

**PARASITISMO DE FUNGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES E CINÉTICA DE ABSORÇÃO DE FÓSFORO
EM PLANTAS CÍTRICAS**

MARIA INÊS BERNARDI DA CUNHA
Engenheira Agrônoma

Orientadora: Dra. ADRIANA PARADA DIAS DA SILVEIRA

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

PIRACICABA
Estado de São Paulo- Brasil
Julho -1999

ERRATA

Página	Linha	Onde se lê	Leia-se
xi	6	parasitic	parasitism
xi	18	plant dry matter	shoot dry weight
xi	18	root fresh matter	root fresh weight
22	15	1,4	3,6
22	15	0,28	0,72
24	22	ρ -nitrofenolfosfatodissódio hexahidratado	ρ -nitrofenilfosfatodissódico hexahidratado
24	26	(nitrofenol)	(ρ -nitrofenol)
25	24	10 μ M de KH_2PO_4	10 μ M de P na forma de KH_2PO_4
25	24	3 μ M de KH_2PO_4	3 μ M de P na forma de KH_2PO_4
26	4	espectrofômetro 880nm, na qual se usou o ácido ascórbico como agente redutor	espectrofômetro a 880 nm, empregando-se o método fosfomolibdato azul, no qual se usa o ácido ascórbico como agente redutor
44	12	concentração de P	quantidade acumulada de P

À minha querida mãe Cíclia
por toda sua dedicação, força interior,
exemplo de vida e coragem;

Aos meus irmãos Márcia e Antonio Carlos,
pela amizade, incentivo e compreensão

DEDICO

Ao meu pai Euclides (*in memoriam*)
Que sempre soube me incentivar para o
estudo e responsabilidade.

OFEREÇO

“No mistério desta vida
se esconde o sentido da existência,
mas só pode descobrir
quem se deixa conduzir por uma luz maior.
Quem aprende a apreciar pequenos gestos de amor
encontra grande paz
e já não pode mais deixar de ser feliz”.

Pe. Dalcides Biscalquin

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela vida;

À Dra. Adriana Parada Dias da Silveira, pela orientação, amizade e contribuição à minha formação científica e pessoal;

À Dra. Ângela Maria Cangiani Furlani pela orientação, auxílio prestados nos ensaios de cinética e fosfatase e sugestões apresentadas;

Às pesquisadoras da Seção de Microbiologia do Solo do IAC, Dra. Maria Luiza Lombardi e Dra. Sueli Freitas dos Santos, pelo incentivo, confiança e agradável convivência;

Ao Prof. Dr. Flávio Tavares pelas sugestões apresentadas;

Às Profas. Dra. Elke J. B. N. Cardoso e Dra. Regina Monteiro pelas sugestões apresentadas;

A todos funcionários da Seção de Microbiologia do Solo, em especial, à Maria Tereza Bueno Mangussi pelo auxílio na determinação dos nutrientes e constante apoio;

A todos estagiários da Seção de Microbiologia do Solo, em especial, à Deise Renata Gonzalez Agnani pelo auxílio, amizade e pelos momentos divertidos compartilhados durante a realização deste trabalho;

Aos amigos, Sara, Cynthia e Ivan pela amizade, colaboração e incentivo;

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de estudo;

À FAPESP pelos materiais e equipamentos utilizados;

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” pela oportunidade;

Ao Instituto Agrônomo de Campinas, que possibilitou a realização deste trabalho;

A todos aqueles que, de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE FIGURAS.....	ii
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO	ix
SUMMARY.....	xi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Ocorrência e Efeitos de Micorriza Arbuscular em Citros.....	4
2.2 Depressão de crescimento de plantas induzidas por altas doses de P e FMAs	8
2.3 Atividade de Fosfatases em fungos micorrízicos.....	12
2.4 Absorção de P e Cinética de absorção iônica pelas plantas	14
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Substrato utilizado	19
3.2 Os porta-enxertos.....	19
3.3 Inóculo dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs).....	20
3.4 Fontes de fósforo e demais nutrientes.....	20
3.5 Experimentos realizados	21
3.5.1 Experimento 1.....	21
3.5.2 Experimento 2.....	21
3.6 Variáveis analisadas.....	23
3.7 Determinação da atividade de fosfatase ácida em raiz de planta intacta	24
3.8 Cinética de absorção de fósforo	25
3.9 Análise Estatística.....	27

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 Crescimento das plantas.....	28
4.2 Porcentagem de colonização radicular.....	36
4.3 Absorção de nutrientes pelas plantas cítricas	38
4.4 Cinética de absorção radicular de P	53
5 CONCLUSÕES	80
ANEXOS.....	81
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Altura (A) e Matéria seca da parte aérea (B) do porta-enxerto limão cravo, na ausência (Testemunha) e presença do FMA (<i>Glomus etunicatum</i>), adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.....	29
2 Porta-enxerto limão cravo, aos 90 dias após repicagem das plântulas, na ausência (A) e presença do FMA (B), adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.....	30
3 Altura (A) e Matéria seca da parte aérea (B) do porta-enxerto tangerina cleópatra, na ausência (Testemunha) e presença do FMA (<i>Glomus intraradices</i>), adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.....	31
4 Porta-enxerto tangerina cleópatra, aos 210 dias após repicagem das plântulas, na ausência (A) e presença do FMA (B), adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.....	32
5 Comprimento (A) e Área radicular (B) do porta-enxerto limão cravo, na ausência (Testemunha) e presença do FMA (<i>Glomus etunicatum</i>), adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.....	35

6	Porcentagem de comprimento de raiz colonizada dos porta-enxertos limão cravo (A) e tangerina cleópatra (B) adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.....	37
7	Concentração (A) e quantidade de P total absorvido (B) no porta-enxerto limão cravo, na ausência (Testemunha) e presença do FMA (<i>Glomus etunicatum</i>), adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.....	39
8	Concentração (A) e quantidade de P total absorvido (B) no porta-enxerto tangerina cleópatra, na ausência (Testemunha) e presença do FMA (<i>Glomus intraradices</i>), adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.....	41
9	Eficiência de utilização de P na parte aérea dos porta-enxertos limão cravo (A) e tangerina cleópatra (B) não micorrizados (Testemunha) ou não micorrizados (<i>Glomus etunicatum/ Glomus intraradices</i>) adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.....	43
10	Atividade da fosfatase ácida <i>in vivo</i> nas raízes dos porta-enxertos limão cravo (A), e tangerina cleópatra (B) não micorrizados (Testemunha) ou micorrizados (<i>Glomus etunicatum/ Glomus intraradices</i>) adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.....	46
11	Quantidade total absorvida de N, Ca, Mg e K na parte aérea do porta-enxerto limão cravo, não micorrizado (Testemunha) ou micorrizado (<i>Glomus etunicatum</i>) adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.....	49

- 12 Quantidade total absorvida de N, Ca, Mg e K na parte aérea do porta-enxerto tangerina cleópatra, não micorrizado (Testemunha) ou micorrizados (*Glomus intraradices*) adicionando-se doses crescentes de P ao substrato..... 50
- 13 Quantidade total absorvida de Mn, Zn, Cu e Fe na parte aérea do porta-enxerto limão cravo não micorrizado (Testemunha) ou micorrizados (*Glomus etunicatum*), adicionando-se doses crescentes de P ao substrato..... 51
- 14 Quantidade total absorvida de Mn, Zn, Cu e Fe na parte aérea do porta-enxerto tangerina cleópatra, não micorrizado (Testemunha) ou micorrizado (*Glomus intraradices*), adicionando-se doses crescentes de P ao substrato..... 52
- 15 Curvas de exaustão de P da solução, em função do tempo de absorção do porta-enxerto limão cravo não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (Ge- *Glomus etunicatum*) com cinco níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0 mgP L⁻¹; P3- 6,0 mgP L⁻¹; P4- 9,0 mgP L⁻¹ e P5-12,0 mgP L⁻¹) . Curvas traçadas segundo equação de Michaelis-Menten..... 54
- 16 Curva de exaustão de P da solução, em função do tempo de absorção do porta-enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (Gi-*Glomus intraradices*) com quatro níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0 mgP L⁻¹; P3- 9,0 mgP L⁻¹; P4- 12,0 mgP L⁻¹) Curvas traçadas segundo equação de Michaelis-Menten..... 55

- 17-Parâmetros cinéticos (V_{max} e K_m) de absorção de P do porta enxerto limão cravo não micorrizado (T- Testemunha) ou micorrizado (*Ge-Glomus etunicatum*) com cinco níveis de P (P1-1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0 mgP L⁻¹; P3- 6,0 mgP L⁻¹; P4- 9,0 mgP L⁻¹ e P5- 12,0 mgP L⁻¹)..... 60
- 18-Matéria fresca das raízes (A) e Concentração mínima (B) do porta-enxerto limão cravo não micorrizado (T- Testemunha) ou micorrizado (*Ge- Glomus etunicatum*) com cinco níveis de P (P1-1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0 mgP L⁻¹; P3- 6,0 mgP L⁻¹; P4- 9,0 mgP L⁻¹ e P5 mgP L⁻¹)..... 61
- 19-Parâmetros cinéticos (V_{max} , K_m) de absorção de P do porta enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (T- Testemunha) e micorrizado (*Gi-Glomus intraradices*) com quatro níveis de P (P1-1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0 mgP L⁻¹; P3- 9,0 mgP L⁻¹ e P5- 12,0 mgP L⁻¹)..... 64
- 20- Matéria fresca das raízes (A) e Concentração mínima (B) do porta-enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (T- Testemunha) e micorrizado (*Gi- Glomus intraradices*) com quatro níveis de P(P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2-3,0 mgP L⁻¹; P3-9,0 mgP L⁻¹e P4-12,0 mgP L⁻¹)..... 65
- 21 Influxo líquido de P por unidade de massa fresca de raiz, em função da concentração de P na solução, no porta enxerto limão cravo não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (*Ge-Glomus etunicatum*) com cinco níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0 mgP L⁻¹; P3- 6,0 mgP L⁻¹; P4- 9,0 mgP L⁻¹ e P5- 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis Menten: $I_{lig} = V_{max} \cdot (C - C_{min}) / (K_m + (C - C_{min}))$ 67
- 22 Influxo líquido de P por planta, em função da concentração de P na solução, no porta enxerto limão cravo não micorrizado (T-

- Testemunha) e micorrizado (*Ge-Glomus etunicatum*) com cinco níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0 mgP L⁻¹; P3- 6,0 mgP L⁻¹; P4- 9,0 mgP L⁻¹ e P5- 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis Menten: $I_{lig} = \frac{V_{max} \cdot (C - C_{min})}{K_m + (C - C_{min})}$ 68
- 23 Influxo de P por planta, em função da concentração de P na solução, no porta enxerto limão cravo não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (*Ge-Glomus etunicatum*) com cinco níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0 mgP L⁻¹; P3- 6,0 mgP L⁻¹; P4- 9,0 mgP L⁻¹ e P5- 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis Menten: $I = \frac{V_{max} \cdot C}{K_m + C}$ 69
- 24 Influxo de P por unidade de massa de matéria fresca de raiz, em função da concentração de P na solução, no porta enxerto limão cravo não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (*Ge-Glomus etunicatum*) com cinco níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0 mgP L⁻¹; P3- 6,0 mgP L⁻¹; P4- 9,0 mgP L⁻¹ e P5- 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis Menten: $I = \frac{V_{max} \cdot C}{K_m + C}$ 70
- 25 Influxo líquido de P por unidade de massa de matéria fresca de raiz, em função da concentração de P na solução, no porta enxerto tangerina cleópatra não micorrizado. (T-Testemunha) e micorrizado (*Gi-Glomus intraradices*) com quatro níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0 mgP L⁻¹; P3- 9,0 mgP L⁻¹; P4- 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis Menten: $I_{liq} = \frac{V_{max} \cdot (C - C_{min})}{K_m + (C - C_{min})}$ 76

- 26 Influxo líquido de P por planta, em função da concentração de P na solução, no porta enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (*Gi-Glomus intraradices*) com quatro níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0 mgP L⁻¹; P3- 9,0 mgP L⁻¹; P4- 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis Menten: $I_{liq} = V_{max}(C - C_{min}) / K_m + (C - C_{min})$ 77
- 27 Influxo de P por unidade de massa de matéria fresca de raiz, em função da concentração de P na solução, no porta enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (*Gi-Glomus intraradices*) com quatro níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0 mgP L⁻¹; P3- 9,0 mgP L⁻¹; P4- 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis Menten: $I = V_{max}.C / K_m + C$ 78
- 28 Influxo de P por planta em função da concentração de P na solução, no porta enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (*Gi-Glomus intraradices*) com quatro níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0 mgP L⁻¹; P3- 9,0 mgP L⁻¹; P4- 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis Menten: $I = V_{max}.C / K_m + C$ 79

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Concentração dos nutrientes usados na solução nutritiva de crescimento, de absorção de fosfato no ensaio de cinética e na determinação da atividade de fosfatase.....	22
2 Parâmetros cinéticos (V_{max} , K_m e C_{min}) de absorção de P e matéria fresca de raiz do porta-enxerto limão cravo não micorrizado (T-Testemunha) ou micorrizado (Ge- <i>Glomus etunicatum</i>) com cinco níveis de P (P1-1,5 mgP L ⁻¹ ; P2- 3,0 mgP L ⁻¹ ; P3- 6,0 mgP L ⁻¹ ; P4- 9,0 mgP L ⁻¹ e P5- 12,0 mgP L ⁻¹).....	56
3 Parâmetros cinéticos (V_{max} , K_m e C_{min}) de absorção de P e matéria fresca de raiz do porta-enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (T-Testemunha) ou micorrizado (Gi- <i>Glomus intraradices</i>) com quatro níveis de P (P1-1,5 mgP L ⁻¹ ; P2- 3,0 mgP L ⁻¹ ; P3- 9,0 mgP L ⁻¹ ; P4- 12,0 mgP L ⁻¹).....	57

PARASITISMO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E CINÉTICA DE ABSORÇÃO DE FÓSFORO EM PLANTAS CÍTRICAS

Autora: MARIA INÊS BERNARDI DA CUNHA

Orientadora: Dra. ADRIANA PARADA DIAS DA SILVEIRA

RESUMO

Com o objetivo de estudar o efeito parasítico de fungos micorrízicos arbusculares em altas concentrações de fosfato e sua relação com os parâmetros cinéticos de absorção de fósforo (V_{max} , K_m , C_{min}) e com o influxo de P, foram realizados dois experimentos, em casa de vegetação, com delineamento inteiramente casualizado. O primeiro experimento, em esquema fatorial 5 X 2, empregou o porta-enxerto limão cravo (*Citrus limonia*), cinco doses crescentes de P (1,5; 3,0; 6,0; 9,0 e 12,0 mgP L⁻¹) na presença e ausência do fungo micorrízico, *Glomus etunicatum*. O segundo experimento, realizado em esquema fatorial 4 X 2, utilizou o porta-enxerto tangerina cleópatra (*Citrus reshni*), 4 doses de P (1,5; 3,0; 9,0 e 12,0 mgP L⁻¹), na presença e ausência do fungo micorrízico, *Glomus intraradices*.

Os parâmetros cinéticos, foram determinados pelo método de exaustão do P da solução nutritiva, utilizando planta intacta por um período de 120 horas. As variáveis analisadas foram: altura da planta, matéria seca da parte aérea, matéria fresca de raiz, área e volume do sistema radicular, teores de macro e micronutrientes na parte aérea, colonização radicular, atividade *in vivo* de fosfatase ácida nas raízes, parâmetros cinéticos de absorção de P (V_{max} , K_m e C_{min}) e influxo líquido de P.

Houve depressão no crescimento dos porta-enxertos limão cravo e tangerina cleópatra quando micorrizados, nas doses mais elevadas de P aplicadas ao substrato. A depressão no crescimento das plantas micorrizadas, ou seja, um efeito parasítico da colonização pelo fungo micorrízico, causou alteração nos parâmetros cinéticos de absorção radicular de P em ambos os porta-enxertos. O porta-enxerto limão cravo colonizado por *Glomus etunicatum* apresentou uma diminuição na V_{max} , expressa por planta e aumento na C_{min} , enquanto o efeito parasítico de *Glomus intraradices* no porta-enxerto tangerina cleópatra relacionou-se a diminuição na V_{max} expressa por planta e aumento no K_m e C_{min} .

PARASITISM OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI AND KINETICS OF PHOSPHORUS UPTAKE ON CITRUS

Author: MARIA INÊS BERNARDI DA CUNHA

Adviser: ADRIANA PARADA DIAS DA SILVEIRA

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the parasitic of arbuscular mycorrhizal fungi in high P concentrations and its relation with the phosphorus uptake kinetics on citrus rootstocks.

Two experiments were conducted under greenhouse conditions, in completely randomized designs. In the first experiment, arranged in a 5X2 factorial, the *Citrus limonia* rootstock was grown in five levels of P (1,5; 3,0; 6,0; 9,0 and 12,0 mg L⁻¹ of P) in the presence and absence of mycorrhizal fungus, *Glomus etunicatum*. In the second experiment, arranged in a 4X2 factorial, the *Citrus reshni* rootstock was used grown in four levels of P (1,5; 3,0; 9,0 and 12,0 mgP L⁻¹) in the presence and absence of mycorrhizal fungus, *Glomus intaradices*.

The kinetic parameters were determined by the phosphorus depletion method in the nutrient solution, using intact plants through out an 120 hour period. The following variables were determined: plant height, plant dry matter, root fresh matter, root area and length, shoot macro and micronutrient concentration, root colonization, *in vivo* root activity of acid phosphatase, P-uptake kinetic parameters (V_{max}, K_m, C_{min}) and net P influx.

There was growth depression in mycorrhizal citrus plants at high P concentrations applied in the growth media. This parasitic effect of the mycorrhizal

fungi altered the P-uptake kinetic parameters in the both rootstocks. Rangpur lime (*Citrus limonia*) colonized by *Glomus etunicatum* showed a decrease on V_{max} per plant (whole root system) and increase on C_{min} , while, the parasitic effect of *Glomus intraradices* on *Citrus reshni* rootstock was related to a decrease on V_{max} expressed per plant and an increase on K_m and C_{min} .

1 INTRODUÇÃO

O Brasil, por apresentar condições edafo-climáticas apropriadas para a citricultura, é atualmente o maior produtor mundial de citros. A cultura encontra-se disseminada por todo o território nacional, envolvendo a participação de importantes segmentos não só da área agrícola como financeira, industrial, de transportes e outras, firmando sua importância econômica e social.

Embora as condições brasileiras sejam bastante favoráveis à cultura, a média de produção de frutos ainda é baixa, necessitando de diversificação dos porta-enxertos e de melhoria nas condições fitossanitárias e qualidade dos frutos. O limão cravo (*Citrus limonia*) é o principal porta-enxerto usado pelos citricultores brasileiros, cerca de 90% dos pomares encontram-se enxertados sobre ele, dado suas características de precocidade, produção elevada e constante (Campos & Prates, 1985). A tangerina cleópatra é uma planta de porte grande e produtiva, que vem se destacando principalmente por apresentar maior tolerância ao declínio dos citros (Beretta & Lefèvre, 1986; Negri, 1997) e média resistência à gomose e à seca (Negri, 1997; Pompeu Júnior, 1991).

As micorrizas arbusculares (MAs) auxiliam na absorção de nutrientes do solo para a planta, especialmente os de baixa mobilidade, como o P (Harley & Smith, 1983; Safir, 1987). Como o P é absorvido pelas raízes pouco além da rizosfera (Nye & Tinker, 1977), as hifas dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) podem elevar sua aquisição, pela extensão da superfície da zona de absorção radicular (Li et al., 1991; Johansen et al., 1993). Entretanto, o crescimento do fungo além da zona de depleção seja um dos fatores essenciais para a maior absorção de P, mudanças fisiológicas na planta

micorrizada também estão envolvidas neste processo, podendo alterar características relacionadas com a cinética de absorção, translocação e utilização do P (Cooper, 1984). O fato das raízes micorrizadas permanecerem ativas por mais tempo pode estar relacionada à maior absorção de P (Bialeski, 1973). Além disso, estudos envolvendo cinética de absorção radicular de P têm mostrado que as plantas micorrizadas apresentam menor K_m , ou seja maior afinidade ao P (Cress et al., 1979), menor C_{min} , isto é, maior capacidade de absorver P quando em baixa disponibilidade no substrato (Silveira, 1990) e maior V_{max} , o que sugere maior número de sítios de absorção de P (Karunaratne et al., 1986; Faquin et al., 1990).

A eficiência da associação micorrízica depende da interação entre a planta hospedeira, o solo, o fungo e o ambiente. A influência desses fatores no estabelecimento e desempenho da micorriza deve ser estudado para possibilitar o seu manejo adequado. No geral, em condições de baixa disponibilidade de P no solo, a associação mostra-se eficiente gerando incremento no desenvolvimento da planta, principalmente as dependentes à micorriza, como é o caso das plantas cítricas (Cardoso et al., 1986) No entanto, a micorrização de plantas crescendo em solos onde há alta concentração de P disponível pode resultar em redução no crescimento da planta, ou seja, o FMA adquire um caráter parasítico. Esses sintomas, especialmente em plantas cítricas, têm sido observados com frequência (Cardoso et al., 1986, Antunes & Cardoso, 1991, Peng et al., 1993, Graham et al., 1997), porém as doses inibitórias dependem da espécie do fungo, da planta hospedeira e do substrato (Graham et al., 1982; Oliveira & Jesus, 1987).

Além da hipótese levantada nesse trabalho, de que alterações na cinética de absorção radicular de P em plantas cítricas micorrizadas poderiam estar relacionadas à depressão de crescimento, outras têm sido estudadas buscando a elucidação dos mecanismos envolvidos. Assim, poderia estar ocorrendo competição entre a planta hospedeira e o FMA por carboidratos (Buwalda & Goh, 1982), ocasionando a formação de um dreno de carbono da planta para manutenção das estruturas fúngicas (Peng et al., 1993), competição por P (Crush, 1973), patogenicidade transitória devido a supressão do sistema de defesa da planta (Kierman et al., 1983; Lambais & Medhdy, 1993),

diminuição da atividade no micélio extrarradicular (Melloni & Cardoso, 1999; Gomes, 1997).

O presente trabalho teve como objetivo determinar os parâmetros cinéticos (V_{max} , K_m e C_{min}) de absorção de P e o influxo de P por plantas cítricas micorrizadas que apresentaram depressão no crescimento devido alta concentração de fosfato no substrato. Tal estudo visa avaliar como a cinética de absorção de P está envolvida no processo de depressão de crescimento de plantas micorrizadas, em altas doses de P.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ocorrência e Efeitos de Micorriza Arbuscular em Citros

As micorrizas arbusculares são associações simbióticas mutualísticas entre fungos do solo da ordem Glomales dos Zigomicetos e raízes de plantas (Morton & Beny, 1990). O principal benefício da associação está relacionado ao aumento da absorção de nutrientes, principalmente os de baixa mobilidade, devido à presença das estruturas fúngicas. Benefícios como maior tolerância ao estresse hídrico (Nielsen & Safir, 1982) e a fitopatógenos também são conhecidos (Davis & Menge, 1980; Zambolim, 1986).

O estabelecimento da associação micorrízica, requer uma seqüência de interações entre as células das raízes dos vegetais e as hifas dos fungos (Siqueira, 1991, Koide & Schreiner, 1992). A transferência de carboidratos da planta para o fungo e a de nutrientes minerais absorvidos pelas hifas no solo para a planta representam as bases de funcionamento e dos efeitos desta simbiose. Para Gianinazzi-Pearson (1992) os simbiontes apresentam-se em perfeito grau de integração morfológica e fisiológica, resultando um sistema compatível e funcional.

A impossibilidade da produção de inóculo em meio axênico inviabiliza a utilização de FMAs em grandes áreas no campo, principalmente em relação à quantidade de inoculante. Entretanto culturas que passam pela fase de viveiros para a produção de mudas, como os citros, podem ser micorrizadas durante esse estágio, tornando viável a utilização de FMAs em larga escala (Mosse, 1981).)

Para Berta et al. (1990) e Robinson (1994) a arquitetura radicular influencia tanto na nutrição como na resposta à micorrização. O sistema radicular das plantas cítricas é caracterizado pelo número reduzido de radículas, o que as torna dependentes das associações micorrízicas (Baylis, 1975; Platt & Optiz, 1973; Abott & Robson, 1984).

Experimentos realizados na Califórnia (Newcomb, 1975; Ferguson & Menge, 1982), Texas (Timmer & Leyden, 1980) e Flórida (Nemec, 1978) mostraram que as plantas cítricas são altamente dependentes das associações micorrízicas, apresentando resposta à inoculação. Neill (1944) citado por Marx et al. (1971), avaliando a infecção micorrízica em raízes de diversas variedades de citros da Nova Zelândia e Austrália, encontrou FMAs associados a todas as raízes. Schenck & Perez (1987) encontraram mais de 100 espécies de FMAs associados às raízes de plantas cítricas no campo. Zambolim & Pinto (1986) isolaram espécies de *Glomus* e *Acaulospora* de pomares de Minas Gerais. Menge et al. (1978a) e Plenchette et al. (1983) atribuíram a redução do crescimento das plantas ao desbalanço de nutrientes no solo e à eliminação de FMAs nativos. Kleinschmidt & Gerdemann (1972) observaram que a inoculação do FMA *Glomus mosseae* em solos esterilizados revertia sintomas de clorose e desenvolvimento reduzido das plantas, tornando-se evidente que, com a fumigação do solo, ocorria a eliminação de FMAs, levando as plantas a apresentarem teores deficientes de nutrientes, principalmente o P, Zn e Cu.

Já se observou que em substratos fumigados com brometo de metila, caracterizados pela ausência de FMAs, torna-se necessária a adição de quantidades elevadas de adubações fosfatadas para a produção de mudas cítricas (Bueno, 1984; Carvalho, 1987). Tucker & Anderson (1974), citados por Cambraia (1979), observaram que em 5 semanas após a aplicação de doses elevadas de P em solo fumigado com brometo de metila, várias espécies de plantas cítricas com crescimento limitado apresentaram coloração normal nas folhas e novos fluxos de crescimento. Plântulas crescidas em substratos fumigados apresentaram anormalidades no crescimento e clorose generalizada (Hatting & Gerdemann, 1975; Timmer & Leyden, 1980).

Algumas espécies de citros são grandemente dependentes dos FMAs (Graham, 1986). Entretanto, Fontanezzi (1989) observou diferenças no grau de dependência

micorrízica de três porta-enxertos ao FMA *Glomus clarum*, variando-se a dose de superfosfato simples aplicada ao solo. Cardoso et al. (1986) constataram que a micorrização pode reduzir substancialmente a aplicação de adubos fosfatados ao substrato, observando também maior crescimento do limão volkameriano comparado com limão cravo e tangerina cleópatra, quando colonizados com *Gigaspora margarita*. Weber et al. (1990), estudando o efeito da adubação orgânica e *Glomus etunicatum* sobre o crescimento de quatro porta-enxertos, constataram redução no crescimento de todos porta-enxertos que não foram colonizados, sendo que a maior colonização radicular foi observada nos porta-enxertos limão cravo e limão volkameriano.

Oliveira & Jesus (1987) constataram relação direta entre dados de crescimento, infecção radicular e produção de clamidosporos de *Glomus etunicatum* em mudas cítricas, em solo natural em relação a um solo esterilizado, observando maior dependência micorrízica da tangerina cleópatra em relação ao limão cravo. Observaram ainda que a utilização tanto de solo esterilizado como de não esterilizado, ambos sem adubação fosfatada, ocasionou diminuição no crescimento dos porta-enxertos quando feita a introdução de FMAs no solo, sendo esta redução mais acentuada no limão cravo na presença de *Glomus intraradices*.

A afinidade entre o endófito e a planta hospedeira é um dos fatores que concorre para o sucesso da associação, sendo que espécies de FMAs diferem quanto à eficiência na promoção de crescimento de plantas cítricas (Fontanezzi, 1989; Gomes, 1997). Em citros, a resposta à inoculação com FMAs está associada à disponibilidade de P no solo (Menge et al., 1978b), à colonização radicular, à expansão do micélio externo às raízes (Graham, 1982) e às cultivares de citros e espécies de FMAs associadas às raízes (Caldeira et al., 1983; Nemeč, 1978 e Menge et al., 1977). Souza et al. (1991) verificaram que o FMA *Glomus clarum* foi mais dependente de fontes solúveis de P para favorecer o crescimento do porta-enxerto limão cravo. Nemeč (1978) estudou o efeito de três FMAs do gênero *Glomus* em seis porta-enxertos, concluindo que nos tratamentos onde não se adicionou fósforo houve aumentos significativos no desenvolvimento das plantas pelas três espécies fúngicas, observando também diferença na eficiência delas para um mesmo porta-enxerto e adubação fosfatada. Foi sugerida que as diferenças,

quanto à dependência micorrízica, eram devidas às características inerentes às raízes, como presença e comprimento de pêlos absorventes e à taxa de crescimento. Nemeč & Patterson (1979) estudaram o efeito de *Glomus etunicatum* e *Glomus mosseae* em solos fumigados ou não e concluíram que as respostas dos FMAs introduzidos nos solos não fumigados foi menor do que a de solos fumigados, devido à ação de FMAs nativos. Mahoney & Nemeč (1979) observaram que os porta-enxertos tangerina cleópatra e laranja azeda colonizados por *Glomus etunicatum* apresentaram crescimento duas vezes maior que os não micorrizados, quando levados ao campo. Menge et al. (1982a) observaram aumento do desenvolvimento de *Poncirus trifoliata* colonizado com *Glomus fasciculatum* em solos fumigados com brometo de metila. Manjunath et al. (1983) estudaram o efeito da inoculação do FMA *Glomus fasciculatum* em algumas espécies cítricas e concluíram que mesmo na presença dos fungos nativos, os fungos introduzidos foram benéficos às plantas.

No geral, a absorção e acúmulos de nutrientes nas plantas micorrizadas é significativamente maior que nas plantas não micorrizadas, o que já foi inúmeras vezes demonstrado nas plantas cítricas. Menge et al. (1978a) concluíram que os porta-enxertos citrange troyer e laranja azeda micorrizados e sem adição de fertilizantes fosfatados apresentaram maiores concentrações de P, Zn, Mn e Fe nos tecidos. Camargo (1989) observou que as plantas do porta-enxerto limão cravo colonizados por *Acaulospora morrowae* apresentaram maiores porcentagens de colonização micorrízica e maiores níveis de P na matéria seca total quando comparadas com as colonizadas por *Glomus clarum* ou na ausência de FMA. Fontanezzi (1989) obteve aumento significativo nos teores de P na matéria seca total do porta-enxerto tangerina cleópatra colonizada por *Glomus clarum*. Zambolim e Pinto, citados por Zambolim & Siqueira (1985), observaram que o porta-enxerto limão cravo micorrizado apresentou aumentos nos teores de P, K, Ca e Mg, respectivamente de 19,3; 18,7; 11,8 e 9,1 vezes em relação à testemunha. Graham et al. (1996), estudando quatro espécies de *Glomus* formando micorriza em *Citrus aurantium*, concluíram que *Glomus etunicatum* foi a espécie mais lenta na colonização radicular, provocando menor desenvolvimento e teor de P na matéria seca total da planta.

