elevada de fósforo no solo (P2) a qual, provavelmente manteve o fósforo em disponibilidade por mais tempo, tendo condições de elevar a infecção, pois a planta ainda suportava a colonização pelo fungo.

Considerando-se o efeito do fósforo na infecção pode-se dizer que a adubação fosfatada, de um modo geral favoreceu o estabelecimento do fungo na raiz, não sendo suficiente para inibi-lo. Este comportamento da colonização das raízes pelo fungo com relação à disponibilidade de fósforo no solo ainda é bastante controverso. Autores como MOSSE (1973b), ROSS (1971), LATORRACA (1979) e outros afirmam que em altas doses de fosfato ocorre inibição do desenvolvimento do fungo nas raízes infectadas, limitando as micorrizas à presença de doses baixas de fósforo. No entanto para COOPER (1975) a adição de fosfato pode não interferir no nível de infecção, ou pode até mesmo aumentá-lo, quando existe grande demanda de fósforo, como em solos muito pobres.

Apesar do efeito do fósforo sobre a infecção micorrízica não ter sido ainda totalmente esclarecido, hipóteses sobre o possível mecanismo de ação do fósforo já foram feitas. Segundo RATNAYAKE *et alii* (1978) a concentração de fósforo no tecido da planta afeta a permeabilidade da membrana fosfolipídica da célula do hospedeiro, afetando a exsudação e conteúdo de açúcar, tanto nas células da raiz como nos exsudatos, o qual seria determinante no estabelecimen-

to da infecção. Porém, mais recentemente, ÁZCON e OCAMPO (1981) contestaram esta teoria, afirmando que a colonização da raiz pelo fungo depende de outros fatores e não só de uma simples exsudação de açúcar.

Os resultados referentes à esporulação do fungo no solo (Figuras 21 e 22) indicam que a máxima esporulação do fungo foi obtida no final do ciclo (70 DAS) com a dose mais elevada de fósforo no solo (27 ppm). Comparando-se entre as épocas de colheita na dose de fósforo (Tabela 2 do Apêndice II e Figura 22), notou-se que nas doses mais baixas de fósforo no solo (P0 e P1) as épocas 50 e 70 DAS não diferiram entre si, mas superaram significativamente a primeira época (30 DAS).

A esporulação máxima do *Glomus macrocarpum* obtida no final do ciclo da cultura, concorda com o resultado de BAGYARAJ *et alii* (1979) em soja, onde a esporulação de *Glomus fasciculatum* foi máxima aos 60 dias.

A esporulação é um aspecto dentro da biologia das endomicorrizas bastante controvertido e marcadamente influenciado por muitos fatores, mas principalmente temperatura do solo (SCHENCK e SMITH, 1982). Deste modo os resultados obtidos divergem bastante, pois nem sempre os experimentos são conduzidos sob as mesmas condições de temperatura. EZETA e SANTOS (1980), por exemplo, observaram uma queda na esporulação de *Gigaspora margarita* com aumento na dose de fósforo no solo, ao passo que ROSS (1971) observou que a produ-



ção de esporos de *Endogone* em soja não diferiu com a dose de fósforo aplicada. No presente experimento constatou-se que maior esporulação foi obtida com aumento na dose de fósforo, o que concorda com o observado por BETHLENFALVAY *et alii* (1982a) e ROSS e HARPER (1970).

O aumento na absorção de fósforo e no crescimento do hospedeiro, efeitos primários do estabelecimento de uma associação micorrízica (MOSSE, 1973a) foi claramente constatado neste experimento. Na comparação das médias, observou-se que geralmente as doses mais elevadas (P1 e P2) produziram maior efeito, até mesmo na presença da micorriza. Entretanto, se for analisado o aumento causado pela presença da micorriza dentro de cada dose de fósforo em cada parâmetro analisado, observar-se-á que a maior diferença foi obtida na menor dose (P0), ocorrendo, portanto, micotrofismo. A dose que causou menor aumento nos parâmetros na presença de micorriza, foi a mais elevada, com exceção no peso seco de nódulos, onde superou P0 e P1. Este efeito promotor da micorriza a baixos níveis de fósforo no solo foi discutido por BETHLENFALVAY e YODER (1981), HOWELER *et alii* (1982) CLARKE e MOSSE (1981) e outros.

A observação de CARLING *et alii* (1978) e CRUSH (1974) de que o fosfato aplicado ao solo substitui o efeito da simbiose micorrízica pode ser evidenciada em alguns parâmetros analisados, como peso seco da parte aérea, peso seco do grão, N total, P total, K total e peso seco de nódulos, quando se observa que os tratamentos M-P0 e N-P1 não diferiram entre si.

Nestes sistemas tríplexes leguminosa-*Rhizobium*-micorriza em geral não é possível separar os efeitos no crescimento e produção da planta do nitrogênio fornecido pela fixação biológica do N<sub>2</sub> e o fósforo extra absorvido pela micorriza, o que também confirma a interação entre as duas simbioses (MOSSE, 1981 e 1977b).

#### 4.2 - Eficiência de Fungos Micorrízicos Vesículo-Arbusculares

A eficiência de diferentes fungos endomicorrízicos VA foi avaliada em diferentes binômios solo-hospedeiro. As comparações somente foram efetuadas entre os fungos dentro de cada sistema solo-planta, para cada parâmetro analisado, e constam das Tabelas 3 e 4.

Observou-se que no sistema Terra Roxa Estruturada (TRE) cv. Carioca os fungos não diferiram significativamente entre si e nem da testemunha, com relação ao peso seco de grão/planta, %K, %N e N total. Com relação ao peso seco da parte aérea, o *Glomus leptotichum* teve um efeito significativamente superior ao dos demais fungos e ao da testemunha. Na absorção de fósforo, a *Gigaspora margarita* diferiu da testemunha, mas não dos demais fungos na %P, ao passo que na quantidade acumulada (P total) *G. margarita* e *G. leptotichum* diferiram da testemunha e demais fungos, sendo que ambos também possuíram as maiores porcentagens de infecção, ao mesmo tempo que favoreceram as maiores quantidades totais de potássio. No que se relaciona com o peso seco de nódulos, o único fungo que diferiu significativamente da tes

temunha foi o *G. leptotichum*, o qual, entretanto, não diferiu dos demais. Ainda observou-se que os *Glomus* esporularam melhor neste sistema.

Mantendo-se o solo (TRE), mas empregando-se como hospedeiro a Cv. Goiano Precoce, observou-se que o comportamento dos fungos modificou-se. No peso seco da parte aérea, peso seco de grão, %K, %N, K e N total e peso seco de nódulos não houve diferenças significativas. Com relação a %P e P total, *Glomus leptotichum* diferiu da testemunha mas não da *Gigaspora margarita*, a qual causou a maior porcentagem de infecção da raiz. Neste sistema solo-planta não houve diferença na esporulação dos fungos.

No sistema TRE - cv. Black Turtle Soup observou-se que os fungos não diferiram entre si e nem da testemunha na habilidade de promover a produção e a absorção de P, K e N. Com relação ao peso seco da parte aérea, acúmulo de P, K e N e peso seco de nódulo, o *Glomus leptotichum* foi o único que diferiu da testemunha, não diferindo na maioria destes parâmetros da *Gigaspora margarita*, sendo que ambos obtiveram as maiores porcentagens de infecção na raiz. Os fungos não diferiram na esporulação.

Em sistemas empregando-se o solo Areia Quartzosa (AQ) pode-se observar modificações drásticas no comportamento dos fungos em cada cultivar. Constatou-se que no binômio AQ - cv. Carioca, os fungos não diferiram na sua eficiência, comparando-se com a testemunha, quanto a aumentos no peso seco da parte aérea, peso seco de

grãos, N%, K%, P total, K total, N total e peso seco de nódulos. Observou-se que o *Glomus leptotichum* foi mais eficiente que a testemunha na absorção de fósforo, ao mesmo tempo em que mostrou maior porcentagem de infecção nas raízes. Os fungos não diferiram entre si quanto à esporulação.

Pelos resultados obtidos em AQ - cv. Goiano Precoce, constatou-se que os fungos não diferiram da testemunha quanto ao crescimento da planta, produção de grãos, P total, K total, N%, N total e peso seco do nódulo. Quanto a absorção de fósforo o fungo *G. leptotichum* se destacou, embora tenha diferido estatisticamente apenas do *Glomus macrocarpum*, o mesmo ocorrendo com a *Gigaspora margarita* na absorção de potássio pela planta. Quanto a porcentagem de infecção do fungo na raiz os fungos não diferiram entre si, com exceção da *G. heterogama* que causou a menor infecção. Quanto à esporulação, os fungos empregados não diferiram significativamente entre si.

No sistema AQ - Black Turtle Soup observou-se que no peso seco de grão, %P, %N os fungos não diferiram estatisticamente da testemunha e nem entre si. Nos demais parâmetros peso seco da parte aérea, P total, K total, N total e peso seco de nódulos, o fungo que se comportou de forma mais favorável foi o *Glomus leptotichum*, o qual diferiu significativamente da testemunha, porém não diferiu, em alguns casos, de outros fungos (Tabela 3 e 4). Na absorção de potássio, o único endófito que diferiu significativamente da testemunha foi a *Gigaspora margarita*, embora não tenha diferido de outros. Os fungos

não diferiram com relação ao grau de colonização na raiz, com exceção da *G. margarita*, que infectou menos intensamente a raiz. O *Glomus leptotichum*, embora não tenha diferido do *Glomus macrocarpum*, promoveu o maior número de esporos em 100 ml de solo.

Para o Latossol Vermelho Escuro (LVE) com a cv. Carioca, observou-se que os fungos não diferiram na sua eficiência quanto à concentração de NPK na parte aérea do feijoeiro. No peso seco da parte aérea, o *Glomus leptotichum* superou significativamente a testemunha e os demais fungos (Tabela 3). Quanto ao peso seco de grãos, os que mostraram eficiência com relação à testemunha foram o *Glomus macrocarpum* e *Glomus leptotichum*, embora estes não tenham diferido da *Gigaspora margarita*. Com relação à quantidade total de P e K acumulada, constatou-se que os endófitos mais adequados foram *Glomus leptotichum*, *G. macrocarpum* e *G. margarita*. Aumento significativo no N absorvido foi alcançado com o emprego de *Glomus leptotichum* que, apesar de não ter diferido dos demais fungos, foi o único que sobrepujou a testemunha. A nodulação também foi mais favorecida pelo *G. leptotichum*, apesar deste não diferir do *G. macrocarpum* e *G. margarita*. Na porcentagem de infecção radicular a *G. margarita* superou significativamente os demais endófitos. Com relação à esporulação, o *Glomus macrocarpum* superou significativamente os demais fungos.

No binômio LVE - cv. Goiano Precoce, o peso seco de nódulo e absorção de K e N não foram alterados por nenhum dos fungos avaliados, os quais não diferiram significativamente da testemu-

nha. Nos parâmetros peso seco da parte aérea, peso seco de grão e N total, *Glomus leptotichum* e *G. macrocarpum* não diferiram entre si, mas foram significativamente superiores à testemunha. A concentração de fósforo na parte aérea foi superior à da testemunha somente na presença de *Gigaspora heterogama*, embora este não tenha diferido dos demais endófitos. Com relação à quantidade acumulada de fósforo, todos os endófitos foram superiores à testemunha, sendo que entre eles *G. leptotichum* causou o maior aumento significativo, não diferindo, entretanto, do *G. macrocarpum*. Com relação ao acúmulo de potássio na matéria seca da planta, *G. leptotichum*, *G. macrocarpum* e *G. margarita* superaram a testemunha. As maiores porcentagens de infecção de raiz ocorreram com *G. leptotichum* e *G. margarita*, os quais não diferiram entre si.

Finalmente, no conjunto LVE - Black Turtle Soup observou-se que os fungos não diferiram significativamente da testemunha, e nem entre eles quanto ao teor de N e K na planta. No peso seco da parte aérea, todos os fungos superaram a testemunha mas não diferiram entre si. Com relação à produção de grão, *G. macrocarpum*, *G. leptotichum* e *G. heterogama* foram superiores à testemunha. Quanto à concentração de fósforo na parte aérea da planta, o *G. leptotichum* superou significativamente a testemunha, enquanto no acúmulo de P total, todos os endófitos superaram a testemunha, sendo que entre eles o que se destacou significativamente foi o *G. leptotichum*. No acúmulo de potássio na parte aérea todos os endófitos superaram a testemunha,

sendo que *G. leptotichum* e *G. macrocarpum* foram os mais eficientes no aumento deste nutriente na planta. Quanto à nodulação, todos os endófitos superaram a testemunha, sendo que *G. leptotichum* foi o mais eficiente, não diferindo significativamente do *G. macrocarpum* e *G. margarita*, ao passo que no acúmulo de N na parte aérea, *G. leptotichum* e *G. macrocarpum* superaram a testemunha e os demais. A maior porcentagem de infecção das raízes foi obtida com *Gigaspora margarita*, a qual não diferiu significativamente do *G. leptotichum*. Quanto à esporulação, o *Glomus macrocarpum* superou todos os demais fungos.

Os resultados obtidos mostrou que o solo Latossolo Vermelho Escuro (LVE) superou significativamente os demais solos nos seguintes parâmetros: Peso seco de parte aérea, peso seco de grão/planta, P total, K total, peso seco de nódulos, número de esporos/100 ml de solo e porcentagem de infecção nas raízes. O teor relativo (%) de P e K foram superiores estatisticamente na Areia Quartzosa (AQ) e %N não diferiu estatisticamente nos três solos estudados.

Estes resultados confirmaram as observações de SKIPPER e SMITH (1979) de que há certa interação entre fungo VAM e planta e que interações específicas são influenciadas por fatores do solo. Segundo MOSSE (1972a), especificidade em micorriza VA pode ser determinada mais pelas interações entre o fungo e o solo do que entre o fungo e hospedeiro, uma vez que estes fungos micorrízicos possuem uma larga gama de hospedeiros.

Neste presente experimento observou-se que no LVE os cultivares se comportaram de maneira mais satisfatória, uma vez que a média das testemunhas, na maioria dos parâmetros avaliados, superou a dos demais solos. Ao mesmo tempo os resultados sugerem que neste solo os endófitos também encontraram melhores condições de atuação. Provavelmente, o fator do solo que está favorecendo o LVE seja sua textura média (RANZANI *et alii*, 1966) e a abundância de micro-agregados que lhe fornece uma estrutura melhor do que a dos demais, pois, com relação à fertilidade houve tentativa de se equilibrar os nutrientes dos três solos, conforme descrito em Materiais e Métodos. Entretanto, o fato dos solos terem sido balanceados quanto aos principais nutrientes, não significa que a fertilidade se manteve, uma vez que a reação de cada solo variou com suas características físicas.

Assim, acredita-se que no solo LVE as plantas tiveram, provavelmente, um melhor desenvolvimento do sistema radicular devido as suas características estruturais mais adequadas, propiciando também uma melhor infecção dos endófitos na raiz e esporulação dos mesmos. Ao mesmo tempo, aparentemente, este solo manteve em maior grau de disponibilidade seus nutrientes, o que eventualmente não ocorreu nos demais solos, resultando estas diferenças na atuação dos endófitos, bem como dos cultivares.

Com relação à interação tríplice, observou-se uma certa variabilidade nos resultados de acordo com o sistema solo-fungo-



-planta avaliado, o que confirma resultados obtidos anteriormente (MOSSE, 1975; POWELL, 1977a; LOPES, 1980; ANTUNES e CARDOSO, 1983; PARADA *et alii*, 1983). No entanto, esta variabilidade não foi tão grande assim, uma vez que de um modo geral, o endófito que se mostrou mais eficiente na maioria dos conjuntos solo-fungo-hospedeiro em uma grande parte dos parâmetros avaliados foi o *Glomus leptotichum*, ao passo que o menos eficiente mostrou-se a *Gigaspora heterogama*. O *G. macrocarpum* e a *G. margarita* ficaram num plano intermediário de eficiência, sendo que se destacaram em alguns dos sistemas triplices avaliados, dentro de alguns parâmetros.

Quanto à interação *Rhizobium*-micorriza, melhor demonstrada nos dados de N total e peso seco de nódulos, observou-se que também foi bastante influenciada pelo binômio solo-planta, sendo que nos solos AQ e TR, praticamente só no cv. Black Turtle Soup, os endófitos mostraram diferenças, enquanto no LVE todos os cultivares foram alterados, quanto a fixação de N<sub>2</sub>, por pelo menos um endófito. O mesmo ocorreu com a produção de grãos, o qual no TR e AQ foi a mesma em todos os sistemas triplices, só mostrando diferenças no LVE.

Os resultados também sugerem que nem sempre o fungo micorrízico que se mostrou mais eficiente com relação ao crescimento, produção, absorção de nutrientes, nodulação e fixação de N<sub>2</sub> apresentou maior porcentagem de infecção nas raízes, o que concorda com as observações de ÂZCON e OCAMPO (1981), MIRANDA (1982), POWELL e SITHAM PARATHAN (1977), CLARKE e MOSSE (1981) e outros.

As diferenças nos níveis de infecção são dependentes principalmente do tipo de solo, mas também são influenciadas pela espécie de endófito inoculada (MOSSE, 1972a). Nos solos mais argilosos a porcentagem de infecção tendeu a ser maior, o que confirma os resultados de SAITO *et alii* (1982).

Com relação à esporulação dos endófitos, observou-se que, de um modo geral, no solo LVE, o número de esporos em 100 ml de solo, foi superior aos demais, principalmente ao AQ. De uma maneira geral, as espécies do gênero *Glomus* empregadas esporularam mais abundantemente do que as do gênero *Gigaspora*.

O comportamento diferencial dos cultivares empregados já era esperado, uma vez que, além das diferenças na eficiência dos endófitos avaliados, cada cultivar já carrega geneticamente certas características próprias. Por exemplo, o grupo do feijão preto, segundo VIEIRA (1978) é mais produtivo do que os demais cultivares. Também DÖBEREINER e RUSCHEL (1961) já observaram que os cultivares de feijão variam no seu comportamento com relação à nodulação e fixação do  $N_2$ , e que esta característica também pode ser influenciada pelo tipo de solo. Mais recentemente, pesquisas do CNPAF (Centro Nacional de Pesquisas do Arroz e Feijão) mostraram que a cultivar Black Turtle Soup (grupo do feijão preto) tem se sobressaído com relação à nodulação e fixação do  $N_2$  em comparação com os outros dois cultivares (CNPAF, 1982, Comunicação pessoal).

A conclusão de que certos endófitos formam associações preferenciais com certos hospedeiros (MOSSE, 1972b) a cada dia tem se tornado mais evidente, não somente a nível de espécies de planta, mas também entre cultivares, como observou SCHENCK *et alii* (1975) com relação à resposta de diferentes cultivares de soja a vários fungos endomicorrízicos; observação semelhante também foi feita em porta-enxertos de citrus (NEMEC, 1978; PARADA *et alii*, 1983) e em *Trifolium repens* (HALL *et alii*, 1977).

O efeito das micorrizas VA é o resultado de sua habilidade em aumentar a absorção de fósforo (GERDEMANN, 1968), porém os benefícios derivados da infecção dependem do hospedeiro, em função do grau de dependência micorrízica que possui. Isto é evidenciado por ÁZCON e OCAMPO (1981), os quais observaram que o conteúdo de NPK, Ca e Mg foi aumentado pela micorriza VA em alguns cultivares de trigo, enquanto em outros o conteúdo não foi alterado ou foi até mesmo diminuído.

Portanto, uma vez mais demonstra-se a complexidade da interação solo-fungo-hospedeiro e a grande interrelação e influência de um componente sobre o outro, além da atuação de uma série de outros fatores ambientais.

Tabela 3 - Eficiência de cinco espécies de fungo micorrízico associadas a diferentes cultivares de feijão, comparada através de vários parâmetros (média de quatro repetições).

Solo	Cultivar	Fungo Micorrízico **	Peso Seco Parte Aérea (g)	Peso Seco Grãos/Plan- ta (g)	Peso Se- co Nódulo (mg)	% de In- fecção na Raiz ***	Nº de Espo- ros / 100 ml de Solo ***
Carioca	T		1,77a	0,23a	18,80a	0	0
	G.m.		2,60a	0,31a	70,73ab	33,8a	2766b
	G.l.		5,42b	1,30a	127,22b	50,2b	1621ab
	Gi.h.		2,29a	0,45a	35,10ab	15,5c	660a
	Gi.ma.		3,40a	0,48a	73,65ab	64,8b	434a
Goiano	T		1,81a	0,38a	14,78a	0	0
	G.m.		1,54a	0,26a	27,73a	14,0a	938a
	G.l.		3,24a	0,83a	46,90a	32,2bc	1334a
	Gi.h.		1,72a	0,33a	3,00a	19,0ac	243a
Estruturada	Gi.ma.		2,74a	0,63a	40,15a	48,8d	285a
	Black T.						
Soup	T		1,65a	0,19a	31,77a	0	0
	G.m.		2,72a	0,29a	69,45ab	26,2a	1396a
	G.l.		5,34b	1,36a	138,98b	41,9b	1310a
	Gi.h.		2,33a	0,27a	65,68ab	22,1a	687a
	Gi.ma.		3,76a	0,57a	92,95ab	42,3b	482a

\*\* : T=testemunha; G.m. = *Glomus macrocarpum*; G.l. = *Glomus leptotichum*; Gi.h. = *Gigaspora heterogama*; Gi.ma. = *Gigaspora margarita*. (continua)

(continuação da Tabela 3)

Solo	Cultivar	Fungo Micorrízico **	Peso Seco Parte Aérea (g)	Peso Seco Grãos/Plan- ta (g)	Peso Se- co Nódulo (mg)	% de In- fecção na Raiz ***	Nº de Espo- ros / 100 ml de Solo ***
Carioca	T		1,27a	0,11a	24,40a	0	0
	G.m.		2,20a	0,03a	71,78a	29,9c	1180a
	G.l.		1,27a	0,013a	33,15a	49,0b	165a
	Gi.h.		1,42a	0,07a	40,53a	11,3a	231a
	Gi.ma.		2,41a	0,20a	58,22a	46,6b	395a
Goiano	T		1,64a	0,23a	8,45a	0	0
	G.m.		2,96a	1,09a	46,10a	30,7b	1178a
	G.l.		2,24a	0,64a	45,13a	38,5b	462a
	Gi.h.		2,04a	0,63a	20,15a	16,4a	176a
	Gi.ma.		1,31a	0,21a	8,85a	26,8ab	297a
Precoce	T		1,01a	0,04a	6,60a	0	0
	G.m.		3,16a	0,67a	57,53a	46,3b	1147ab
	G.l.		5,61b	0,87a	220,00b	49,2b	2280b
	Gi.h.		1,29a	0,04a	36,33a	11,9a	196a
	Gi.ma.		3,00a	0,33a	63,50a	47,2b	150a
Black T. Soup	T		1,01a	0,04a	6,60a	0	0
	G.m.		3,16a	0,67a	57,53a	46,3b	1147ab
	G.l.		5,61b	0,87a	220,00b	49,2b	2280b
	Gi.h.		1,29a	0,04a	36,33a	11,9a	196a
	Gi.ma.		3,00a	0,33a	63,50a	47,2b	150a

\*\*\*: Na comparação das médias, excluiu-se a testemunha (ausência de fungo).

(continuação da Tabela 3)

Solo	Cultivar	Fungo Micorrízico **	Peso Seco Parte Aérea (g)	Peso Seco Grãos/Plan- ta (g)	Peso Se- co Nódulo (mg)	% de In- fecção na Raiz ***	Nº de Espo- ros / 100 ml de Solo ***
Carioca	T		5,22a	0,97a	38,55c	0	0
	G.m.		7,74a	2,41b	171,65ab	44,7a	2892a
	G.l.		10,13b	2,90b	246,98b	46,0a	1340b
	Gi.h.		6,38a	0,83a	121,18ac	34,4a	2250b
	Gi.ma		8,01a	1,86ab	182,18ab	62,6b	1780b
Goiano	T		1,93a	0,37a	0,00a	0	0
	G.m.		6,23b	2,45b	78,35a	35,0ac	2457b
	G.l.		6,75b	2,66b	68,38a	47,3bc	1030a
	Gi.h.		3,24a	1,26ab	3,58a	31,3a	402a
	Gi.ma.		4,32a	1,37ab	15,68a	56,9b	284a
Black T.	T		4,23a	0,34a	39,20a	0	0
	G.m.		10,42b	3,09bc	256,18bc	47,6a	6500a
Soup	G.l.		10,49b	4,36b	299,60c	52,3ab	1298b
	Gi.h.		8,04b	2,14c	162,95bd	41,9a	2622b
Gi.ma.	Gi.ma.		8,52b	1,44ac	219,18bc	62,4b	1228b
	D.M.S. (0,05)		3,53	1,48	111,22	19,04	1740
C.V. (%)			31,5	56,0	50,0	18,0	51,0

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% (teste de Tukey)  
A comparação das médias foi efetuada entre fungos, dentro de um cultivar e um solo

Tabela 4 - Eficiência de cinco espécies de fungo micorrízico associadas a diferentes cultivares de feijão, comparada através do teor e quantidade absorvida de N, P e K pelas plantas (média de 4 repetições).

Solo	Cultivar	Fungo		P Total (mg/planta)	K (%)	K Total (mg/planta)	N (%)	N Total (mg/planta)
		Micorrízico	(%)					
	Carioca	T	0,64a	11,33a	2,39a	42,39a	2,82a	49,15a
		G.m.	0,73ab	18,20a	2,43a	63,00a	2,81a	72,03a
		G.l.	1,01ab	53,74b	2,93a	158,93bc	2,62a	138,30a
		Gi.h.	0,85ab	18,37a	2,73a	61,35a	2,74a	61,79a
		Gi.ma.	1,18b	36,95b	2,88a	97,80ac	2,80a	93,34a
Terra	Goiano	T	0,76a	13,78a	2,94a	52,10a	2,59a	45,72a
		G.m.	0,95a	14,76a	3,17a	49,07a	3,29a	51,43a
		G.l.	1,47b	45,89b	3,13a	98,64a	3,15a	103,67a
		Gi.h.	0,99ab	17,16a	3,28a	55,58a	2,80a	47,00a
		Gi.ma.	1,22ab	32,73ab	3,10a	83,72a	2,74a	78,87a
Roxa	Black T.	T	0,50a	8,40a	2,49a	40,17a	3,06a	48,47a
		G.m.	0,69a	18,42a	2,69a	72,88ab	2,79a	77,73ab
		G.l.	0,78a	41,73b	2,41a	126,42b	2,81a	151,68b
		Gi.h.	0,60a	14,10a	2,55a	58,55a	2,40a	55,45ab
		Gi.ma.	0,77a	26,77ab	2,60a	93,63ab	2,84a	106,71ab

Fungos micorrízicos: T=testemunha; G.m. = *Glomus macrocarpum*;  
 G.l. = *Glomus leptotichum*;  
 Gi.h. = *Gigaspora heterogama*;  
 Gi.ma. = *Gigaspora margarita*.

(continua)

(Continuação da Tabela 4).

Solo	Cultivar	Fungo		P Total (mg/planta)	K (%)	K Total (mg/planta)	N (%)	N Total (mg/planta)
		Micorrízico	(%)					
	Carioca	T	0,93a	11,99a	3,45a	43,57a	2,83a	35,22a
		G.m.	1,10ab	21,68a	3,32a	63,96a	2,91a	66,10a
		G.l.	1,51b	19,21a	3,34a	42,25a	3,49a	44,44a
		Gi.h.	1,07ab	15,05a	3,49a	49,75a	3,19a	43,58a
		Gi.ma.	1,19ab	25,80a	2,90a	67,31a	2,66a	62,78a
Areia	Goiano	T	1,12ab	18,10a	3,76ab	59,62a	2,57a	41,05a
		G.m.	1,03a	30,63a	2,89a	86,03a	2,58a	75,85a
		G.l.	1,57b	34,97a	3,50ab	76,40a	2,81a	64,17a
		Gi.h.	1,25ab	25,24a	3,81ab	77,48a	2,29a	47,10a
		Gi.ma.	1,41ab	18,75a	4,50b	57,61a	2,85a	36,46a
Quartzosa	Black T. Soup	T	0,75a	6,66a	2,44a	24,55a	3,07a	28,73a
		G.m.	1,00a	28,22bc	2,68ab	77,75ab	3,40a	98,49ab
		G.l.	0,82a	41,98b	2,20a	116,66b	2,60a	143,32b
		Gi.h.	0,99a	11,58ac	3,53b	43,08ac	2,68a	32,52a
		Gi.ma.	0,88a	24,44abc	3,03ab	85,45bc	2,85a	78,23ab



(Continuação da Tabela 4).

Solo	Cultivar	Fungo	P (%)	P Total (mg/planta)	K (%)	K Total (mg/planta)	N (%)	N Total (mg/planta)
	Carioca	T	0,72a	37,63a	1,90a	99,52a	2,42a	127,97a
		G.m.	0,96a	69,04bc	2,36a	174,82b	2,58a	194,82ab
		G.l.	0,95a	95,53b	1,96a	196,96b	2,51a	253,34b
		Gi.h.	0,88a	55,05ac	2,19a	137,89ab	2,52a	158,86ab
		Gi.ma.	0,96a	75,09b	2,31a	182,73b	2,39a	191,87ab
	Goiano	T	0,90a	17,43a	2,54a	47,84a	3,09a	57,30a
Latossol	Precoco	G.m.	1,05ab	64,95bc	2,54a	155,51b	2,76a	169,78b
Vermelho		G.l.	1,24ab	83,84b	2,46a	165,85b	2,80a	190,18b
Escuro		Gi.h.	1,50b	49,30c	2,66a	83,89ac	2,99a	93,77ab
		Gi.ma.	1,29ab	56,02c	2,57a	109,89bc	2,57a	108,98ab
	Black T.	T	0,57a	23,83a	2,20a	92,02a	2,45a	98,37a
	Soup	G.m.	0,71ab	72,48b	2,02a	203,44bc	2,53a	265,13bc
		G.l.	1,07b	98,85c	2,37a	225,27dc	3,45a	351,38c
		Gi.h.	0,72ab	56,22b	1,90a	152,39b	2,07a	165,53ab
		Gi.ma.	0,68ab	57,53b	1,93a	163,37b	2,39a	199,82ab
D.M.S. (0,05)			0,56	24,41	1,26	65,23	1,59	108,82
C.V. (%)			20,3	24,0	16,0	23,7	20,0	36,4

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% (Teste de Tukey)  
 A comparação das médias foi efetuada entre fungos dentro de um cultivar e um solo

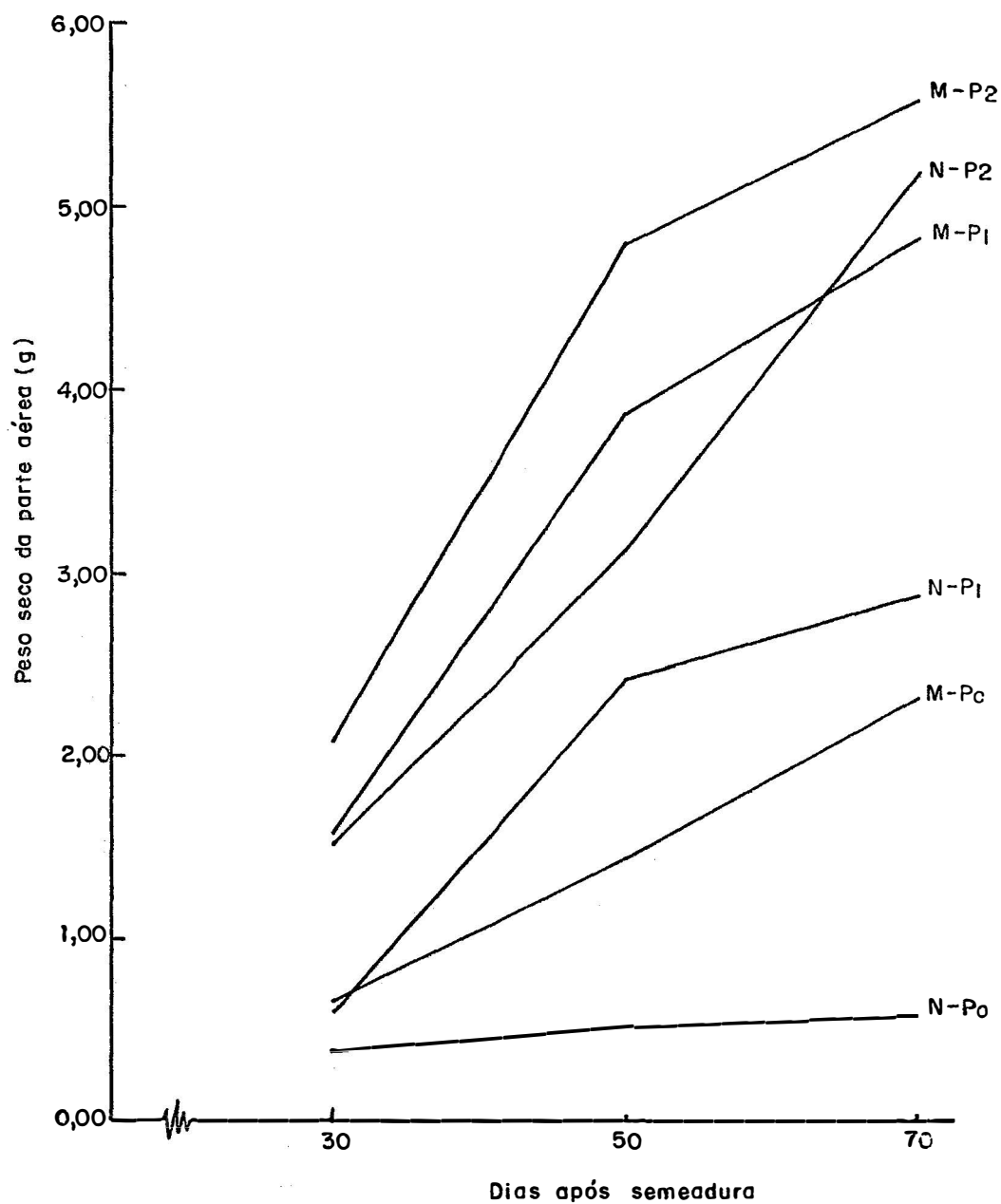


FIGURA 1 - Peso seco da parte aérea (g) de feijoeiro (cv. Carioca) em função da época de colheita, na presença (M) ou ausência (N) de micorriza, dentro da dose de fósforo empregada ( $P_0 = 5$ ;  $P_1 = 16$  e  $P_2 = 27$  ppm P), d.m.s.(0,05) = 1,37.

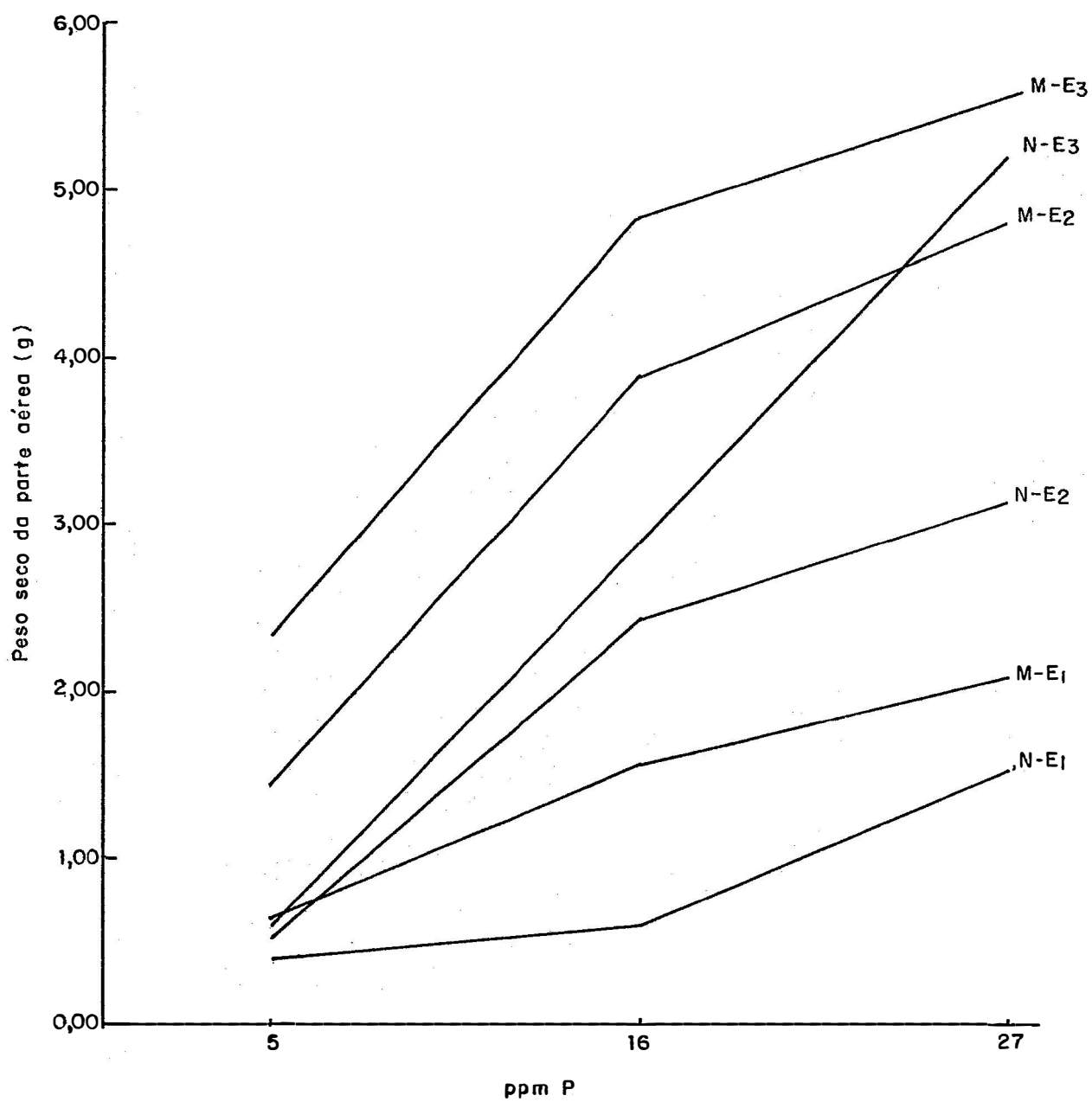


FIGURA 2 - Peso seco da parte aérea (g) de feijoeiro (cv. Carioca), em relação à dose de fósforo empregada, na presença (M) ou ausência (N) de micorriza, em cada época de colheita ( $E_1 = 30$  DAS;  $E_2 = 50$  DAS e  $E_3 = 70$  DAS), d.m.s.(0,05) = 1,37.