2.2 Depressão de crescimento de plantas induzidas por altas doses de P e FMAs

A absorção de P em contato com a superfície das raízes é proporcional à extensão do sistema radicular, à concentração de P na sua superfície e à capacidade das raízes absorverem P (Goedert & Souza, 1984). Como os teores de P disponível nos solos brasileiros encontram-se abaixo de 10 mgP kg^{-1} (Malavolta, 1980), tornam-se necessárias aplicações de fertilizantes fosfatados para obtenção de produções mais elevadas. As plantas cítricas requerem quantidades relativamente pequenas de P do solo (Malavolta et al., 1974). Entretanto, como grande parte dos fosfatos adicionados, tornam-se indisponíveis para a planta (Buckman & Brady, 1974), é necessário adicionar quantidades maiores de P para o desenvolvimento da cultura (Raij et al., 1982). As plantas cítricas requerem elevadas adubações fosfatadas na fase inicial de crescimento (Carvalho, 1987, Camargo, 1989). Plântulas de citros apresentaram paralisação do crescimento após serem transferidas para solução nutritiva deficiente em P. O crescimento foi novamente estimulado quando estas plantas foram transferidas para solução com níveis normais de P (Achituv, 1977).

A maioria dos vegetais apresenta baixa eficiência em extrair P do solo e baixo aproveitamento do P no metabolismo interno (Goedert & Souza, 1984; Smith et al., 1986). No caso de plantas cítricas que apresentam sistema radicular pobre em pêlos absorventes, a absorção de P torna-se ainda mais difícil.

O clima e a idade da planta influenciam na resposta das plantas cítricas à adição de adubos fosfatados, mas o principal fator está relacionado ao teor inicial de P no solo. Sabe-se que as plantas novas absorvem fosfato muito mais rapidamente que raízes de plantas mais velhas (Malavolta, 1980). Bueno (1984) e Nicoli (1982) encontraram efeitos positivos de doses crescentes de P no crescimento inicial de diferentes porta-enxertos cítricos em diferentes condições de cultivo. Em viveiro, aplicações de adubos fosfatados proporcionaram aumento no crescimento das plantas (Souza, 1990). Bueno (1984) observou acréscimo no crescimento de plantas cítricas até o nível de 583 mgP kg^{-1} , a partir desse valor notou-se efeito depressivo. Para o autor, o efeito depressivo de altas doses de P pode ser devido a distúrbios metabólicos. Paula (1991) só obteve maior

incremento na altura das plantas na menor dose de P aplicada. A absorção excessiva de P pode provocar um desbalanço na absorção de outros nutrientes (Malavolta, 1980), toxidez e diminuição da quantidade de raízes ativas e conseqüentemente diminuição no crescimento (Malavolta & Violante Netto, 1989). O crescimento do limão cravo e de outros porta-enxertos de citros aumentaram em resposta a níveis crescentes de P nos solos ou substratos de cultivo, decorrentes da adição de superfosfato simples, fosfatos naturais e outras fontes de P, onde o maior crescimento está relacionado à maior absorção de P (Bueno, 1984; Camargo, 1989). Silva (1981) avaliou os efeitos de superfosfato simples e outros nutrientes requeridos pelo limão cravo no seu desenvolvimento inicial e concluiu que as plantas responderam até a aplicação de 1280g de P_2O_5 m^{-3} de substrato, no qual o P foi responsável por 36% do acréscimo na matéria seca da parte aérea. Plântulas de laranjeira abacaxi, com aplicação de 500 mg kg^{-1} de P na forma de superfosfato simples e superfosfato triplo, apresentaram maior crescimento enquanto que na maior dose, 2500 mgP kg^{-1} , ocorreu a morte das plântulas (Rasmussen & Smith, 1959). Para Camargo (1989) a eficiência da adubação fosfatada pode ser verificada através da interação do P com outros nutrientes. Aumentos nas doses de adubação fosfatada acarretaram reduções nos teores de N na matéria seca da parte aérea de plantas cítricas em pomares em formação e adultos (Fonseca, 1991). Entretanto Fortes (1991) não obteve efeito de doses crescentes de fertilizantes fosfatados sobre o teor de N na matéria seca das plantas cítricas em vasos.

Menge et al. (1982b) relataram que plantas de citrange troyer poderiam ser beneficiadas pela inoculação de FMAs em solos com menos de 34 mgP kg^{-1} . Graham & Timmer (1984) observaram melhor crescimento e maior infecção radicular de plantas colonizadas por FMAs, quando cultivadas em substratos organo- minerais que indicaram teores abaixo de 8 mgP disponível kg^{-1} de solo, concluindo que o nível de fertilidade do solo ou substrato de cultivo, principalmente o conteúdo de P, é o que mais influencia a associação micorrízica.

A disponibilidade de fósforo no solo é responsável pelo equilíbrio entre o dreno de fotoassimilados da planta e os benefícios trazidos pelo fungo à planta (Siqueira &

Colozzi- Filho, 1986). Para Miranda (1989) a eficiência da associação micorrízica está vinculada a um teor mínimo de disponibilidade de P no solo.

A associação micorrízica é favorável à planta quando o suprimento de nutrientes, principalmente o P, for baixo, ou se existirem outros fatores que limitem o desenvolvimento das raízes (Siqueira & Saggin Júnior, 1995). Quando há altos níveis de P disponível para a planta, esta não necessita do FMA, criando uma condição desfavorável para o desenvolvimento da associação, podendo a planta apresentar sintomas de depressão de crescimento quando comparada com a planta não colonizada, sendo que a simbiose passa a ter natureza parasítica (Menge et al., 1978; Cardoso et al., 1986 ; Fontanezzi, 1989; Antunes & Cardoso, 1991; Saggin Júnior et al., 1994). Vale ressaltar que as doses consideradas inibitórias dependem da espécie do fungo, da planta hospedeira e do substrato. Sylvia & Schenck (1983) observaram que algumas espécies de FMAs apresentam-se mais tolerantes ao excesso de P no solo.

Sabe-se que na simbiose há um dreno de carbono da planta para manutenção e crescimento das estruturas fúngicas, porém em condições desfavoráveis, ou seja , altos níveis de P no solo, ocorre competição entre a planta e o FMA por carboidratos, diminuindo assim a colonização micorrízica e o crescimento da planta (Buwalda & Goh, 1982; Peng et al, 1993). Nas plantas micorrizadas observa-se elevação de P por unidade de matéria seca devido ao maior aproveitamento de P, podendo ocorrer um desbalanço de outros nutrientes, acarretando danos relacionados ao seu desenvolvimento .Essa depressão de crescimento das plantas micorrizadas sob altas concentrações de fosfato ainda não está bem esclarecida. . Outras hipóteses tem sido investigadas, dentre as quais se supõe a existência de patogenicidade em altas doses de P, levando o FMA a apresentar natureza parasítica (Lambais & Mehdy, 1993); competição de P entre a planta e o fungo (Crush, 1973), sendo esta hipótese não satisfatória uma vez que há ocorrência de depressão de crescimento mesmo em condições de alta disponibilidade de P, onde a competição por P é pouco provável; a produção de toxinas constitui uma das estratégias para microrganismos colonizarem o tecido do hospedeiro, sendo capazes de alterar a fisiologia do hospedeiro, ocasionado sintomas de doenças. Em FMA, a produção de toxinas é desconhecida, o FMA em altas concentrações deixaria de produzir compostos

essenciais para o estabelecimento da simbiose mutualística sendo produzida só em baixas concentrações de P; alterações da taxa fotossintética e utilização de fotossintatos, a alteração na disponibilidade de P acarretaria prejuízos nos processos de fotossíntese e utilização de carboidratos (Qiu & Israel, 1992); alteração da relação entre a biomassa fúngica intra e extrarradicular, em condições limitantes de P, o crescimento de hifas extrarradiculares favoreceriam a promoção de crescimento do hospedeiro, enquanto em condições não limitantes se observa depressão de crescimento das plantas, o que poderia ser explicado pelo crescimento de hifas extrarradiculares, além da capacidade de manutenção do sistema, provocando desbalanço energético resultando em sintomas de depressão (Melloni, 1996; Gomes, 1997).

Alguns trabalhos têm investigado uma possível relação entre aumento no P disponível, redução na formação do micélio extrarradicular e depressão de crescimento. Abbott & Robson (1984), estudando o efeito de P sobre a formação de hifas extrarradiculares do FMA *Glomus fasciculatum* no solo, observaram que o comprimento máximo das hifas do FMA formado por grama de solo e por cm de raiz colonizada de trevo ocorria nos tratamentos que receberam um grama de superfosfato simples (33 mg de P). Nas doses mais elevadas de superfosfato, houve redução na formação de hifas externas demonstrando que a relação entre o micélio externo e o interno depende da concentração de P no solo. Crush (1976) constatou que em doses elevadas de P, o comprimento do micélio externo era estimulado, mas ocorria redução no desenvolvimento da planta em até 16%, supondo a ocorrência de competição entre o fungo e a planta por fotoassimilados. Miranda et al. (1989), trabalhando com sorgo colonizado por *Glomus macrocarpum*, em diferentes doses de P, observaram redução no crescimento do micélio externo nas doses mais elevadas. Para Cardoso Filho (1994) o aumento do volume do micélio extramatricial total e concomitante redução de sua atividade pode acarretar efeito depressivo para o crescimento da planta. Melloni (1996) observou que o comprimento de micélio extrarradicular ativo e total de FMAs variou com os porta-enxertos de citros. Gomes (1997) notou que em doses de P acima de 200 mgP kg^{-1} de substrato se observa redução significativa do comprimento do micélio externo ativo.

Adição de P sob diferentes formas e em doses crescentes têm causado diminuição na colonização e na resposta de crescimento causada por FMAs (Stribley et al., 1980; Koide, 1985; Antunes e Cardoso, 1991). Altos níveis de P no solo reduzem a colonização devido ao aumento nos teores deste elemento na planta (Menge et al., 1978). Outras explicações para esse fato pode estar numa possível redução na permeabilidade e exsudação de metabólitos das membranas (Graham et al., 1981), ou pelo efeito de carboidrato da planta (Siqueira et al., 1984) ou pelo envolvimento de fosfatases ácidas que controlam o estabelecimento da simbiose (Woolhouse, 1975). Para Ratnayake et al. (1978) e Graham et al. (1981), plantas bem supridas de P mostraram menor exsudação radicular de açúcares e aminoácidos, o que pode influenciar na colonização radicular micorrízica ou afetar a germinação dos esporos. Além disso, aumento da atividade de endoquitinases e de β -endoquitinases pode restringir a colonização (Lambais & Mehdy, 1995).

2.3 Atividade de Fosfatases em fungos micorrízicos

A eficiência de uma micorriza é geralmente estimada em termos de crescimento de planta ou absorção de nutrientes, comparando-se plantas micorrizadas com não micorrizadas. Poucos estudos, entretanto tem sido realizados com o objetivo de avaliar a associação micorrízica quanto à atividade de enzimas específicas.

Os fungos endomicorrízicos ericóides produzem fosfatases ácidas que podem mobilizar o fósforo a partir de moléculas complexas ou fosfatos ésteres (Straker & Mitchell, 1986). Estas enzimas estão localizadas nas paredes fúngicas sendo que sua atividade pode ser histoquimicamente visualizada na superfície das hifas em cultura pura (Straker et al., 1989). A atividade dessas fosfatases pode ser inibida por altos níveis de P solúveis (Lemoine et al., 1992), o que torna a associação ineficiente no fornecimento de P para a planta. As fosfatases ácidas produzidas pelo manto micelial dos fungos e as ramificações presas ao micélio são consideradas como responsáveis pela catálise e hidrólise de complexos orgânicos de P para a forma mais prontamente absorvida (Ho &

Zak, 1979). Antibus et al. (1981) mostrou que a atividade de fosfatase ácida em raízes de *Salix rotundifolia* colonizada por *Entoloma sericeum* foi 40 vezes maior do que nas raízes não micorrizadas, sugerindo o alto potencial desses fungos em degradar compostos complexos de P orgânico.

Estudos envolvendo enzimas e FMAs têm sido direcionados para identificação de espécies fúngicas (Sen & Hepper, 1986). Outros têm procurado compreender o fenômeno da nutrição de FMAs (Gianinazzi-Pearson & Smith, 1993), desenvolver um meio de avaliação da importância do micélio (Kought et al., 1987; Sylvia, 1987) e analisar as interações entre os simbiontes (Gianinazzi et al., 1983) envolvendo atividades enzimáticas.

Estudos bioquímicos e citoquímicos mostraram que as plantas micorrizadas e FMAs produzem diferentes tipos de fosfatases, as quais parecem ser ativadas pela planta hospedeira, e que são fundamentais para a expressão da simbiose (Dodd et al., 1987; Marx et al., 1982; Cappacio & Callow, 1982) embora, a atividade funcionalidade dessas enzimas na simbiose ainda não está esclarecida.

A atividade de fosfatases ácidas tem sido relatada em FMAs e, embora sua função não esteja bem esclarecida, essas enzimas parecem estar associadas com o crescimento e desenvolvimento do fungo dentro do tecido do hospedeiro (Gianinazzi et al., 1979), e com a aquisição de P na rizosfera. A medida que as hifas se aproximam da superfície radicular da planta, a atividade da fosfatase ácida é incrementada diminuindo ao longo da penetração das hifas e desenvolvimento dentro das células do hospedeiro (Gianinazzi-Pearson et al., 1986). MacDonald & Lewis (1978) detectaram atividade de fosfatase ácida em estruturas de FMAs tanto dentro como fora das raízes, usando métodos citoquímicos. Ázcon et al. (1982) compararam efeitos da micorrização no crescimento, absorção de P e atividade de fosfatases ácidas em trigo e alfazema (espécies que diferem quanto à dependência à micorriza em baixa disponibilidade de P), observando que a infecção micorrízica diminuiu a atividade da fosfatase na superfície radicular da alfazema, mas não na de trigo. Similarmente, Gianinazzi-Pearson & Gianinazzi (1986) relataram que a micorrização não afetou a atividade de fosfatase ácida em trevo micorrizado. Já McLachlan (1976, 1980) encontrou atividade de fosfatase

ácida mais baixa em plantas mais eficientes em absorver P, quando crescidas em condições de baixa disponibilidade de P.

A atividade da fosfatase alcalina parece ser mais representativa do que a ácida, podendo ser utilizada como marcador potencial da funcionalidade da simbiose. Localiza-se no vacúolo do fungo (Gianinazzi et al., 1979; Dexheimer et al., 1982), sendo detectada em gel de poliacrilamida (PAGE) de extrato de raízes colonizadas pelos FMAs (Gianinazzi-Pearson et al., 1978; Olivier et al., 1983). Gianinazzi-Pearson & Gianinazzi (1983) observaram diminuição da atividade da fosfatase extraível com diminuição dos níveis de infecção micorrízica, com adição de P ao solo ou ainda com diferentes espécies de plantas hospedeiras.

2.4 Absorção de P e Cinética de absorção iônica pelas plantas

A capacidade de absorção de nutrientes pelas plantas pode ser atribuída a características intrínsecas à própria planta, como tamanho, ramificação e cobertura de pêlos absorventes do sistema radicular (Foshe et al., 1991). Diferenças na aquisição dos nutrientes podem se dar por variações de seus mecanismos morfológicos e fisiológicos, quando o fornecimento nutricional se altera. As diferenças observadas na capacidade de absorção de fósforo, entre espécies e variedades, são confirmadas tanto em campo (Sinha et al., 1980) como em condições controladas (Nielsen & Barber, 1978). Em condições de estresse podem ocorrer diferenças nos ajustes morfológicos radiculares, como por exemplo, exploração de maior volume de solo ou retenção e movimentação dos íons através das células radiculares (Bielecki, 1973, Schorring, 1987). A geometria radicular exerce importante papel na habilidade da planta em absorver P. Sistemas radiculares ricos em radículas e pêlos absorventes são capazes de explorar maior volume de solo, aumentando, conseqüentemente, a absorção de P (Fohse et al., 1991). Bouldin (1961) estimou matematicamente o fluxo total de P em sistemas radiculares ricos em pêlos absorventes, podendo ser três a dez vezes maior que em plantas com sistema

radicular escasso. Como se sabe, o sistema radicular de plantas cítricas é pobre em radículas, dificultando ainda mais a absorção de P. Além disso, cerca de 95-98% do P do solo ocorre em forma não prontamente disponível à planta, com concentração na solução do solo muito baixa e lenta difusão.

A concentração de P da solução do solo é infinitamente mais baixa do que no interior das raízes. Por isso sua absorção é feita contra um gradiente de concentração, envolvendo gasto de energia (Beever & Burns, 1980) e, depende da concentração desse íon na solução. Para explicar tal absorção supõe-se a existência de um carregador que transporta o íon através da membrana (Epstein & Hagen, 1952). A absorção de íons presentes em soluções de concentração relativamente baixa, pelos vegetais, segue a cinética de Michaelis-Menten, cujo modelo matemático é representado pela equação:

$$I = \frac{V_{\max} \cdot C}{K_m + C}$$

Onde I é o influxo ou velocidade de absorção do íon numa concentração (C), sendo que a taxa de influxo depende de dois fatores: capacidade e intensidade. Os parâmetros cinéticos V_{\max} e K_m representam a velocidade máxima de absorção (fator capacidade) e a concentração em que a velocidade de absorção corresponde à metade de V_{\max} (fator intensidade), refletindo a porção de sítios do carregador ocupado pelo íon numa dada concentração externa do íon.

Os íons presentes na solução nutritiva podem apresentar dois movimentos, influxo e efluxo. O influxo é caracterizado pelo movimento do íon da solução externa para dentro da raiz e o efluxo é caracterizado pelo movimento do íon de dentro da raiz para a solução externa. O influxo líquido é caracterizado pela diferença entre o influxo e o efluxo, igualando-se a zero numa determinada concentração do íon, denominada concentração mínima. Assim, o influxo líquido é obtido por um cálculo teórico, estimado a partir da C_{\min} pela equação:

$$\text{Influxo líquido} = \frac{V_{\max} \cdot (C - C_{\min})}{K_m + (C - C_{\min})}$$

Valores baixos de C_{\min} caracterizam a capacidade da planta em manter a concentração do íon extremamente baixa na zona da raiz (Canal & Mielniczuk, 1983).

Embora o crescimento da hifa do FMA além da zona de depleção do elemento ao redor da raiz seja a explicação mais aceita para a maior absorção de P pela planta micorrizada, mudanças fisiológicas também devem ocorrer em tais plantas, e que podem interferir nas características relacionadas à cinética de absorção, translocação e utilização do P (Cooper, 1984). Sabe-se que raízes micorrizadas permanecem ativas por mais tempo (Bowen et al., 1975) e possuem maior disponibilidade energética para absorver P (Bielecki, 1973). Espera-se que as taxas de absorção de P por plantas micorrizadas sejam maiores que as não micorrizadas permitindo menor dependência dos teores de P disponíveis no substrato e maior desenvolvimento das plantas (Pacovsky et al., 1986). Pang & Paul (1980) observaram que a biomassa de FMAs no interior das raízes pode chegar até 17% da massa da matéria fresca da raiz, sugerindo maior gasto de energia pelas raízes micorrizadas do que as não micorrizadas.

Essas alterações fisiológicas influenciando a absorção iônica pelas plantas micorrizadas têm levado a realização de estudos de cinética de absorção de P. Acredita-se que as plantas micorrizadas apresentam não somente um mecanismo físico de absorção de P, mas também maior afinidade dos sítios de absorção do íon, devido, exclusivamente, à presença da hifa fúngica e/ou raiz colonizada (Cress et al., 1979).

Cress et al. (1979), estudando os parâmetros cinéticos de absorção de P, observaram diminuição nos valores de K_m em plantas de tomate colonizadas por FMA, embora os valores de V_{max} tenham sido semelhantes, tanto na presença como na ausência do FMA, concluindo que a maior contribuição das micorrizas no aumento da absorção de P foi devido à maior afinidade das raízes ao P. No entanto, é importante ressaltar que esses autores trabalharam com raízes destacadas. Karunaratne et al. (1986) e Silveira (1990) observaram aumento nos valores de V_{max} em plantas micorrizadas, indicando aumento na absorção de P, devido maior número de sítios ativos. Faquin (1988) observou aumento de K_m e V_{max} em plantas de soja micorrizada, quando comparadas com as não micorrizadas, sendo que as maiores diferenças foram observadas quando as plantas foram cultivadas com solução nutritiva diluída. A C_{min} também foi reduzida em 62%, quando comparada com as plantas de soja não micorrizadas. Silveira (1990) constatou efeito do nível de P e da espécie de FMA nos

valores de C_{min} em feijoeiro, observando um aumento de sete vezes no C_{min} no tratamento com adição da dose mais elevada de P ao substrato.

Andrew (1966), estudando os parâmetros cinéticos da absorção de fosfato observou diferenças nas taxas de absorção de diferentes espécies vegetais. A espécie *Stylosanthes humilis* apresentou a maior taxa de absorção de P.

Nielsen & Barber (1978) observaram diferenças nos valores de V_{max} , K_m e C_{min} entre genótipos de milho. Esses autores atribuíram essas diferenças nas propriedades de absorção do nutriente a um controle genético.

Independente da micorrização, a concentração de P no substrato interfere na cinética de absorção de P. Jungk (1974) observou aumento do I_{max} e diminuição do K_m e C_{min} , em plantas de milho que passaram por períodos de carência de P. Anghinoni et al. (1989) trabalhando com diversas espécies e genótipos de plantas observaram aumento de V_{max} nas plantas que apresentaram deficiência de P. Jungk et al. (1990) acreditam na necessidade de maiores estudos sobre cinética de absorção de nutrientes por plantas cultivadas em diferentes condições de fornecimento de nutrientes. Esses autores verificaram que I_{max} foi cinco vezes maior em plantas de milho crescidas em soluções com baixos níveis de P. Martinez et al. (1993), estudando os parâmetros cinéticos em variedades de soja, concluíram que esses parâmetros foram fortemente influenciados quando o nível interno de P encontrava-se mais baixo.

A maioria dos estudos de cinética de absorção de nutrientes é realizada com plantas anuais e raros com plantas perenes. Estudos envolvendo plantas cítricas seriam de grande validade, uma vez que estas plantas têm diferente capacidade de absorver nutrientes. Murthy & Iyengar (1994) observaram que o limão rugoso exauriu mais rapidamente o P da solução, enquanto o I_{max} foi maior em *Citrus reticulata* seguido pelo citromelo. O limão cravo e limão rugoso apresentaram menor I_{max} . Também observaram que as plantas cítricas apresentam um I_{max} muito maior do que as plantas anuais. Murthy & Iyengar (1996), avaliando os parâmetros cinéticos em diferentes variedades de banana nas fases vegetativas e de floração, observaram diferenças nos valores de K_m e I_{max} quanto às variedades e estágio de desenvolvimento da planta.

A absorção de nutrientes pode sofrer variações em função da idade da planta (Edwards & Barber, 1976). Jungk & Barber (1975) observaram decréscimo de quatro vezes nos valores de V_{max} quando a idade de plantas de milho variaram de 12 para 56 dias. Plantas de soja apresentaram decréscimo de duas vezes nos valores de V_{max} quando a idade das plantas variou de 18 para 70 dias (Edwards & Barber, 1976). Resultado contraditório foi observado por Anghinoni et al. (1989), esses autores obtiveram aumento do V_{max} e redução do K_m com o aumento da idade das plantas. Esse resultado sugere a possibilidade de diferenças no comportamento de absorção de nutrientes pelas espécies vegetais.

Sob mesmas condições ambientais, a taxa de influxo de P do solo para a raiz colonizada é maior do que para as raízes não colonizadas. Sanders & Tinker (1973) constataram que em raízes de cebola micorrizadas, o influxo de P foi seis vezes maior do que em raízes não micorrizadas. Smith (1982) constatou que o influxo de P de plantas de *Trifolium subterraneum* micorrizadas foi superior às não micorrizadas em todos os níveis de P adicionados. Faquin (1988), trabalhando com soja micorrizada, obteve aumento do influxo líquido de P por grama de raiz fresca por hora. Silveira & Cardoso (1990a) observaram aumento no influxo de P, mesmo com a adição de Al ao substrato. Silveira & Cardoso (1990b), trabalhando com plantas de feijão colonizadas com *Glomus etunicatum* obtiveram maior influxo e influxo líquido de P nas plantas micorrizadas do que nas não micorrizadas. Para Jungk & Barber (1974), a redução no sistema radicular aumenta a taxa de influxo por comprimento radicular. Nielsen & Barber (1978), analisando 12 genótipos de milho, observaram que os genótipos com raízes longas e finas apresentaram taxa de influxo por comprimento radicular mais baixa. Furlani et al. (1984) trabalhando com plantas de sorgo em diferentes níveis de P, observaram que as plantas crescidas nas maiores doses de P apresentaram maior sistema radicular e conseqüentemente menor influxo.

Os parâmetros cinéticos de absorção por plantas micorrizadas têm sido utilizados na predição de absorção de nutrientes pelas planta (Ernani et al., 1994; Rheinheimer et al., 1997).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado em casa de vegetação e laboratórios do Centro de Solos e Recursos Agroambientais do Instituto Agronômico de Campinas (IAC) em Campinas, São Paulo.

A partir do estabelecimento das doses de fósforo que garantiram o máximo de eficiência simbiótica e que causaram sintomas de depressão no crescimento das plantas, em condições de hidroponia, foram instalados dois experimentos.

3.1 Substrato utilizado

O substrato empregado foi areia média-fina, peneirada e lavada com água corrente e fumigada com brometo de metila por três dias consecutivos. Foi acondicionado em vasos de alumínio de 2,5 kg, revestidos internamente com saco plástico, tendo na base uma camada de brita lavada e desinfestada com hipoclorito de sódio a 2,5%.

3.2 Os porta-enxertos

Foram empregados os porta-enxertos: limão cravo (*Citrus limonia*) e tangerina cleópatra (*Citrus reshni*), em virtude dessas espécies serem as mais utilizadas pelos citricultores brasileiros.

As sementes foram fornecidas pela Estação Experimental de Cordeirópolis (SP), do Instituto Agronômico de Campinas. Foram pré-germinadas em areia esterilizada para obtenção de plântulas, as quais foram transplantadas para o substrato (item 3.1) cerca de dois meses após a semeadura, permanecendo uma por vaso.

3.3 Inóculo dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs)

As espécies de FMAs utilizadas foram *Glomus etunicatum* e *Glomus intraradices*. Os fungos foram previamente multiplicados em *Brachiaria brizantha*, constando de pedaços de raízes infectadas, hifas, cerca de 5000 esporos de *Glomus etunicatum* por 25 mL de terra. O inóculo de *Glomus intraradices* foi caracterizado pela colonização radicular, no caso cerca de 69%, já que a esporulação é intraradicular, não se determinando o número de esporos. A técnica utilizada para a quantificação dos esporos foi a do peneiramento úmido (Gedermann & Nicolson, 1963) e para a estimativa da colonização radicular empregou-se o método da intersecção de pedaços de raiz em placa quadriculada (Ambler & Young, 1977), após coloração das raízes com azul de tripano (Phillips & Hayman, 1970). A inoculação foi realizada por ocasião da semeadura, depositando-se o solo inóculo a 5 cm da superfície do substrato no transplantio.

3.4 Fontes de fósforo e demais nutrientes

Foram aplicadas doses crescentes de P, que variaram conforme o experimento. Tanto o P como os demais nutrientes foram fornecidos através da aplicação semanal de 100 mL da solução nutritiva n° 2 de Hoagland & Arnon (1950) modificada por Faquin (1988), cuja composição se encontra na Tabela 1. Quando necessário as plantas foram irrigadas com água destilada. A drenagem dos vasos foi livre.

3.5 Experimentos realizados

Foram realizados dois experimentos que diferiram no porta-enxerto, no FMA, nas doses de fósforo e no tempo de cultivo, descritos a seguir:

3.5.1 Experimento 1

O experimento em esquema fatorial 5 X 2, com delineamento inteiramente casualizado e oito repetições, constou dos fatores: 5 níveis de fósforo (1,5; 3,0; 6,0; 9,0 e 12,0 mgP L⁻¹), uma espécie de FMA, *Glomus etunicatum*, e um controle sem fungo micorrízico. Utilizou-se o porta-enxerto limão cravo (item 3.2) O experimento teve duração de 90 dias após a repicagem das plântulas, totalizando 11 aplicações de solução nutritiva. Das repetições feitas, foram selecionadas as cinco melhores para o ensaio de cinética e posterior avaliação do crescimento e colonização micorrízica.

3.5.2 Experimento 2

O experimento em esquema fatorial 4 X 2, com delineamento inteiramente casualizado e vinte repetições, constou dos fatores: 4 níveis de P (1,5; 3,0; 9,0 e 12,0 mgP L⁻¹) X uma espécie de FMA, *Glomus intraradices* e um controle sem FMA. Foi utilizado o porta-enxerto tangerina cleópatra, permanecendo em casa de vegetação por 210 dias após a repicagem das plântulas, totalizando 30 aplicações de solução nutritiva. Das repetições feitas, foram selecionadas as cinco melhores para o ensaio de cinética e posterior avaliação do crescimento e colonização micorrízica.

Tabela 1- Concentração dos nutrientes usados na solução nutritiva de crescimento, de absorção de fosfato no ensaio de cinética e na determinação da atividade de fosfatase ácida.

Nutrientes	(1) Crescimento mg L ⁻¹	(2) Absorção mg L ⁻¹	(3) Fosfatase Ácida mg L ⁻¹
N	126,0	145,0	29,0
P	---	---	---
K	117,0	95,0	19,0
Ca	120,0	151,0	30,2
Mg	24,3	19,0	3,8
S	32,0	55,0	11,0
B	0,5	0,3	0,06
Cu	0,02	0,11	0,02
Fe	3,7	1,4	0,28
Mn	0,5	0,5	0,10
Mo	0,01	0,10	0,05
Zn	0,02	0,15	0,03

(1) Solução nº 2 de Hoagland & Arnon (1950) modificada para N, K, Ca, Mg e S, segundo Faquin (1988).

(2) Solução nutritiva segundo Furlani & Furlani (1988)

(3) Diluição de 1/5 da solução nutritiva completa de Furlani & Furlani (1988).

3.6 Variáveis analisadas

O efeito das doses de fósforo e da inoculação de FMA no crescimento dos porta-enxertos foi avaliado através das seguintes variáveis:

A-) Altura das plantas: Mensalmente mediu-se a altura de cada planta, utilizando-se réguas graduadas.

B-) Massa da matéria seca da parte aérea das plantas: As plantas foram cortadas a 0,5 cm do colo, acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa com ventilação forçada de ar, a temperatura de 65°C por cinco dias, até atingirem peso constante. Para a determinação da massa da matéria seca da parte aérea utilizou-se balança semi-analítica.

C-) Quantificação da colonização micorrízica: Após o término do ensaio de cinética (item 3.8), as raízes foram separadas, lavadas em água corrente e mantidas separadamente em frascos de vidros com solução de álcool 50% até o momento da coloração. Retirou-se raízes de várias partes do sistema radicular para obter amostra representativa. A coloração das raízes foi realizada pela técnica de Phillips & Hayman (1970). A quantificação da percentagem de raiz colonizada foi efetuada pelo método da lâmina com 10 segmentos de raiz de 1 cm (Giovannetti & Mosse, 1980).

D-) Teor e quantidade de nutrientes na parte aérea: Após a secagem e determinação da massa da matéria seca da parte aérea, as plantas foram moídas e submetidas à digestão nitro-perclórica para determinação do P por colorimetria e Ca, Mg, Fe, Mn, Cu e Zn pelo plasma, K por fotometria de chama e digestão sulfúrica para a determinação do N pelo método semi micro Kjeldahl (Bataglia et al., 1983). A absorção total de nutrientes foi obtida a partir dos teores de macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg) e

micronutrientes (Zn, Cu, Fe, Mn) multiplicados pela massa da matéria seca da parte aérea. Os resultados foram expressos em mg planta⁻¹ para os macronutrientes e µg planta⁻¹ para os micronutrientes.

E-) Comprimento e Área do sistema radicular: O comprimento e a área do sistema radicular foram determinados através do sistema integrado para análise de raízes e cobertura do solo (SIARCS- Embrapa/ CNPDIA).

F-) Eficiência de utilização do fósforo (EUP): Este índice foi calculado segundo Siddiqi & Glass (1981):

$$EUP = \frac{\text{massa da matéria seca da parte aérea}^2}{\text{quantidade total do nutriente na matéria seca}}$$

3.7 Determinação da atividade de fosfatase ácida em raiz de planta intacta

A atividade de fosfatase ácida foi determinada segundo método de Clark (1975). As plantas foram retiradas do substrato sólido, transferidas para vasos plásticos de 1,8 L contendo 1,6 L da solução de absorção (Furlani & Furlani, 1988), pH= 5,0 (ajustado com NaOH/ HCl), (Tabela 1), com aeração constante por cinco dias, em casa de vegetação, e posteriormente levadas para câmara de crescimento, um dia antes da análise da atividade da fosfatase ácida, para adaptação às condições da câmara.

Na noite anterior do ensaio, as plantas foram colocadas em vasos contendo apenas água destilada. No dia do ensaio, as plantas foram transferidas para copos de 500 mL revestidos de papel alumínio com 400 mL da solução nutritiva (Tabela 1) na concentração de 1/5 da original (Furlani & Furlani, 1988), contendo o substrato ρ -nitrofenolfosfatodissódio hexahidratado (ρ -NPP) 0,20 M, pH= 4,0. Foram retiradas alíquotas de 3mL de cada copo plástico, aos 25 e 50 minutos após o contato das raízes das plantas com a solução nutritiva acrescida do substrato ρ -NPP, e transferidas para tubos de ensaio de 10 mL contendo 2 mL de hidróxido de sódio 2N. O produto da ação da fosfatase da raiz sobre o substrato ρ -NPP é o ρ -NP (nitrofenol), de cor amarela,

estável por 24 horas em meio alcalino. Determinou-se colorimetricamente, a 410 nm, a quantidade de ρ -NP formado, com auxílio de reta padrão previamente estabelecida. A atividade enzimática foi expressa em mg ρ -NP de substrato hidrolisado por hora por grama de massa de matéria fresca de raiz ($\text{mg } \rho\text{-NP h}^{-1} \text{ g}^{-1}$). A câmara possui um sistema de iluminação apropriado, constituído por um conjunto de 8 lâmpadas de 250 Watts e 25 lâmpadas fluorescentes com fornecimento de intensidade luminosa de $200 \mu \text{ E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ao nível das folhas superiores, umidade relativa de aproximadamente 50% e temperatura de $32 \pm 1^\circ \text{C}$ no período claro e de $29 \pm 2^\circ \text{C}$ no período escuro, com fotoperíodo de 16 horas, no primeiro experimento e temperatura de $28 \pm 1^\circ \text{C}$ no período claro e de $25 \pm 1^\circ \text{C}$ no período escuro, com fotoperíodo de 14 horas, no segundo experimento.

3.8 Cinética de absorção de fósforo

O estudo de absorção de P foi realizado pelo método da depleção da concentração de P na solução (Claasssen & Barber, 1974), usando plantas intactas e baixa concentração do nutriente na solução.

Foi realizado um ensaio prévio com o objetivo de estabelecer a concentração inicial de P para se obter a curva de esgotamento do elemento da solução. Após a determinação da atividade enzimática, as plantas permaneceram 21 horas em solução nutritiva de absorção (Tabela 1), omitindo-se o P, para aumentar a capacidade das raízes em absorver este nutriente (Jungk, 1975 citado por Faquin, 1988). A câmara apresentou uma temperatura de $32 \pm 1^\circ \text{C}$ no período claro e de $29 \pm 2^\circ \text{C}$ no período escuro, com fotoperíodo de 16 horas, no primeiro experimento e temperatura de $28 \pm 1^\circ \text{C}$ no período claro e de $25 \pm 1^\circ \text{C}$ no período escuro, com fotoperíodo de 14 horas, no segundo experimento. Iniciando-se o ensaio de cinética de absorção de P, completou-se o volume dos vasos para 1,6 L e adicionou-se $10 \mu\text{M}$ de KH_2PO_4 , no experimento 1 e $3 \mu\text{M}$ de KH_2PO_4 , no experimento 2. A homogeneização de P foi feita com um bastão de vidro. O período de absorção foi de 120 horas, sendo o período das amostragens de 2, 4, 6, 8, 10, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 48, 50, 52, 72, 96 e 120 horas (Experimento 1), totalizando

dezoito amostragens por vaso e de 3, 6, 9, 12, 24, 27, 30, 33, 48, 72, 75, 78, 96, 99, 101 e 120 horas (Experimento 2), totalizando dezesseis amostragens por vaso. Alíquotas de 10 mL da solução foram retiradas para determinação colorimétrica de P, utilizando-se espectrofotômetro 880 nm, na qual se usou o ácido ascórbico como agente redutor (Murphy & Rilley, 1962).

Terminado o ensaio de cinética, o sistema radicular foi separado da parte aérea, lavado com água corrente e seco em papel toalha para determinação da massa da matéria fresca e conservado em álcool 50% para posterior coloração radicular. A parte aérea foi posta em estufa para determinação da massa da matéria seca da parte aérea.

A partir da curva de exaustão de P da solução em função do tempo de absorção, estimaram-se os parâmetros cinéticos de absorção radicular de P (V_{max} e K_m), empregando-se a aproximação gráfico-matemática proposta por Ruiz (1985). A C_{min} foi determinada pela média dos valores de concentração de P na solução, os quais apresentaram tendência de permanecer constantes nas amostragens finais da curva de exaustão.

O influxo radicular líquido de P foi calculado para concentrações externas de 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 e 20 μM (C), incluindo-se o C_{min} , através da equação de Michaelis-Menten: $\text{Influxo líquido} = V_{max} (C - C_{min}) / K_m + (C - C_{min})$ onde C- concentração do íon na solução; V_{max} - taxa máxima de absorção; K_m - constante de Michaelis-Menten, ou seja, valor corresponde à concentração do íon na qual se obtém metade da velocidade máxima de absorção; C_{min} - concentração de P da solução, onde o influxo líquido se iguala a zero. Os valores de V_{max} e influxo líquido foram expressos por unidade de massa de matéria fresca de raiz ($\mu\text{molP gMF}^{-1} \text{ h}^{-1}$) e por planta ($\mu\text{molP planta}^{-1} \text{ h}^{-1}$), de acordo com Faquin et al. (1990)

3.9 Análise Estatística

Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância, aplicando-se o teste de Tukey a 5% para as comparações das médias, conforme recomendação de Gomes (1990). Os tratamentos que envolveram doses de P foram submetidos à análise de regressão polinomial, testando-se modelo linear e quadrático.

Os dados expressos em percentagem de colonização radicular, foram normalizados pela transformação de arco seno raiz quadrada $x/100$, onde x é a percentagem de colonização radicular. Utilizou-se o programa estatístico SANEST (Sistema de Análise Estatística).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

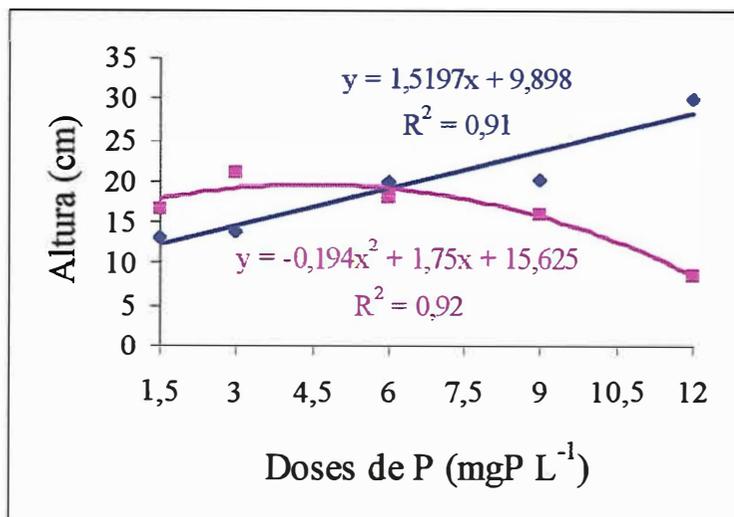
4.1 Crescimento das plantas

Foi verificado efeito da adição de doses crescentes de fósforo e da micorrização sobre o desenvolvimento das plantas nos dois experimentos realizados.

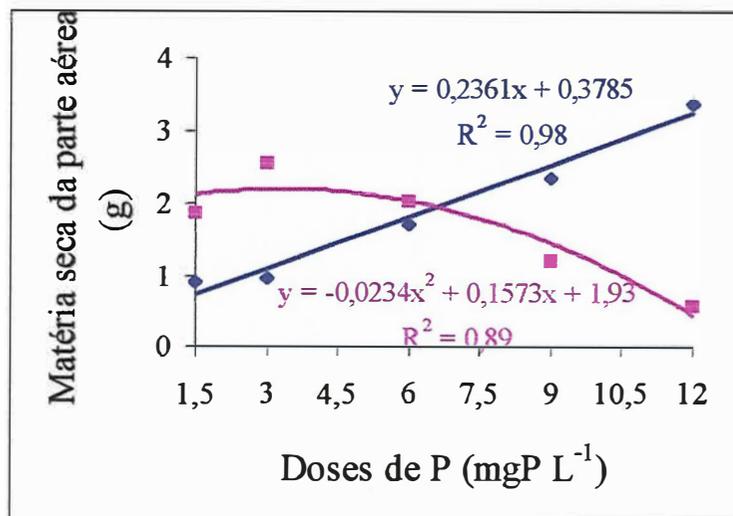
No experimento 1, no qual foi empregado o porta-enxerto limão cravo, as plantas não colonizadas pelo FMA *Glomus etunicatum* responderam linearmente à adição das doses crescentes de fósforo aplicadas ao substrato (Figuras 1A e 2A). As plantas micorrizadas apresentaram resposta quadrática ascendente com pico de desenvolvimento na dose 3,0 mgP L⁻¹ e depressão no crescimento das plantas nas doses 9,0 e 12,0 mgP L⁻¹ (Figuras 1A e 2B). A inoculação do FMA proporcionou incremento de 53% na altura das plantas na dose 3,0 mgP L⁻¹, enquanto que na maior dose aplicada (12,0 mgP L⁻¹), as plantas apresentaram redução de 71% no desenvolvimento, quando comparadas com as plantas não micorrizadas.

No experimento 2, no qual foi utilizado o porta-enxerto tangerina cleópatra, o comportamento da variável altura das plantas foi similar ao experimento 1, ou seja, as plantas não micorrizadas responderam linearmente à adição de P ao substrato (Figuras 3A e 4A) e as plantas colonizadas por *Glomus intraradices* apresentaram pico de desenvolvimento na dose 3,0 mgP L⁻¹ e depressão no crescimento nas doses mais elevadas (9,0 e 12,0 mgP L⁻¹), apresentando aumento de 103% na altura das plantas e redução de 56% na maior dose de P aplicada ao substrato, em relação às plantas que não foram colonizadas (Figuras 3A e 4B). Embora essa variável não reflita características

(A)



(B)



Testemunha

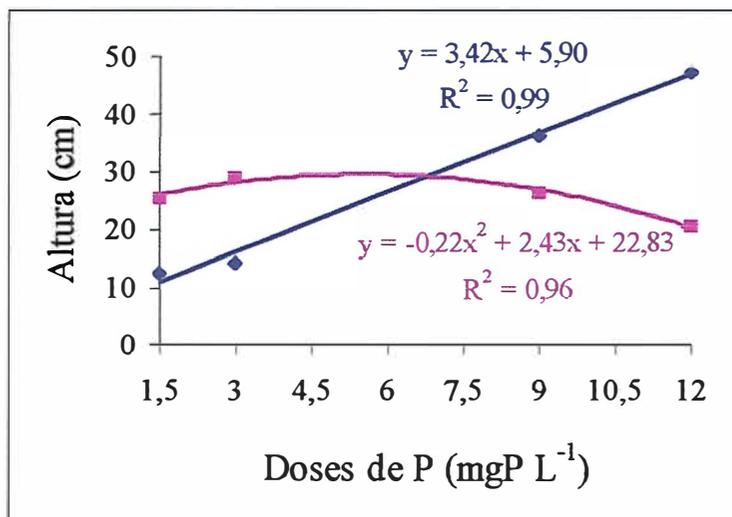
*Glomus etunicatum*

Figura 1- Altura (A) e Matéria seca da parte aérea (B) do porta-enxerto limão cravo, na ausência (Testemunha) e presença do FMA (*Glomus etunicatum*), adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.

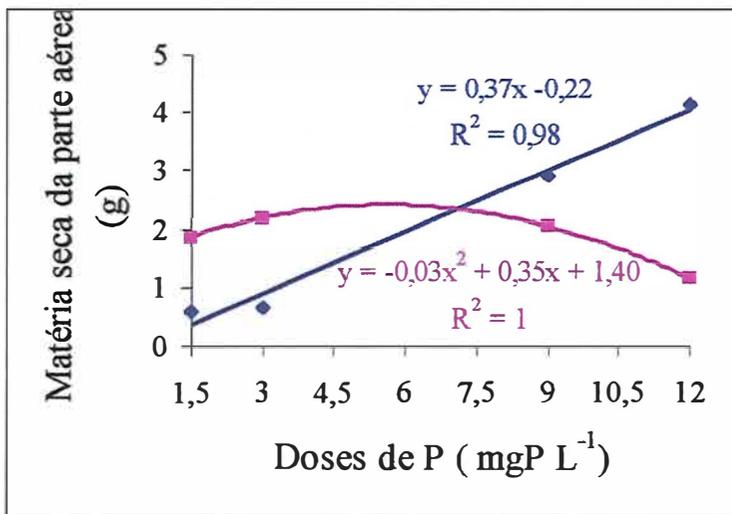


Figura 2- Porta-enxerto limão cravo, aos 90 dias após a repicagem das plântulas, na ausência (A) e presença do FMA (B), adicionando-se doses crescentes de P ao substrato (P₁-1,5 mgP L⁻¹; P₂- 3,0 mgP L⁻¹; P₃-6,0 mgP L⁻¹; P₄- 9,0 mgP L⁻¹ e P₅- 12,0 mgP L⁻¹).

(A)



(B)



Testemunha

*Glomus intraradices*

Figura 3- Altura (A) e Matéria seca da parte aérea (B) do porta-enxerto tangerina cleópatra, na ausência (Testemunha) e presença do FMA (*Glomus intraradices*), adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.

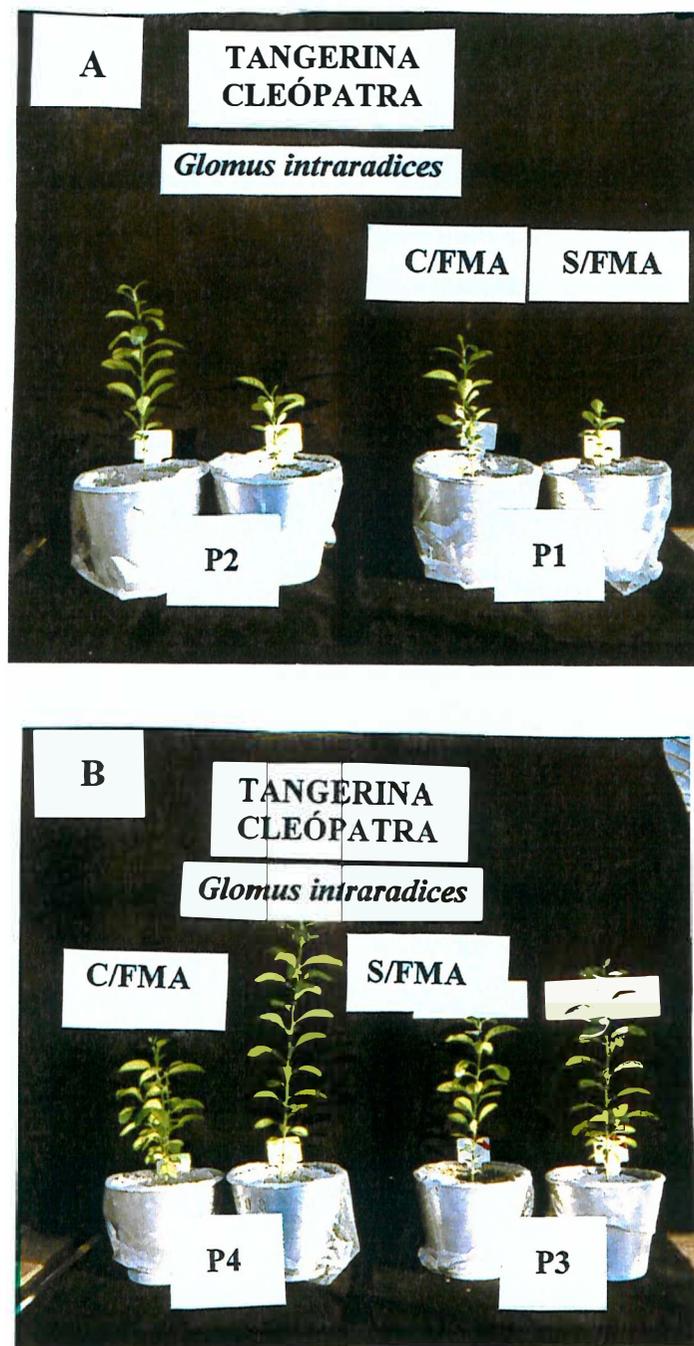


Figura 4- Porta-enxerto tangerina cleópatra, aos 210 dias após a repicagem das plântulas, na ausência (A) e presença do FMA (B), adicionando-se doses crescentes de P ao substrato (P1- 1,5mgP L⁻¹; P2- 3,0mgP L⁻¹ P3- 9,0mgP L⁻¹; P4- 12,0mgP L⁻¹).

fisiológicas das plantas, esses resultados deixam claro que em condições favoráveis o FMA pode estabelecer uma associação eficiente e gerar incrementos no desenvolvimento das plantas, como constatado por Saggin Júnior et al. (1994) e Marschner (1995).

A depressão no desenvolvimento de plantas em altas doses de P mostra que a micorriza é muito afetada pela disponibilidade de P no substrato (Nicoli, 1982 e Bueno, 1984). Tal faixa de disponibilidade de P que determina se a associação será eficiente ou parasítica é estreita, como demonstrado pelos resultados. Assim observou-se que na dose de 3,0 mgP L⁻¹ ocorreu um pico de eficiência da micorriza, na dose 6,0 mgP L⁻¹ não houve diferença entre planta micorrizada e não micorrizada e a partir de 9,0 mgP L⁻¹ foi evidente a depressão no crescimento e o efeito parasítico da associação.

Para variável matéria seca da parte aérea verificou-se efeito significativo nas interações doses de P X FMA. As plantas de limão cravo não micorrizadas responderam linearmente a adição de fósforo ao substrato ocasionando aumento significativo na matéria seca da parte aérea, chegando a ser 266% maior na dose 12,0 mgP L⁻¹ em relação às plantas micorrizadas (Figura 1B). As plantas micorrizadas responderam de forma quadrática à adição de P, com pico de crescimento na dose 3,0 mgP L⁻¹. Nas doses 1,5 e 3,0 mgP L⁻¹, o incremento na produção de matéria seca foi de 102% e 163%, respectivamente, em relação às plantas não micorrizadas. Nas plantas micorrizadas que apresentaram depressão de crescimento nas doses mais elevadas de P (9,0 e 12,0 mgP L⁻¹), a redução na matéria seca da parte aérea foi de 49% e 84%, respectivamente em relação às plantas não micorrizadas (Figura 1B).

Da mesma forma que para o limão cravo, o porta-enxerto tangerina cleópatra também respondeu de maneira linear às doses de P na ausência de FMA, e, de forma quadrática quando micorrizado. Observou-se aumento de 590% na matéria seca das plantas não micorrizadas na maior dose de P (12,0 mgP L⁻¹), em relação às micorrizadas. As plantas micorrizadas apresentaram incremento de 210% e 238% na matéria seca da parte aérea nas menores doses aplicadas e redução de 72% na maior dose de P (Figura 3B), ocorrendo um pico de produção de matéria seca na dose 3,0 mgP L⁻¹. O efeito de depressão no desenvolvimento de plantas micorrizadas em condições de alta

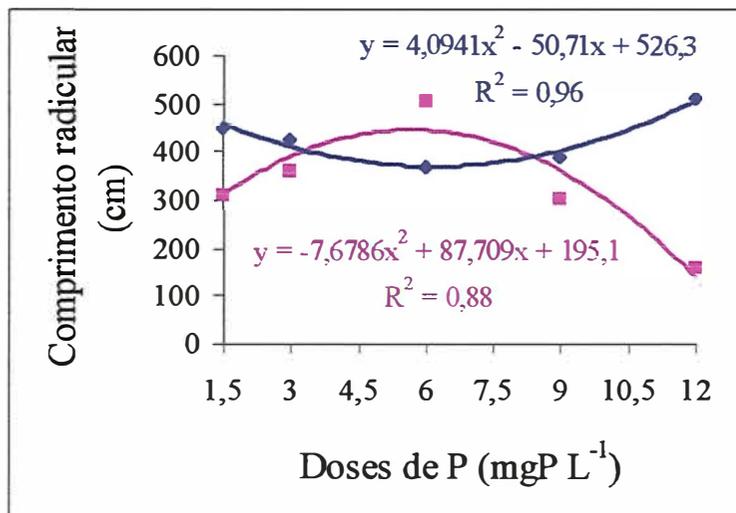
disponibilidade de fósforo foi mais uma vez confirmado, concordando com as observações de Cardoso et al. (1986), Antunes & Cardoso (1991) Peng et al. (1993) e Gomes (1997).

Tanto no porta enxerto limão cravo ($P > 0,01$ $r = 0,95$) como na tangerina cleópatra, ($P > 0,01$ $r = 0,96$) observou-se correlação positiva entre a altura e a matéria seca da parte aérea, o que é importante já que para plantas cítricas, a altura pode não ser um dado tão significativo por causa das brotações laterais.

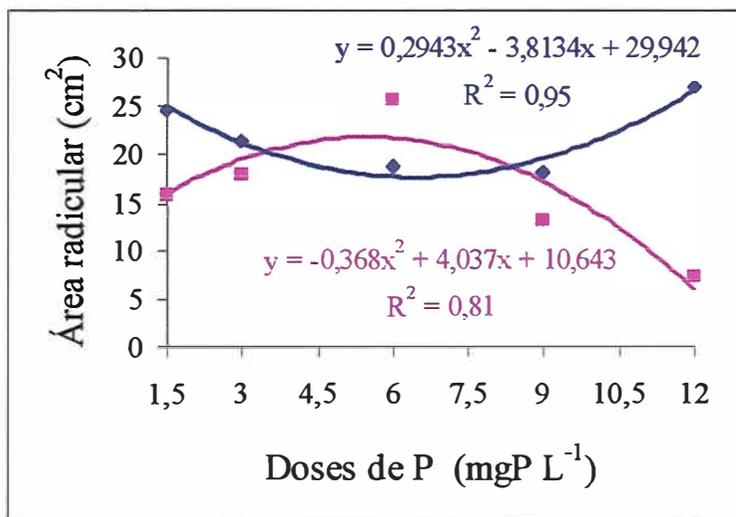
O comprimento e a área radicular foram determinados somente no porta-enxerto limão cravo, dado à dificuldade de manuseio para obtenção dessas variáveis.

Em ambas as variáveis, a adição de doses crescentes de P causou um efeito inverso nas plantas não micorrizadas e micorrizadas. Assim, nas não micorrizadas, a resposta foi quadrática descendente, com um pico na dose $3,0 \text{ mgP L}^{-1}$, enquanto que nas micorrizadas, apresentou-se quadrática ascendente com pico na dose $6,0 \text{ mgP L}^{-1}$ (Figura 5A e 5B). Na dose $1,5 \text{ mgP L}^{-1}$ tanto o comprimento como a área radicular das plantas micorrizadas apresentaram-se 30% menores que nas plantas não micorrizadas, enquanto que na dose $12,0 \text{ mgP L}^{-1}$ a redução foi de 69%. É comum observar alterações do comprimento do sistema radicular em função da disponibilidade de nutrientes no solo (Caradus, 1990). Geralmente o aumento de doses P aplicadas ao substrato ocasiona redução no sistema radicular (Foeshe & Jungk, 1983), enquanto a aplicação de doses baixas tanto no solo (Bhat et al., 1979) como em solução nutritiva (Brewster, 1976) acarreta aumento, em plantas não micorrizadas, discordando dos resultados obtidos (Figura 5A e 5B). Nicoli (1982) observou diferenças no comprimento de raízes de limão cravo utilizando diferentes fontes de P. Observações semelhantes às obtidas no presente estudo em relação às plantas micorrizadas, em altas doses de P, nas quais houve depressão no desenvolvimento do sistema radicular, já foram também constatadas em centeio micorrizado (Baon et al., 1994). Berta et al. (1990) observaram redução no comprimento das raízes micorrizadas, acreditando-se que essa redução pode estar vinculada à maior “funcionalidade” de tais raízes.

(A)



(B)



Testemunha

*Glomus etunicatum*

Figura 5- Comprimento (A) e Área radicular (B) do porta-enxerto limão cravo, na ausência (Testemunha) e presença do FMA (*Glomus etunicatum*), adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.

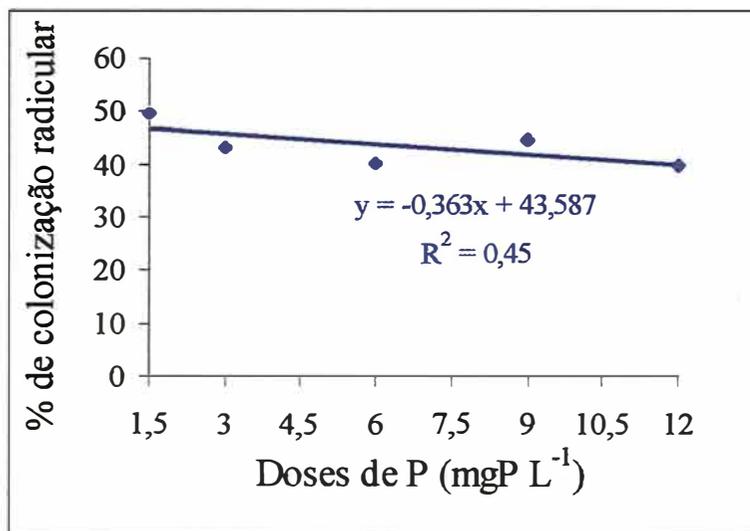
4.2 Porcentagem de colonização radicular

Observou-se que no limão cravo colonizado por *Glomus etunicatum* a colonização micorrízica decresceu linearmente com a adição de doses crescentes de P ao substrato (Figura 6A). Graham et al. (1996) observou que *Glomus etunicatum*, após 64 dias da sua inoculação ainda não havia colonizado as raízes das plantas cítricas. Nesse experimento foi constatada micorrização das plantas por esse fungo após 90 dias da repicagem das plântulas. Já na tangerina cleópatra, a colonização pelo *Glomus intraradices* apresentou resposta quadrática descendente à adição de fósforo ao substrato, com pico de redução de colonização micorrízica na dose 9,0 mgP L⁻¹ (Figura 6B). Em ambas as plantas, não houve grande variação na porcentagem de colonização, que ficou na faixa de 30-50%. O fato de não ter ocorrido um decréscimo acentuado na colonização pelo aumento da dose de P sugere que, provavelmente, o decréscimo no crescimento não tenha sido uma consequência direta da diminuição da colonização.

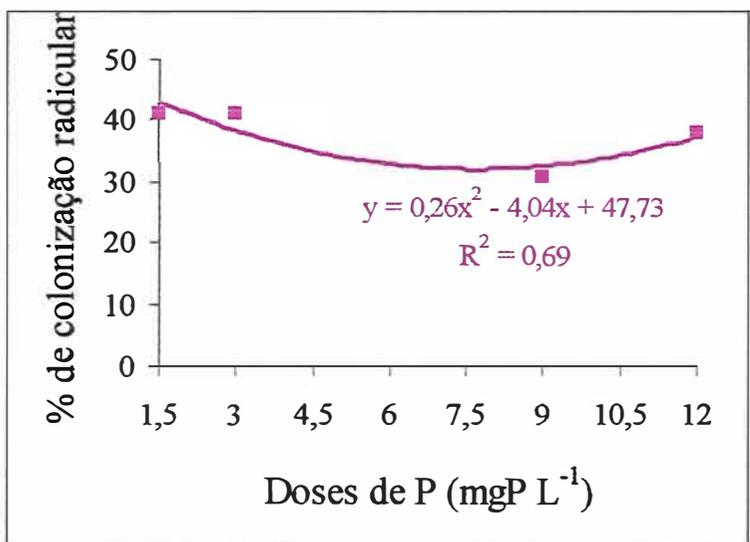
Alguns trabalhos relatam que o aumento de P disponível reduz significativamente a colonização micorrízica (Siqueira & Colozzi-Filho, 1986; Schubert & Hayman, 1986). Saggin Júnior et al. (1994) observou que a colonização micorrízica diferiu entre dois isolados de *Glomus etunicatum* mostrando-se mais sensíveis à elevação de P disponível no solo que *Glomus clarum* e *Gigaspora margarita*. Antunes & Cardoso (1991), Peng et al. (1993) e Melloni & Cardoso (1999) também observaram diminuição no desenvolvimento das plantas e na porcentagem de colonização radicular das plantas cítricas com o aumento no P disponível no substrato. Esse efeito negativo de doses crescentes de P na colonização radicular pode ser explicado pela redução da exsudação de amino nitrogenados nas raízes interferindo no desenvolvimento do micélio externo dos FMAs (Miranda & Harris, 1994), alteração da permeabilidade da membrana radicular dificultando a infecção (Thomson et al., 1986; Miranda et al., 1989), produção e translocação de carboidratos (Siqueira et al., 1984), produção ou aumento da atividade de algumas enzimas como endoquitinases e β -1,3 endoglucanases restringindo a colonização interna (Lambais & Mehdy, 1993 e 1995), desenvolvimento do micélio

Gomes, 1997; Nogueira, 1997) ou, ainda, pela interferência na fotossíntese (Sena, 1998).