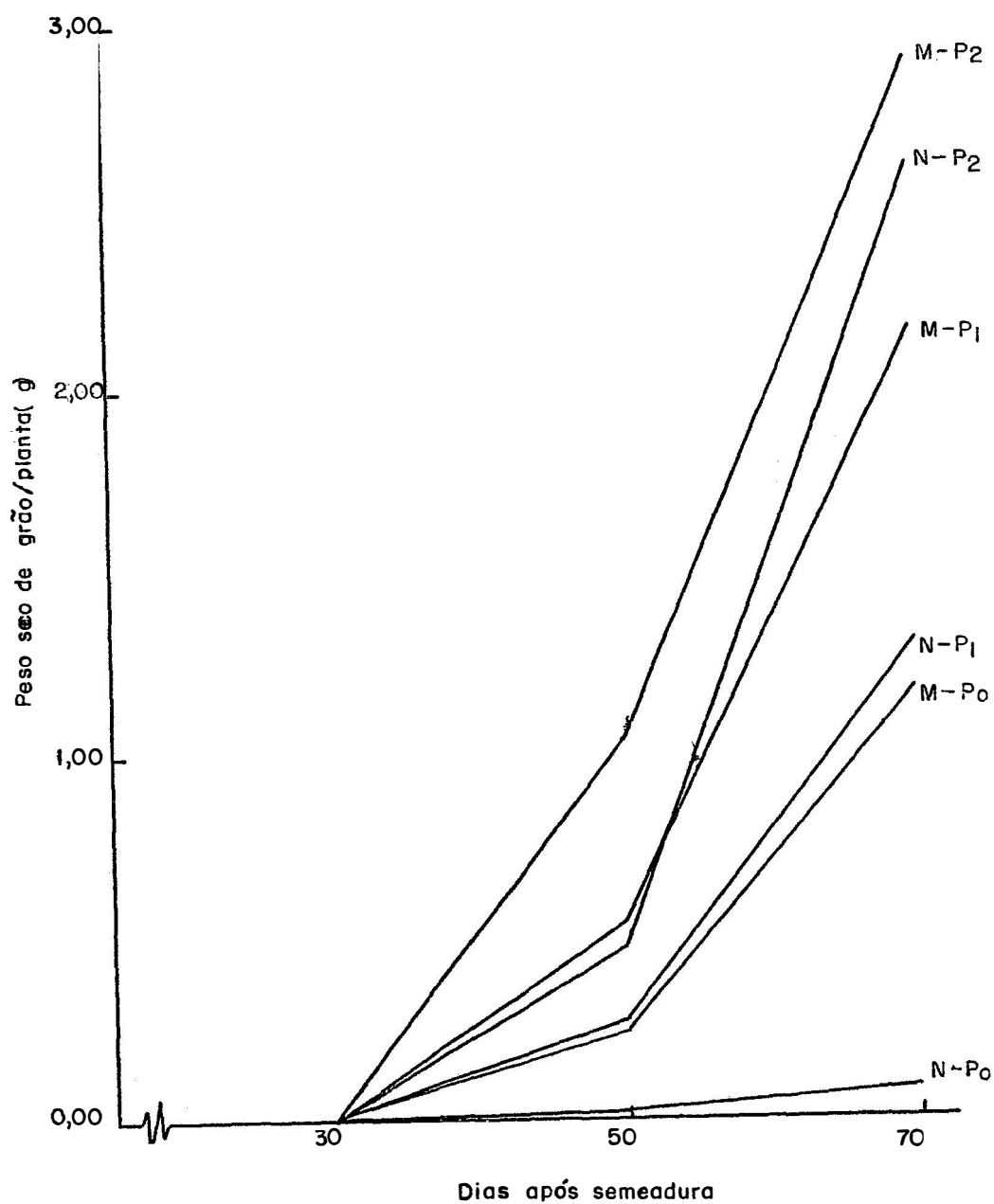


FIGURA 3 - Peso seco de grão/planta (g) de feijoeiro (cv. Carioca), em relação à época de colheita, na presença (M) ou ausência (N) de micorriza, de acordo com a dose de fósforo ( $P_0 = 5$ ;  $P_1 = 16$  e  $P_2 = 27$  ppm P), d.m.s. (0,05) = 0,86.

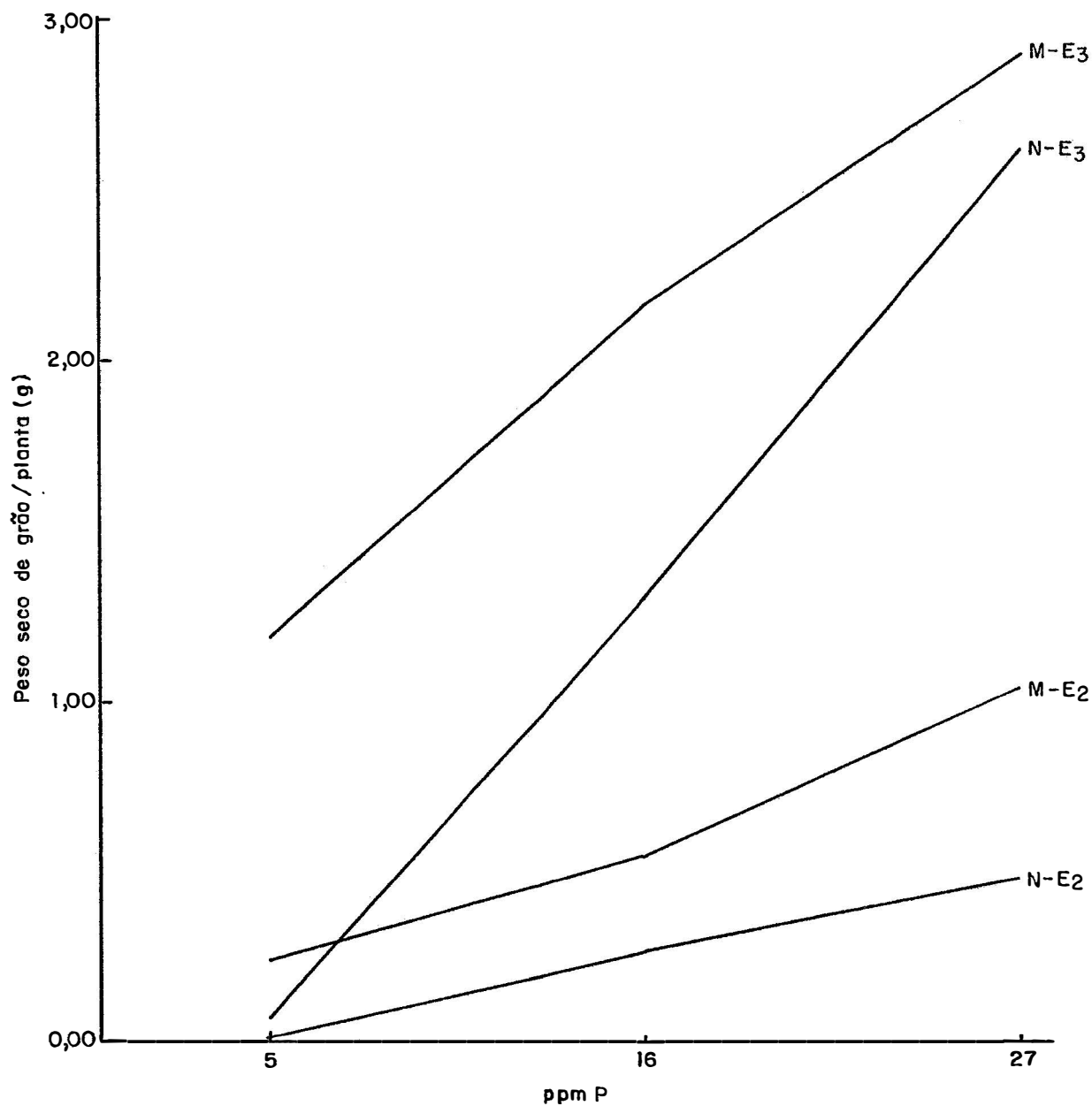


FIGURA 4 - Peso seco de grão/planta(g) de feijoeiro(cv. Carioca), em relação à dose de fósforo empregada, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$  DAS;  $E_2 = 50$  DAS e  $E_3 = 70$  DAS), d.m.s.(0,05) = 0,86.

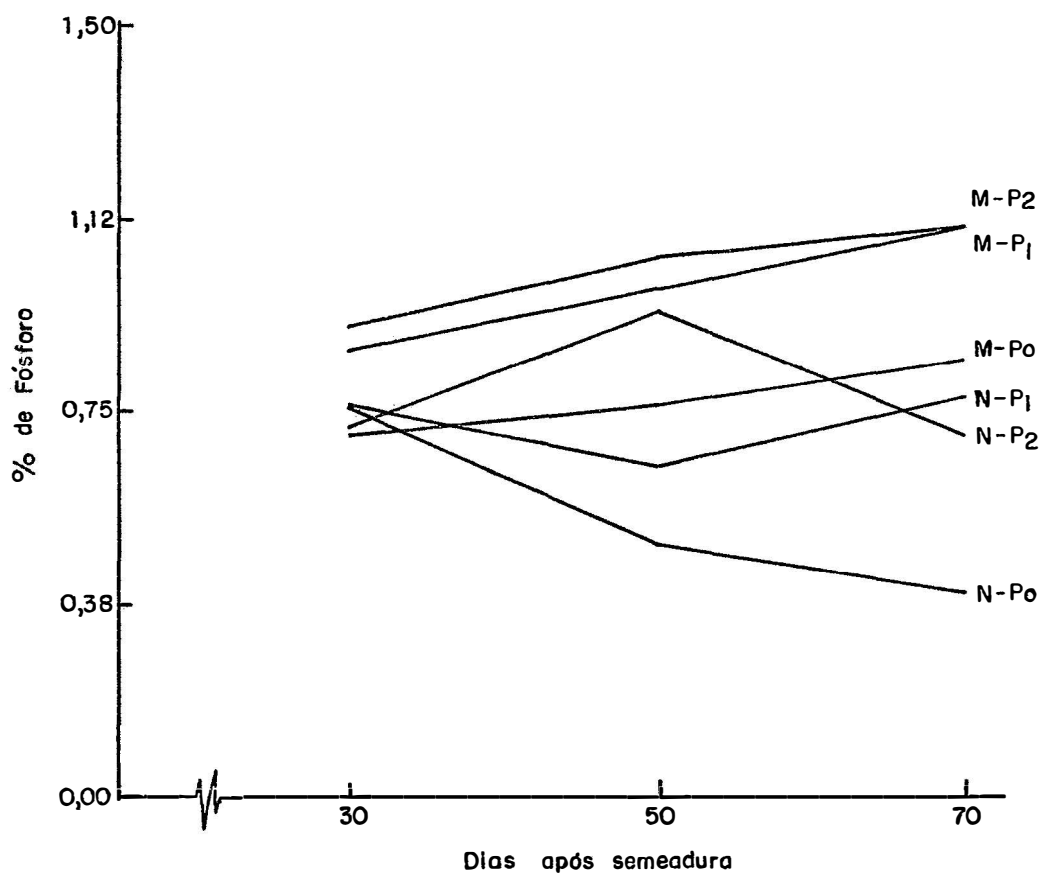


FIGURA 5 - Quantidade relativa de P (%) na parte aérea de feijoeiro (cv. Carioca), em função da época de colheita, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza em cada dose de fósforo empregada ( $P_0 = 5$ ;  $P_1 = 16$  e  $P_2 = 27$  ppm P).

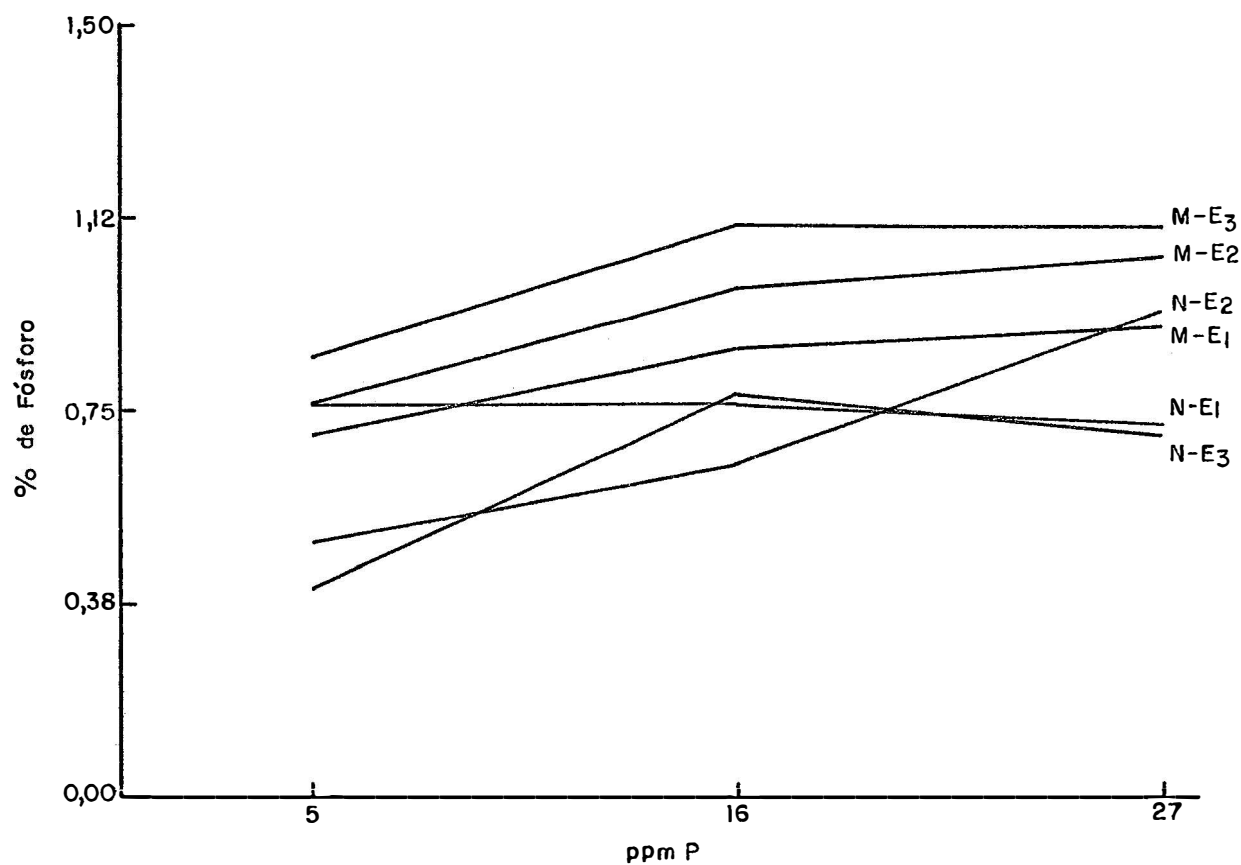


FIGURA 6 - Quantidade relativa de P (%) na parte aérea de feijoeiro (cv. Carioca), com relação à dose de fósforo empregada, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$  DAS;  $E_2 = 50$  DAS e  $E_3 = 70$  DAS).

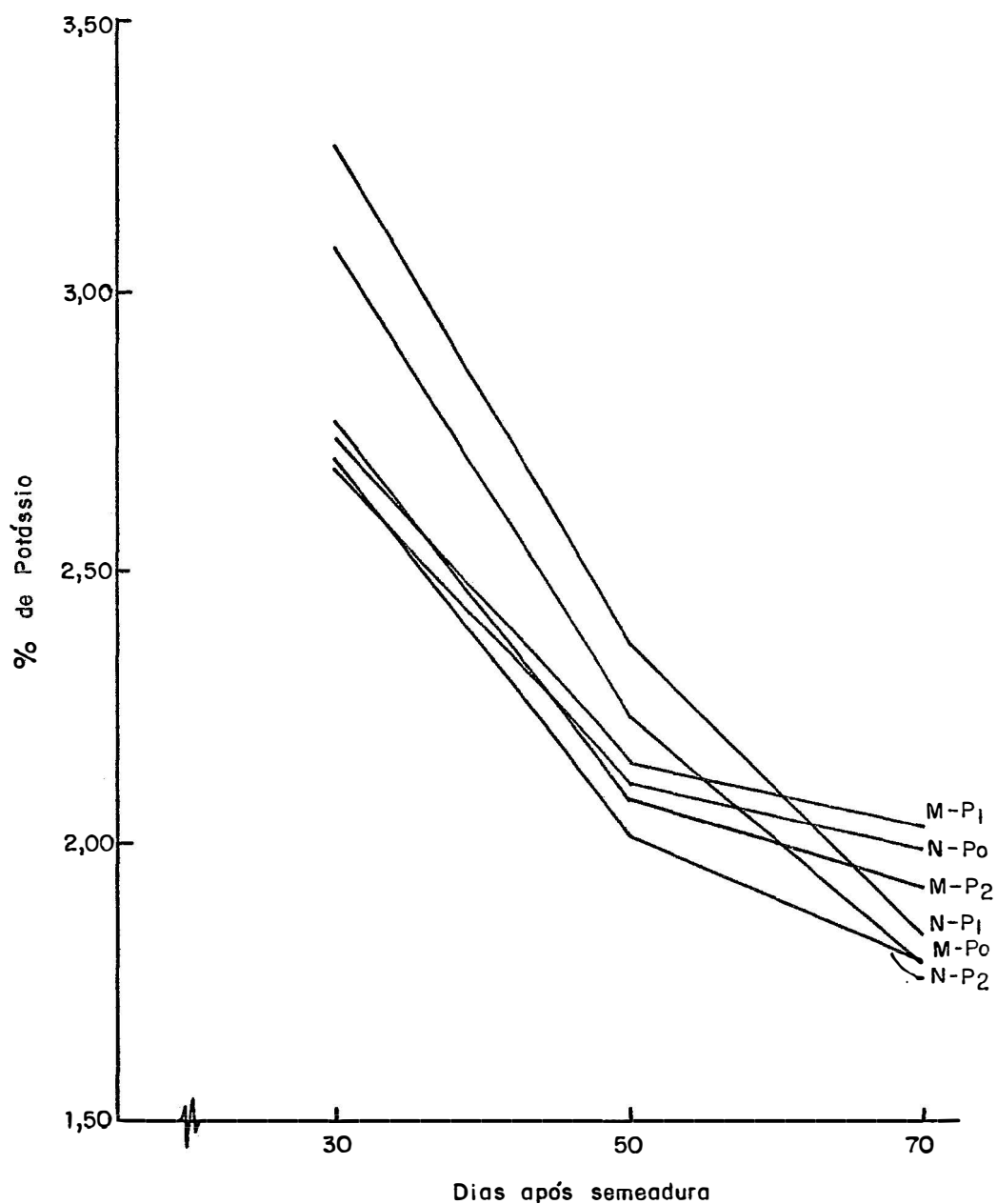


FIGURA 7 - Teor relativo de K (%) na parte aérea de feijoeiro (cv. Carioca), em função da época de colheita, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, em cada dose de fósforo empregada ( $P_0 = 5$ ;  $P_1 = 16$  e  $P_2 = 27$  ppm).