(A)



(B)



Glomus etunicatum



Glomus intraradices

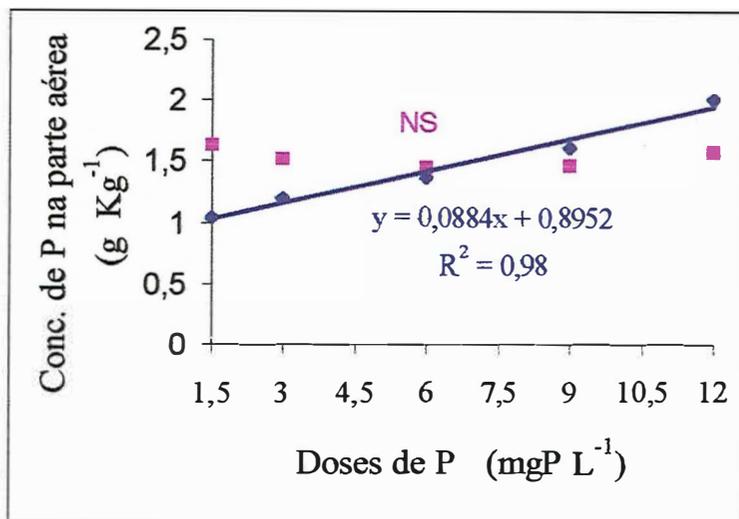
Figura 6- Porcentagem de comprimento de raiz colonizada dos porta-enxertos limão cravo (A) e tangerina cleópatra (B) adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.

4.3 Absorção de nutrientes pelas plantas cítricas

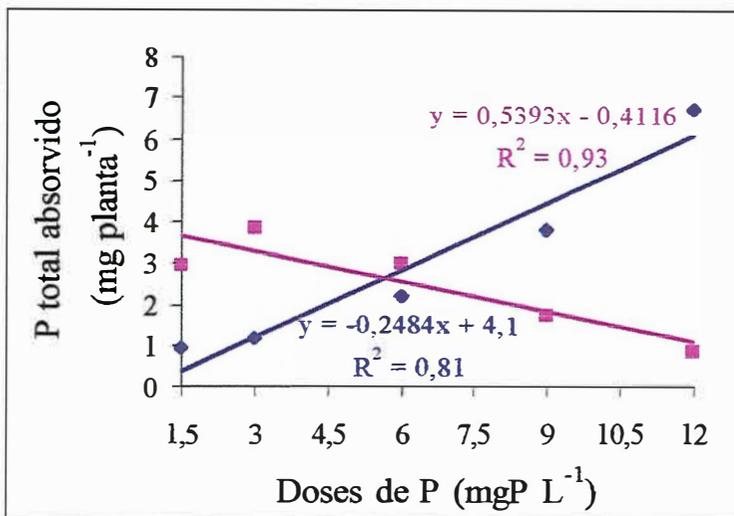
A resposta da concentração de fósforo na parte aérea do porta-enxerto limão cravo em função da adição de P aplicado ao substrato apresentou-se linearmente para as plantas não micorrizadas e não foi significativa para as plantas micorrizadas com *Glomus etunicatum*, ou seja, não variou com a dose de P (Figura 7A). Como as plantas micorrizadas apresentaram maior crescimento nas doses intermediárias, pôde-se inferir que estas tenham absorvido maior quantidade deste nutriente, o qual ficou diluído nos tecidos das plantas. Rocha et al. (1995) observaram resultados semelhantes ao deste trabalho. Nas doses 1,5 e 3,0 mgP L⁻¹, a micorrização promoveu maior absorção de fósforo na parte aérea, sendo esse aumento 58% e 21%, respectivamente, em relação às plantas não micorrizadas. A concentração de P nas plantas micorrizadas na maior dose de P (12mgP L⁻¹) apresentou redução de 22% em relação às plantas não micorrizadas (Figura 7A). Antunes (1987) observou aumento de P na parte aérea das plantas cítricas quando se aumentava a disponibilidade de P aplicado ao substrato.

Tanto para o limão cravo micorrizado como para o não micorrizado, observou-se efeito linear no acúmulo de P em relação à adição de doses de P ao substrato, entretanto de forma inversa (Figura 7B). Nas plantas micorrizadas o acúmulo foi descendente, enquanto nas não micorrizadas, ascendente com o aumento de P disponível no substrato. As plantas micorrizadas nas menores doses de P (1,5 e 3,0 mgP L⁻¹) aumentaram significativamente a quantidade acumulada de P, sendo o incremento de 210% e 231%, respectivamente, em relação às plantas não micorrizadas. Já na maior dose de P, onde se observou efeito de depressão no crescimento, o decréscimo na quantidade de P acumulada foi de 87%, comparando-se com a não micorrizada (Figura 7B). Portanto, o aumento de P disponível no substrato refletiu no aumento da concentração e quantidade acumulada de P nas plantas sem micorriza. Já nas plantas micorrizadas, o aumento de P disponível acarretou decréscimo na quantidade de P e não alterou a sua concentração na parte aérea. Entretanto, Trindade et al. (1996) observou que o aumento de P disponível causou aumento no teor e na quantidade de P em milho micorrizado.

(A)



(B)



Testemunha

*Glomus etunicatum*

Figura 7- Concentração (A) e P total absorvido (B) no porta-enxerto limão cravo, na ausência (Testemunha) e presença do FMA (*Glomus etunicatum*), adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.

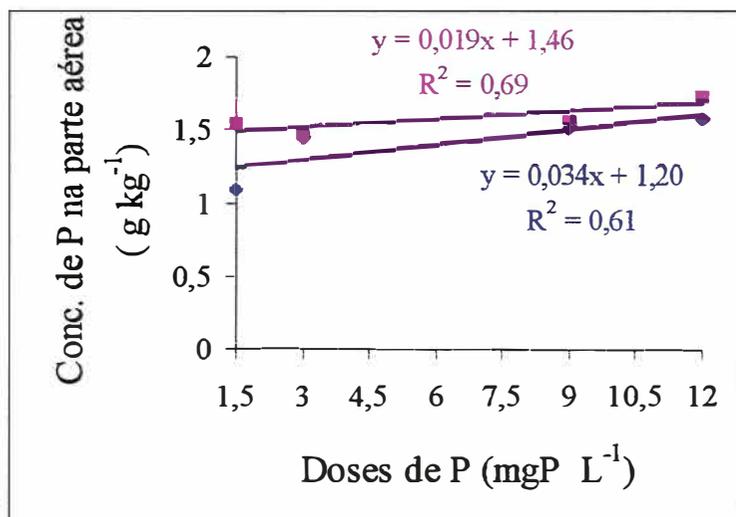
Para a tangerina cleópatra, a concentração de P na parte aérea, tanto nas plantas micorrizadas como nas não micorrizadas respondeu linearmente à adição de P aplicado ao substrato (Figura 8A). Na menor dose aplicada ($1,5 \text{ mgP L}^{-1}$) as plantas micorrizadas tiveram um incremento de 40% na concentração de P em relação às plantas não micorrizadas. Já na maior dose de P, as plantas micorrizadas apresentaram acréscimo de 10% em relação às plantas não micorrizadas. As plantas micorrizadas, mesmo apresentando sintomas de depressão no desenvolvimento, apresentaram concentrações adequadas de P (Figura 8A).

Para Negri et al. (1997) a concentração adequada de P na parte aérea de plantas cítricas com seis meses de idade encontra-se em torno de $1,2 - 1,6 \text{ g Kg}^{-1}$. Portanto, não houve deficiência do elemento, pois tanto na ausência como na presença de FMA, os dois porta-enxertos mostraram níveis adequados de P.

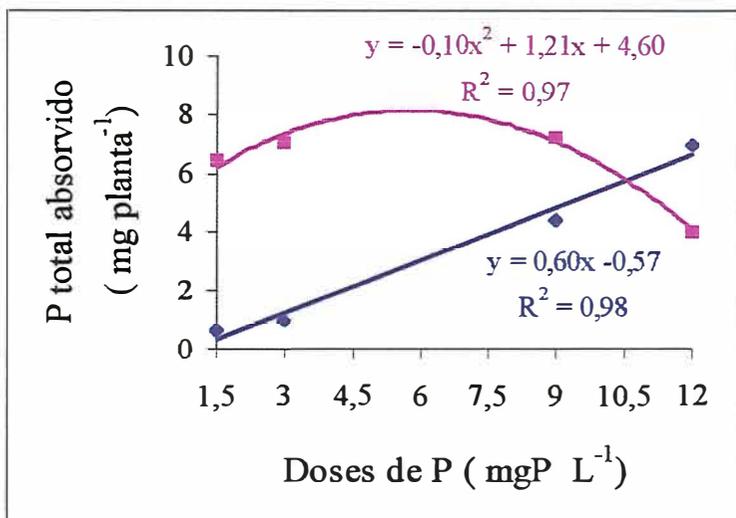
A quantidade acumulada de P na tangerina cleópatra não micorrizada apresentou efeito linear ascendente, com aumento das doses de P adicionadas ao substrato (Figura 8B). Já as plantas micorrizadas apresentaram efeito quadrático ascendente com um pico ao redor da dose $6,0 \text{ mgP L}^{-1}$. Na dose $12,0 \text{ mgP L}^{-1}$, a quantidade acumulada de P foi reduzida em 42% em relação às plantas não micorrizadas, o que pode ser explicado pelo menor desenvolvimento das plantas, quando comparadas com as plantas não micorrizadas nessa mesma dose. Gomes (1997) também observou queda na absorção de P total por plantas cítricas colonizadas por *Glomus intraradices* a partir da dose de 400 mgP kg^{-1} .

Tanto para o limão cravo ($P>0,01 \text{ } r=0,97$) como para a tangerina cleópatra ($P>0,01 \text{ } r=0,70$), observou-se correlação positiva entre a matéria seca da parte aérea e a quantidade de P total mostrando que aumentos ou diminuições da quantidade absorvida de P total em função das doses de P aplicadas ao substrato poderiam ser explicados pelo aumento ou redução da produção de matéria seca da parte aérea das plantas.

(A)



(B)



Testemunha

*Glomus intraradices*

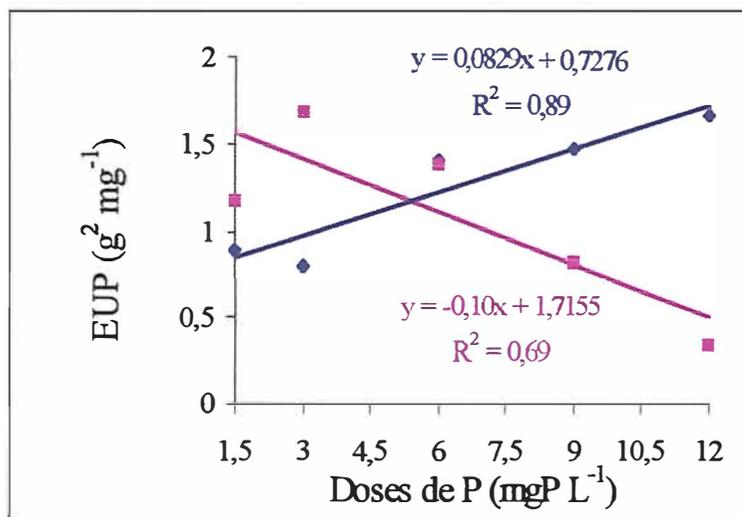
Figura 8- Concentração (A) e quantidade de P total absorvido (B) no porta-enxerto tangerina cleópatra, na ausência (Testemunha) e presença do FMA (*Glomus intraradices*), adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.

Tanto no limão cravo não micorrizado como no micorrizado por *Glomus etunicatum*, o efeito da adição de doses crescentes de P no substrato sobre a eficiência de utilização de P foi linear (Figura 9A), mas de forma inversa. Isto significa que a eficiência na utilização do P absorvido aumentou com o aumento na dose de P, quando as plantas não estavam associadas ao FMA, enquanto que diminuiu nas micorrizadas. Na dose 3,0 mgP L⁻¹, onde observou-se o pico de desenvolvimento das plantas micorrizadas, a eficiência na utilização de P foi 109% maior do que nas plantas não micorrizadas, enquanto nas plantas micorrizadas com depressão no crescimento houve redução de 79% em relação às plantas não micorrizadas.

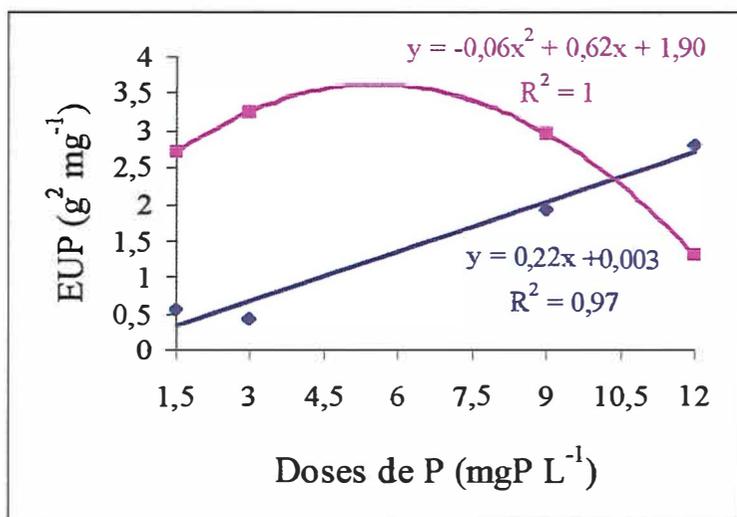
No porta-enxerto tangerina cleópatra micorrizado por *Glomus intraradices*, o efeito da adição de doses crescentes de fósforo no substrato sobre a eficiência de utilização de P foi quadrático, com um máximo de eficiência em torno da dose 6,0 mgP L⁻¹, enquanto que as plantas não micorrizadas apresentaram efeito linear ascendente (Figura 9B). As plantas micorrizadas foram mais eficientes na utilização do P absorvido, do que nas plantas não micorrizadas nas doses mais baixas de P (1,5 e 3,0 mgP L⁻¹), com incremento de 377% e 636%, respectivamente. Observou-se correlação positiva entre a quantidade de P total absorvido e o índice de eficiência de utilização de P nos dois porta-enxertos, demonstrando que o parasitismo do FMA em condições de alta disponibilidade de P pode alterar tanto a absorção de P como o metabolismo da planta, pois o que foi absorvido de P não foi utilizado eficientemente na produção de matéria seca, resultando em depressão de crescimento.

As fosfatases ácidas têm sido muito estudadas devido à sua importância na nutrição de fósforo para a planta. Contudo, ainda está pouco esclarecido como determinados fatores interferem na atividade e síntese desta enzima. Dessa forma, estudos relacionados com os fatores que interferem na atividade das fosfatases ácidas, principalmente em plantas micorrizadas, poderiam esclarecer sobre a habilidade dos FMAs em utilizar o P do solo (Nahas et al., 1994). A atividade da fosfatase em raízes ou folhas de plantas correlaciona-se negativamente com a quantidade de P absorvido servindo como critério para a seleção de plantas mais capazes de absorver e utilizar o P.

(A)



(B)



◆

Testemunha

■

Glomus intraradices

Figura 9- Eficiência de utilização de P na parte aérea dos porta-enxertos limão cravo (A) e tangerina cleópatra (B) não micorrizados (Testemunha) ou micorrizados (*Glomus etunicatum*/ *Glomus intraradices*) adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.

A maioria dos estudos com fosfatase ácida em plantas micorrizadas está relacionada a comparações de padrões isoenzimáticos, visando detectar possíveis fosfatases solúveis. Já foi encontrado na literatura que a atividade de fosfatases ácidas superficiais aumentou com o decréscimo da concentração de fósforo no meio de cultivo para cinco espécies de fungos ectomicorrízicos (Pacheco et al., 1991).

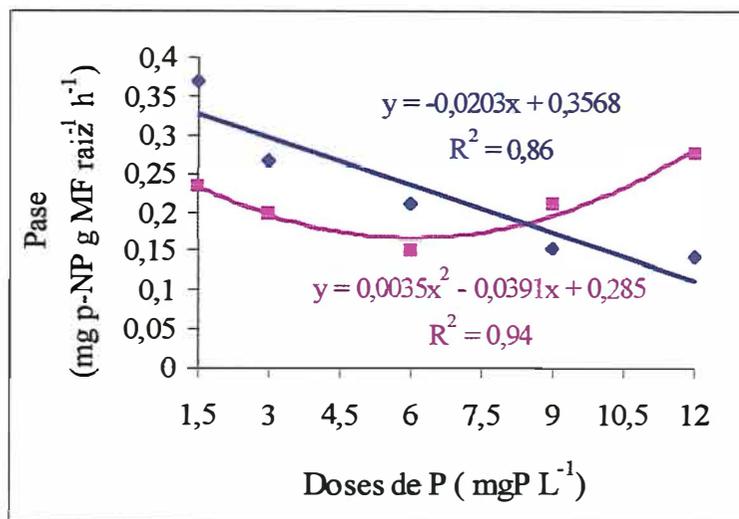
As plantas do porta-enxerto limão cravo não micorrizadas apresentaram um efeito linear descendente com a adição de doses crescentes de P ao substrato, enquanto que as plantas micorrizadas apresentaram uma resposta quadrática descendente com pico na dose 3,0 mgP L⁻¹ e aumento da atividade nas doses onde se observou efeito de depressão de crescimento da planta (Figura 10A). Observou-se correlação significativa e negativa entre a atividade da fosfatase ácida com a biomassa radicular ($P > 0,01$ $r = -0,76$), produção de matéria seca da parte aérea ($P > 0,01$ $r = -0,78$) e concentração de P na parte aérea ($P > 0,01$ $r = -0,78$) independente dos teores de P detectados no tecido foliar. Dados semelhantes já foram obtidos por Bovi et al. (1998). Na dose 3,0 mgP L⁻¹, onde as plantas micorrizadas apresentaram pico de desenvolvimento, observou-se os menores valores da atividade da fosfatase ácida.

Para o porta-enxerto tangerina cleópatra, nas plantas micorrizadas a atividade da fosfatase ácida não variou com a dose de P aplicada. Nas plantas não micorrizadas, assim como no porta-enxerto limão cravo apresentaram um efeito linear descendente (Figura 10A e B). Da mesma forma que o porta-enxerto limão cravo a atividade da fosfatase ácida correlacionou-se significativamente e negativamente com a biomassa radicular ($P > 0,01$ $r = -0,77$), com a produção de matéria seca da parte aérea ($P > 0,01$ $r = -0,77$) e com a quantidade de P total absorvida ($P > 0,01$ $r = -0,72$). Gianinazzi Pearson & Gianinazzi (1976) não observaram diferenças na atividade de fosfatase em cebolas micorrizadas com *Glomus mosseae* sob diferentes níveis de P aplicados ao substrato. Firsching & Claassen (1996) não observaram diferenças significativas na atividade de fosfatase ácida com aumento de P disponível no substrato em plantas micorrizadas ou não, observando diferenças somente em relação a idade das plantas e as características morfológicas das raízes. Já, Mohandas et al. (1992) observaram aumento significativo da atividade da fosfatase ácida e alcalina em mamão micorrizado. As plantas micorrizadas

com *Glomus mosseae* apresentaram maior atividade da fosfatase do que plantas não micorrizadas ou micorrizadas com *Glomus fasciculatum*.

Para ambos porta-enxertos, observou-se correlação negativa entre a atividade de fosfatase ácida e a quantidade total de P absorvido de forma semelhante a Capacio & Callow (1982).

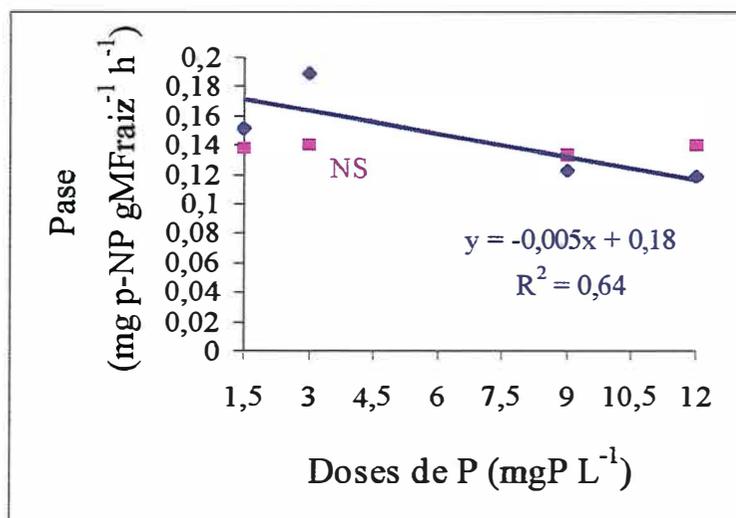
(A)



Testemunha

*Glomus etunicatum*

(B)



Testemunha

Glomus intraradices

Figura 10- Atividade de fosfatase ácida *in vivo* nas raízes dos porta-enxertos limão cravo (A) e tangerina cleópatra (B) não micorrizados (Testemunha) ou micorrizados (*Glomus etunicatum*/ *Glomus intraradices*) adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.

Verificou-se efeito significativo na interação doses de P X FMA na absorção total dos macronutrientes em ambos porta-enxertos. A absorção de N, K e Ca pelo porta-enxerto limão cravo, em função da aplicação de doses crescentes de P ao substrato, tanto na presença como na ausência de *Glomus etunicatum*, pode ser expresso por equações lineares, verificando-se efeito quadrático somente para a quantidade total de Mg nas plantas micorrizadas (Figura 11). Nas menores doses de P aplicadas e com a presença do FMA, observaram-se as maiores quantidades totais de N, K, Ca e Mg na parte aérea do limão cravo, o que pode ser explicado pelo maior desenvolvimento aéreo e radicular das plantas nestas doses. Com o aumento na dose de P, as plantas não micorrizadas aumentaram o acúmulo dos nutrientes, enquanto as micorrizadas diminuíram.

A micorriza estabelecida na tangerina cleópatra promoveu aumento significativo nas quantidades totais de N, Ca, Mg e K, nas menores doses de P adicionadas ao substrato (Figura 12). Observou-se aumentos lineares ascendentes nas quantidades destes elementos nas plantas não micorrizadas, em função da aplicação de doses crescentes de P. Nas plantas micorrizadas houve efeito quadrático, com aumento na quantidade total absorvida até a dose ao redor $6,0 \text{ mg P L}^{-1}$, a partir da qual se observou redução nesses valores (Figura 12). Fontanezzi (1989) obteve resultados semelhantes também com plantas cítricas.

O Mg total absorvido pelas plantas apresentou valor baixo tanto na presença como na ausência do FMA, o que parece, entretanto, não ter interferido no desenvolvimento das plantas. Nas plantas micorrizadas onde se observou depressão de crescimento constatou-se queda acentuada da absorção total dos nutrientes.

A concentração de N na parte aérea de ambos porta-enxertos micorrizados ou não, foi semelhante, concordando com Camargo (1989) o qual também não obteve aumento nos teores de N em limão cravo micorrizado.

Observou-se interação doses de P X FMA, com relação a quantidades acumuladas de Zn, Cu, Fe e Mn na parte aérea das plantas. Tanto no limão cravo como na tangerina cleópatra não micorrizados a absorção destes nutrientes aumentou linearmente com a adição de doses crescentes de P ao substrato, exceto o Cu no porta-

enxerto tangerina cleópatra, o qual não variou com a dose de P aplicada (Figura 13 e 14).

Em ambos os porta-enxertos nas doses mais baixas de P adicionadas ao substrato a micorrização promoveu aumento na absorção de Zn, Cu, Fe e Mn, enquanto que nas doses mais altas pôde-se observar redução nestes valores devido, provavelmente, à redução de desenvolvimento destas plantas (Figuras 13 e 14).

É comum observar, na literatura, redução nas concentrações de Mn nas plantas micorrizadas em condições de baixa disponibilidade de P, na qual há efeito benéfico da micorriza (Timmer & Leyden, 1978). Nicoli (1983) obteve redução nos teores de Mn pela adição de doses crescentes de P em tangerina cleópatra micorrizada. Entretanto Manjunath et al. (1983) observaram aumentos significativos nos teores de Zn e Mn na parte aérea de plantas cítricas micorrizadas. No caso isso não foi observado, pois o teor de Mn não diferiu entre as plantas micorrizadas e não micorrizadas (dados não mostrados), sendo que as maiores doses de Mn absorvidas pelas plantas micorrizadas ocorreram em virtude do maior desenvolvimento da parte aérea dessas plantas.

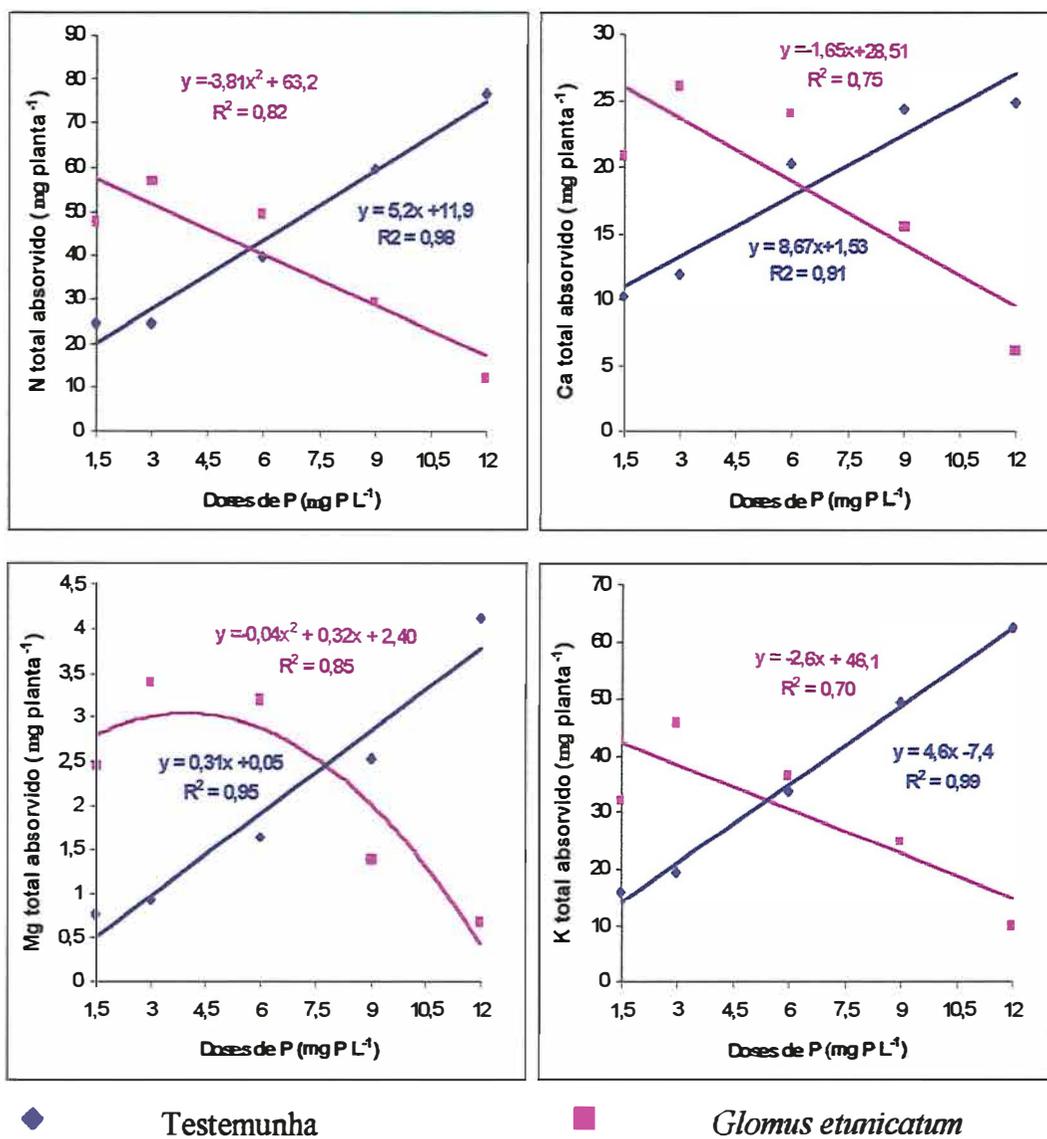


Figura 11- Quantidade total absorvida de N, Ca, Mg e K na parte aérea do porta-enxerto limão cravo não micorrizado (Testemunha) ou micorrizados (*Glomus etunicatum*) adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.

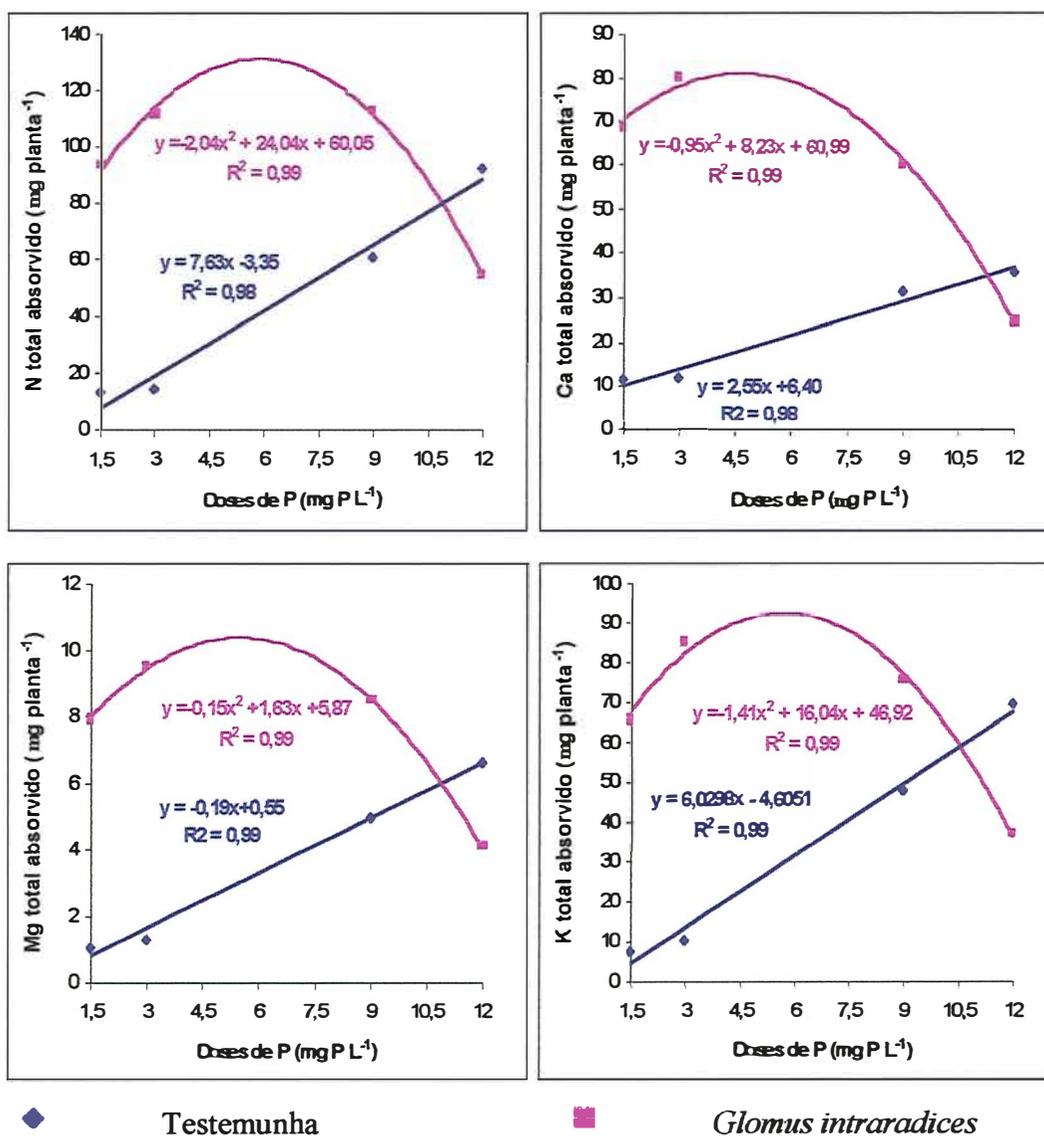


Figura 12- Quantidade total absorvida de N, Ca, Mg e K na parte aérea do porta-enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (Testemunha) ou micorrizados (*Glomus intraradices*) adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.