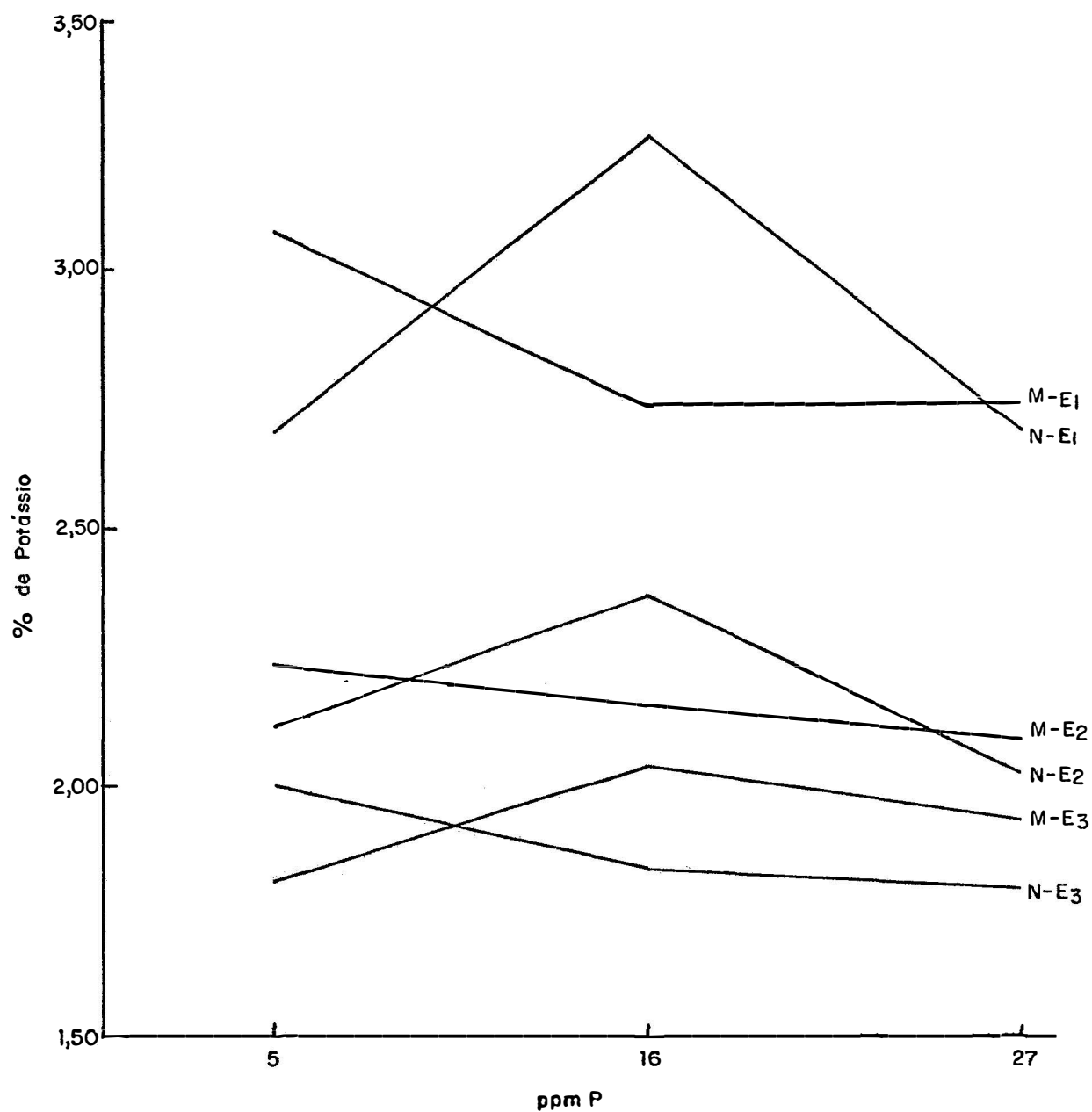


FIGURA 8 - Teor relativo de K (%) na parte aérea de feijoeiro (cv. Carioca), em função da dose de fósforo empregada, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$  DAS;  $E_2 = 50$  DAS e  $E_3 = 70$  DAS).

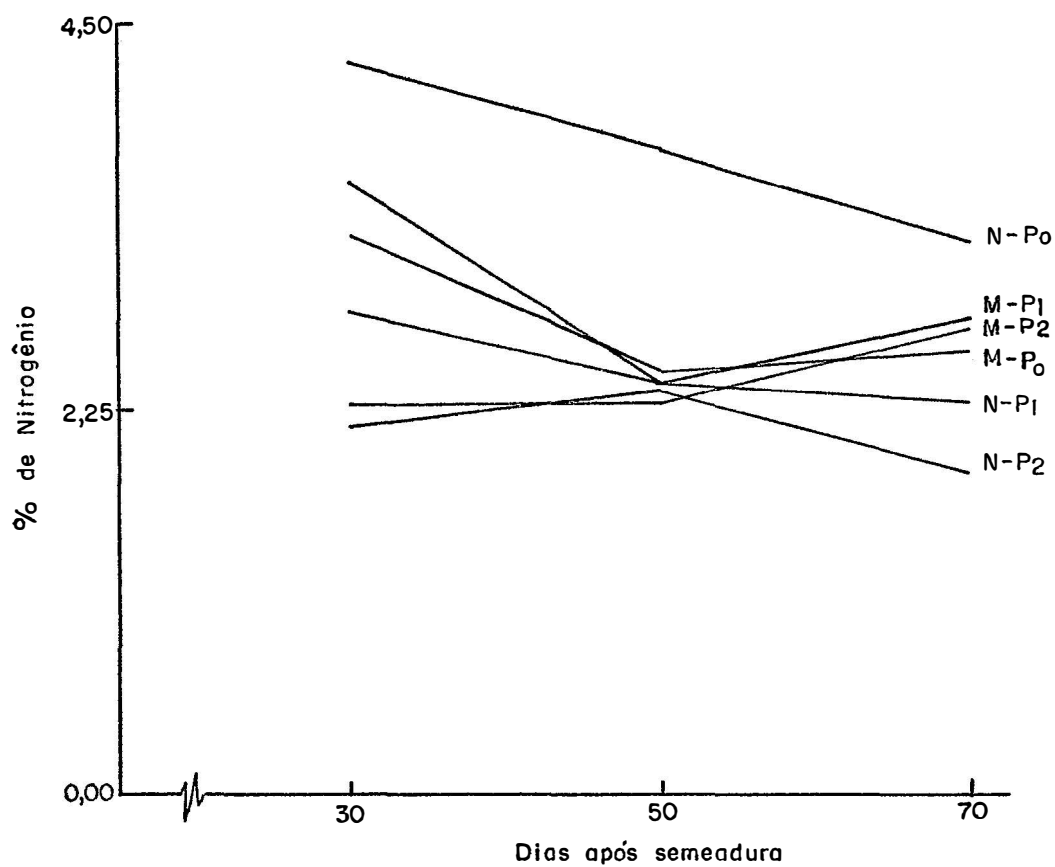


FIGURA 9 - Teor relativo de N (%) na parte aérea de feijoeiro (cv. Carioca), em função da época de colheita, na presença (M) ou ausência (N) de micorriza, em cada dose de fósforo empregada ( $P_0 = 5$ ;  $P_1 = 16$  e  $P_2 = 27$  ppm P).

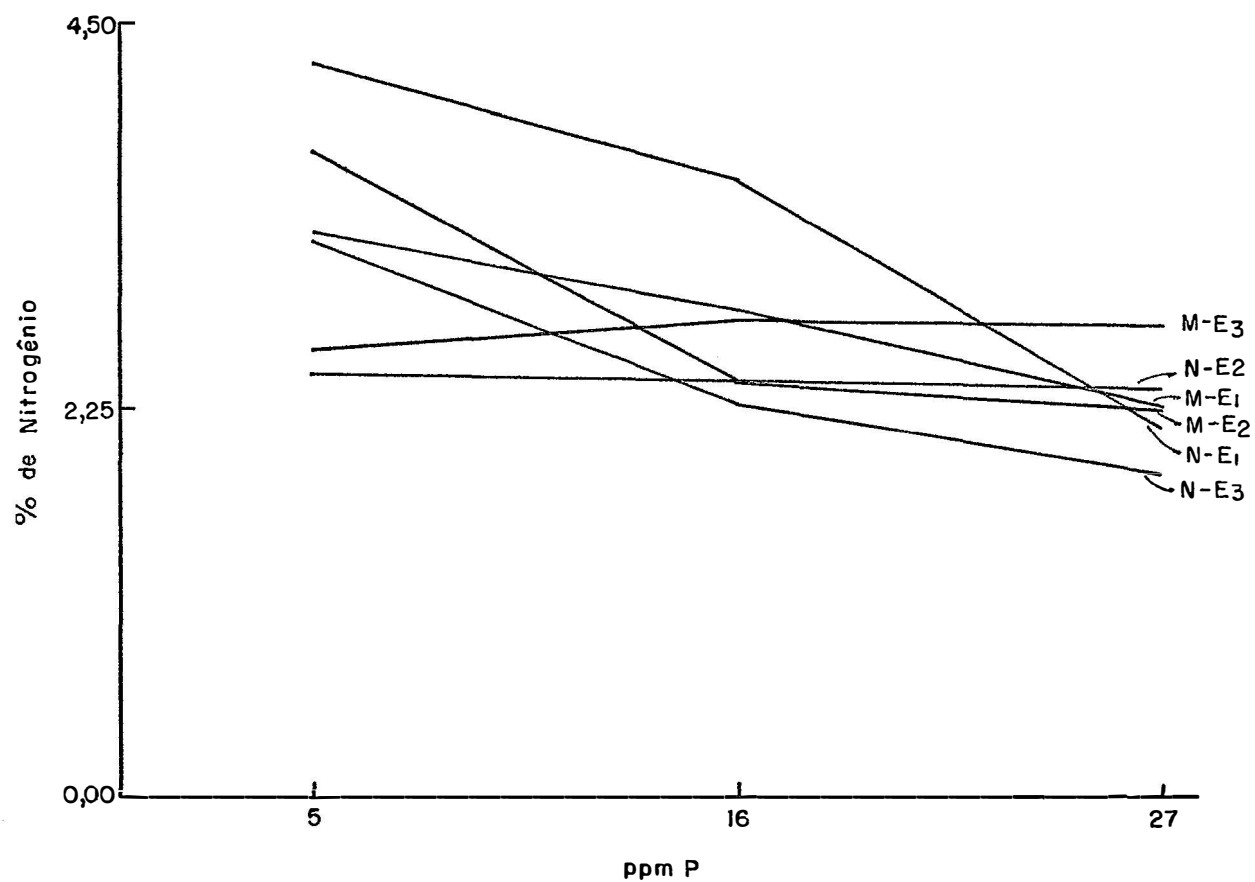


FIGURA 10 - Teor relativo de N (%) na parte aérea de feijoeiro (cv. Carioca), em função da dose de fósforo empregada, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$ ;  $E_2 = 50$  e  $E_3 = 70$  DAS).

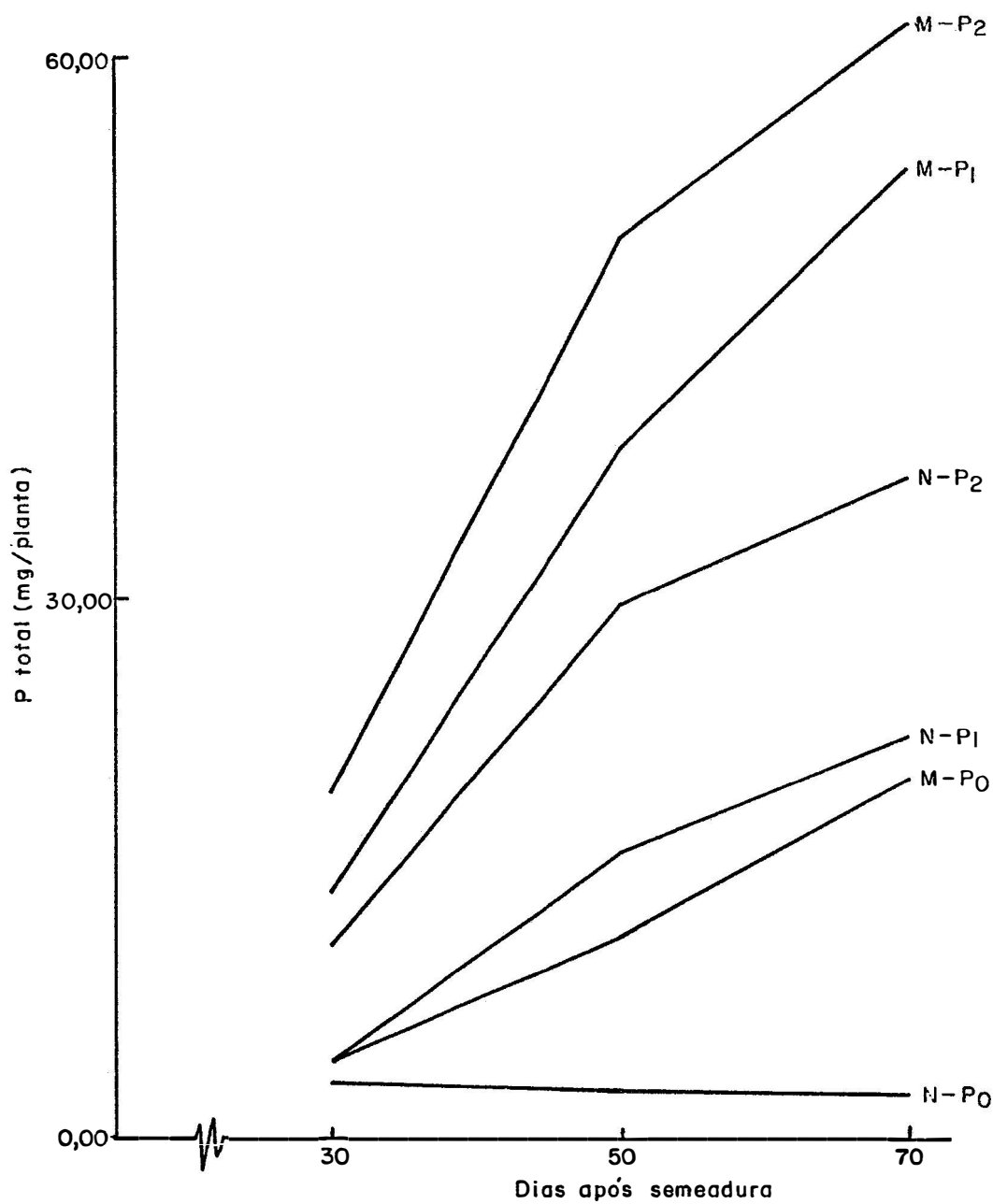


FIGURA 11 - Quantidade total de P (mg) na parte aérea de feijoeiro (cv. Carioca), em função da época de colheita, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, em cada dose de P empregada ( $P = 5$ ;  $P_1 = 16$  e  $P_2 = 27$  ppm P).

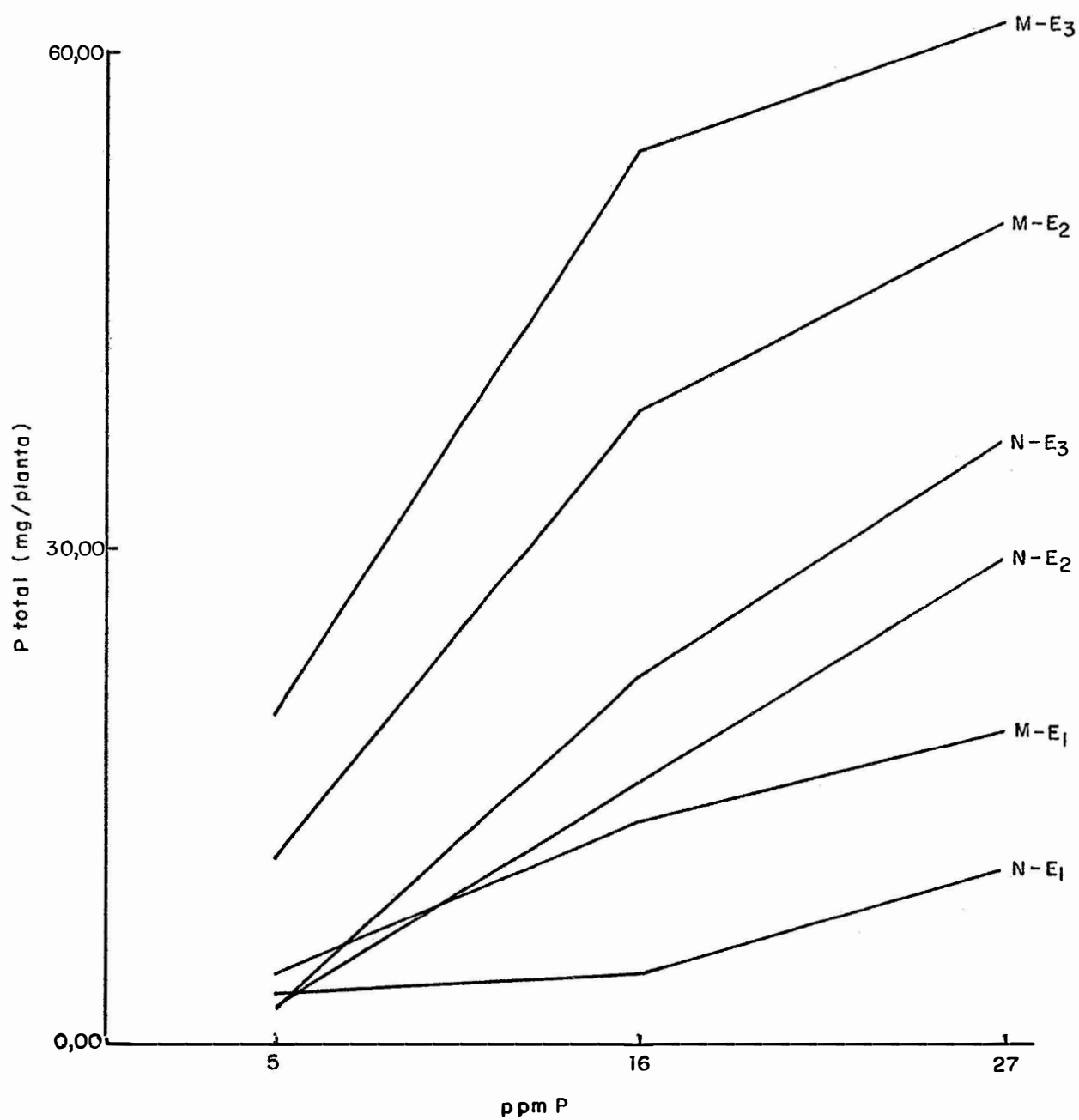


FIGURA 12 - Quantidade total de P (mg) na parte aérea de feijoeiro (cv. Carioca), em função da dose de fósforo aplicada, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$  DAS;  $E_2 = 50$  DAS e  $E_3 = 70$  DAS).

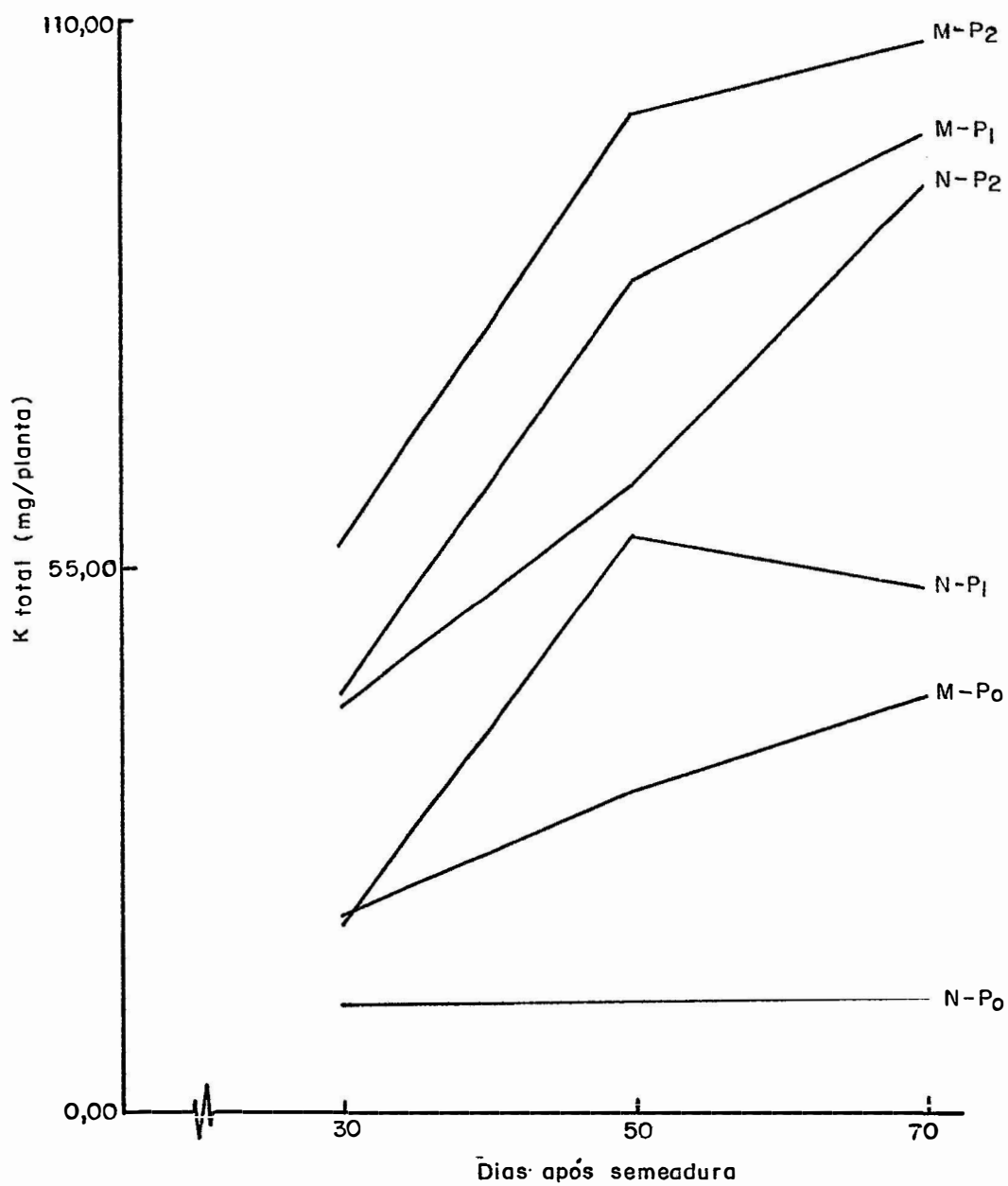


Figura 13 - Quantidade total de K (mg) na parte aérea de feijoeiro (cv. Carioca), em função da época de colheita, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, em cada dose de fósforo empregada ( $P_0=5$ ;  $P_1=16$  e  $P_2=27$  ppm P).

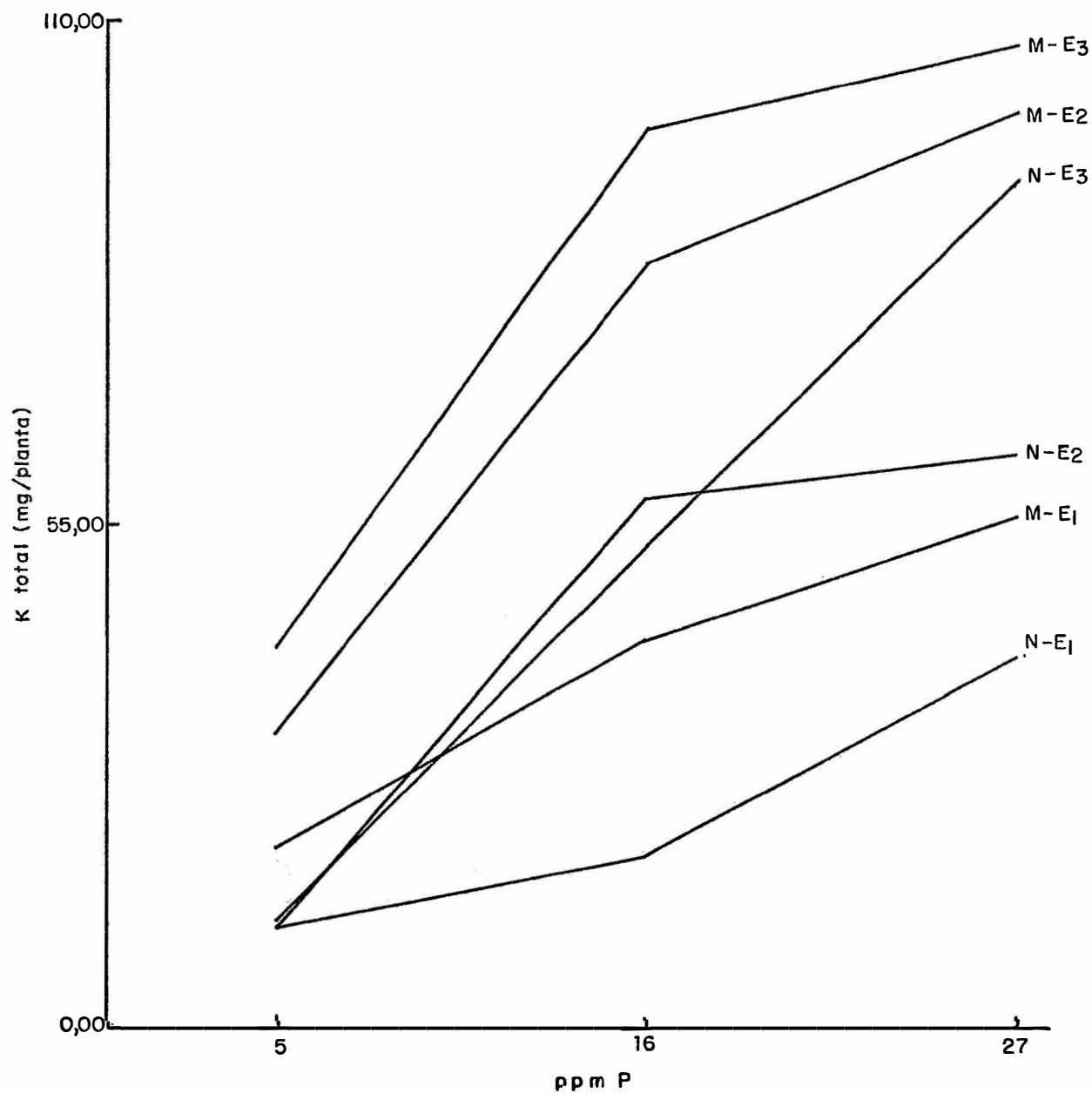


FIGURA 14 - Quantidade total de K (mg) na parte aérea de feijoeiro (cv. Carioca), com relação à dose de fósforo empregada, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$  DAS;  $E_2 = 50$  DAS e  $E_3 = 70$  DAS).

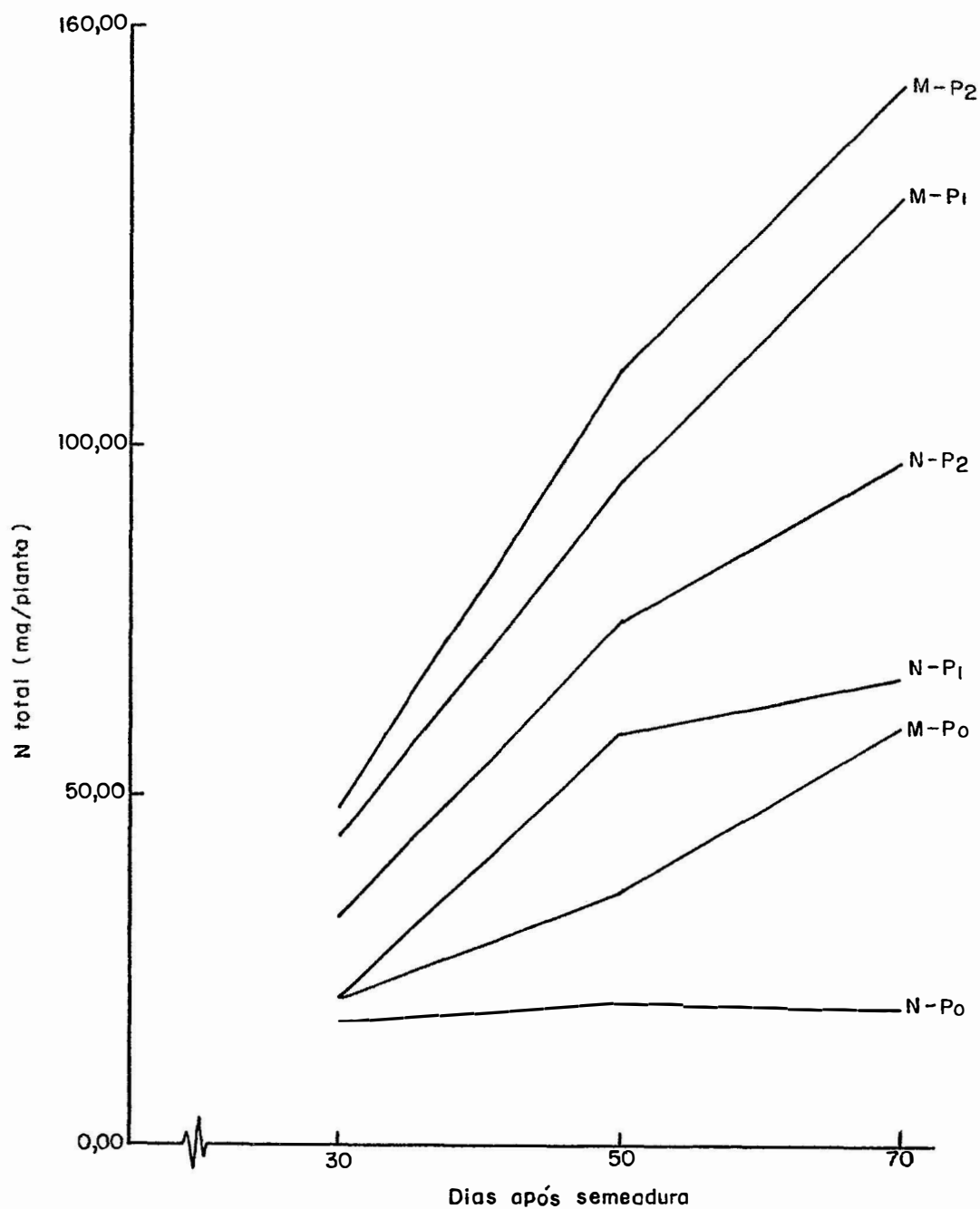


FIGURA 15 - Quantidade total de N (mg) na parte aérea de feijoeiro (cv. Carioca), em função da época de colheita, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, em cada dose de fósforo empregada ( $P_0 = 5$ ;  $P_1 = 16$  e  $P_2 = 27$  ppm P).



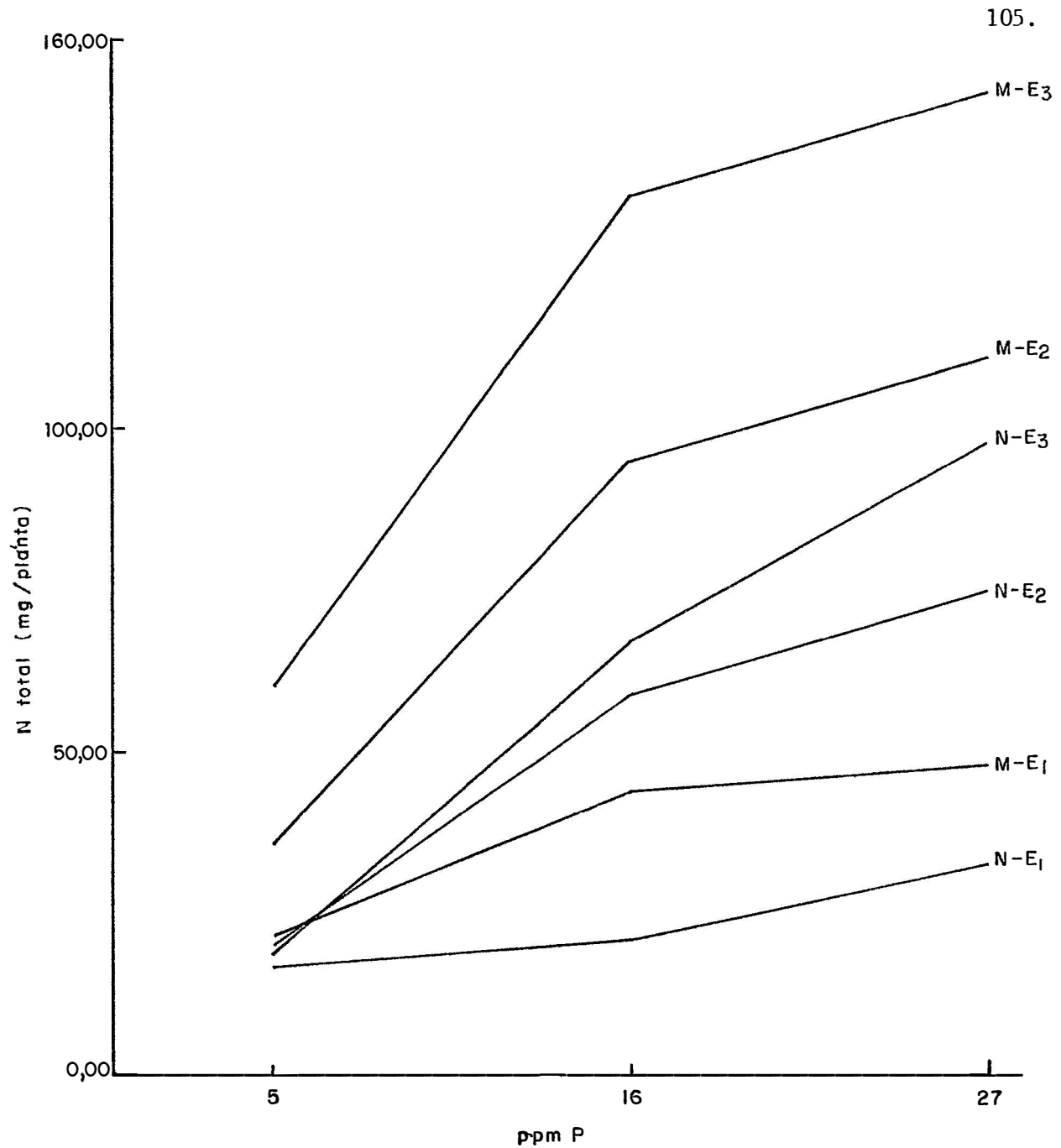


FIGURA 16 - Quantidade total de N (mg) na parte aérea de feijoeiro (cv. Carioca), com relação à dose de fósforo empregada, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$ ;  $E_2 = 50$  e  $E_3 = 70$  DAS).