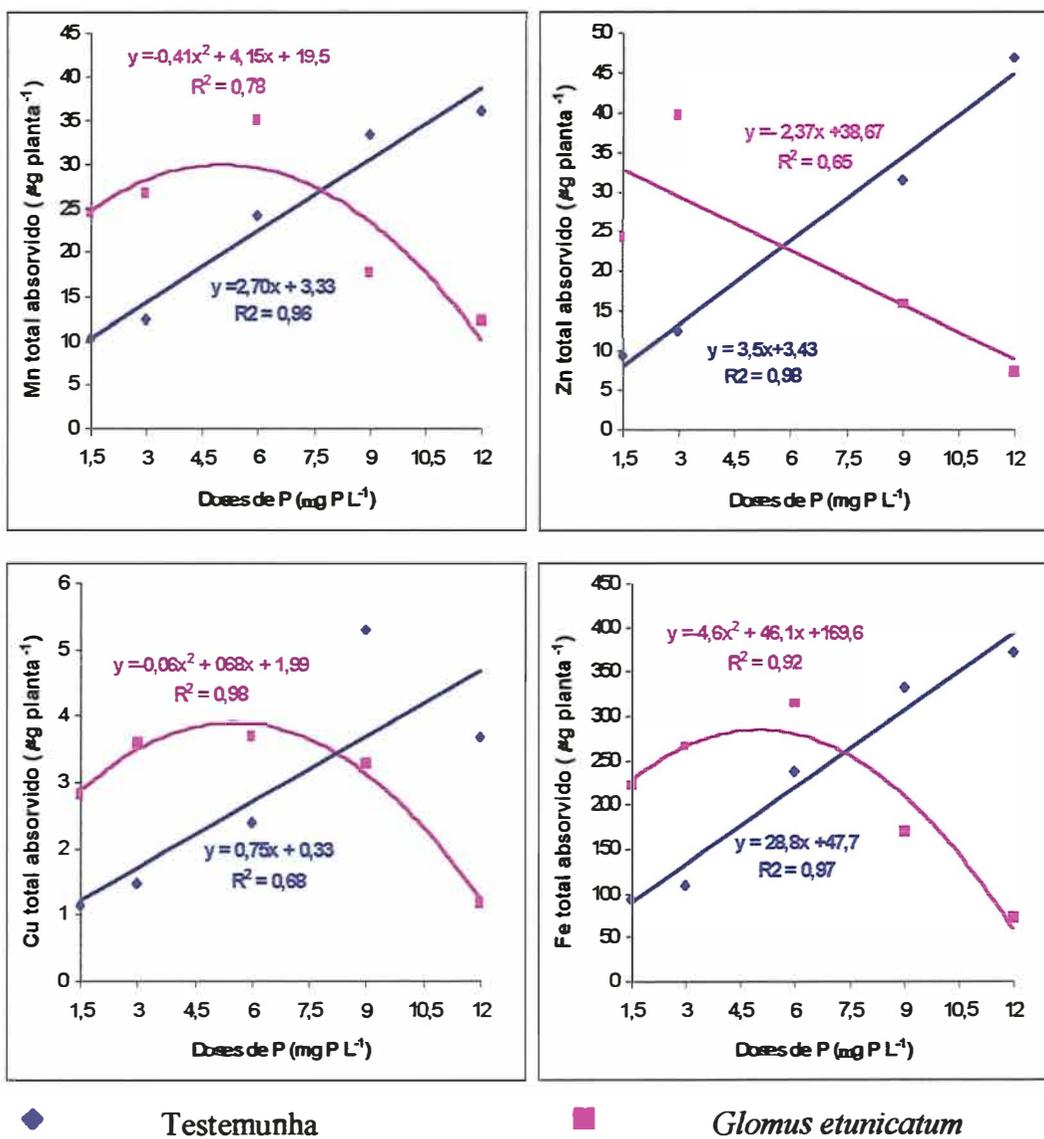


Figura 13- Quantidade total absorvida de Mn, Zn, Cu e Fe na parte aérea do porta-enxerto limão cravo não micorrizado (Testemunha) ou micorrizados (*Glomus etunicatum*) adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.

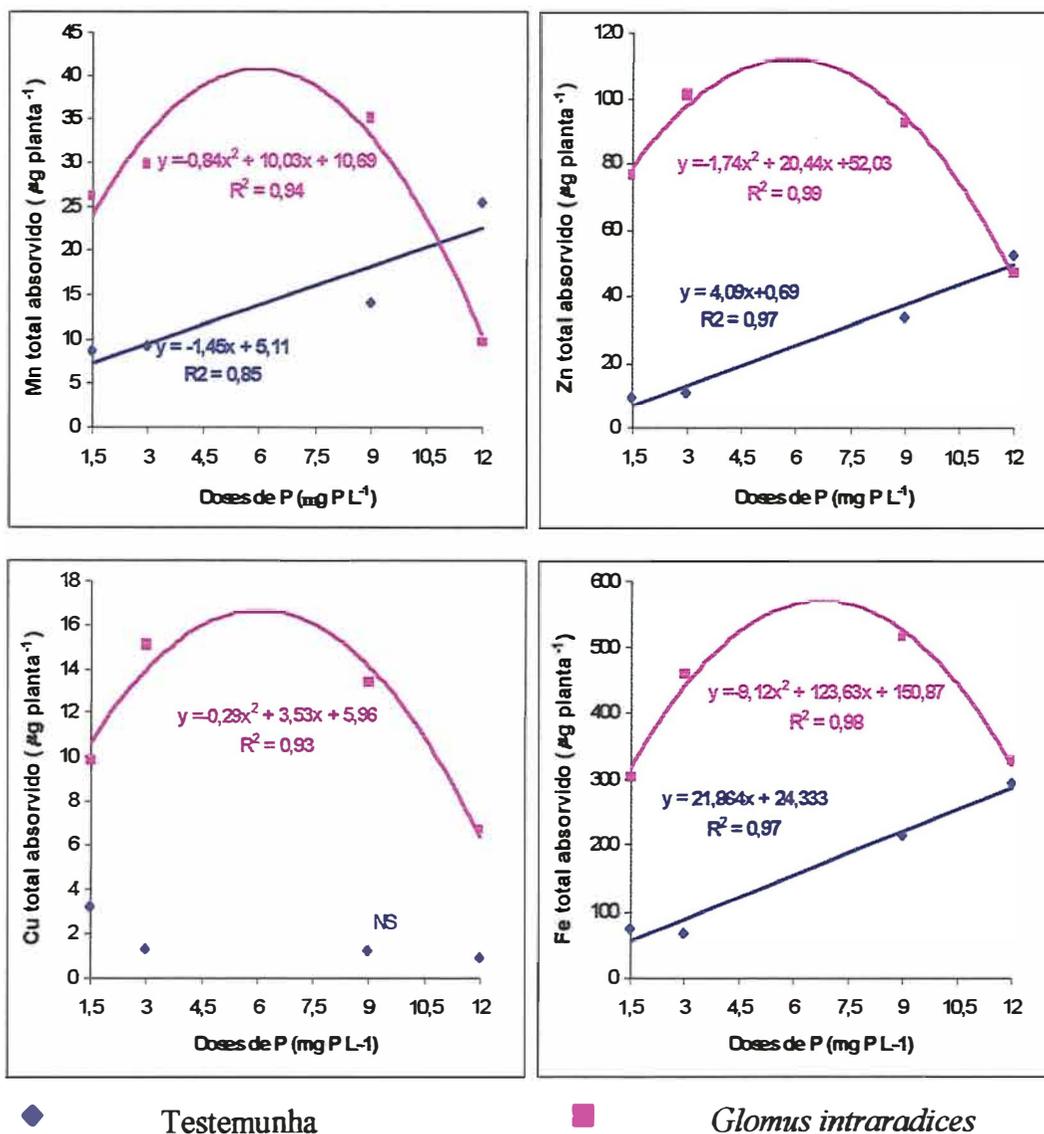


Figura 14- Quantidade total absorvida de Mn, Zn, Cu e Fe na parte aérea do porta-enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (Testemunha) ou micorrizados (*Glomus intraradices*) adicionando-se doses crescentes de P ao substrato.

4.4 Cinética de absorção radicular de P

São poucos os trabalhos com o objetivo de avaliar os parâmetros cinéticos de absorção de P em plantas. A maioria desses trabalhos é realizada com plantas anuais como soja e feijão. Estudos com plantas perenes são raros, e, envolvendo micorrizas são quase inexistentes o que dificulta a discussão dos resultados obtidos.

As doses de P aplicadas ao substrato e a micorriza afetaram drasticamente os parâmetros cinéticos.

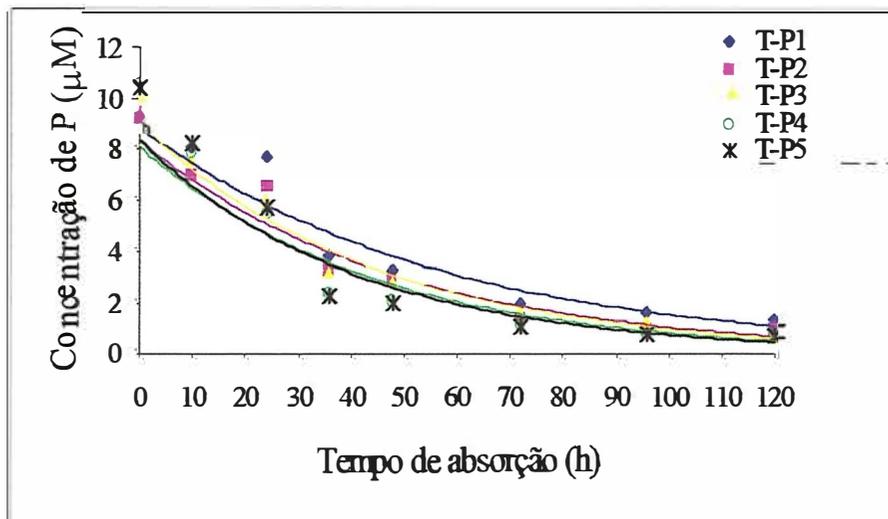
As Figuras 15 e 16 mostram as curvas de exaustão do P da solução em função do tempo de absorção, de acordo com os tratamentos realizados. A exaustão de P variou com a dose de P adicionada ao substrato e a presença/ ausência do fungo micorrízico. Nas doses 1,5; 3,0 e 6,0 mgP L⁻¹, o porta-enxerto limão cravo colonizado por *Glomus etunicatum* exauriu mais rapidamente o P da solução, enquanto nas maiores doses (9,0 e 12,0 mgP L⁻¹), a exaustão foi mais lenta (Figura 15). As plantas não micorrizadas apresentaram exaustão mais rápida de P da solução nos tratamentos que receberam as maiores doses de P (9,0 e 12,0 mgP L⁻¹). No porta-enxerto tangerina cleópatra, o comportamento foi similar, ou seja, as plantas micorrizadas nas doses 1,5; 3,0 e 9,0 mgP L⁻¹ exauriram mais rapidamente o P da solução, enquanto as plantas não micorrizadas mostraram absorção mais rápida nas doses mais elevadas de P (Figura 16).

É interessante notar que o tempo total de exaustão do P no ensaio de cinética que geralmente é de 12 horas para plantas anuais foi realmente longo para citros, ou seja, 120 horas, o que também foi constatado por Murthy & Iyengar (1994).

Os parâmetros cinéticos foram determinados a partir da exaustão de P da solução nutritiva. As tabelas 2 e 3 demonstram o efeito das doses de P e da micorrização nos parâmetros cinéticos de absorção de P, nos porta-enxertos limão cravo e tangerina cleópatra, respectivamente.

Para o limoeiro cravo observou-se que a V_{max} foi bastante influenciada pelo tamanho (massa) do sistema radicular (Figura 17A e 18A). Quando expressa por unidade de matéria fresca de raiz (Figura 17A), constatou-se efeito quadrático para as plantas não

(A)



(B)

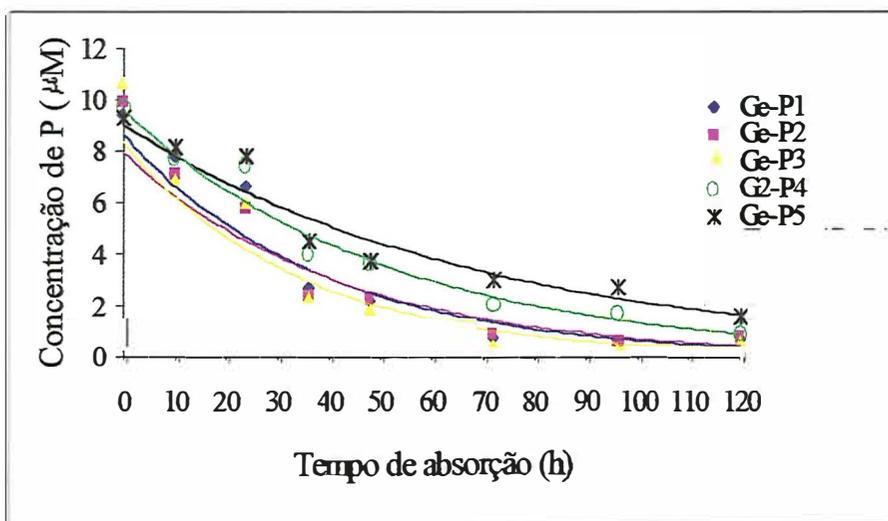
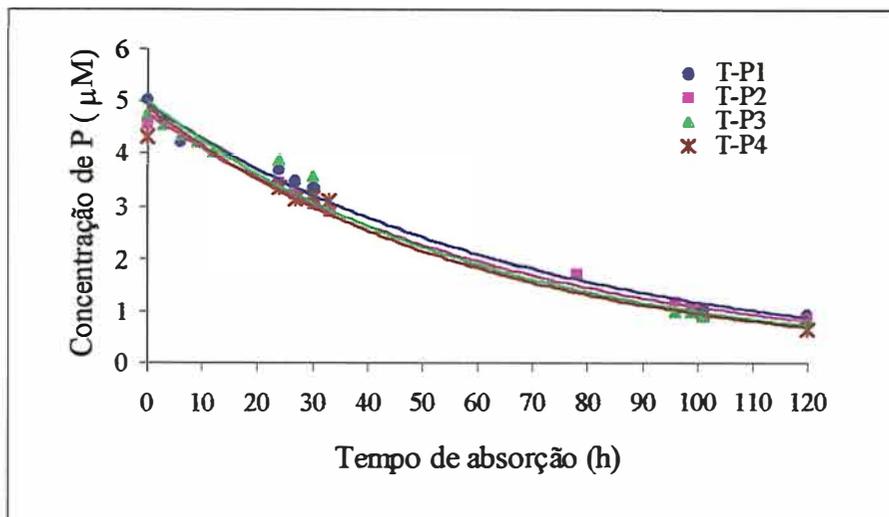


Figura 15- Curvas de exaustão de P da solução, em função do tempo de absorção do porta-enxerto limão cravo não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (Ge- *Glomus etunicatum*) com cinco níveis de P (P1= 1,5 mgP L⁻¹; P2= 3,0 mgP L⁻¹ P3= 6,0 mgP L⁻¹; P4= 9,0 mgP L⁻¹, P5= 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis- Menten.

(A)



(B)

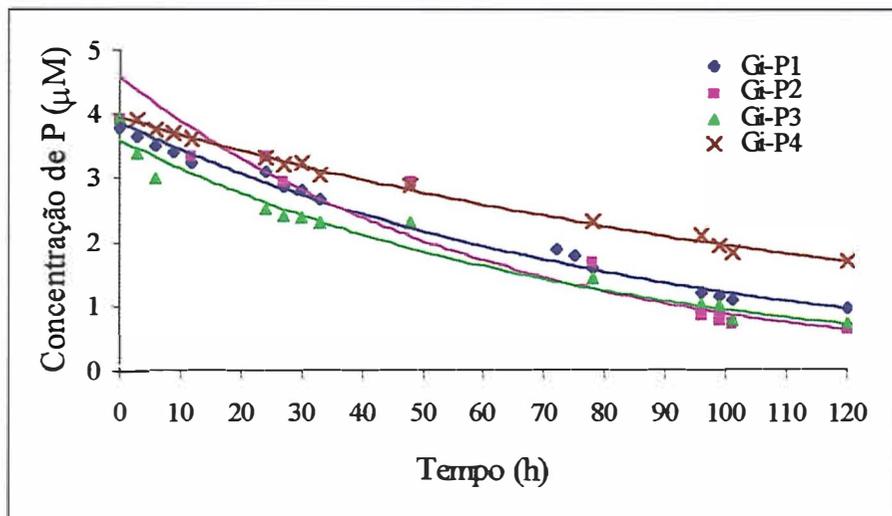


Figura 16- Curvas de exaustão de P da solução, em função do tempo de absorção do porta-enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (Gi- *Glomus intraradices*) com quatro níveis de P (P1= 1,5 mgP L⁻¹; P2= 3,0 mgP L⁻¹ P3= 9,0 mgP L⁻¹; P4= 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis- Menten.

Tabela 2- Parâmetros cinéticos (Vmax, Km e Cmin) de absorção de P e matéria fresca de raiz do porta-enxerto limão cravo não micorrizado (T- Testemunha) ou micorrizado (Ge- *Glomus etunicatum*) com cinco níveis de P (P1-1,5mgP L⁻¹;P2- 3,0mgP L⁻¹; P3- 6,0 mgP L⁻¹; P4-9,0 mgP L⁻¹ e P5- 12,0 mgP L⁻¹).

Tratamentos	MF ⁻¹ h ⁻¹	Vmax μmol P pl ⁻¹ h ⁻¹	Km μmol L ⁻¹	Cmin μmol L ⁻¹	MF raiz g
T-P1	0,0623a	0,1673b	4,10a	1,83a	2,81b
T-P2	0,0758a	0,2128a	2,20a	1,41a	3,02b
T-P3	0,0773a	0,3269a	3,45a	1,45a	4,29a
T-P4	0,0767a	0,4010a	4,02a	0,99b	4,98a
T-P5	0,0518b	0,3639a	3,08a	0,97b	6,93a
Ge-P1	0,0587a	0,2692a	1,82b	0,51b	4,47a
Ge-P2	0,0572a	0,2615a	2,62a	0,57b	5,12a
Ge-P3	0,0606a	0,2674b	1,83b	0,44b	5,06a
Ge-P4	0,0722a	0,2350b	3,35a	1,69a	3,13b
Ge-P5	0,1760a	0,1747b	3,17a	2,51a	1,31b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey, entre plantas micorrizadas e não micorrizadas dentro da mesma dose de P.

Tabela 3- Parâmetros cinéticos (Vmax, Km e Cmin) de absorção de P e matéria fresca de raiz do porta-enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (T- Testemunha) ou não (Gi- *Glomus intraradices*) com quatro níveis de P (P1-1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0mgP L⁻¹; P3- 9,0 mgP L⁻¹ e P4- 12,0 mgP L⁻¹).

Tratamentos	MF ⁻¹ h ⁻¹	Vmax μmol P pl ⁻¹ h ⁻¹	Km μmol L ⁻¹	Cmin μmol L ⁻¹	MF raiz g
T-P1	0,0310a	0,0640a	1,15b	0,34b	2,09b
T-P2	0,0377a	0,0884a	1,47a	0,77a	1,93b
T-P3	0,0101b	0,0714a	1,20a	0,78a	7,31a
T-P4	0,0090b	0,0750a	1,17b	0,65b	8,76a
Gi-P1	0,0200b	0,0582a	1,44a	0,78a	4,15a
Gi-P2	0,0132b	0,0597b	1,00b	0,40b	4,65a
Gi-P3	0,0253a	0,0565b	1,12a	0,39b	4,64a
Ge-P4	0,0260a	0,0544b	1,62a	1,49a	2,30b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey, entre plantas micorrizadas e não micorrizadas dentro da mesma dose de P.

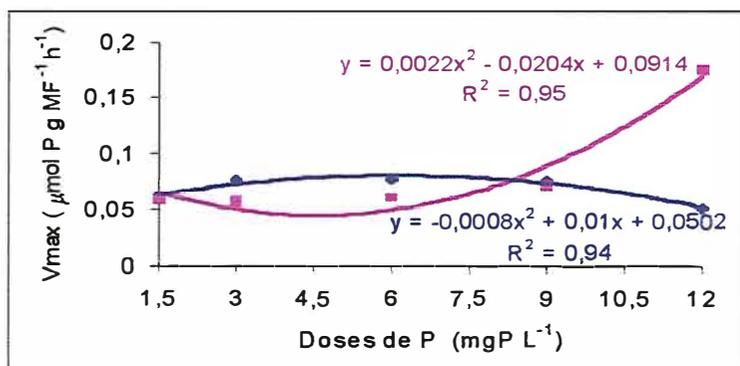
micorrizadas e micorrizadas, sendo que para as primeiras houve um pico na maior dose $6,0 \text{ mgP L}^{-1}$, decrescendo nas maiores doses, enquanto que para as micorrizadas nessas doses os valores de V_{max} aumentaram, devido provavelmente, à diminuição na massa de matéria fresca de raiz (Figura 17A, Tabela 2). Entretanto, quando expressa por planta, a V_{max} apresentou efeito quadrático descendente com o aumento na dose de P aplicada, para as plantas micorrizadas e aumentou linearmente para as não micorrizadas (Figura 17B).

O valor de V_{max} , expresso por unidade de matéria fresca de raiz, para o limão cravo micorrizado somente diferiu significativamente do não micorrizado na maior dose de P aplicada. Nesta dose houve um incremento de 240% em relação às plantas não micorrizadas, provavelmente devido à baixa produção de massa radicular que apresentou redução de 80% nas plantas micorrizadas na maior dose de P, em relação à testemunha (Tabela 2). Observou-se correlação negativa entre o V_{max} expresso por unidade de matéria fresca e a matéria fresca radicular ($P > 0,01$ $r = -0,72$). Quanto aos valores de V_{max} expressos por planta, as plantas micorrizadas somente superaram significativamente as não micorrizadas na menor dose de P. As plantas com depressão de crescimento nas doses mais elevadas de P diferiram significativamente das não micorrizadas, apresentando menores valores de V_{max} (Tabela 2). Nas plantas não micorrizadas, o valor de V_{max} foi reduzido em 117% na menor dose de P aplicada quando comparado com a maior dose de P ($12,0 \text{ mgP L}^{-1}$). Já nas plantas colonizadas por *Glomus etunicatum* houve redução de 35% no V_{max} na maior dose de P em relação à dose mais baixa. A redução dos valores de V_{max} com elevação de P aplicado ao substrato pode estar relacionado à própria demanda de P pela planta. Faquin et al. (1990), Silveira (1990) obtiveram aumentos de V_{max} em plantas micorrizadas em doses mais elevadas de P no substrato. Lee (1982) encontrou aumento de V_{max} em plantas deficientes de fósforo, esse fato pode ser explicado pelo acréscimo na concentração de carboidratos na raiz, aumentando a capacidade de absorção das plantas, o que não foi observado nesse experimento, pois as plantas não apresentaram deficiência deste nutriente.

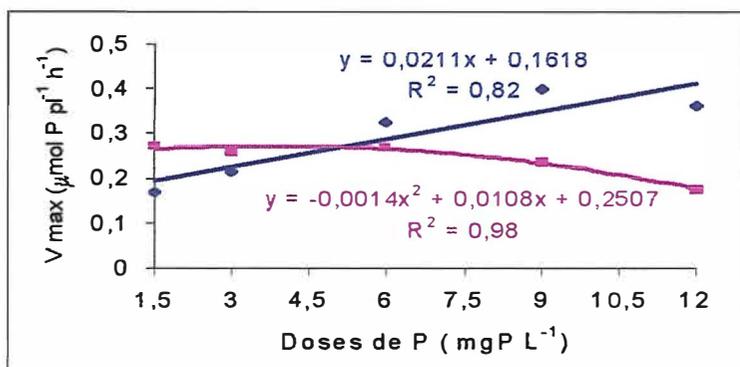
Em relação ao K_m , para o limão cravo não micorrizado não houve ajuste dos resultados obtidos, ou seja, os valores de K_m não diferiram com a dose de P aplicada (Figura 17C). Já para as plantas micorrizadas, o ajuste foi linear ascendente, sendo que as plantas que apresentaram depressão no crescimento, nas maiores doses de P, tiveram os maiores valores de K_m , os quais, entretanto não diferiram das plantas não micorrizadas (Tabela 2). No entanto, nas doses 1,5 e 6,0 mgP L⁻¹, as plantas micorrizadas apresentaram um valor de K_m significativamente menor que as não micorrizadas. Assim, no porta-enxerto limão cravo micorrizado, na maior dose de P aplicada (12,0 mgP L⁻¹), observou-se aumento de 74% do valor de K_m quando comparado com a menor dose de P. Na dose onde se adicionaram 1,5 mgP L⁻¹ pôde se observar uma redução de 56% do valor de K_m das plantas micorrizadas em relação a testemunha, demonstrando aumento da afinidade ao P pelas raízes. Na dose 3,0 mgP L⁻¹, onde foi observado o pico de crescimento das plantas micorrizadas, o valor de K_m não diferiu das plantas não micorrizadas, enquanto que na dose 6,0 mgP L⁻¹, o valor de K_m decresceu 47% nas plantas micorrizadas em relação à testemunha. Para Lee (1982) a deficiência de P ocasiona diminuição nos valores de K_m . Entretanto, isso não foi constatado, uma vez que nas plantas micorrizadas que apresentaram menores valores de K_m não foi constatado diferenças na concentração de P na parte aérea em relação às plantas com alto fornecimento de P.

O ajuste dos valores de C_{min} para o porta-enxerto limão cravo mostrou-se linear descendente para as plantas não micorrizadas, ou seja, diminuiu com o aumento na dose de P aplicada, e quadrático ascendente para as micorrizadas, ou seja, nas doses mais baixas de P, os valores de C_{min} foram menores, aumentando nas doses mais elevadas, isto é nas plantas que tiveram depressão de crescimento (Figura 18B). Nestas doses, os valores de C_{min} das plantas micorrizadas foram significativamente maiores que nas plantas não micorrizadas e nas doses mais baixas ocorreu o inverso (Tabela 2). Assim, foi observada diminuição de 72% da C_{min} na menor dose de P aplicada nas plantas micorrizadas em relação às plantas não micorrizadas, enquanto que na maior dose houve aumento de 158%.

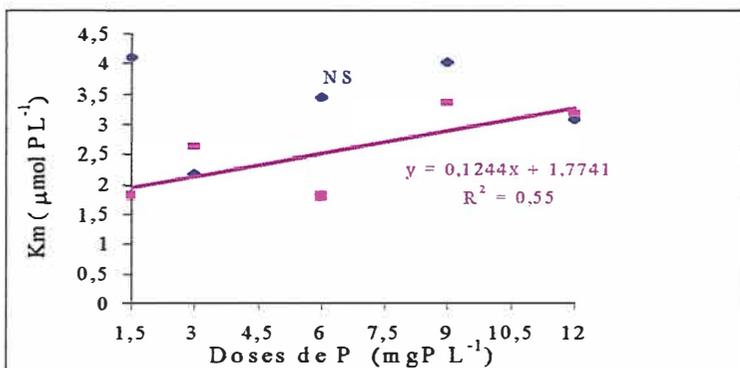
(A)



(B)



(C)

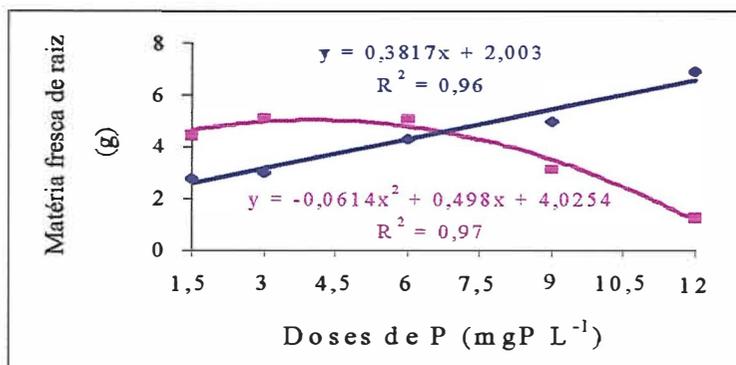


Testemunha

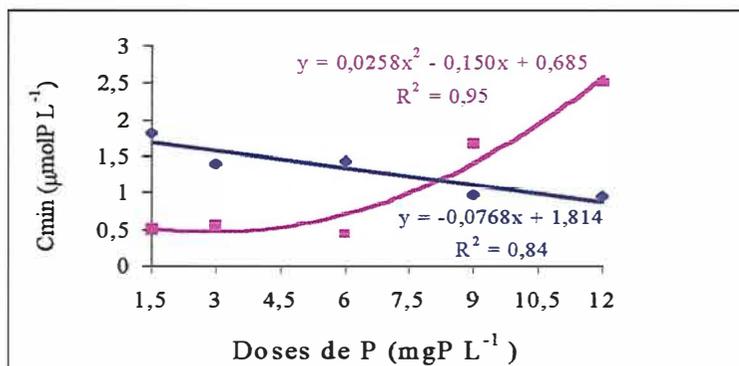
*Glomus etunicatum*

Figura 17- Parâmetros cinéticos (V_{max} e K_m) de absorção de P do porta-enxerto limão cravo não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (Ge- *Glomus etunicatum*) com cinco níveis de P ($P_1 = 1,5 \text{ mgP L}^{-1}$; $P_2 = 3,0 \text{ mgP L}^{-1}$; $P_3 = 6,0 \text{ mgP L}^{-1}$; $P_4 = 9,0 \text{ mgP L}^{-1}$ e $P_5 = 12,0 \text{ mgP L}^{-1}$).