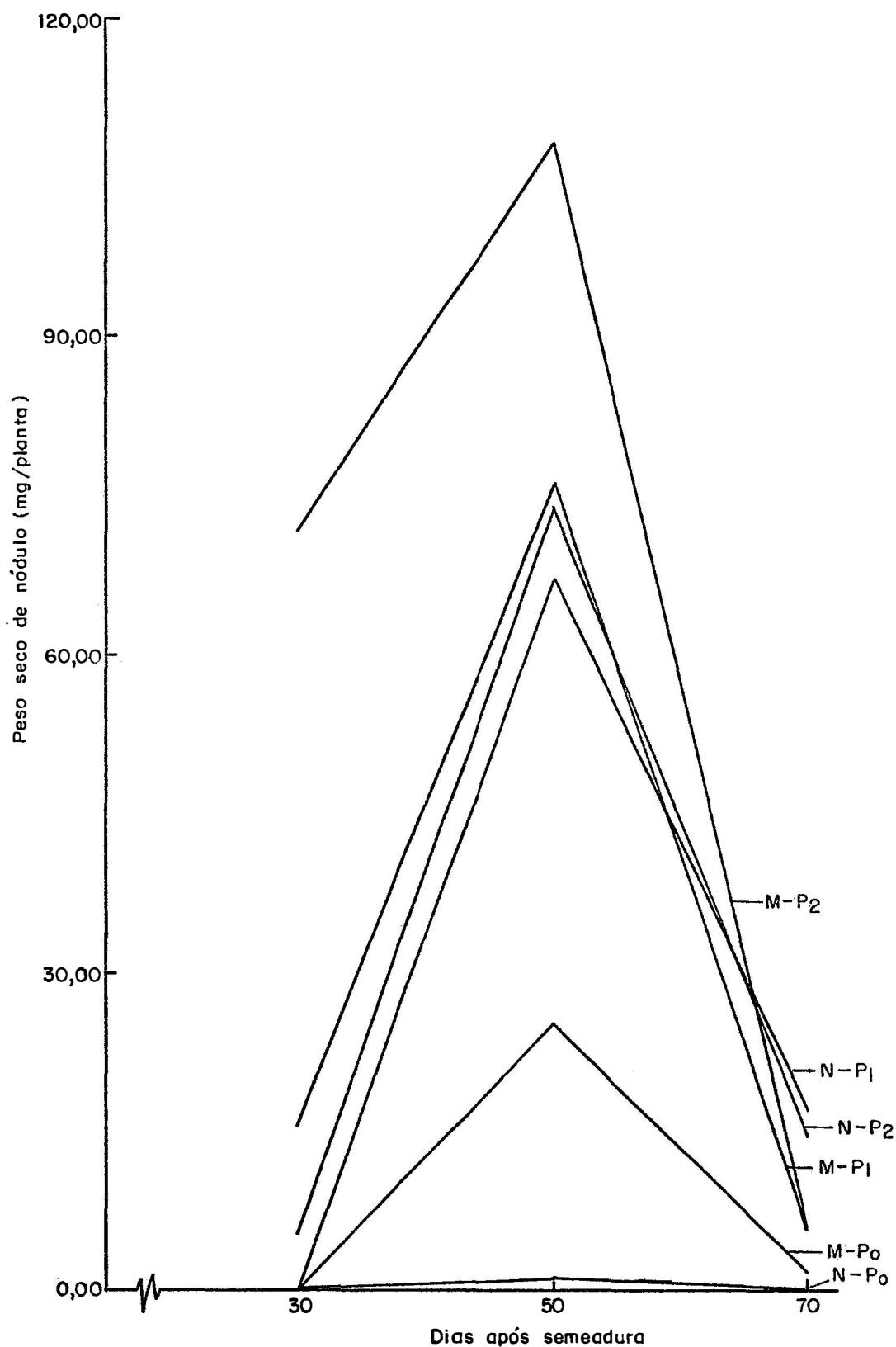


FIGURA 17 - Peso seco de nódulos/planta (mg), em função da época de colheita, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, segundo a dose de fósforo empregada ( $P_0 = 5$ ;  $P_1 = 16$  e  $P_2 = 27$  ppm P), d.m.s. (0,05) = 35,69.

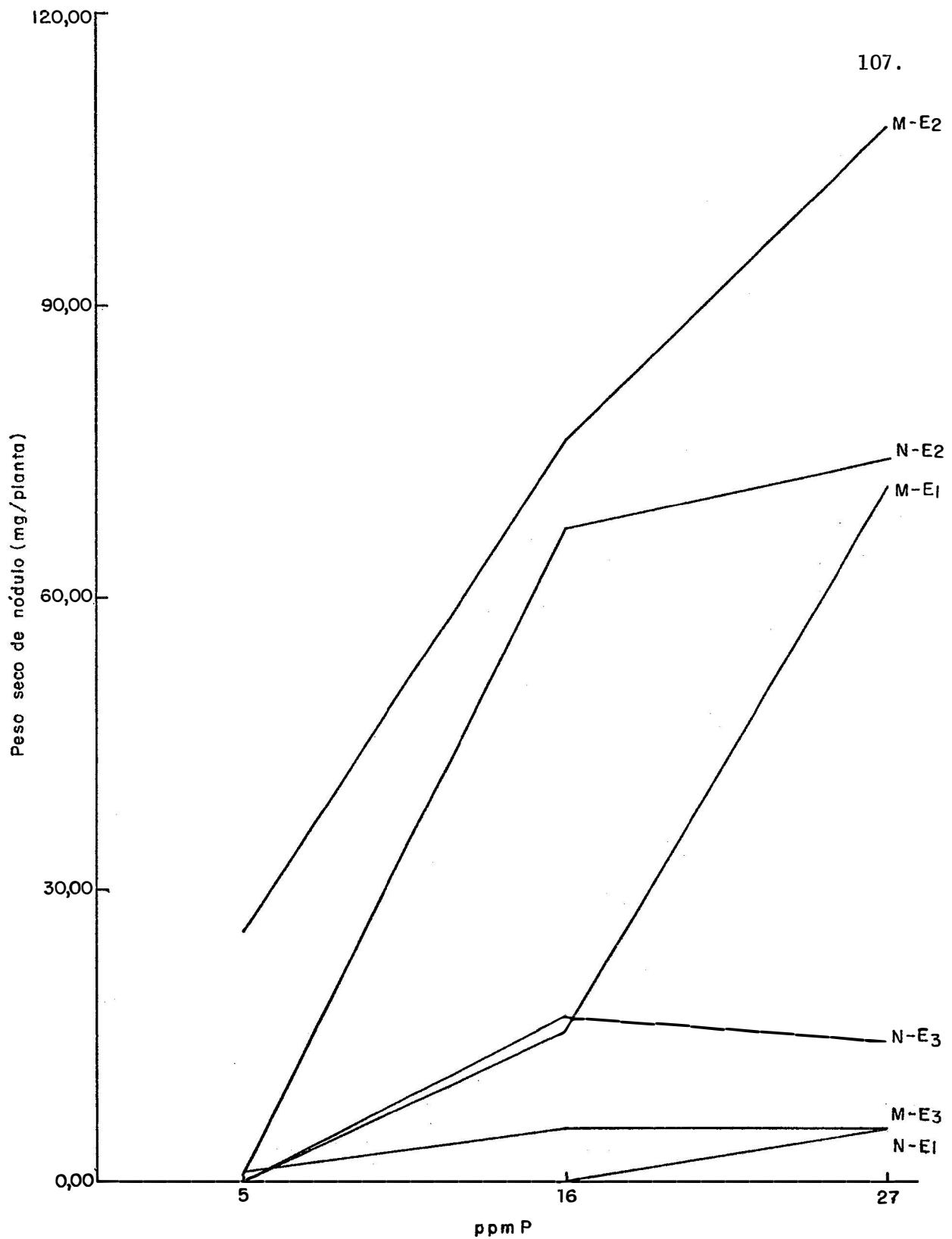


FIGURA 18 - Peso seco de nódulos/planta (mg), em função da dose de fósforo empregada, na ausência (N) ou presença (M) de micorriza, dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$ ;  $E_2 = 50$  e  $E_3 = 70$  DAS) d.m.s.(0,05) = 35,69.

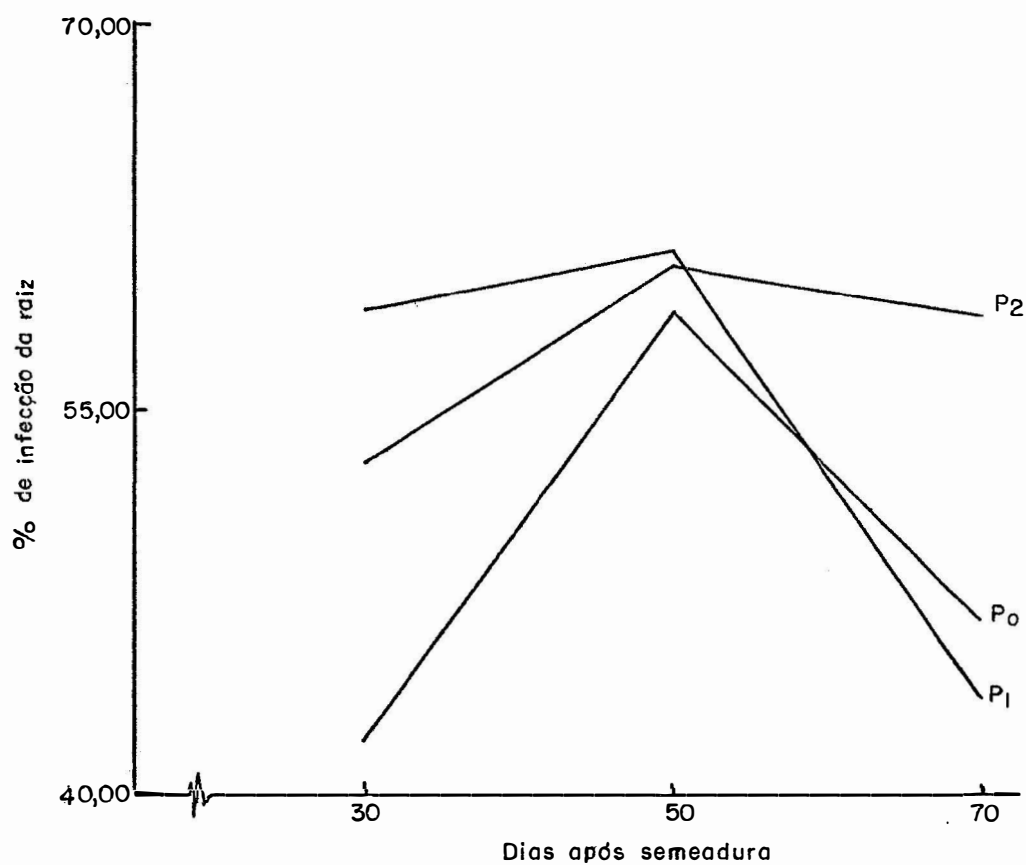


FIGURA 19 - Porcentagem de infecção na raiz de feijoeiro (cv. Carioca), em função da época de colheita, em cada dose de fósforo empregada ( $P_0 = 5$ ;  $P_1 = 16$  e  $P_2 = 27$  ppm P), d.m.s.(0,05) = 10,5.

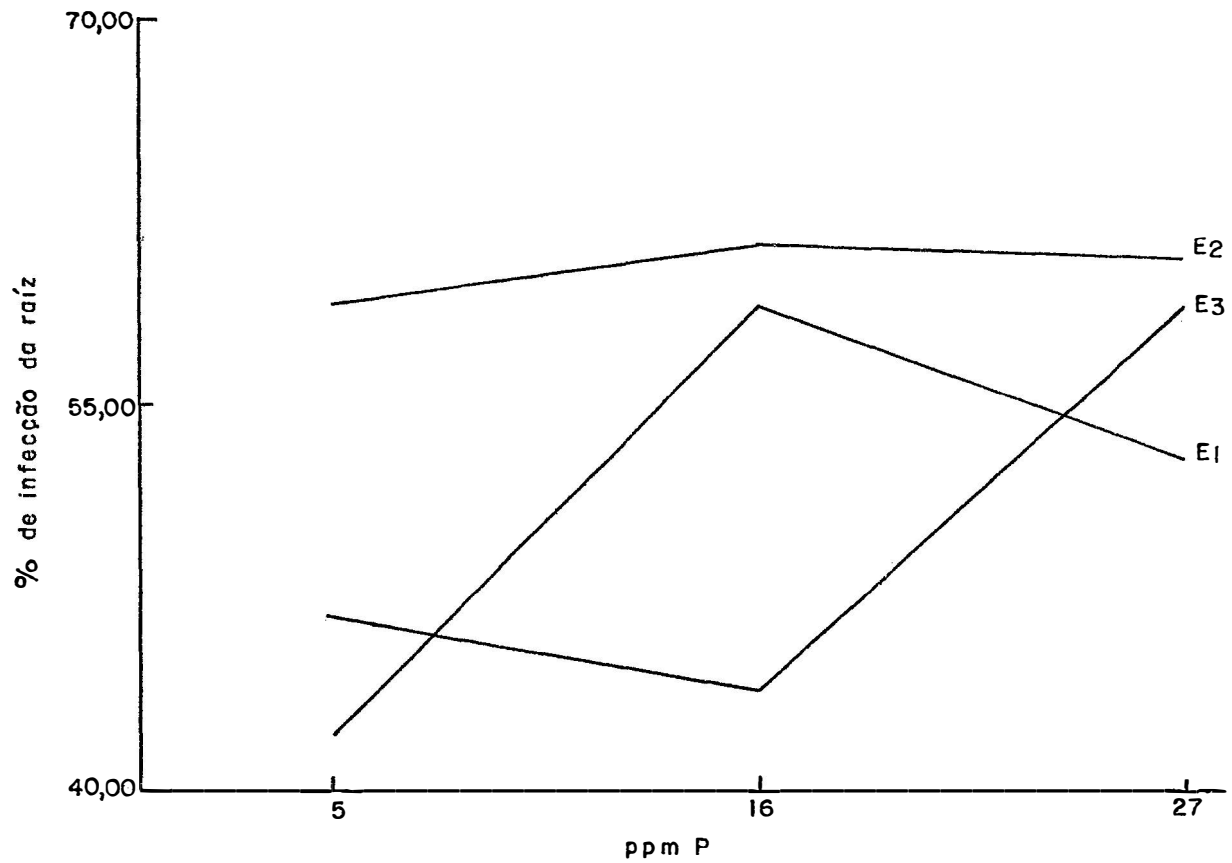


FIGURA 20 - Porcentagem de infecção na raiz de feijoeiro (cv. Carioca), em função da dose de fósforo empregada, dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$ ;  $E_2 = 50$  e  $E_3 = 70$  DAS), d.m.s. (0,05) = 10,5.

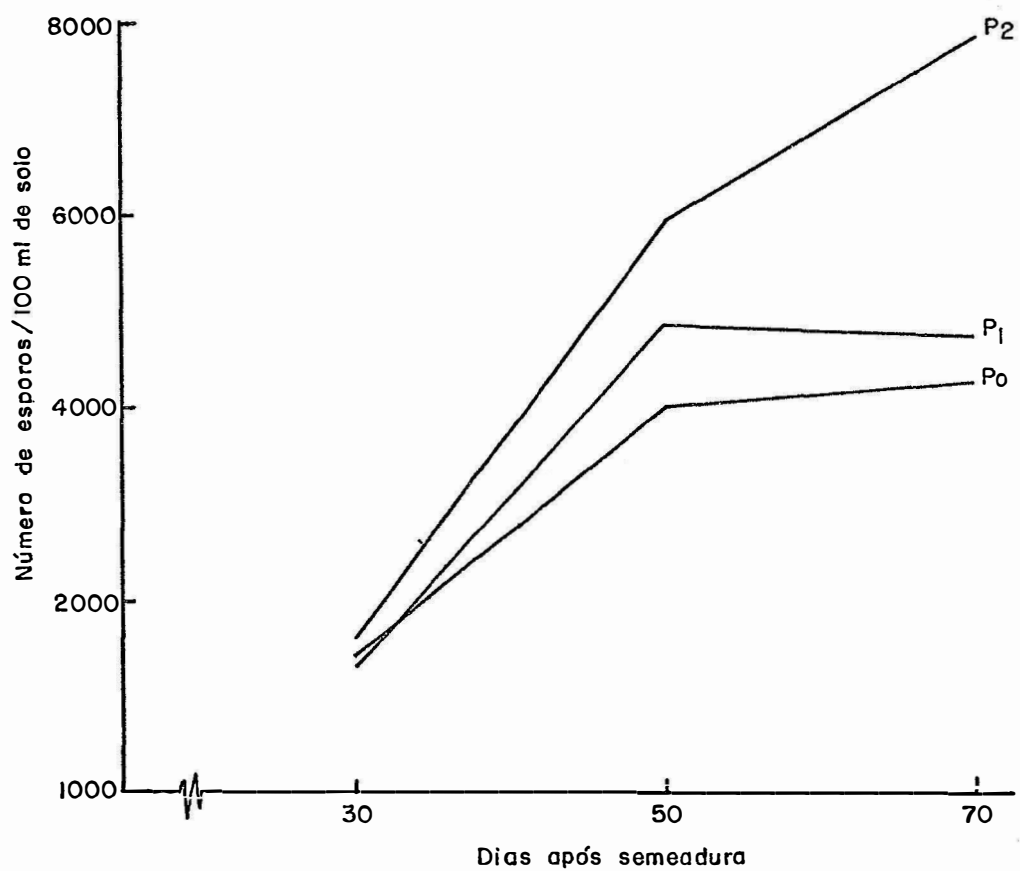


FIGURA 21 - Número de esporos/100 ml de solo, em função da época de colheita, em cada dose de fósforo empregada ( $P_0 = 5$ ;  $P_1 = 16$  e  $P_2 = 27$  ppm P), d.m.s. (0,05) = 2.210.

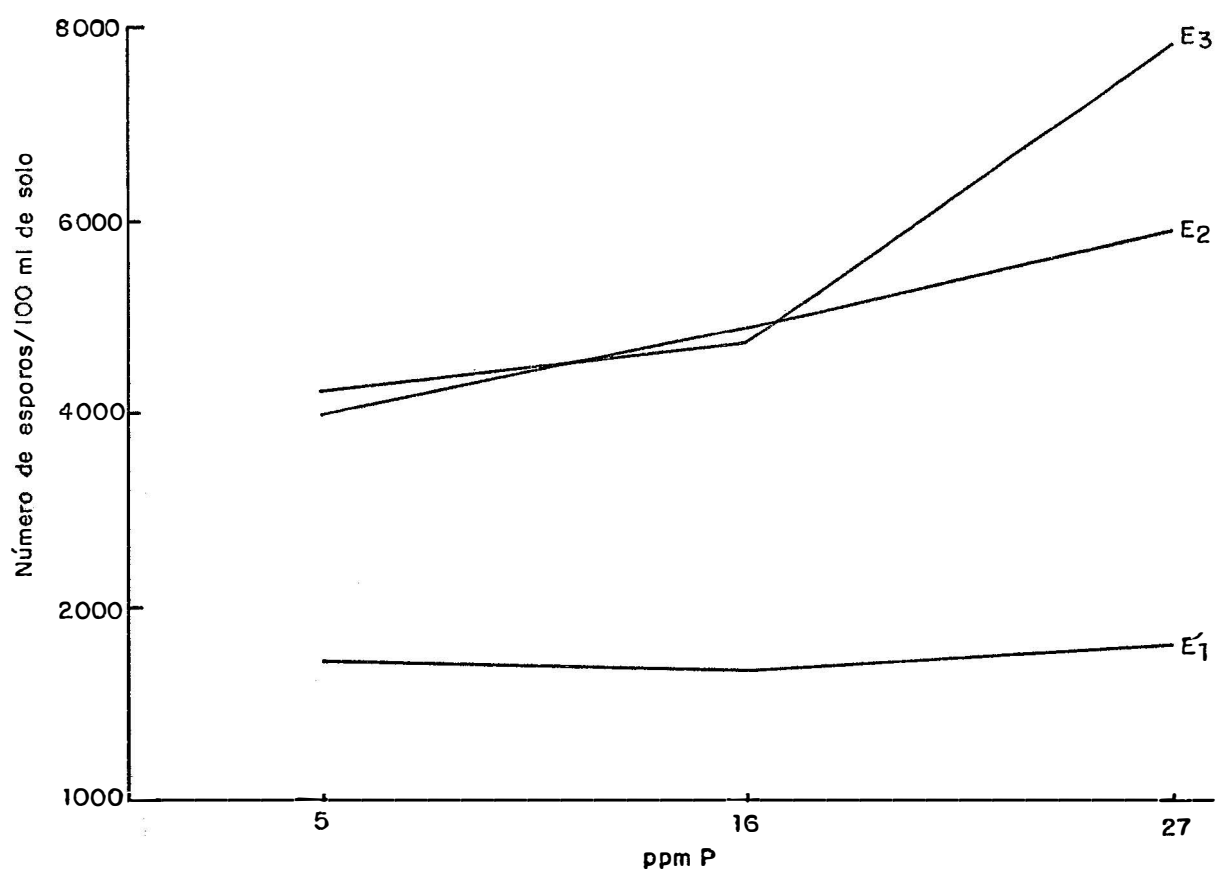


FIGURA 22 - Número de esporos/100 ml de solo, em função da dose de fósforo empregada, dentro de cada época de colheita ( $E_1 = 30$ ;  $E_2 = 50$  e  $E_3 = 70$  DAS), d.m.s. (0,05) = 2.210.

## 5. CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos no trabalho apresentado pode-se concluir o seguinte:

- 1) o *Glomus macrocarpum*, na presença de *Rhizobium phaseoli* favoreceu, em maior ou menor intensidade, todos os parâmetros analisados em todas as doses de fósforo;
- 2) de um modo geral, as doses de fósforo mais elevadas melhor promoveram o crescimento, produção, nutrição e nodulação do feijoeiro, ao mesmo tempo que favoreceram a infecção e esporulação do fungo;
- 3) as interações entre os componentes do conjunto solo-fungo-hospedeiro são bastante complexas e, portanto, as relações de eficiência micorrízica devem ser analisadas para cada siste-



ma solo-hospedeiro;

- 4) o *Glomus leptotichum* mostrou ser o endófito mais eficiente, independentemente dos cultivares e do solo, quando comparado com *Glomus macrocarpum*, *Gigaspora margarita* e *Gigaspora heterogoma*;
- 5) dentre os cultivares, o que mais se destacou foi o Black Turtle Soup e o solo que permitiu um melhor desenvolvimento das plantas foi o Latossol Vermelho Escuro.

## 6. LITERATURA CITADA

- ALLEN, M.F.; T.S. MOORE Jr.; M. CRISTENSEN e N. STANTON, 1979. Growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal and nonmycorrhizal *Bouteloua gracilis* in a defined medium. Mycologia, 71: 666-9.
- ANDREOLA, F., 1982. Micorrizas vesiculares-arbusculares em cana-de-açúcar. Piracicaba, ESALQ/USP, 74 p. [Dissertação de Mestrado].
- ANTUNES, V. e E.J.B.N. CARDOSO, 1983. Endomicorriza vesículo-arbuscular: importância do trinômio solo-fungo-planta. Resumos do XIX Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, Curitiba. p. 43.
- AZCON, R. e J.A. OCAMPO, 1981. Factors affecting the vesicular-arbuscular infection and mycorrhizal dependency of thirteen wheat cultivars. New Phytol., 87: 677-685.
- BAGYARAJ, D.J.; A. MANJUNATH e R.B. PATIL, 1979. Interaction between a vesicular-arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium* and their effects on soybean in the field. New Phytol., 82: 141-145.

- BAYLIS, G.T.S., 1972. Minimum levels of available phosphorus for non-mycorrhizal plants. Pl. Soil, 36: 233.
- BERGERSEN, F.J., 1971. Biochemistry of symbiotic nitrogen fixation in legumes. Ann. Rev. Plant Physiol., 21: 121-140.
- BETHENFALVAY, G. e J.F. YODER, 1981. The *Glycine-Glomus-Rhizobium* symbiosis. I. Phosphorus effect on nitrogen fixation and mycorrhizal infection. Physiol. Plant., 52: 141-145.
- BETHLENFALVAY, G.J.; R.S. PACOVSKY; N.G. BAYNE e A.E. STFFORD, 1982a. Interaction between nitrogen fixation, mycorrhizal colonization and host-plant growth in the *Phaseolus-Rhizobium-Glomus* symbiosis. Plant Physiol., 70: 446-450.
- BETHLENFALVAY, G.J.; M.S. BROWN e R.S. PACOVSKY, 1982b. Parasitic and mutualistic association between a mycorrhizal fungus and soybean: development of the host plant. Phytopathology, 72(7): 889-893.
- BOWEN, G.D., 1980. Mycorrhizal roles in tropical plants and ecosystems. In: MIKOKA, P. (ed.). Tropical mycorrhizal research. Oxford, Oxford University Press, p. 165-190.
- BUTLER, E.J., 1939. The occurrence and systematic position of the vesicular-arbuscular type of mycorrhizal fungi. Trans. Br. mycol. soc., 22: 274-301.
- CARLING, D.E. e M.F. BROWN, 1980. Relative effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and yield of soybeans. Soil Science Society of Am. J., 44: 528-532.

- CARLING, D.E.; M.F. BROWN e R.A. BROWN, 1979. Colonization rates and growth responses of soybean plants infected by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Can. J. Bot., 57: 1769-1772.
- CARLING, D.E.; W.G. RIEHLE; M.F. BROWN e D.R. JOHNSON, 1978. Effects of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus on nitrate reductase and nitrogenase activities in nodulating and non nodulating soybeans. Phytopathology, 68: 1590-1596.
- CARTWRIGHT, B. e E.G. HALLSWORTH, 1970. Effects of copper deficiency on root nodules of subterranean clover. Pl. Soil, 33: 685-698.
- CHU, A.C.P. e A.G. ROBERTSON, 1974. The effects of shading and defoliation on nodulation and nitrogen fixation by white clover. Plant and Soil, 41: 509-519.
- CLARKE, C. e B. MOSSE, 1981. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. XII. Field inoculation responses of barley at two soil phosphorus levels. New Phytol., 87: 695-703.
- COOPER, K.M., 1975. Growth responses to the formation of endotrophic mycorrhizas in *Solanum*, *Leptospermum* and New Zealand ferns. In: SANDERS, F.E.; B. MOSSE, P.T. TINKER (ed.). Endomycorrhizas. Academic Press, London, p. 391-407.
- CRUSH, J.R., 1974. Plant growth responses to vesicular arbuscular mycorrhiza. VII. Growth and nodulation of some herbage legumes. New Phytol., 73: 743-749.
- CRUSH, J.R., 1978. Changes in effectiveness of soil endomycorrhizal fungal populations during pasture development. New Z.J. Agric. Res., 21: 683-685.

- CRUSH, J.R. e J.R. CARADUS, 1980. Effect of mycorrhiza on growth of some white clovers. N. Z. J. Agric. Res., 23: 233-238.
- DAFT, M.T., 1978. Nitrogen fixation in nodulated and mycorrhizal crop plants. Annals of Applied Biology, 83(3): 461-462.
- DAFT, M.T. e A.A. EL-GIAHMI, 1974. Effect of endogone mycorrhiza on plant growth. VII. Influence of infection on the growth and nodulation in French Bean (*Phaseolus vulgaris*). New Phytol., 73: 1139-1147.
- DAFT, M.T. e A.A. EL-GIAHMI, 1975. Effect of *Glomus* infection on three legumes. In: SANDERS, F.E.; B. MOSSE e P.B. TINKER (ed.). Endomycorrhizas. London, Academic Press, p. 581-592.
- DAFT, M.T. e A.A. EL-GIAHMI, 1976. Studies on nodulated and mycorrhizal peanuts. Ann. Appl. Biol., 83: 273-276.
- DAFT, M.J.; E. HACSKAYLO e T.H. NICOLSON, 1975. Arbuscular mycorrhizas in plants colonizing cool spoils in Scotland and Pennsylvania. In: SANDERS, F.E.; B. MOSSE e P.B. TINKER (ed.). Endomycorrhizas. London, Academic Press, p. 561-580.
- DANSO, S.K.A. e M. ALEXANDER, 1974. Survival of two strains of *Rhizobium* in soil. Soil Science Soc. Am. Proc., 38: 86-89.
- DATE, R.A., 1970. Microbiological problems in the inoculation and nodulation of legumes. Plant Soil, 32: 703-725.
- DART, P.J. e J.M. DAY, 1971. Effects of incubation temperature and oxygen tension on nitrogenase activity of legume root nodules. Plant and Soil, Special Volume: 167-184.

- DAVIS, R.M. e J.A. MENGE, 1981. *Phytophthora parasitica* inoculation and intensity vesicular arbuscular mycorrhizae in citrus. New Phytol., 87: 705-715.
- DEMETRIO, J.L.; R. ELLIS JR. e G.M. PAULSEN, 1972. Nodulation and nitrogen fixation by two soybean varieties as affected by phosphorus and zinc nutrition. Agron. J., 64: 566-568.
- DE MOOY, C.J. e J. PESEK, 1966. Nodulation responses of soybean to added phosphorus, potassium and calcium salts. Agron. J., 58: 275-280.
- DOBEREINER, J. e A.P. RUSCHEL, 1961. Fixação simbiótica do N<sub>2</sub> atmosférico em feijão (*Phaseolus vulgaris*). I - Influência do solo e da variedade. Comunicado Técnico do Centro Nacional de Ensino e Pesquisas Agronômicas (Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícola, nº 10).
- EVANS, H.J. e S.A. RUSSEL, 1971. Physiological chemistry of symbiotic nitrogen fixation by legumes. In: POSTGATE, T.R. (ed.). The Chemistry and Biochemistry of Nitrogen Fixation. Plenum Press, London, p. 191-244.
- EZETA, F.N. e O.M. SANTOS, 1980. Benefício da introdução de endomicorriza eficiente na utilização de nutrientes em latossolos do sul da Bahia. R. Bras. Ci. Solo, 4: 13-17.
- EZETA, F.N. e P.C.L. CARVALHO, 1982. Influência da endomicorriza na absorção de P e K e no crescimento da mandioca. Rev. Bras. Ci. Solo, 6: 25-28.

- FLETT, R.J.; J.W. RUDD e R.D. HAMILTON, 1975. Acetylene reduction assays for nitrogen fixation in freshwaters: a note of caution. Applied Microbiology, 29: 580-583.
- FRANCO, A.A., 1978. Micronutrient requirements of legume-*Rhizobium* symbiosis in the tropics. In: DOBEREINER, J.; R.H. BURRIS e A. HOLLAENDER, (ed.). Limitations and Potentials for Biological Nitrogen Fixation in the Tropics. New York, Plenum Press, p. 161-171.
- FRANCO, A.A. e J. DOBEREINER, 1968. Interferência do cálcio e nitrogênio na fixação simbiótica do nitrogênio por duas variedades de *Phaseolus vulgaris* L. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Série Agronomia, 3: 223-227.
- FRANCO, A.A. e J. DOBEREINER, 1971. Toxidez de manganês de um solo ácido na simbiose soja-*Rhizobium*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Série Agronomia, 6: 57-66.
- FURLAN, V. e A. FORTIN, 1973. Formation of endomycorrhizae by *Endogone calospora* on *Allium cepa* under three temperatures regimes. Naturaliste Canadien, 100: 467-477.
- GERDEMANN, J.W., 1968. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. An. Rev. Phytop., 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.
- GILMORE, A.E., 1971. The influence of endotrophic mycorrhizae on the growth of peach seedlings. J. Am. Soc. Hort. Sci., 96: 35-38.

- GIOVANNETTI, M. e B. MOSSE, 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in roots. New Phytol., 84(3): 489-500.
- HALL, I.R.; B.S. SCOTT e P.D. HONSTONE, 1977. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizas on response of "glassland Huia" and "Tamar" white clover to phosphorus. N. Z. J. Agric. Res., 20: 349-355.
- HARDY, R.W.F.; R.D. HOLSTEN; E.K. JACKSON e R.C. BURRIS, 1968. The acetylene-ethylene assay for N<sub>2</sub> fixation: laboratory and field evaluation. Plant Physiology, 43: 1185-1207.
- HARLEY, J.L., 1969. The Biology of Mycorrhiza. Leonard Hill, London. 334 p.
- HAYMAN, D.S., 1974. Plant growth responses to vesicular mycorrhiza. VI. Effect of light and temperature. New Phytol., 73: 71-80.
- HAYMAN, D.S. e B. MOSSE, 1971. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. I. Growth of *Endogone* inoculated plants in phosphate-deficient soils. New Phytol., 70: 19-27.
- HAYMAN, D.S. e B. MOSSE, 1972. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. III. Increased uptake of labile phosphorus from soil. New Phytol., 71: 41-47.
- HOWELER, R.H.; J. ASHER e D.G. EDWARDS, 1982. Establishment of an effective endomycorrhizal association on cassava in flowing solution culture and its effects on phosphorus nutrition. New Phytol., 90(2): 229-238.



- HUGHES, M.; L.W. MARTIN e P.J. BRENN, 1978. Mycorrhizal influence on the nutrition of strawberries. J. Am. Soc. Hort. Sci., 103: 179-181.
- HUSSEY, R.S. e R.W. RONCADORI, 1978. Interaction of *Pratylenchus* and *Gigaspora margarita* on cotton. J. of Nematology, 10: 16-20.
- ISLAM, R.; A. AYANABA e F.E. SANDERS, 1980. Response of cowpea (*Vigna unguiculata*) to inoculation with VA mycorrhizal fungi and to rock phosphate fertilization in some sterilized Nigerian soils. Plant and Soil, 54: 107-117.
- KHAN, A.G., 1972. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations on growth of cereals. I. Effects on maize growth. New Phytol., 71: 613-619.
- KHAN, A.G., 1981. Growth responses of endomycorrhizal onion unsterilized coal waste. New Phytol., 86: 363-370.
- KLEINSCHMIDT, G.O. e J.W. GERDEMANN, 1972. Stunting of citrus seedlings infumigated nursery soils related to the absence of endomycorrhizae. Phytopathol., 62: 1447-1453.
- KOCH, B.L. e H.J. EVANS, 1966. Reduction of acetylene to ethylene by soybean nodules. Plant Physiology, 41: 1748-1750.
- KUO, C.G. e R.S. HUANG, 1982. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal on the growth and yield of rice-stubble cultured soybeans. Plant and Soil, 64(3): 325-330.

- LATORRACA, S., 1979. Efeitos da inoculação de micorriza VA no crescimento e nodulação de *Vigna unguiculata* (L.), em três solos de terra firme. INPA - Universidade do Amazonas, 79 p. [Dissertação de Mestrado].
- LEME ROCHA, G., 1971. As leguminosas e as pastagens tropicais. In: As Leguminosas na Agricultura Tropical. Ed. EMBRAPA, Centro-Sul, p. 1-27.
- LIE, T.A., 1971. Symbiotic nitrogen fixation under stress conditions. Plant and Soil, Special Volume: 117-127.
- LIE, T.A., 1974. Environmental effects on nodulation and symbiotic nitrogen fixation. In: QUISPÉL, A. (ed.): The Biology of Nitrogen Fixation. Amsterdam, North-Holland Publ. Co., 769 p.
- LOPES, E.S., 1980. Eficiência e especificidade das associações micorrízicas do tipo vesicular-arbuscular em gramíneas e leguminosas forrageiras e no cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Piracicaba, ESALQ/USP, 111 p. [Tese de Doutorado].
- LOPES, E.S.; J.O. SIQUEIRA e L. ZAMBOLIM, 1983. Caracterização das micorrizas vesicular-arbuscular (MVA) e seus efeitos no crescimento das plantas. R. Bras. Ci. Solo, 7: 1-19.
- MALAVOLTA, E., 1980. Elementos de Nutrição Mineral de Plantas. Editora Agronômica Ceres Ltda., São Paulo, 251 p.
- MENGE, J.A.; R.M. DAVIS; E.L.V. JOHNSON e G.A. ZENTMYER, 1978. Mycorrhizal fungi decrease growth and reduce transplant injury in avocado. California Agriculture, 32: 6-7.

- MINCHIN, F.R. e J.S. PATE, 1975. Effects of water, aeration and salt regimes on nitrogen fixation in a nodulated legume-definition of an optimum root environment. J. Exp. Bot., 26: 60-69.
- MIRANDA, J.C.C., 1982. Influência de fungos endomicorrízicos inoculados a campo, na cultura de sorgo e soja, em um solo sob cerrado. R. Bras. Ci. Solo, 6: 19-23.
- MOSSE, B., 1957. Growth and chemical composition of mycorrhizal and non-mycorrhizal apples. Nature, 179: 922-924.
- MOSSE, B., 1972a. The influence of soil type and *Endogone* strain on the growth of mycorrhizal plants in phosphate deficient soils. Rev. Ecol. Biol. Soil, 9: 529-536.
- MOSSE, B., 1972b. Effects of different *Endogone* strains on growth of *Paspalum notatum*. Nature, 239: 221-223.
- MOSSE, B., 1973a. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. An. Rev. Phytopath., 11: 171-196.
- MOSSE, B., 1973b. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IV. In soil given additional phosphate. New Phytol., 72: 127-136.
- MOSSE, B., 1975. Specificity in VA mycorrhizas. In: SANDERS, F.E.; B. MOSSE e P.B. TINKER (ed.). Endomycorrhizas. London, Academic Press, p. 469-484.
- MOSSE, B., 1977a. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. X. Responses of *Stylosanthes* and maize to inoculation in unsterile soils. New Phytol., 78: 277-278.