(A)



(B)



Testemunha

*Glomus etunicatum*

Figura 18- Matéria fresca das raízes (A) e Concentração mínima do porta-enxerto limão cravo não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (Ge- *Glomus etunicatum*) com cinco níveis de P (P1= 1,5 mgP L⁻¹; P2= 3,0 mgP L⁻¹ P3= 6,0mgPL⁻¹,P4=9,0mgPL⁻¹eP5=12,0mgPL⁻¹).

No porta-enxerto tangerina cleópatra, os valores de V_{max} , expressos por unidade de matéria fresca de raiz, nas plantas não micorrizadas, apresentaram resposta linear descendente, ou seja, diminuíram com o aumento na dose de P, enquanto as micorrizadas tiveram resposta linear ascendente, isto é, nas maiores doses de P, as plantas que apresentaram depressão no crescimento mostraram os maiores valores de V_{max} (Figura 19A). Assim, V_{max} foi significativamente menor nas plantas micorrizadas com adição das menores doses de P ao substrato ($1,5 \text{ mgP L}^{-1}$ e $3,0 \text{ mgP L}^{-1}$) em relação às plantas não micorrizadas, enquanto nas maiores doses essa situação foi invertida, ou seja, foi significativamente maior (Tabela 3). Esse fato deve ter ocorrido devido à redução do sistema radicular, a exemplo do ocorrido com limão cravo. O sistema radicular das plantas não micorrizadas aumentou linearmente com a dose de P, e, nas micorrizadas apresentou resposta quadrática com depressão significativa no crescimento na maior dose (Figura 20 A, Tabela 3). Anghinoni & Barber (1980) observaram maiores valores de V_{max} em plantas não micorrizadas desenvolvidas em condições de baixo fornecimento de P.

Quanto ao V_{max} expresso por planta, os resultados não se ajustaram aos modelos propostos, ou seja, não houve variação nos valores de V_{max} com aumento na dose de P para ambas as plantas, micorrizadas e não micorrizadas (Figura 19B). Entretanto, as plantas micorrizadas apresentaram valores de V_{max} significativamente menores que as plantas não micorrizadas em todas as doses de P, exceto na menor (Tabela 3).

É importante lembrar que a V_{max} está muito relacionada com a atividade metabólica da planta. O aumento de V_{max} pode estar ligado à maior concentração efetiva dos carregadores nas raízes e/ ou ao número de giros do complexo íon-carregador (Drew et al., 1984).

Os valores de K_m para a tangerina cleópatra não micorrizada não variaram com a dose de P aplicada, enquanto para as micorrizadas seguiram um modelo quadrático, com menor valor de K_m na dose em torno de $6,0 \text{ mgP L}^{-1}$. Isto indica uma maior afinidade de P pelas raízes, o que pode provavelmente refletiu num maior aproveitamento desse nutriente, acarretando incremento no desenvolvimento e na matéria seca da parte aérea das plantas (Figura 3A e B). Entretanto, na maior dose de P aplicada ($12,0 \text{ mgP L}^{-1}$), o

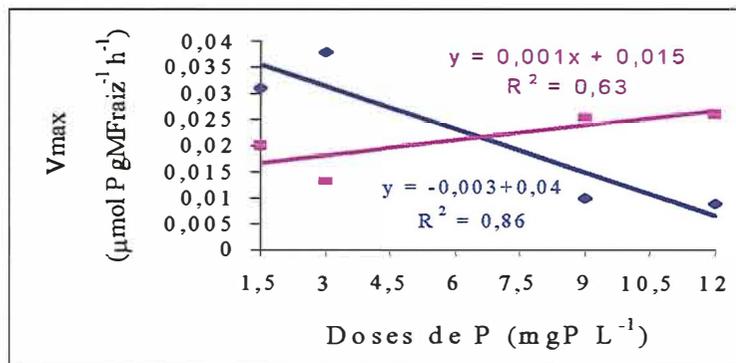
K_m foi 38% maior do que nas plantas não micorrizadas, o que poderia estar relacionado à depressão de crescimento, pois devido à menor afinidade ao P, a quantidade absorvida de P na parte aérea também decresceu nesta dose (Figura 8B).

Para Cartwright (1972) o efeito mais marcante da deficiência de P na cinética de absorção de P é o decréscimo no valor do K_m , o que, entretanto, não é válido para os resultados aqui observados, pois as plantas não apresentaram deficiência de P, apesar da diminuição na sua absorção.

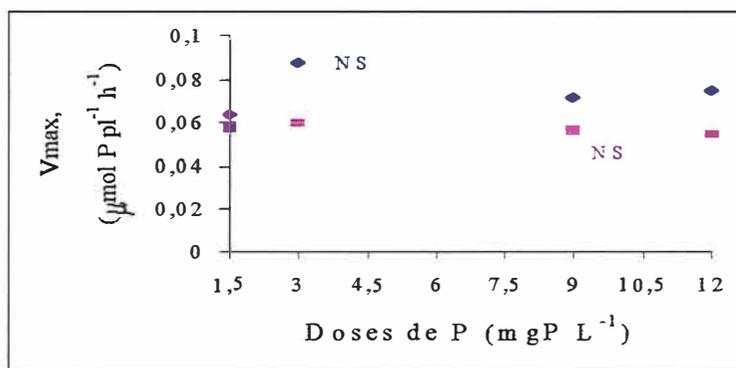
Para o porta-enxerto tangerina cleópatra, os valores de C_{min} nas plantas não micorrizadas seguiram uma resposta quadrática ascendente, com pico ao redor da dose 6,0 mgP L⁻¹, enquanto as micorrizadas, uma quadrática descendente com pico mínimo também ao redor da mesma dose (Figura 20A). Portanto, na dose onde se observou o pico de desenvolvimento das plantas micorrizadas observou-se redução de 50% na C_{min} em relação às plantas não micorrizadas, sendo que os valores de C_{min} das plantas micorrizadas foram significativamente menores que os das plantas não micorrizadas (Tabela 3). Essas reduções na C_{min} , tanto para o limão cravo como para a tangerina cleópatra micorrizadas em uma dose de P de maior eficiência da simbiose, mostram que nessas condições esses dois porta-enxertos foram capazes de extrair e reter o P nas raízes, mesmo nas concentrações mais baixas na solução, concordando com Faquin (1988), Silveira (1990) e Silveira & Cardoso (1991). Nas plantas micorrizadas com depressão de crescimento houve um incremento de 129% na C_{min} em relação às plantas não micorrizadas, cujos valores de C_{min} diferiram significativamente (Tabela 3).

Assim como ocorreu com os valores de V_{max} , o influxo líquido de P também refletiu a variação no desenvolvimento do sistema radicular. O influxo líquido expresso por unidade de massa de matéria fresca de raiz, no porta-enxerto limão cravo micorrizado, praticamente não se alterou com a dose de P aplicada, exceto na maior dose, na qual apresentou um influxo de 237% maior do que o não micorrizado (Figura 21A e B). Na dose onde se adicionaram 3,0 mgP L⁻¹, na qual houve maior crescimento das plantas (Figuras 1A e 2A), as plantas não micorrizadas apresentaram valores de influxo 25% maiores do que as plantas micorrizadas.

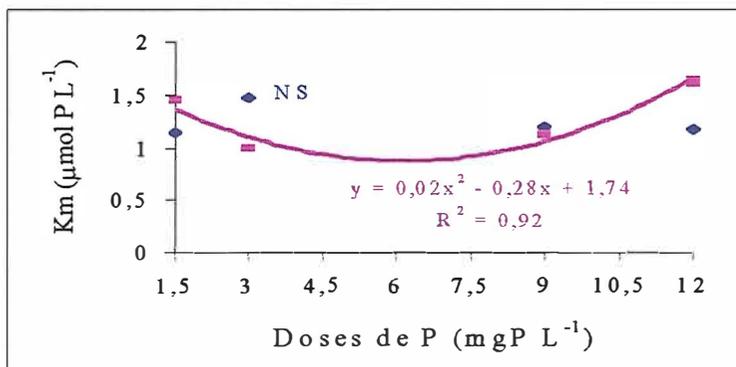
(A)



(B)



(C)

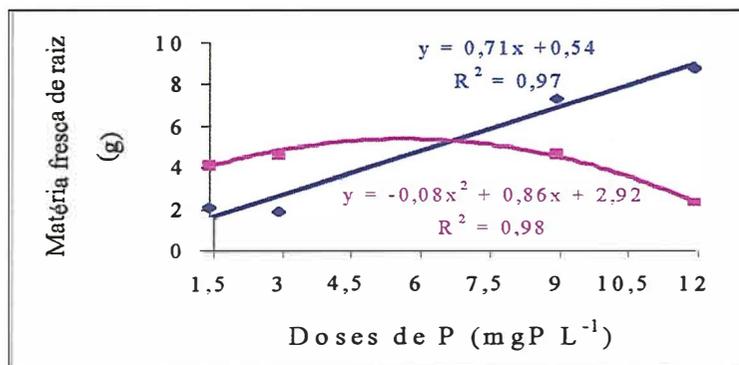


Testemunha

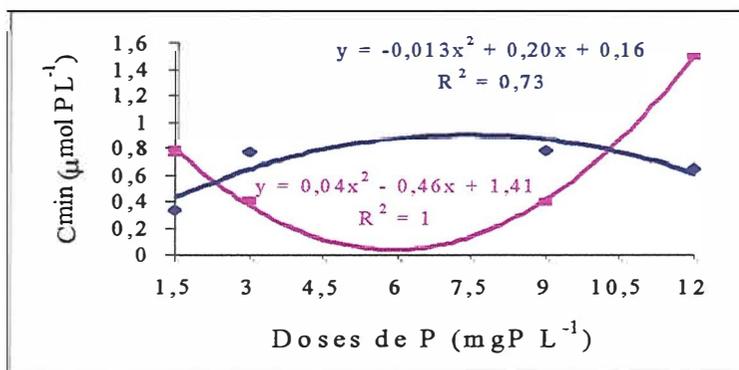
*Glomus intraradices*

Figura 19- Parâmetros cinéticos (V_{max} e K_m) de absorção de P do porta-enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (Gi-*Glomus intraradices*) com quatro níveis de P (P1= 1,5 mgP L^{-1} ; P2= 3,0 mgP L^{-1} P3= 9,0 mgP L^{-1} ; P4= 12,0 mgP L^{-1}).

(A)



(B)



Testemunha

*Glomus intraradices*

Figura 20- Matéria fresca das raízes (A) e Concentração mínima do porta-enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (Gi-*Glomus intraradices*) com quatro níveis de P (P1= 1,5 mgP L⁻¹; P2= 3,0 mgP L⁻¹ P3= 9,0 mgP L⁻¹; P4= 12,0 mgP L⁻¹).

Embora as plantas com depressão no crescimento, ou seja, as micorrizadas na maior dose de P ($12,0 \text{ mgP L}^{-1}$), tenham apresentado maior influxo líquido, estas também tiveram maior efluxo aparente de P, cerca de 1370%, em relação às plantas não micorrizadas (Figura 21A e B e Anexo A). Isto significa que tiveram menor capacidade de reter o P na raiz apresentando, portanto, maior perda do elemento.

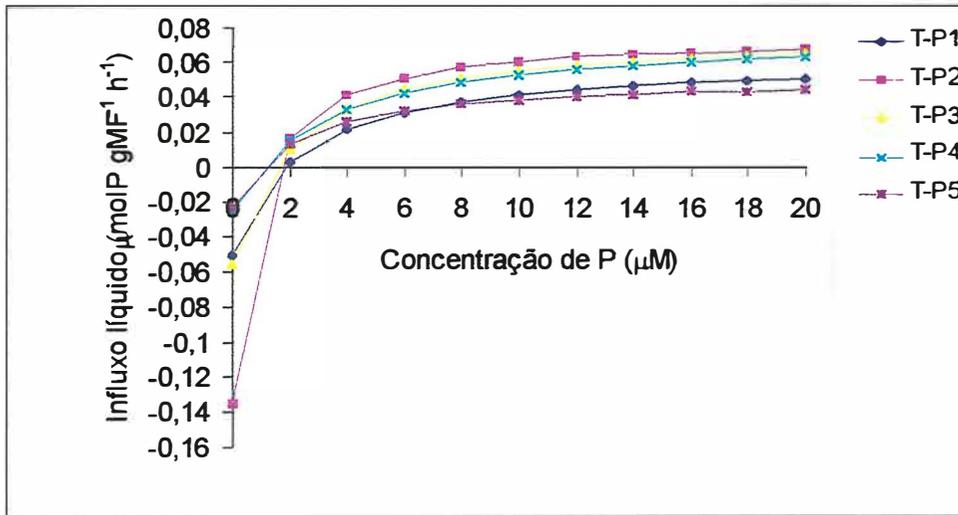
No influxo líquido expresso por planta, observou-se que nas menores doses de P aplicadas as plantas micorrizadas tiveram maior influxo que as não micorrizadas, e o inverso ocorreu em relação às maiores doses. Assim, o influxo líquido foi 114% maior nas plantas micorrizadas do que nas plantas testemunhas, na menor dose de P, enquanto que na maior dose, as plantas micorrizadas apresentaram influxo líquido 52% menor em relação às não micorrizadas (Figura 22A e B)

No influxo expresso por planta, na qual não é levado em consideração o valor da C_{min} , obteve-se incremento de 97% nas plantas micorrizadas em relação às plantas não micorrizadas, na menor dose de P aplicada ao substrato. Entretanto na maior dose, as plantas micorrizadas apresentaram redução de 52 % nos valores de influxo em relação às plantas não micorrizadas (Figura 23A e B, Anexo 1). Smith (1990) constatou que plantas micorrizadas apresentaram maior influxo de P do que as não micorrizadas, mostrando que plantas micorrizadas são capazes de absorver mais P do que as não micorrizadas.

O influxo expresso por unidade de matéria fresca de raiz do porta-enxerto limão cravo apresentou diferenças em relação às doses de P adicionadas ao substrato nas plantas não micorrizadas, enquanto que nas plantas micorrizadas praticamente só houve diferença para a maior dose de P, onde o valor do influxo foi no geral 176% maior do que nas demais doses. Comparando-se com as plantas não micorrizadas, constatou-se aumento de 234% do influxo na maior dose de P nas plantas micorrizadas (Figura 24A e B, Anexo B).

Como o influxo líquido por planta elimina o efeito do tamanho do sistema radicular (no caso matéria fresca de raiz), as plantas micorrizadas que apresentaram depressão de crescimento, inclusive de raiz (Tabela 2), mostraram também menor influxo de P, de forma inversa ao observado com o influxo e influxo líquido por unidade de matéria fresca de raiz.

(A)



(B)

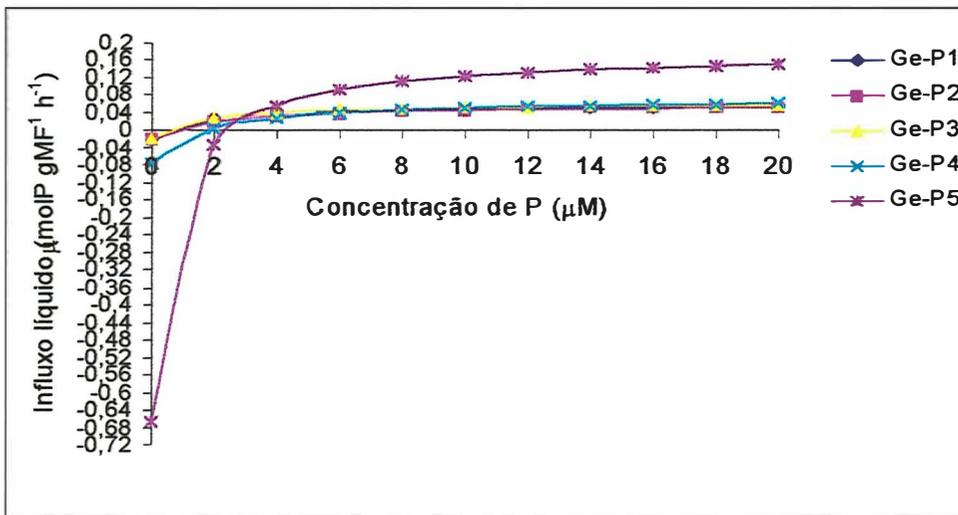


Figura 21- Influxo líquido de P por unidade de massa de matéria fresca de raiz, em função da concentração de P na solução, no porta-enxerto limão cravo não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (Ge- *Glomus etunicatum*) com cinco níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0mgP L⁻¹; P3- 6,0 mgP L⁻¹; P4- 9,0 mgP L⁻¹ e P5- 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis Menten:

$$I_{liq} = \frac{V_{max} (C - C_{min})}{K_m + (C - C_{min})}$$

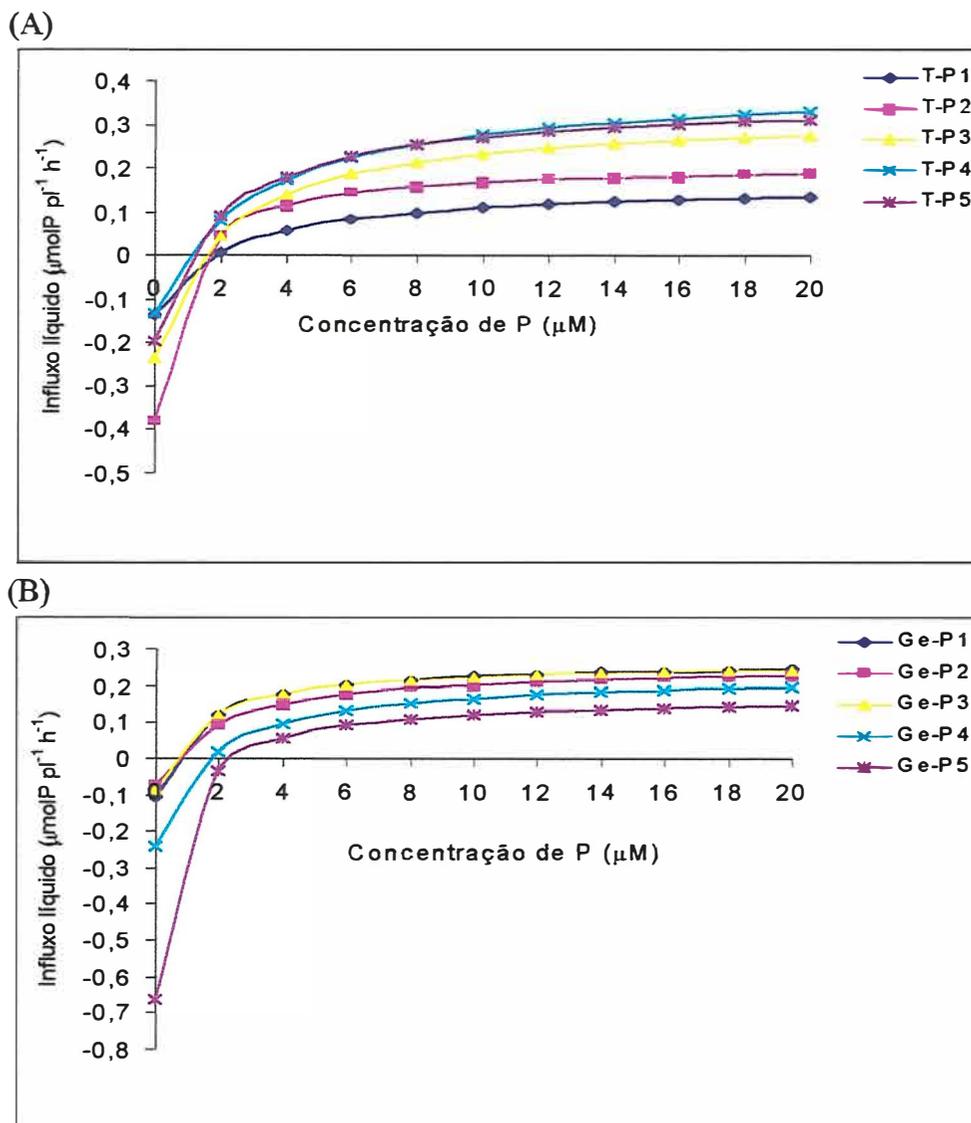
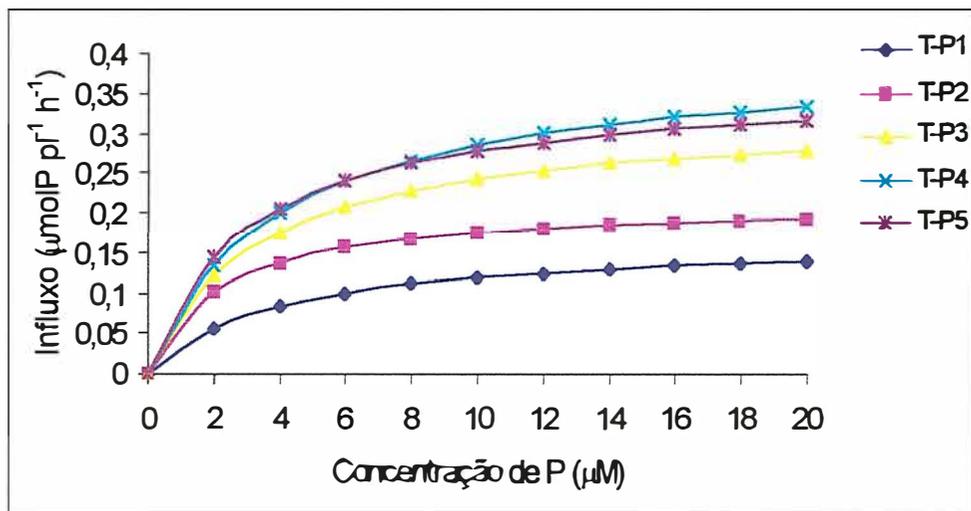


Figura 22- Influxo líquido de P por planta, em função da concentração de P na solução, no porta-enxerto limão cravo não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (Ge- *Glomus etunicatum*) com cinco níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0mgP L⁻¹; P3- 6,0 mgP L⁻¹; P4- 9,0 mgP L⁻¹ e P5- 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis Menten:

$$I_{liq} = \frac{V_{max} (C - C_{min})}{K_m + (C - C_{min})}$$

(A)



(B)

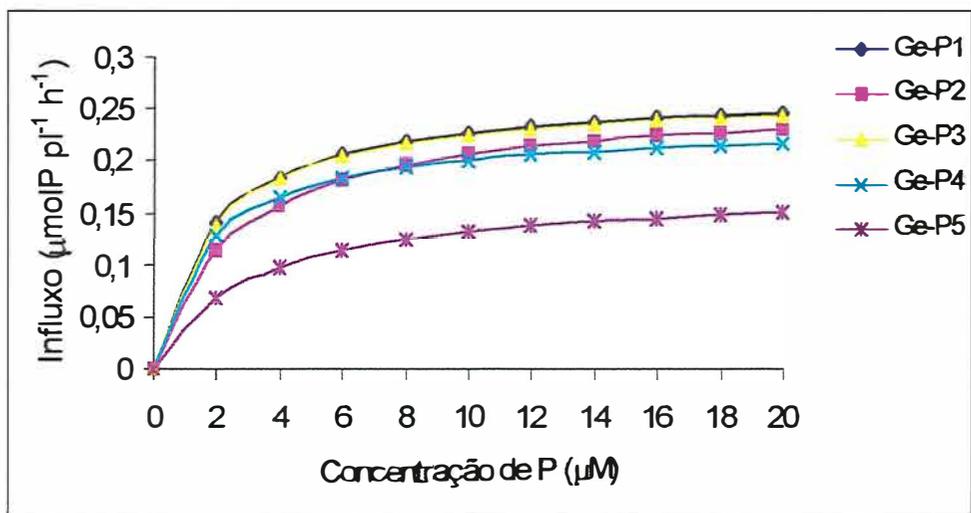


Figura 23- Influxo de P por planta, em função da concentração de P na solução, no porta-enxerto limão cravo não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (Ge- *Glomus etunicatum*) com cinco níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0mgP L⁻¹; P3- 6,0 mgP L⁻¹; P4- 9,0 mgP L⁻¹ e P5- 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis Menten:

$$I = \frac{V_{max} \cdot C}{K_m + C}$$

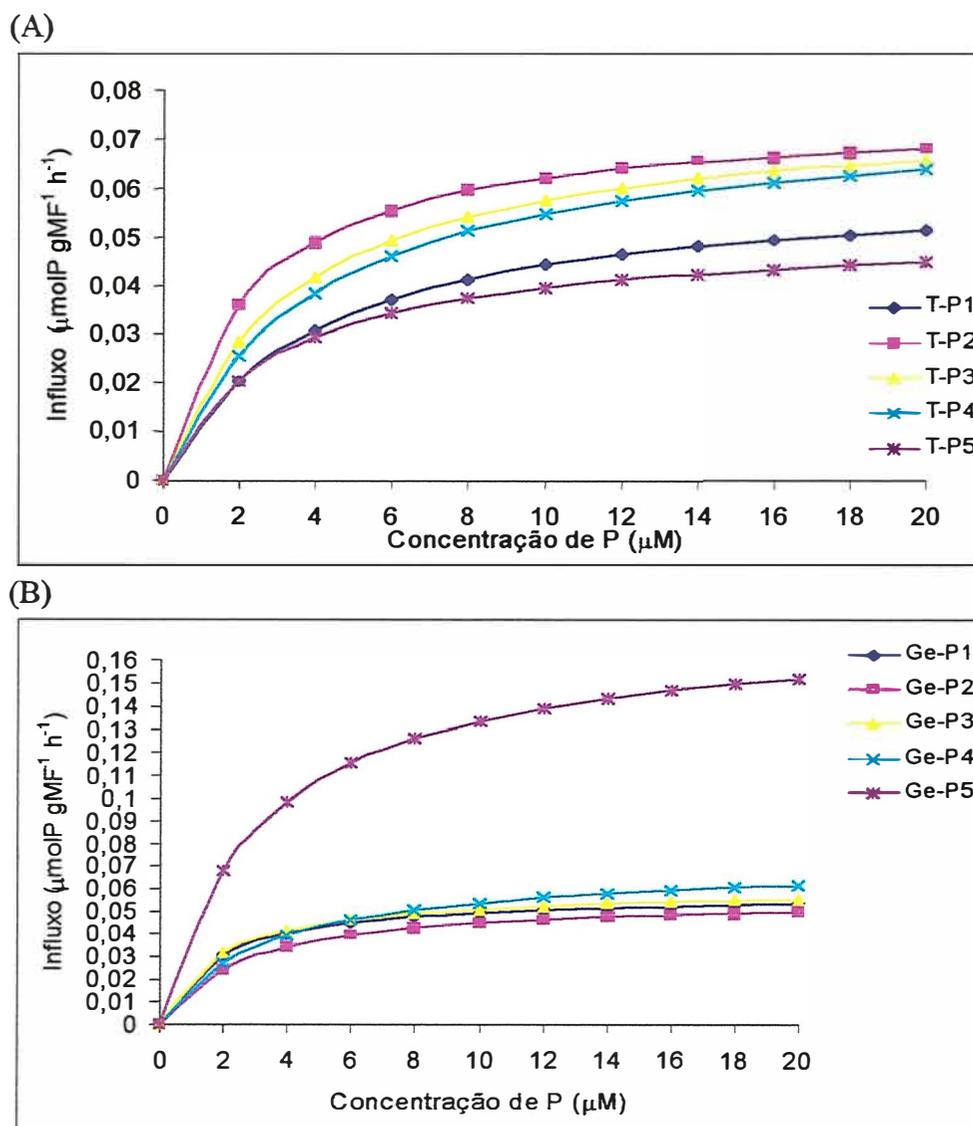


Figura 24- Influxo de P por unidade de massa de matéria fresca de raiz, em função da concentração de P na solução, no porta-enxerto limão cravo não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (Ge- *Glomus etunicatum*) com cinco níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0mgP L⁻¹; P3- 6,0 mgP L⁻¹; P4- 9,0 mgP L⁻¹ e P5- 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis Menten:

$$I = \frac{V_{\text{max}} \cdot C}{K_m + C}$$

O influxo líquido por unidade de matéria fresca de raiz do porta enxerto tangerina cleópatra não variou com a dose de P aplicada para as plantas micorrizadas (Figura 25B). Para as não micorrizadas houve maior influxo nas doses mais baixas de P (Figura 25A). Entretanto as plantas micorrizadas apresentaram incremento de 159% e 163% nas doses 9,0 e 12,0 mgP L⁻¹ em relação às plantas da testemunha, enquanto que nas menores doses 1,5 e 3,0 mgP L⁻¹, apresentaram redução de 40 e 60%. Na maior dose de P aplicada, onde as plantas micorrizadas apresentaram sintomas de depressão de crescimento, observou-se um efluxo 3173% maior do que o das plantas não micorrizadas (Figura 25 A e B, AnexoC).

No influxo líquido por planta, não houve diferenças entre as doses crescentes de P adicionadas ao substrato, para as raízes colonizadas por *Glomus intraradices* (Figura 26B e Anexo C), entretanto, o mesmo acentuado efluxo foi observado na maior dose de P.

Os maiores influxos de P por unidade de matéria fresca de raiz de plantas micorrizadas foi observado nas maiores doses de P adicionadas, ou seja, nas plantas com depressão de crescimento e nas menores doses de P adicionadas para as plantas não micorrizadas (Figura 27A e B, Anexo D) que são justamente as que apresentaram menor matéria fresca de raiz (Tabela 3). Já com relação ao influxo por planta, as plantas micorrizadas e nas maiores doses de P apresentaram os menores influxos, embora não tenham ocorrido grandes diferenças entre as doses de P aplicadas (Figura 28A e B). Para as plantas não micorrizadas, o menor influxo foi observado na menor dose de P.

Esses resultados concordam com Smith (1982, 1990) que constatou maior influxo de P em trevo micorrizado do que não micorrizado.. Para esse mesmo autor, a principal dificuldade na determinação do influxo é medir a verdadeira contribuição do FMA no processo de absorção e correlacionar a absorção com a porção de raiz colonizada e do micélio externo ativo.

Faquin (1988) observou que a micorrização promoveu aumento no influxo líquido de P por unidade de matéria fresca de raiz. Silveira & Cardoso (1990) observaram aumento de 168% no influxo de P por planta na cultivar Negro Argel e 101% na carioca colonizadas por *Glomus etunicatum* enquanto aumentaram 14% nestas

cultivares na presença de *Scutellospora heterogama* em relação às plantas não micorrizadas.

Neste estudo, em condições adequadas de P adicionado ao substrato tanto o FMA *Glomus etunicatum* como *Glomus intraradices* mostraram-se eficientes na absorção de P, trazendo benefícios para os dois porta-enxertos utilizados.

Discussão Geral

A depressão no crescimento observada no porta-enxerto limão cravo nas doses mais elevadas de P adicionadas ao substrato (9,0 e 12,0 mgP L⁻¹) foi constatada pela diminuição na produção de matéria seca da parte aérea, comprimento, área, matéria fresca de raiz e altura das plantas (Figuras 1, 5, 18A). A concentração de P na parte aérea destas plantas não variou, mas a quantidade total absorvida e o índice de eficiência de utilização de P diminuíram nessas doses mais elevadas de P (Figuras 7 e 9B), enquanto a atividade de fosfatase ácida *in vivo* (na raiz da planta intacta) aumentou (Figura 10A). As quantidades totais absorvidas de N, K, Ca, Mg, Mn, Zn, Cu e Fe também diminuíram nestas doses mais elevadas (Figuras 11 e 13). O mesmo ocorreu com a colonização micorrízica radicular o que, provavelmente, pouco influenciou na depressão de crescimento, pois a porcentagem de colonização variou muito pouco com o aumento na dose de P aplicada, não sendo significativo o suficiente para estar relacionado a tal queda no crescimento e absorção de nutrientes. O ensaio de cinética mostrou que as plantas micorrizadas, com depressão no crescimento, tiveram maior C_{min} e menor V_{max} expresso por planta, diferindo significativamente das plantas não micorrizadas (Figuras 17B e 18B e Tabela 2). Além disso, os valores de K_m aumentaram com o acréscimo de P no substrato, indicando diminuição na afinidade da raiz micorrizada ao P. O influxo e o influxo líquido, expressos por planta, diminuíram e estas plantas apresentaram maior efluxo aparente nas baixas concentrações de P na

solução (Figuras 21 e 22), mostrando que numa mesma concentração externa de P, as plantas absorveram menos P e tiveram menor capacidade de retê-lo na raiz. Assim a depressão do crescimento do limão cravo pode ter sido influenciada pela diminuição no número de sítios de absorção (menor V_{max}) e aumento no efluxo de P (ocasionado pelo aumento na C_{min}), causando menor acúmulo de P na planta, o que causou aumento na atividade da fosfatase ácida.

As plantas não micorrizadas, por sua vez, não apresentaram depressão de crescimento e responderam linearmente à adição de P ao substrato. Com o aumento na dose de P aplicada, houve aumento na produção de matéria seca da parte aérea, na quantidade total absorvida de P e no índice de utilização do P absorvido, acompanhado pela diminuição na atividade da fosfatase ácida. Ocorreu diminuição na C_{min} , o que significa que as plantas aumentaram a capacidade de absorver P e aumento na V_{max} expressa por planta, o que explica a maior absorção de P pela planta, já que o K_m não se alterou com a dose de P aplicada.

No porta-enxerto tangerina cleópatra também foi observado depressão no crescimento nas doses mais elevadas de P (9,0 e principalmente na 12,0 mgP L⁻¹), com significativa redução na produção de matéria seca da parte aérea, matéria fresca de raiz e altura da planta (Figuras 3 e 20A). O teor de P na parte aérea, entretanto, aumentou enquanto a quantidade total absorvida (Figura 8A e B) e o índice de eficiência de utilização de P diminuíram (Figura 9B), embora não tenha havido variação na atividade da fosfatase ácida (Figura 10B). A colonização micorrízica diminuiu, mas da mesma forma que para o limão cravo alterou-se muito pouco. Nas condições de depressão de crescimento, os parâmetros cinéticos de absorção de P se alteraram em relação às plantas não micorrizadas, havendo diminuição da V_{max} expressa por planta, aumento na V_{max} expressa por unidade de matéria fresca de raiz, no K_m e na C_{min} (Figuras 19 e 20B, Tabela 3). O influxo e o influxo líquido por planta diminuíram e estas também apresentaram maior efluxo aparente nas condições de baixa disponibilidade de P na solução (Figuras 26 e 28). Assim, a depressão no crescimento do porta-enxerto tangerina cleópatra micorrizado pode estar relacionada à diminuição na afinidade da raiz ao P (maior K_m) e menor número de sítios de absorção (menor V_{max} por planta) e menor

capacidade de retenção do P (maior C_{min}) permitindo maior efluxo de P o que gerou menor acúmulo de P na parte aérea.

As plantas não micorrizadas, como no outro porta-enxerto utilizado, não apresentaram depressão no crescimento e também responderam linearmente à adição de doses crescentes de P, com aumento na produção de matéria seca, no acúmulo de P e no índice de eficiência de utilização de P e diminuição na atividade de fosfatase ácida. Os valores de V_{max} expressos por planta e K_m não se alteraram e o aumento na absorção de P pode ter sido pela diminuição na C_{min} na dose mais alta de P.

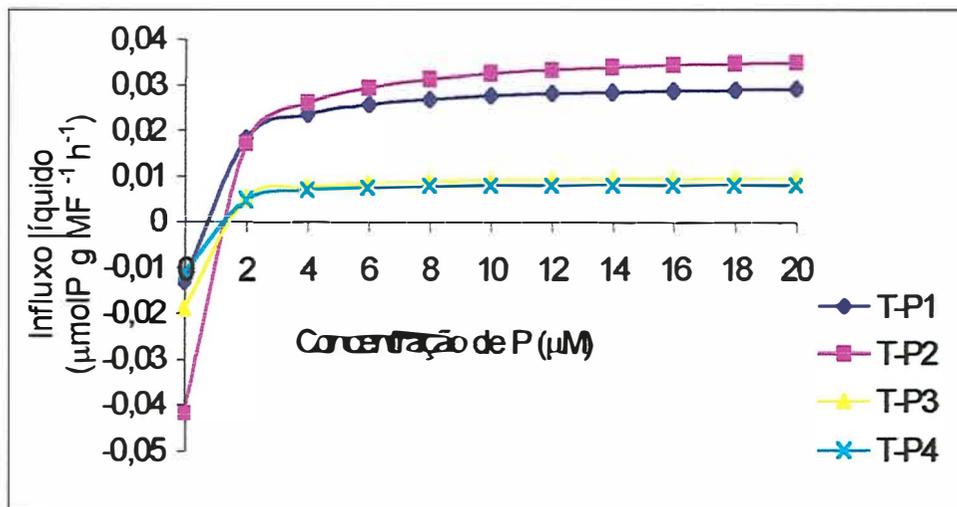
Provavelmente, a variação nos parâmetros cinéticos de absorção radicular de P não tenha sido a causa da depressão de crescimento das plantas micorrizadas, em altas doses de P aplicada. As alterações metabólicas e fisiológicas que certamente ocorreram acarretaram tal diminuição no desenvolvimento da planta e se refletiram na cinética de absorção de P. Silveira (1990) observou, em feijoeiro, que aumento de 10 vezes na dose de P aplicada causou queda significativa na V_{max} , aumento no K_m e C_{min} das plantas micorrizadas, as quais, entretanto não apresentaram diminuição no crescimento.

Se por um lado houve queda no crescimento das plantas micorrizadas, demonstrando um efeito parasítico do FMA, em altas doses de P, por outro lado, também ocorreu uma faixa de P em que a simbiose foi benéfica, principalmente nas doses mais baixas, trazendo aumentos significativos na produção de matéria seca e absorção de nutrientes para os dois porta-enxertos. Nestas condições, o limão cravo micorrizado apresentou maior produção de matéria seca, acúmulo de P e índice de eficiência na utilização do P absorvido e concomitante diminuição na atividade da fosfatase ácida, além de menores valores de K_m e, principalmente, C_{min} e maior V_{max} por planta, resultando em maiores influxo e influxo líquido de P por planta e menores taxas de efluxo. O pico de benefício para este porta-enxerto foi observado na dose de $3,0 \text{ mgP L}^{-1}$. Já para o porta-enxerto tangerina clópatra, também ocorreu maior produção de matéria seca, quantidade acumulada de P e índice de eficiência de utilização do P absorvido, o que pode estar associado a uma diminuição significativa no K_m e C_{min} , resultando em menor efluxo de P. Para este porta-enxerto o maior efeito

benéfico da micorriza ocorreu ao redor da dose $6,0 \text{ mgP L}^{-1}$ (observado pelo ajuste dos dados).

Estudos tem demonstrado que plantas micorrizadas em altas doses de P apresentam depressão no crescimento devido às alterações metabólicas e fisiológicas (Peng et al., 1993; Graham et al., 1997) ligadas ao dreno de carboidratos. Observações de que tais plantas podem apresentar drástica redução na colonização radicular interna, o que entretanto não foi constatado no presente estudo, e redução significativa do comprimento do micélio externo ativo e aumento no comprimento do micélio externo total (Gomes, 1997) poderiam estar relacionados a um aumento no conteúdo de amido e sacarose nas raízes de tais plantas (Sena, 1998). A consequência seria uma redução na capacidade fotossintética da planta, devido à retroinibição das principais enzimas do ciclo de Calvin e das sínteses de carboidratos (Stitt et al., 1987), o que estaria ligado a uma diminuição da expressão dos genes fotossintéticos (Jang & Sheen, 1994). Assim, como a capacidade de absorção de nutrientes está relacionada ao aparato fotossintético, alterações na capacidade fotossintética da planta pode acarretar distúrbios nos processos de absorção e acúmulo dos nutrientes e, conseqüentemente nos parâmetros cinéticos e influxo de P.

(A)



(B)

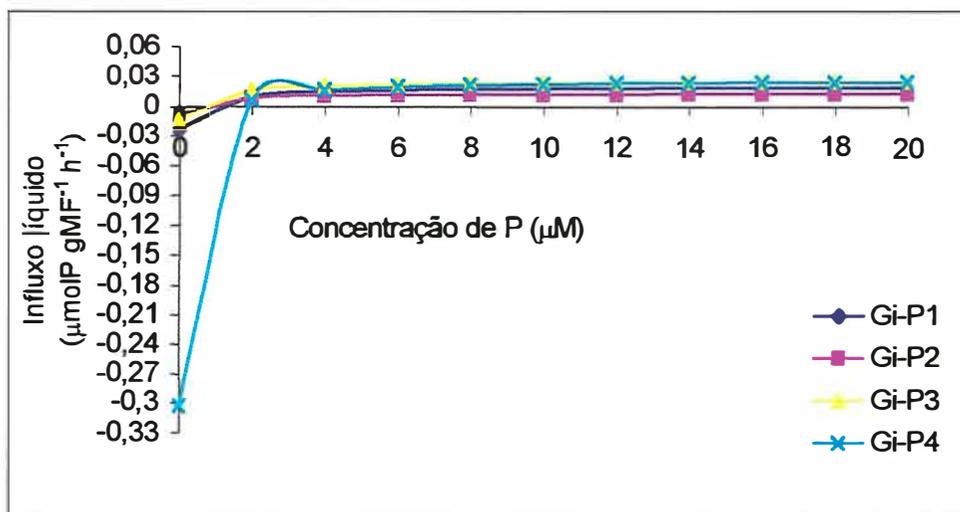
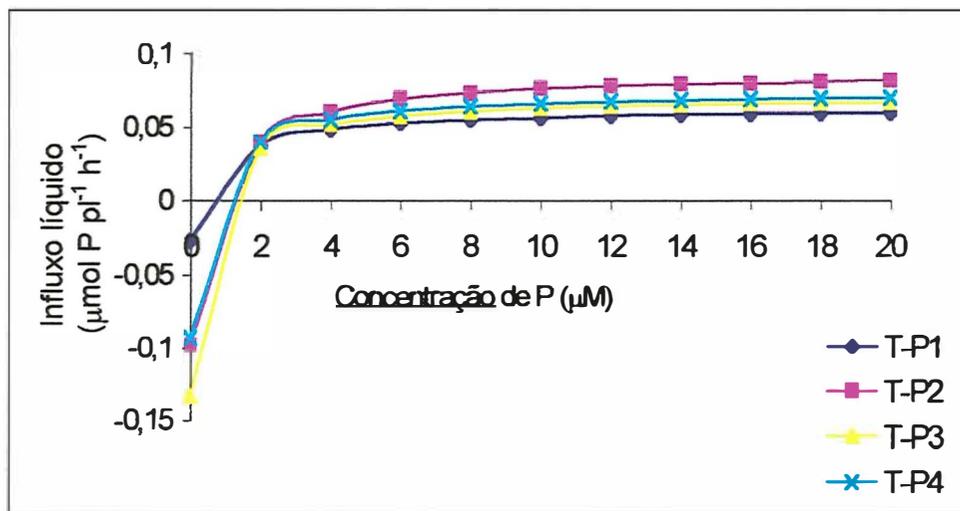


Figura 25- Influxo líquido de P por unidade de massa de matéria fresca de raiz, em função da concentração de P na solução, no porta-enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (Gi- *Glomus intraradices*) com quatro níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0mgP L⁻¹; P3- 9,0 mgP L⁻¹; P4- 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis Menten:

$$I_{liq} = \frac{V_{max} (C - C_{min})}{K_m + (C - C_{min})}$$

(A)



(B)

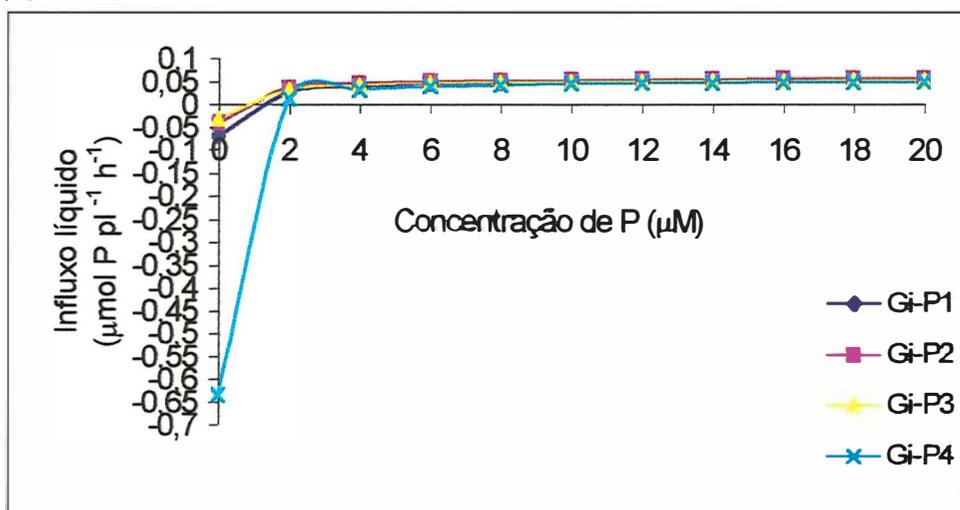
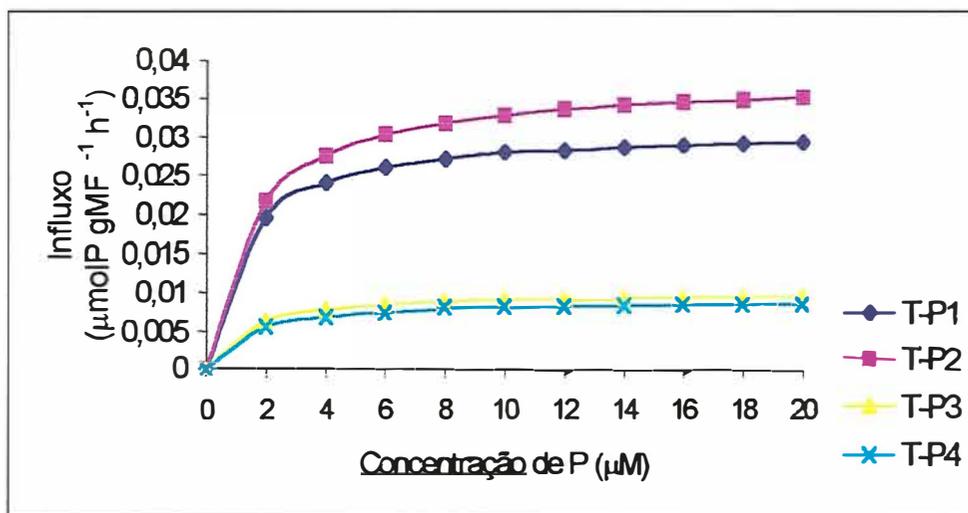


Figura 26- Influxo líquido de P por planta, em função da concentração de P na solução, no porta-enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (Gi- *Glomus intraradices*) com quatro níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0mgP L⁻¹; P3- 9,0 mgP L⁻¹; P4- 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis Menten:

$$I_{liq} = \frac{V_{max} (C - C_{min})}{K_m + (C - C_{min})}$$

(A)



(B)

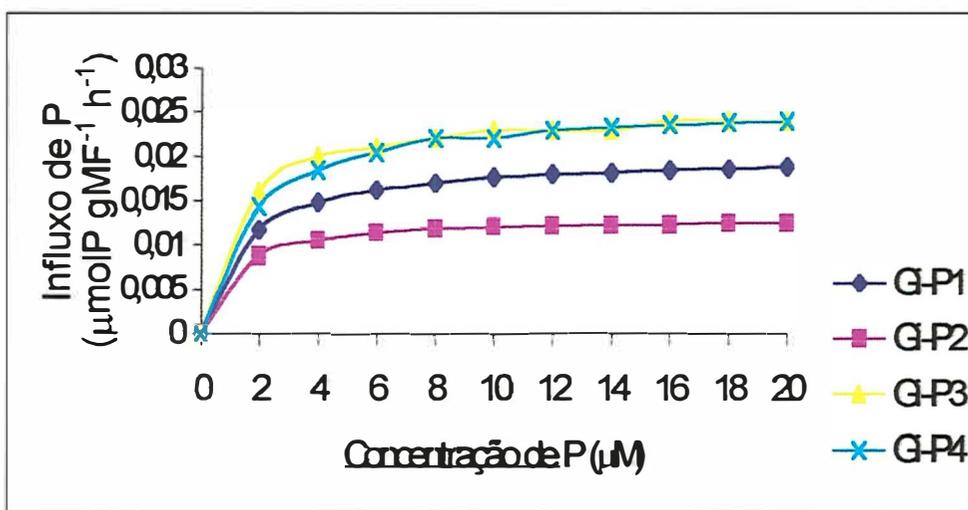
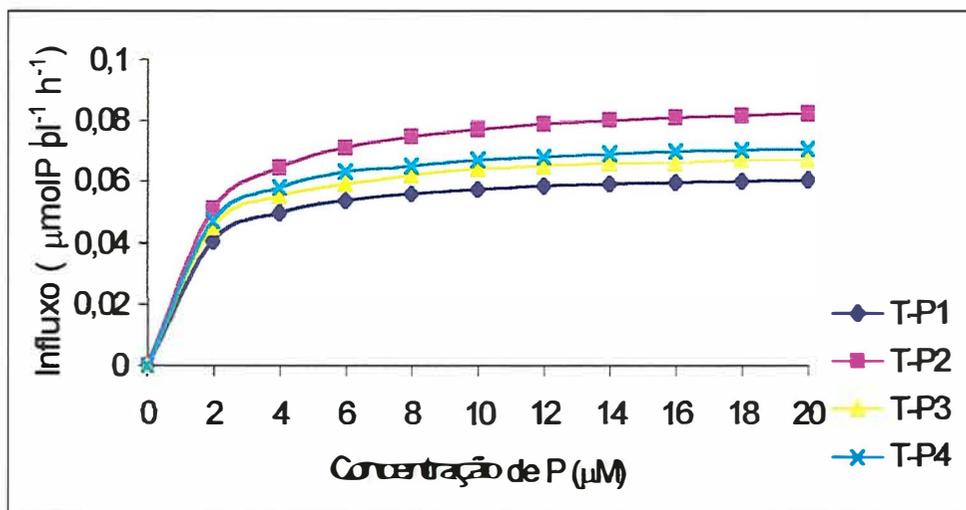


Figura 27- Influxo de P por unidade de massa de matéria fresca de raiz, em função da concentração de P na solução, no porta-enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (Gi- *Glomus intraradices*) com quatro níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0mgP L⁻¹; P3- 9,0 mgP L⁻¹; P4- 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis Menten:

$$I = \frac{V_{max} \cdot C}{K_m + C}$$

(A)



(B)

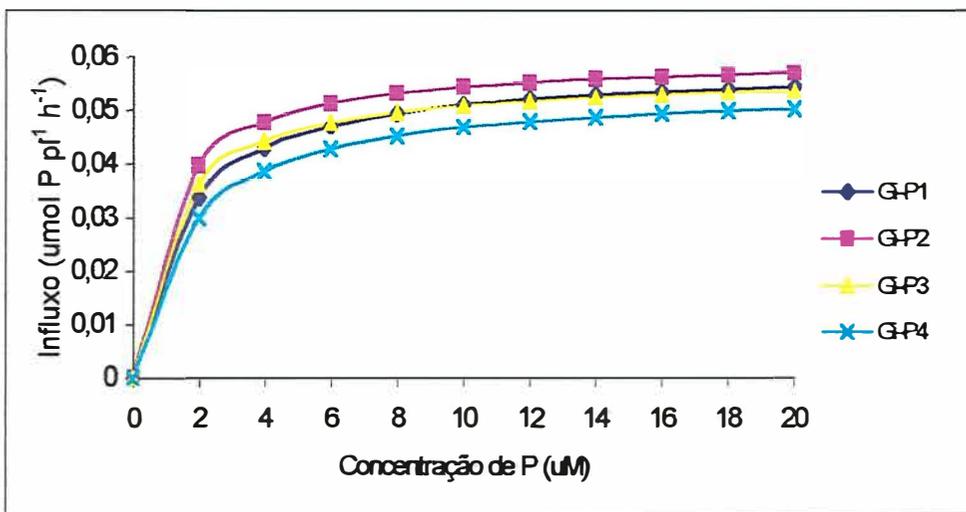


Figura 28- Influxo de P por planta, em função da concentração de P na solução, no porta-enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (*Glomus intraradices*) com quatro níveis de P (P1- 1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0mgP L⁻¹; P3- 9,0 mgP L⁻¹; P4- 12,0 mgP L⁻¹). Curvas traçadas segundo a equação de Michaelis Menten:

$$I = \frac{V_{max} \cdot C}{K_m + C}$$

5 CONCLUSÕES

1. Houve depressão no crescimento dos porta-enxertos limão cravo e tangerina cleópatra quando micorrizados, nas doses mais elevadas de P aplicadas ao substrato.
2. A depressão no crescimento das plantas micorrizadas, ou seja, um efeito parasítico da colonização pelo fungo micorrízico, causou alteração nos parâmetros cinéticos de absorção radicular de P em ambos os porta-enxertos.
3. O efeito parasítico de *Glomus etunicatum* no porta-enxerto limão cravo foi relacionado a uma diminuição na V_{max} , expressa por planta, e aumento na C_{min} , enquanto que *Glomus intraradices* no porta enxerto tangerina cleópatra relacionou-se a uma diminuição na V_{max} , expressa por planta, aumento no K_m e C_{min} .

ANEXOS

Anexo A– Influxo líquido de P por unidade de matéria fresca de raiz (MF) de raiz e por planta, em função da concentração de P na solução, no porta-enxerto limão cravo não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (*Ge-Glomus etunicatum*), com cinco doses de P (P1-1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0 mgP L⁻¹; P3- 6,0 mgP L⁻¹; P4- 9,0 mgP L⁻¹ e P5- 12,0 mgP L⁻¹).^{1/}

Conc P	T-P1	T-P2	T-P3	T-P4	T-P5	Ge-P1	Ge-P2	Ge-P3	Ge-P4	Ge-P5
μM	Influxo ($\mu\text{molP gMF}^{-1} \text{h}^{-1}$)									
0	-0,050	-0,1359	-0,056	-0,0251	-0,0238	-0,0230	-0,0160	-0,0194	-0,0735	-0,6668
2	0,0025	0,0160	0,0106	0,0154	0,01300	0,0264	0,0201	0,0278	0,0061	-0,0336
4	0,0216	0,0410	0,0328	0,0328	0,0257	0,0385	0,0324	0,0400	0,0295	0,0563
6	0,0314	0,0512	0,0440	0,0426	0,0321	0,0441	0,0385	0,0456	0,0406	0,0923
8	0,0374	0,0568	0,0506	0,0488	0,0360	0,0472	0,0423	0,488	0,0472	0,1116
10	0,0415	0,0604	0,0551	0,0531	0,0386	0,0492	0,0447	0,0509	0,0515	0,1237
12	0,0444	0,0628	0,0582	0,0562	0,0405	0,0506	0,0465	0,0523	0,0545	0,1319
14	0,0466	0,0645	0,0606	0,0586	0,0419	0,0517	0,0478	0,0534	0,0568	0,1379
16	0,0483	0,0659	0,0625	0,0605	0,0430	0,0525	0,0489	0,0542	0,0585	0,1425
18	0,0497	0,0669	0,0639	0,0521	0,0439	0,0531	0,0497	0,0549	0,0599	0,1461
20	0,0508	0,0678	0,0652	0,0633	0,0446	0,0536	0,0504	0,0554	0,0610	0,1490
	Influxo por planta ($\mu\text{molP pl}^{-1} \text{h}^{-1}$)									
0	-0,1343	-0,3813	-0,2370	-0,1310	-0,1967	-0,1052	-0,0732	-0,0854	-0,2392	-0,6638
2	0,0068	0,0448	0,0449	0,0805	0,0912	0,1210	0,0921	0,1227	0,0199	-0,0334
4	0,0578	0,1150	0,1389	0,1717	0,1805	0,1768	0,1481	0,1764	0,0959	0,0559
6	0,0844	0,1438	0,1859	0,2225	0,2258	0,2021	0,1763	0,2010	0,1322	0,0916
8	0,1005	0,1595	0,2141	0,2548	0,2531	0,2165	0,1932	0,2152	0,1535	0,1108
10	0,1114	0,1694	0,2330	0,2772	0,2714	0,2258	0,2045	0,2243	0,1675	0,1228
12	0,1192	0,1762	0,2463	0,2937	0,2845	0,2323	0,2127	0,2308	0,1774	0,1310
14	0,1251	0,1811	0,2564	0,3063	0,2944	0,2372	0,2187	0,2355	0,1847	0,1369
16	0,1300	0,1849	0,2642	0,3163	0,3021	0,2410	0,2235	0,2392	0,1904	0,1415
18	0,1335	0,1879	0,2705	0,3243	0,3082	0,2438	0,2273	0,2421	0,1949	0,1450
20	0,1365	0,1903	0,2756	0,3310	0,3133	0,2462	0,2304	0,2445	0,1986	0,1479

1/ O influxo em cada concentração de P foi calculado aplicando-se a equação de

Michaelis Menten: $I = \frac{V_{\text{max}} \cdot (C - C_{\text{min}})}{K_m + (C - C_{\text{min}})}$

$K_m + (C - C_{\text{min}})$

Anexo B- Influxo de P por unidade de matéria fresca de raiz e por planta, em função da concentração de P na solução, no porta-enxerto limão cravo não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (Ge-*Glomus etunicatum*), com cinco doses de P (P1-1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0 mgP L⁻¹; P3- 6,0 mgP L⁻¹; P4- 9,0 mgP L⁻¹ e P5- 12,0 mgP L⁻¹).^{1/}

Conc P	T-P1	T-P2	T-P3	T-P4	T-P5	Ge-P1	Ge-P2	Ge-P3	Ge-P4	Ge-P5
μM	Influxo ($\mu\text{molP gMF}^{-1} \text{h}^{-1}$)									
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,0204	0,0361	0,0283	0,0255	0,0204	0,0310	0,0247	0,0316	0,0270	0,0681
4	0,0307	0,0489	0,0415	0,0383	0,0293	0,0400	0,0345	0,0416	0,0393	0,0982
6	0,0370	0,055	0,0491	0,0459	0,0342	0,0450	0,0398	0,0464	0,0463	0,1152
8	0,0412	0,0595	0,0540	0,0511	0,0374	0,0480	0,0430	0,0493	0,0510	0,1260
10	0,0442	0,0621	0,0574	0,0547	0,0396	0,0496	0,0453	0,0512	0,0541	0,1336
12	0,0464	0,0641	0,0600	0,0575	0,0412	0,0593	0,0469	0,0526	0,0564	0,1392
14	0,0481	0,0655	0,0620	0,0596	0,0424	0,0519	0,0481	0,0536	0,0583	0,1435
16	0,0496	0,0666	0,0636	0,0613	0,0434	0,0527	0,0491	0,0544	0,0597	0,1469
18	0,0507	0,0676	0,0648	0,0627	0,0442	0,0533	0,0498	0,0550	0,0609	0,1469
20	0,0517	0,0683	0,0659	0,0639	0,0449	0,0538	0,0505	0,0555	0,0618	0,1520
	Influxo por planta ($\mu\text{molP pl}^{-1} \text{h}^{-1}$)									
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,0548	0,1013	0,1206	0,1332	0,1433	0,1409	0,1132	0,1396	0,1274	0,0676
4	0,0626	0,1373	0,1775	0,2000	0,2056	0,1850	0,1580	0,1835	0,1652	0,0975
6	0,0994	0,1557	0,2075	0,2401	0,2405	0,2065	0,1820	0,2049	0,1833	0,1143
8	0,1106	0,1669	0,2284	0,2669	0,2628	0,2193	0,1970	0,2175	0,1940	0,1251
10	0,1186	0,1744	0,2430	0,2860	0,2783	0,2277	0,2072	0,2260	0,2010	0,1326
12	0,1247	0,1798	0,2539	0,3004	0,2896	0,2337	0,2146	0,2320	0,2060	0,1382
14	0,1294	0,1839	0,2623	0,3115	0,2984	0,2382	0,2203	0,2365	0,2097	0,1424
16	0,1332	0,1871	0,2690	0,3205	0,3052	0,2417	0,2247	0,2399	0,2125	0,1458
18	0,1363	0,1896	0,2743	0,3278	0,3108	0,2445	0,2283	0,2427	0,2148	0,1485
20	0,1388	0,1917	0,2788	0,3339	0,3154	0,2467	0,2312	0,2450	0,2167	0,1508

1/ O influxo em cada concentração de P foi calculado aplicando-se a equação de

Michaelis Menten: $I = \frac{V_{\text{max}} \cdot C}{K_m + C}$

$K_m + C$

Anexo C- Influxo líquido de P por unidade matéria fresca de raiz (MF) e por planta, em função da concentração de P na solução, no porta-enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (*Gi-Glomus intraradices*) com 4 níveis de P (P1-1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0 mgP L⁻¹; P3- 9,0 mgP L⁻¹ e P4- 12,0 mgP L⁻¹)^{1/}

Conc P	T-P1	T-P2	T-P3	T-P4	Gi-P1	Gi-P2	Gi-P3	Gi-P4
μM	Influxo ($\mu\text{molP gMF}^{-1} \text{h}^{-1}$)							
0	-0,0128	-0,0419	-0,0189	-0,0111	-0,0239	-0,0089	-0,0137	-0,303
2	0,0183	0,0171	0,0051	0,0048	0,0092	0,0081	0,0149	0,0062
4	0,0235	0,0260	0,0074	0,0066	0,0139	0,0103	0,0193	0,0158
6	0,0257	0,0294	0,0082	0,0073	0,0158	0,0112	0,0211	0,0191
8	0,0269	0,0313	0,0087	0,0077	0,0168	0,0116	0,0221	0,0208
10	0,0277	0,0325	0,0089	0,0080	0,0174	0,0119	0,0227	0,0218
12	0,0282	0,0333	0,0091	0,0081	0,0178	0,0121	0,0231	0,0225
14	0,0286	0,0339	0,0093	0,0082	0,0181	0,0123	0,0234	0,0230
16	0,0288	0,0344	0,0094	0,0083	0,0184	0,0124	0,0236	0,0233
18	0,0291	0,0347	0,0094	0,0084	0,0186	0,0125	0,0238	0,0236
20	0,0292	0,0350	0,0095	0,0084	0,0187	0,0125	0,0239	0,0239
	Influxo por planta ($\mu\text{molP pl}^{-1} \text{h}^{-1}$)							
0	-0,0266	-0,0983	-0,1335	-0,0930	-0,0692	-0,0401	-0,0306	-0,6341
2	0,0378	0,0402	0,0359	0,0402	0,0267	0,0367	0,0333	0,0130
4	0,0487	0,0607	0,0520	0,0556	0,0402	0,0467	0,0431	0,0330
6	0,0532	0,0690	0,0580	0,0615	0,0456	0,0506	0,0471	0,0400
8	0,0556	0,0734	0,0612	0,0647	0,0485	0,0527	0,0492	0,0435
10	0,0571	0,0762	0,0631	0,0666	0,0503	0,0541	0,0506	0,0457
12	0,0582	0,0781	0,0645	0,0680	0,0516	0,0550	0,0515	0,0471
14	0,0590	0,0795	0,0654	0,0689	0,0525	0,0556	0,0523	0,0482
16	0,0596	0,0801	0,0662	0,0696	0,0532	0,0561	0,0527	0,0489
18	0,0600	0,0814	0,0667	0,0702	0,0537	0,0565	0,0531	0,0495
20	0,0604	0,0821	0,0672	0,0707	0,0542	0,0568	0,0534	0,0500

^{1/} O influxo em cada concentração de P, foi calculado aplicando-se a equação de Michaelis Menten: $I = \frac{V_{\text{max}} \cdot (C - C_{\text{min}})}{K_m + (C - C_{\text{min}})}$

Anexo D - Influxo de P por unidade de matéria fresca de raiz e por planta, em função da concentração de P na solução, no porta-enxerto tangerina cleópatra não micorrizado (T-Testemunha) e micorrizado (*Gi-Glomus intraradices*) com 4 níveis de P (P1-1,5 mgP L⁻¹; P2- 3,0 mgP L⁻¹; P3- 9,0 mgP L⁻¹ e P4- 12,0 mgP L⁻¹)^{1/}

Conc P	T-P1	T-P2	T-P3	T-P4	Gi-P1	Gi-P2	Gi-P3	Gi-P4
μM	Influxo ($\mu\text{mol P g MF}^{-1} \text{ h}^{-1}$)							
0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,0196	0,0217	0,0063	0,0056	0,0117	0,0088	0,0160	0,0143
4	0,0240	0,0275	0,0078	0,0069	0,0148	0,0105	0,0200	0,0185
6	0,0260	0,0303	0,0084	0,0074	0,0162	0,0113	0,0210	0,0204
8	0,0271	0,0318	0,0088	0,0078	0,0170	0,0118	0,0220	0,0220
10	0,0280	0,0328	0,0090	0,0080	0,0176	0,0120	0,0230	0,0220
12	0,0282	0,0336	0,0092	0,0082	0,0180	0,0122	0,0230	0,0230
14	0,0286	0,0341	0,0093	0,0083	0,0182	0,0123	0,0230	0,0233
16	0,0289	0,0345	0,0094	0,0084	0,0185	0,0124	0,0240	0,0236
18	0,0291	0,0348	0,0095	0,0084	0,0186	0,0125	0,0240	0,0238
20	0,0293	0,0351	0,0095	0,0085	0,0188	0,0125	0,0240	0,0240
Influxo por planta ($\mu\text{molP pl}^{-1} \text{ h}^{-1}$)								
0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,0406	0,0509	0,0450	0,0470	0,0338	0,0398	0,0362	0,0300
4	0,0497	0,0646	0,0550	0,0580	0,0430	0,0477	0,0441	0,0387
6	0,0537	0,0710	0,0590	0,0630	0,0470	0,0512	0,0476	0,0428
8	0,0559	0,0747	0,0620	0,0650	0,0493	0,0531	0,0495	0,0452
10	0,0574	0,0770	0,0640	0,0670	0,0509	0,0543	0,0508	0,0468
12	0,0584	0,0788	0,0650	0,0680	0,0520	0,0551	0,0516	0,0479
14	0,0591	0,0800	0,0660	0,0692	0,0528	0,0557	0,0523	0,0487
16	0,0597	0,0809	0,0660	0,0698	0,0534	0,0562	0,0528	0,0494
18	0,0601	0,0817	0,0670	0,0704	0,0539	0,0566	0,0532	0,0499
20	0,0605	0,0823	0,0670	0,0708	0,0543	0,0569	0,0535	0,0503

^{1/} O influxo em cada concentração de P, foi calculado aplicando-se a equação de Michaelis Menten: $I = \frac{V_{\text{max}} \cdot C}{K_m + C}$

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D.; DE BOER, G. The effect of phosphorus on the germination of hypae in soil by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum*. *New Phytologist*, v.97, p.437-466, 1984.
- ACHITUV, M. Effect of phosphorus supply on growth and on the level of certain nitrogenous constituents in citrus plants. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, v.3, p.1024-1026, 1977.
- ACZÓN, R.; BORIE, F.; BAREA, J.M. Exocellular acid phosphatase activity of lavender and wheat roots as affected by phytase and mycorrhizal inoculation. In: *Les Mycorhizes: Biologie et Utilization. Les Colloques de l'INRA*, v.13, p.83-85, 1982.
- AMBLER, J.R.; YOUNG, J.L. Techniques for determining root length infected by vesicular-arbuscular mycorrhizal. *Soil Science*, v.41, p.551-556, 1977.
- ANDREW, C.S. A kinetic study of phosphate absorption by excised roots of *Stylosanthes humilis*, *Phaseolus lathyroides*, *Desmodium uncinatum*, *Medicago sativa* and *Hordeum vulgare*. *Australian Journal Agriculture Research*, v.17, p.611-624, 1966.
- ANGHINONI, I.; BARBER, S. A. Phosphorus influx and growth characteristics of corn roots as influenced by phosphorus supply. *Agronomy Journal*, v. 72, p.685-688, 1980.
- ANGHINONI, I.; VOLKART, C.R.; FATTORE, N.; ERNANI, P.R. Morfologia de raízes e cinética da absorção de nutrientes em diversas espécies e genótipos de plantas. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, v.13, p.355-361, 1989.

- ANTIBUS, R.K.; CROXDALE, J.G., MILLER, O.K. Ectomycorrhizal fungi of *Salix rotundifolia* III. Resynthesized mycorrhizal complexes and their phosphatase activities. **Canadian Journal of Botany**, v.59, p.2458-2465, 1981.
- ANTUNES, V. Crescimento do limoeiro cravo (*Citrus limonia* Osbeck) sob influência da inoculação com fungos micorrízicos vesículo-arbusculares e aplicação de fósforo. Piracicaba, 1987. 99p. Dissertação (Mestrado)- Escola Superior e Agricultura "Luiz de Queiroz"- Universidade de São Paulo.
- ANTUNES, V.; CARDOSO, E.J.B.N. Growth and nutrient status of citrus plants as influenced and phosphorus application. **Plant and Soil**, v.131, p.11-19, 1991.
- BAON, J.B.; SMITH, S.E.; ALSTON, A.M. Growth response and phosphorus uptake of rye with long and short root hairs: Interactions with mycorrhizal infection. **Plant and Soil**, v. 167, p. 247-254, 1994.
- BATAGLIA, O.C., FURLANI, A. M.C; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; GALLO, J.R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1983. 48p. (IAC.Boletim, 78).
- BAYLIS, G.T.S. The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B. **Endomycorrhizas**. London: Academic Press, p.373-389, 1975.
- BEEVER, R.E.; BURNS, D.J.W. Phosphorus uptake, storage and utilization by fungi. **Advances in Botany Research**, v.8, p.127-219, 1980.
- BERETTA, M.J.G.; LEFÈVRE, A.F.V. Declínio: resistência de variedades e pesquisas recentes. **Laranja**, Cordeirópolis, v.1, n.7, p. 71-96, 1986.
- BERTA, G.; FUSCONI, A ; TROTTA, A; SCANNERINI, S. Morphogenetic modifications induced by the mycorrhizal fungus *Glomus* strain E₃ in root system of *Allium porrum* L. **The New Phytologist**, v.114, p.207-215, 1990.
- BHAT, K.K.S.; NYE, P.H.; BERETON, A.J. The possibility of predicting solute uptake and plant growth responses from independently measured soil and plant characteristics. VI. The growth and uptake of rape in solution of constant nitrate concentration. **Plant and Soil**, v.53, p.137-167, 1979.

- BIELESKI, R.L. Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability. **Annual Review Plant Physiology**, v.24, p. 225-52, 1973.
- BOLAN, N.S.; ROBSON, A.D.; BARROW, N.J. Plant and soil factors including mycorrhizal infection causing sigmoidal response of plants to applied phosphorus. **Plant and Soil**, v.73, p.187-202, 1983.
- BOULDIN, J. Mathematical description of diffusion processes in the soil-plant system. **Soil Science Society American Proceedings**, v.25, p.476-480, 1961.
- BOVI, M.L.A.; BASSO, L.C.; TUCCI, M.L.S. Avaliação da atividade *in vivo* da fosfatase ácida e do crescimento de progênies de pupunheira cultivados em duas doses de nitrogênio e fósforo. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v.22, p.427-434, 1998.
- BOWEN, G.D.; BEVEGE, D.I.; MOSSE, B. Phosphate physiology of vesicular-arbuscular mycorrhizas. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., eds. **Endomycorrhizas**. London, Academic Press, p.242-260, 1975.
- BREWSTER, J.L.; BHAT, K.K.S; NYE, P.H. The possibility of predicting solute uptake and plant growth responses from independently measured soil and plant characteristics. iv. The growth and uptake of rape in solution of different phosphorus concentration. **Plant and Soil**, v.44, p.279-293, 1976.
- BUCKMAN, H.O.; BRADY, N.C. **Natureza e propriedades dos solos**. Rio de Janeiro, 594 p., 1974.
- BUENO, D.M. Efeito do superfosfato triplo no crescimento inicial de porta-enxertos de citros em diferentes tipos de solos. Lavras, 1984. 176p. Dissertação (Mestrado)-Escola Superior de Agricultura de Lavras.
- BUWALDA, J.G.; GOH, K.M. Host-fungus competition for carbon as cause of growth depressions in vesicular- mycorrhiza ryegrass. **Soil Biology and Biochemistry**, v.14, p.103-106, 1982.
- CALDEIRA, S.F.; CHAVES, M.G.; ZAMBOLIM, L. Associação de micorriza vesicular-arbuscular com café, limão rosa e capim gordura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.18, p.223-228, 1983.

- CAMARGO, I.P. Efeitos de doses, fontes de fósforo e de fungos micorrízicos sobre o limoeiro "Cravo" até a repicagem. Lavras, 1989. 104p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura de Lavras.
- CAMBRAIA, J. F. Influência de substratos e do superfosfato triplo no crescimento e nutrição do limoeiro "Cravo" (*Citrus limonia* Osbeck) até a repicagem. Lavras, 1979, 131p. Dissertação (Mestrado)- Escola Superior de Agricultura de Lavras.
- CAMPOS, J.B.; PRATES, H.S. Diversificação de porta-enxertos, uma medida urgente. **Jornal do Fundecitros**, Araraquara, v.1, fev.1985.
- CANAL, I.N.; MIELNICZUK, J. Parâmetros de absorção de potássio em milho (*Zea mays*), afetados pela interação alumínio- cálcio. **Ciência e Cultura**, v.35, p.336-340, 1983.
- CAPPACIO, L.C.M.; CALLOW, J.A. The enzymes of polyphosphatase metabolism in vesicular-arbuscular mycorrhizas. **New Phytologist**, v. 91, p.81-89, 1982.
- CARADUS, J.R. Distinguishing between grass and legume species for efficiency of phosphorus use. **New Zeland Journal Agriculture Research**, v.23, p.75-81, 1980.
- CARDOSO, E.J.B.N.; ANTUNES, V.; SILVEIRA, A.P.D.; OLIVEIRA, M.H.A. Eficiência de fungos micorrízicos vesículo-arbuscular em porta enxertos de citros. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 10, p. 25-30, 1986.
- CARDOSO FILHO, J.A. Quantificação do micélio extramatricial de *Glomus etunicatum* e da atividade em simbiose com milho. Piracicaba, 1994. 119p. Dissertação (Mestrado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP.
- CARVALHO, S.A. Métodos de aplicação do superfosfato simples e do calcário dolomítico no limoeiro "Cravo" em sementeira. Lavras, 1987. 124p. Dissertação (Mestrado)- Escola Superior de Agricultura de Lavras.
- CARTWRIGHT, B. The effect of phosphate deficiency on the kinetics of phosphate absorption by sterile excised barley roots, some factors affecting the ion uptake efficiency of roots. **Soil Science plant Analysis**, v.3, p.313-322, 1972.

- CLAASEN, N.; BARBER, S.A. A method for characterizing the relation between nutrient concentration and flux into roots of intact plants. **Plant Physiology**, v.54, p.564-568, 1974.
- CLARK, R.B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.23, p.458-460, 1975.
- COOPER, K.M. Physiology of VA mycorrhizal associations. In: POWELL, C.L.; BAGYARAJ, D.J. eds. **VA mycorrhiza**, Boca Raton, CRC Press; 1984.
- CRESS, W.A.; THONEBERRY, G.O.; LINDSEY, D.L. Kinetics of phosphorus absorption by mycorrhizal and nonmycorrhizal tomato roots. **Plant Physiology**, v.64, p.484-487, 1979.
- CRUSH, J.R. The effect of *Rhizopagus tenuis* mycorrhizas on ryegrass, cocksfoot and sweet vernal. **New Phytologist**, v.72, p.965, 1973.
- CRUSH, J.R. Endomycorrhizas and legume growth in some soils the Mackenzie Basin, Canterbury, New Zealand. **New Zealand Journal Agricultural Research**, v.19, p.473-476, 1976.
- DEXHEIMER, J.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Acquisitions récentes sur la physiologie des mycorhizes VA au cellulaire. **Les Colloques de l'INRA**, 13, p. 61-73, 1982.
- DODD, J.C.; BURTON, C.C.; BURNS, R.G.; JEFFRIES, P. Phosphatase activity associated with the roots and the rizosphere of plants infected with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v.107, p.163-172, 1987.
- DREW, M.C.; SAKER, L. R.; BARBER, S.A.; JENKINS, W. Changes in the kinetics of phosphate and potassium absorption in nutrient-deficient barley roots measured by solution-depletion technique. **Planta**, v.160, p.490-499, 1984.
- EDWARDS, J. H. ; BARBER, S.A Phosphorus uptake rate of soybean roots as influenced by plant age root trimming and solution P concentration. **Agronomy Journal**, v.68, p.973-975, 1976.
- EPSTEIN, E. **Nutrição mineral de plantas: Princípios e perspectivas**. Ed. da Universidade de São Paulo, São Paulo, 344p. 1975.

- EPSTEIN, E.; HAGEN, C.E. A Kinetic study of the absorption of alkali cations by barley roots. **Plant Physiology**, v.27, p.457-474, 1952.
- ERNANI, P.R.; SANTOS, J.C.P, KAMINSKI, J.; RHEINHEIMER, D.S Prediction of phosphorus uptake by mechanistic model in a low phosphorus highly weathered soil as affected by mycorrhizae inoculation. **Journal of Plant Nutrition**, v.17, p.1067-1078, 1994.
- FAQUIN, V. Cinética da absorção de fosfato, nutrição mineral, crescimento e produção de soja sob influência de micorriza vesículo-arbuscular (MVA), Piracicaba, 136p. Tese(Doutorado) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"-USP.
- FAQUIN, V.; MALAVOLTA, E.; MURAOKA, T. Cinética da absorção de fosfato em soja sob influência de micorriza vesículo-arbuscular. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v.14, p.41-48, 1990.
- FERGUSON, J.J.; MENGE, J.A. Inoculum production and field application of endomycorrhizal. **Phytopathology**, v.71, p.873, 1981..
- FERGUSON, J.J.; MENGE, J. A The influence of light intensity and artificially extended photoperiod upon infection and sporulation of *Glomus fasciculatus* of sudan grass and on root exudation of sudan grass. **New Phytologist**, v.92, p.183-191, 1982.
- FIRSCHING, B.M.; CLAASSEN, N. Root phosphatase activity and soil organic phosphorus utilization by Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). **Soil Biology and Biochemistry**, v.28, p. 1417-1424, 1996.
- FONSECA, E.B. A Efeitos de doses de superfosfato simples e de fungo micorrízico na formação de mudas de citros envasadas. Lavras, 1991,99p. Dissertação (Mestrado)- Escola Superior de Agricultura de Lavras- ESAL.
- FONTANEZZI, G.B.S.; SOUZA, P.; OLIVEIRA, E. Efetividade de fungos micorrízicos vesicular-arbuscular para limoeiro "Cravo". In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS,2, São Paulo, 1987. **Programas e resumos**. São Paulo, 1987. p.37.

- FONTANEZZI, G.B.S. Efeitos de fósforo e de micorriza vesicular-arbuscular sobre o crescimento e nutrição de três porta-enxertos de citros. Lavras,1989. 95p
Dissertação (Mestrado)- Escola Superior de Agricultura de Lavras- ESAL.
- FORTES, L. A Processos de produção do porta-enxerto limoeiro (*Citrus limonia* Osbeck cv. Cravo) em vasos. Lavras, 1991. 96p. Dissertação (Mestrado)- Escola Superior de Agricultura de Lavras- ESAL.
- FOSHE, D.; CLAASEN, N.; JUNGK, A. Phosphorus efficiency of plantas. 2. Significance of root radius, root hairs and cation-anion balance for phosphorus influx in seven plant species. **Plant and Soil**,v.132, p.261-270, 1991.
- FOSHE, D; JUNGK, A. A influence of phosphate and nitrate supply on root hair formation of rape, spinach and tomato plantas. **Plant ans Soil**, v. 74, p.359-368, 1983.
- FURLANI, A.M.C.; CLARK, R.B.; MARANVILLE, J.W.; ROSS, W.M. Sorghum genotype differences in phosphorus uptake rate and distribution in plants parts. **Journal of Plant Nutrition**, v.7, p.1113-1126, 1984.
- FURLANI, A.M.C.; FURLANI, P. R. **Composição e pH de soluções nutritivas para estudos fisiológicos e seleção de plantas em condições nutricionais adversas.** Campinas: Instituto Agrônômico, 1988. 34p. (Boletim Técnico,121).
- MOSSE, B. **Vesicular arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture.** Hawaii, Institute for Tropical Agriculture and Human Resources, 1981. 82p. (Research Bulletin, 194).
- GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizae *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transaction British Mycological Society**, v.46, p.235-244, 1963.
- GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Enzimatic studies on the metabolism of vesicular- arbuscular mycorrhiza. I. Effect of mycorrhiza formation and phosphorus nutrition on soluble phosphatase activities in onions roots. **Physiologie Végetable**, v.14, p.833-841, 1976.
- GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Enzimatic studies on the metabolism of vesicular- arbuscular mycorrhiza. II. Soluble alkaline phosphatase specific to

mycorrhizal infection in onion roots. **Physiological Plant Pathology**, v.12, p.45-53, 1978.

GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; DEXHEIMER, J. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular- arbuscular mycorrhiza. III. Ultrastructural localization of acid and alkaline phosphatase in onions roots infected by *Glomus mosseae* (Nicol. Gerd.) **New Phytologist**, v.82, p.127-132, 1979.

GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. The physiology of vesicular mycorrhizal roots. **Plant and Soil**, v.71, p.197-209, 1983.

GIANINAZZI, S.; DEXHEIMER, J. GIANINAZZI-PEARSON, V.; MARX, C. Role of the host arbuscule interface in the symbiotic nature of VA mycorrhizal associations: ultracytological studies of processes involved in phosphate and carbohydrate exchange. **Plant and Soil**, v.71, p.211-215, 1983.

GIANINAZZI-PEARSON, V.; BONFANTE-FASOLO, P.; DEXHEIMER, J. Ultrastructural studies of surface interactions during adhesion and infection by ericoid endomycorrhizal fungi. NATO-ASIS Series, Series H, Cell biology, v.4, p.273-282, 1986.

GIANINAZZI-PEARSON, V. Recent research into the cellular, molecular and genetical bases of compatible host- fungus interactions in arbuscular endomycorrhiza: Approaches and advances. In: Seminaire Régional sur interaction Plantes Microorganismes, Dakar, 1992. **Interactions plantes microorganismes**. p.253-263, 1992.

GIANINAZZI-PEARSON, V.; SMITH, S.E. Physiology of mycorrhizal mycelia. In: TOMEROP, I.C.; INGRAM, D.S.; WILLIAMA, P.H.,eds. **Mycorrhiza: A Synthesis**, Advances in Plant Pathology 8, Academic Press, 1993.

GIOVANETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, v.84, p.489-500, 1980.

GOEDERT, W.J.; SOUZA, D.M.G. Uso eficiente de fertilizantes fosfatados. In: Simpósio sobre fertilizantes na agricultura brasileira, Brasília, **Anais, EMBRAPA-DEP**, p.255-290, 1984.

- GOMES, V. F.F. Desenvolvimento de fungos micorrízicos arbusculares em três espécies de porta-enxertos cítricos sob níveis de fósforo. Piracicaba, 1997. 89p. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. 13 ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 467p.
- GRAHAM, J.H.; LEONARD, R.T.; MENGE, J.A. Membrane-mediated decrease in roots exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. **Plant Physiology**, v.68, p.548-552, 1981.
- GRAHAM, J.H.; LINDERMAN, R.G.; MENGE, J.A. Development of external hyphae by different isolates of mycorrhizal *Glomus sp* in relation to root colonization and growth of troyer citrange. **New Phytologist**, v.91, p.183-189, 1982.
- GRAHAM, J.H.; TIMMER, L.W. Vesicular-arbuscular mycorrhizae development and growth response of rough lemon in soil and soil less media: effect of phosphorus source. **Journal of American Society for Horticultural Science**, v. 109, p.118-121, 1984.
- GRAHAM, J.H. Citrus mycorrhizae: potencial benefits and interactions with pathogens. **Hortscience**, v.21, p.1302-1306, 1986.
- GRAHAM, J.H.; DROUILLARD, D.L.; HODGE, N.C.; TOPA, M.A.; RYGIEWICZ, P.T.; CUMMING, J.R. Carbon economy of sour orange in response to different *Glomus spp.*, **Tree Physiology**, v. 16, p.1023-1029, 1996.
- GRAHAM, J.H., DUNCAN, L.W.; EISSENSTAT, D.M. Carbohydrate allocation patterns in citrus genotypes as affected by phosphorus nutrition, mycorrhizal colonization and mycorrhizal dependency. **New Phytologist**, v.135, p.335-343, 1997.
- HARLEY, J.L.; SMITH, S.E. **Mycorrhizal Symbiosis**. Academic Press, London and New York., 226p.,1983.
- HATTING, M.J.; GERDEMAN, J.W. Inoculation of brasilian sour orange seed with an endomycorrhizal fungus. **Phytopathology**, v.65, p.1013-1016, 1975.

- HAYMAN, D.S. The physiology of vesicular endomycorrhizal symbiosis. **Canadian Journal of Botany**, v. 61, p.944-963, 1983.
- HOAGLAND, O.R.; ARNON, O.I. The water-culture method for growing plants without soil. California, Agr. Exp. Stn., 1950. 32p. (Circular, 37).
- HO, I.; ZAK, B. Acid phosphatase activity of six ectomycorrhizal fungi. **Canadian Journal of Botany**, v. 61, p. 1203-1205, 1979.
- JANG, J.C.; SHEEN, J. Sugar sensing in higher plants. **Plant Cell**, v.6, p. 1665-1679, 1994.
- JOHANSEN, A , JAKOBSEN, I, JENSEN, E.S. External hyphae of vesicular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. 3. Hyphal transport of ³²P and ¹⁵N. **New Phytologist**, v. 124, p.61-68, 1993.
- JUNGK, A.; BARBER, S. A. Phosphate uptake rate of corn root as related to the proportion of the root exposed to phosphate. **Agronomy Journal**, v.66, p.554-557, 1974.
- JUNGK, A.; BARBER, S.A. Plant age and phosphorus uptake characteristics of trimmed and untrimmed corn root system. **Plant and Soil**, v.42, p.227-239, 1975.
- JUNGK, A; ASHER, C.J.; EDWARDS, D.G. ; MEYER, D. Influence of phosphate uptake kinetics of maize (*Zea Mays*) and soybean (*Glycine max*). **Plant and Soil**, v.124, p.175-182, 1990.
- KAMPFER, M.; UEXKULL, H.R. von. **Nuevos conocimientos sobre la fertilization de citricos**, 1966. 104p. (Boletin Verde, 1)
- KARUNARATNE, R.S.; BAKER, J.H.; BARKER, M. Phosphorus uptake by mycorrhizal and nonmycorrhizal roots of soybean. **Journal Plant Nutrition**, v.9, p.1303-1313, 1986.
- KIERNAN, J.M.; HENDRIX, J.W.; MARONEK, D.M. Fertilizer induced pathogenicity of mycorrhizal fungi to sweetgum seedlings. **Soil Biology and Biochemistry**, v.15, p.257-262, 1983.
- KLEINSCHMIDT, G.D.; GERDEMANN, J.W. Stunting of citrus seedlings in fumigated nursery soils related to the absence of endomycorrhizal fungi. **Phytopathology**, v. 62, p. 1447-1453, 1972.

- KOIDE, R.T. The nature of growth depression of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. **New Phytologist**, v.99, p.449-462, 1985.
- KOIDE, R.T ; SCHREINER, R.P. Regulation of vesicular- arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.43, p.557-581, 1992.
- KOSKE, R.E.; GEMMA, J.N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycological Research**, v.92, p. 488-505, 1989.
- KOUGHT, J.L.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Depressed metabolic activity of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi after fungicide applications. **New Phytologist**, v.106, p.707-715, 1987.
- LAMBAIS, M.R.; MEHDY, M.C. Suppression of endochitinase, β - 1,3- endoglucanase, and chalcone isomerase expression in bean vesicular arbuscular mycorrhizal roots under different soil phosphate conditions. **Molecular Plant- Microbe Interactions**, v.6, p.75-83, 1993.
- LAMBAIS, M.R.; MEHDY, M.C. Different expression of defense- related genes in arbuscular mycorrhiza. **Canadian Journal of Botany**, v.73, p.533-540, 1995.
- LEE, R.B. Selectivity and kinetics of ion uptake by barley plants following nutrient deficiency. **Annual Botany**, v.50, p.429-449, 1982.
- LEMOINE, M.C.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S.; STRAKER, C.J. Occurrence and expression of acid phosphatase of *Hymenoscyphus ericae* (Read) Korf & Kerman, in isolation or associated with plant roots. **Mycorrhiza**, v.1, p. 137-149, 1992.
- LI, X.L.; MARSCHNER, H.; GEORGE, E. Acquisition of phosphorus and copper by mycorrhizal hyphae and root-shoot transport in white clover. **Plant and Soil**, v.136, p.49-57, 1991.
- MacDONALD, R.M.; LEWIS, M. The occurrence of some acid phosphatases and dehydrogenases in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. **New Phytologist**, v. 80, p. 135-141, 1978.

- McLACHLAN, K.D. Comparative phosphorus responses in plants to a range of available phosphorus situations. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 27, p. 323-341, 1980.
- McLACHLAN, K.D. Acid phosphatase activity of intact roots and phosphorus nutrition in plants. II. Variations among wheat roots. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 31, p. 441-448, 1980.
- MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral das plantas**. Piracicaba: CERES, 251p.1980.
- MALAVOLTA, E.; HAAG, H.P.; MELLO, F.A.; CAMPONEZ SOBRINHO, B.M.O. **Nutrição mineral e adubação de plantas**. São Paulo, Pioneira, 1974. 752p.
- MALAVOLTA, E.; VIOLANTE NETTO, A. **Nutrição mineral, calagem e gessagem e adubação de citros**. Piracicaba, POTAFOS, 1989, 153p.
- MANJUNATH, A.; MOHAN, R., BAGYARAJ, D.J. Response of citrus to vesicular arbuscular mycorrhizal inoculation in unsterile soils. **Canadian Journal of Botany**, v.61, p.2729- 2732, 1983.
- MAHONEY, M.P.; NEMEC, S. Researching the super soils to improve plant nutrition. **Citrus & Vegetable Magazine**, v.43, p. 8-21, 1979.
- MARSCHNER, H.; DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. **Plant and Soil**, v.159, p.89-102, 1994.
- MARTINEZ, H.E.P.; NOVAIS, R.F.; RODRIGUES, L.A.; SACRAMENTO, L.V.S. Comportamento de variedades de soja cultivadas em diferentes doses de fósforo: I. Cinética de absorção de fósforo e ajustes morfológicos da planta. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v.17, p.231-238, 1993.
- MARX, D.H.; BRYAN, W.C.; CAMPBELL, W.A. Effect of endomycorrhizae formed by *Endogone mosseae* on growth of citrus. **Mycologia**, v. 63, p. 1222-1226, 1971.
- MARX, C., DEIXHEIMER, J., GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza. IV. Ultra- cytoenzymological evidence (ATPase) for active transfer processes in the host-arbuscule interface. **New Phytologist**, v.90, p. 37-43, 1982.

- MELLONI, R. Quantificação de micélio extrarradicular de fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas. Piracicaba, 1996. 83p. Dissertação (Mestrado)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"- Universidade de São Paulo.
- MENGE, J.A. ; LEMBRIGHT, H.; JOHNSON, E.L.V. Utilization of mycorrhizal fungi in citrus nurseries. **Proceedings of International Society of Citriculture**, v.1, p. 129-132, 1977.
- MENGE, J.A.; JOHNSON, E.L.; PLATT, R.G. Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes. **New Phytologist**, v.81, p.553-559, 1978a.
- MENGE, J.A.; LABANAUKAS, C.K; JOHNSON, E.L.V.; PLATT, R.G. Partial substitution of mycorrhizal fungi for phosphorus fertilization in the greenhouse culture of citrus. **Soil Science of Society of American Journal**, v.42, p.926-930, 1978b.
- MENGE, J.A. Effects of soil fumigants and fungicides on vesicular-arbuscular fungi. **Phytopathology**, v.72, p.1125-1132, 1982a.
- MENGE, J.A.; JARREL, W.M.; LANAUASKAS, C.K.; OJALA, J.C.; HUSZAR, C.; JOHNSON, E.L.V.; SIBERT, D. Predicting mycorrhizal dependency of Troyer Citrange on *Glomus fasciculatum* in California citrus soil and nursery mixes. **Soil Science of Society of American Journal**