- MOSSE, B., 1977b. The role of mycorrhiza in legume nutrition on marginal soils. In: VINCENT, J.M.; A.S. WHITNEY e J. BOSE (ed.). Exploiting the Legume-Rhizobium Symbiosis in Tropical Agriculture. College of Tropical Agriculture Miscellaneous Publication 145, p. 275-292.
- MOSSE, B., 1981. Vesicular-arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture. Hawaii, Inst. for Tropical Agric. and Human Resources, 82 p. [Research Bulletin, 194].
- MOSSE, B.; C.U. 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.
- MOSSE, B. e D.S. HAYMAN, 1979. Mycorrhiza in agricultural plants. In: MIKOLA, P. (ed.). Tropical Mycorrhizal Research. Oxford University Press, p. 213-230.
- MURDOCH, J.A.; J.A. JACKOBS e J.W. GERDEMANN, 1967. Utilization of phosphorus sources of different availability by mycorrhizal and non-mycorrhizal maize. Plant Soil, 27: 329-34.
- NEMEC, S., 1978. Response of six citrus rootstocks to three species of *Glomus*, a mycorrhizal fungus. Proc. Fla. State Hort. Sci., 91: 10-14.
- NICOLSON, T.H., 1959. Mycorrhiza in the *Gramineae*. I. Vesicular-arbuscular endophytes, with special reference to the external phase. Trans. Br. Mycol. Soc., 42: 421-438.
- NICOLSON, T.H., 1967. Vesicular-arbuscular mycorrhiza - a universal plant symbiosis. Sci. Prog., 55: 561-581.

- NORRIS, D.O., 1964. Techniques used in work with *Rhizobium*. In: Some Concepts and Methods in Sub-Tropical Pasture Research. The staff of the Cunningham Laboratory C.S.I.R.D., Brisbane, Australia, Bull. 47.
- NUTMAN, P.S., 1956. The influence on the legume in root-nodule symbiosis. A comparative study of host determinants and functions. Biology Review, 31: 109-149.
- NUTMAN, P.S. e G.J.S. ROSS, 1969. *Rhizobium* in the soils of Rothamsted and Woburn farms. Rep. Rothamsted Exp. Sta., (2): 148-167.
- OWOSU-BENNOAH, E. e B. MOSSE, 1979. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. XI. Field inoculation responses in barley, lucerne and onion. New Phytol., 83: 671-679.
- PAIRUNAN, A.K.; A.D. ROBSON e L.K. ABBOTT, 1980. The effectiveness of vesicular-arbuscular mycorrhizas in increasing growth and phosphorus uptake of subterranean clover from phosphorus sources of different solubilities. New Phytol., 84: 327-338.
- PANKHURST, C.E. e J.J. SPRENT, 1976. Effects of temperature and oxygen tension on the nitrogenase and respiratory activities of turgid and water stressed soybean and French bean root nodules. J. Exp. Bot., 27: 1-9.
- PARADA, A.; V. ANTUNES; M.H.A. OLIVEIRA e E.J.B.N. CARDOSO, 1983. Eficiência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em porta-enxertos de citrus. Anais do III Congresso Brasileiro de Iniciação Científica em Ciências Agrárias. Florianópolis, p. 136.

- PATE, J.S., 1961. Temperature characteristics of bacterial variation in legume symbiosis. Nature, 192: 637-639.
- PEREIRA, R.M.F.V., 1979. Efeito do nitrogênio mineral e calagem do solo sobre a fixação do nitrogênio em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Piracicaba, ESALQ/USP, 78 p. [Dissertação de Mestrado].
- PHILIPS, 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.
- POSTGATE, J.R., 1974. Pre-requisite for biological nitrogen fixation in free-living heterotrophic bacteria. In: QUISPÉL, A. (ed.). The Biology of Nitrogen Fixation. North Holland Publ. Comp. Amsterdam, p. 663.
- POWELL, C.L., 1975. Plant growth responses to vesicular arbuscular mycorrhiza. VII. Uptake of phosphorus by onion and clover infected with different *Endogone* spore types in <sup>32</sup>P labelled soils. New Phytol., 75: 563-566.
- POWELL, C.L., 1976. Development of mycorrhizal infection from *Endogone* spores and infected root segments. Trans. Br. Mycol. Soc., 66: 439-445.
- POWELL, C.L., 1977a. Mycorrhizas in hill country soils. II. Effect of several mycorrhizal fungi on clover growth in sterilized soils. N.Z.J. Agric. Res., 20: 59-62.
- POWELL, C.L., 1977b. Mycorrhizas in hill country soils. V. Growth responses in ryegrass. N.Z.J. Agric. Res., 20: 495-502.

- POWELL, C.L. e J. DANIEL, 1978. Growth of white clover in undisturbed soils after inoculated with efficient mycorrhizal fungi. N.Z. J. Agric. Res., 21: 675-681.
- POWELL, C.L. e J. SITHAMPARATHAN, 1977. Micorrizas in hill country soils. IV. Infection rate in grass and legume species by indigenous mycorrhizal fungi under field conditions. N.Z.J. Agric. Res., 20: 489-502.
- QUISPEL, A., 1974. General introduction. In: QUISPEL, A. (ed.). The Biology of Nitrogen Fixation. Amsterdam, North-Holland Publ. Co., 769 p.
- RANGELEY, A.; M.J. DAFT e P. NEWBOULD, 1982. The inoculation of white clover with mycorrhizal fungi in unsterile hill soil. New Phytol., 92: 89-102.
- RANZANI, G.; O. FREIRE e T. KINJO, 1966. Carta de Solos do Município de Piracicaba. Centro de Estudos de Solos, ESALQ/USP, Piracicaba.
- RATNAYAKE, M.; R.T. LEONARD e J.A. MENGE, 1978. Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. New Phytol., 81(3): 543-552.
- READ, D.J., 1974. *Pezizela ericae*, the perfect state of a typical mycorrhizal endophyte of Ericaceae. Trans. Br. Mycol. Soc., 63: 381-383.
- REID, C.P. e G.D. BOWEN, 1979. Effects of soil moisture on VA mycorrhiza formation and root development in Medicago. In: HARLEY, J.L. e R. SCOTT RUSSEL (ed.). The Soil-Root Interface. London, Academic Press, p. 211-219.

- RHODES, L.H. e J.W. GERDEMANN, 1975. Phosphate uptake zones of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. New Phytol., 75: 555-61.
- RHODES, L.H. e J.W. GERDEMANN, 1980. Nutrient translocation in vesicular-arbuscular mycorrhizae. In: C.B. COOK; W. PAPAAS e E.D. RUDOLPH (ed.). Cellular Interactions in Symbiosis and Parasitism. The Ohio State University Press, Columbus, Ohio, p. 173-195.
- ROSS, J.P., 1971. Effect of phosphate fertilization on yield of mycorrhizal and non-mycorrhizal soybeans. Phytopathology, 61:1400-3.
- ROSS, J.P. e J.A. HARPER, 1970. Effect of *Endogone* mycorrhiza on soybean yields. Phytopathology, 60: 1552-6.
- ROSS, J.P. e J.W. GILLIAM, 1973. Effect of *Endogone* mycorrhiza on phosphorus uptake by soybeans from inorganic phosphates. Soil Am. Proc., 37: 237-239.
- RUSCHEL, A.P.; D.P.S. BRITTO e J. DOBEREINER, 1966. Fixação simbiótica de nitrogênio atmosférico em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). II. Influência do magnésio, do boro, do molibdênio e da calagem. Pesquisa Agropecuária Brasileira, série Agronomia, 1: 141-145.
- SAFIR, G.R.; J.S. BOYER e J.W. GERDEMANN, 1972. Nutrient status and mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. Plant Physiol., 49: 700-703.
- SAIF, S.R., 1981. The influence of soil aeration on the efficiency of vesicular-arbuscular mycorrhizae. I. Effect of soil oxygen on the growth and mineral uptake of *Eupatorium adoratium* inoculated with *Glomus macrocarpus*. New Phytol., 88: 649-660.



- SAITO, S.M.T. e E.J.B.N. CARDOSO, 1977. Seleção de estirpes de *Rhizobium phaseoli* para o feijoeiro cultivar Carioca. O Solo, 1: 44-47.
- SAITO, S.M.T.; E.C.S. MARTINS; J.R. FREITAS e A.J. ROSTON, 1982. Levantamento da presença de micorriza e *Rhizobium phaseoli* naturalmente estabelecidos em áreas com feijoeiro. Anais da 1ª RENAPE, Goiás, p. 320-1.
- SANDERS, F.E. e P.B. TINKER, 1971. Mechanism of absorption of phosphate from soil by *Endogone* mycorrhizas. Nature, 233: 278-279.
- SARRUGE, J.R. e H.P. HAAG, 1974. Análises químicas em plantas. Deptº de Química, ESALQ/USP. [Mimeografado].
- SCHENCK, N.C. e K. HINSON, 1973. Response of nodulating and non-nodulating soybeans to a species of *Endogone* mycorrhiza. Agron. J., 65: 849-850.
- SCHENCK, N.C. e V.N. SCHRODER, 1974. Temperature response of *Endogone* mycorrhiza on soybean roots. Mycologia, 66: 600-5.
- SCHENCK, N.C. e M.K. KELLAM, 1978. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on disease development. Florida Agric. Exp. Sta., Gainesville, 16 p.
- SCHENCK, N.C. e G.S. SMITH, 1982. Responses of six species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and their effects on soybean at four soil temperatures. New Phytol., 92: 193-201.
- SCHENCK, N.C.; R.A. KINLOCK e D.H. DICKSON, 1975. Interactions of endomycorrhizal fungi and root-knot nematode on soybeans. In: SANDERS, F.E.; B. MOSSE e P.B. TINKER (Ed.). Endomycorrhizas. Academic Press, London, p. 607-617.

- SKIPPER, H.O. e G.W. SMITH, 1979. Influence of soil pH on the soybean-Endomycorrhiza symbiosis. Plant and Soil, 54: 559-563.
- SMITH, S.E. e M.J. DAFT, 1977. Interactions between growth, phosphate content and N<sub>2</sub> fixation in mycorrhizal and non-mycorrhizal *Medicago sativa*. Aust. J. Plant Physiol., 4: 403-413.
- SMITH, S.E. e G.D. BOWEN, 1979. Soil temperature, mycorrhizal infection and nodulation of *Medicago truncatula* and *Trifolium subterraneum*. Soil Biol. and Biochem., 11(5): 469-473.
- SMITH, S.E.; D.J.D. NICHOLAS e F.A. SMITH, 1979. Effect of early mycorrhizal infection on nodulation and nitrogen fixation in *Trifolium subterraneum*. Aust. J. Plant Physiol., 6: 305-311.
- SPARLING, G.P. e P.B. TINKER, 1978. Mycorrhizal infection in Pennine grassland. III. Effects of mycorrhizal infection on the growth of white clover. J. Appl. Ecol., 15: 959-964.
- SPRENT, J.I., 1971. Effects of water stress on nitrogen fixation in root nodules. Plant and Soil, Special Volume: 225-228.
- SPRENT, J.I., 1973. Growth and nitrogen fixation in *Lupinus arboreus* as affected by shading and water supply. New Phytol., 72: 1005-22.
- SPRENT, J.I., 1979. Nitrogen fixation and agriculture. In: The Biology of N-Fixing Organisms. McGraw-Hill Book Co. (UK) Limited. 75-113.
- STEWART, W.D.P.; G.P. FITZGERALD e R.H. BURRIS, 1967. "In situ" studies on N<sub>2</sub> fixation using the acetylene reduction technique. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States, 58: 2071-2078.

- TRAPPE, J.M. e N.C. SCHENCK, 1982. Taxonomy of the fungi forming Endomycorrhizae. A. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (Endogonales). In: SCHENCK, N.C. (ed.). Methods and Principles of Mycorrhizal Research. St. Paul, MN: American Phytopathological Society, p. 1-9.
- TINKER, P.B.H., 1975. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on higher plants. Symp. Soc. Expt. Biol., 29: 325-49.
- VARGAS, M.A.T. e A.R. SUHET, 1980. Efeitos da inoculação e deficiência hídrica no desenvolvimento da soja em um solo de cerrado. R. Bras. Ci. Solo, 4: 17-21.
- VIDOR, C.; E. BROSE e J.S. PEREIRA, 1979. Competição por sítio de infecção nodular entre estirpes de *Rhizobium japonicum* em cultivares de soja (*Glycine max*). Agron. Sulriogr., 15(2): 227-236.
- VIEIRA, C., 1978. Cultura do Feijão. Imprensa Universitária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 146 p.
- WARCUP, J.H. e P.H.B. TALBOT, 1967. Perfect states of rhyzoctonias associated with orchids. New Phytol., 66: 631-641.
- WEAVER, R.W.; L.R. FREDERICK e L.C. DUMENIL, 1972. Effect of soybean cropping and soil properties on numbers of *Rhizobium japonicum* in Iowa soils. Soil Sci., 114(2): 137-140.
- WORRAL, V.S. e R.J. ROUGHLEY, 1976. The effect of moisture stress on infection of *Trifolium subterraneum* L. by *Rhizobium trifolii* Dang. J. Exp. Bot., 27: 1233-1241.
- YATES, M.G., 1980. Biochemistry of nitrogen fixation. In: The Biochemistry of Plants. Academic Press, London, p. 1-40.

7. APÉNDICE I

APÊNDICE ICÁLCULO DO NIVELAMENTO DO TEOR DE NUTRIENTES DOS SOLOS PARA FINS DE ADUBAÇÃO

Solo	pH	C(%)	emg/100 ml de terra						CTC
			PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Al <sup>+3</sup>	H <sup>+</sup> + Al <sup>+3</sup>	
TRL	6,4	0,24	0,03	0,11	1,89	0,47	0,14	1,92	4,39
AQ	4,4	0,33	0,02	0,03	0,01	0,04	1,08	6,72	6,80
LVE	4,6	1,05	0,03	0,11	0,44	0,42	1,68	6,16	7,13

Solo TRL: CTC = 4,39 emg/100 ml de terra

$$\%Ca = \frac{1,89}{4,39} \times 100 = 43\%$$

$$\%mg = \frac{0,47}{4,39} \times 100 = 10,7\%$$

A proporção de Ca e Mg está dentro da adequada (4:1).

$$\%K = \frac{0,11}{4,39} \times 100 = 2,5\%$$

A concentração de K está baixa e, portanto, foi aplicado 0,22 emg/100 ml de solo. Este solo foi tomado como padrão e os demais nivelados a ele.

Solo LVE: CTC = 7,13 emg/100 ml de terra

$$\%Ca = 6,2\%$$

43 - 6,2 = 36,8% de Ca que faltam para igualar ao TRL

7,13 x 0,368 = 2,62 emg/100 ml a ser adicionado

$$\%Mg = 5,9\%$$

10,7 - 5,9 = 4,8% a ser adicionado

7,13 x 0,048 = 0,34 emg/100 ml a ser adicionado

$$\%K = 1,5\%$$

5 - 1,5 = 3,5%

7,13 x 0,035 = 0,25 emg/100 ml de terra a ser adicionado

Solo AQ: CTC = 6,8 emg/100 ml de terra

$$\%Ca = 1,5\%$$

43 - 1,5 = 42,85%

6,8 x 0,4285 = 2,9 emg/100 ml a ser adicionado

$$\%Mg = 0,59\%$$

10,7 - 0,59 = 10,11%

6,8 x 0,1011 = 0,69 emg/100 ml a ser adicionado

$$\%K = 0,44\%$$

5,0 - 0,44 = 4,56%

6,8 x 0,0456 = 0,31 emg/100 ml a ser adicionado

Para o P, estabeleceu-se a dose de 10 ppm para todos os solos.

TRL e LVE - P = 0,03 emg/100 ml de terra. Para alcançar 10 ppm (1,0 emg/100 ml) aplicou-se 0,07 emg/100 ml (de  $\text{PO}_4^{-3}$ ).

AQ - P = 0,02 emg de  $\text{PO}_4^{-3}$ /100 ml de terra. Para alcançar 10 ppm, adicionou-se 0,08 emg de  $\text{PO}_4^{-3}$ /100 ml.

Portanto:

Solo	Quantidade a ser Adicionada (emg/100 ml de terra)			
	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	K <sup>+</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>
TRL	---	---	0,22	0,07
AQ	2,90	0,69	0,31	0,08
LVE	2,62	0,34	0,25	0,07

8. APÉNDICE II



## APÊNDICE II

TABELA 1 - Comparação estatística das médias na interação P x M x E, pelo teste de Tukey, considerando-se o desdobramento: entre doses de P dentro de micorriza e época de colheita.

Tratamentos	Dose de P	Peso Seco da Parte Aérea (g)	Peso Seco de Grão/Planta (g)	Peso Seco de Nódulo/Planta (mg)	% de Infecção na Raiz (*)	Número de Esporos/100 ml de Solo (*)
N - E <sub>1</sub>	P <sup>0</sup>	0,40a	0,00a	0,00a	-	-
	P <sub>1</sub> <sup>1</sup>	0,59a	0,00a	0,00a	-	-
	P <sub>2</sub> <sup>1</sup>	1,52a	0,00a	5,33a	-	-
N - E <sub>2</sub>	P <sup>0</sup>	0,53a	0,01a	0,93a	-	-
	P <sub>1</sub> <sup>1</sup>	2,45b	0,26a	67,44b	-	-
	P <sub>2</sub> <sup>1</sup>	3,11b	0,48a	74,12b	-	-
N - E <sub>3</sub>	P <sup>0</sup>	0,58a	0,08a	0,00a	-	-
	P <sub>1</sub> <sup>1</sup>	2,88b	1,31b	17,00a	-	-
	P <sub>2</sub> <sup>1</sup>	5,20c	2,62c	14,3 a	-	-
M - E <sub>1</sub>	P <sup>0</sup>	0,63a	0,00a	0,00a	42,2a	1460a
	P <sub>1</sub> <sup>1</sup>	1,55ab	0,00a	15,67a	58,8b	1344a
	P <sub>2</sub> <sup>1</sup>	2,08b	0,00a	71,37b	52,9b	1597a
M - E <sub>2</sub>	P <sup>0</sup>	1,46a	0,25a	25,54a	58,8a	3995a
	P <sub>1</sub> <sup>1</sup>	3,85b	0,55a	75,97b	61,3a	4859ab
	P <sub>2</sub> <sup>1</sup>	4,80b	1,03a	108,40c	60,6a	5918b
M - E <sub>3</sub>	P <sup>0</sup>	2,30a	1,18a	1,30a	46,8a	4283a
	P <sub>1</sub> <sup>1</sup>	4,85b	2,17b	5,40a	44,0a	4735a
	P <sub>2</sub> <sup>1</sup>	5,57b	2,91b	5,24a	59,1a	7843b
d.m.s. (0,05)		1,37	0,86	35,69	10,5	2210

Observação: A comparação é somente feita entre as três doses de P, dentro de cada tratamento.

Tratamentos: N - ausência de micorriza  
M - presença de micorriza  
E - época de colheita: E<sub>1</sub> = 30; E<sub>2</sub> = 50 e E<sub>3</sub> = 70 dias após semeadura

(\*) os tratamentos sem micorriza não foram considerados na comparação das médias

médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente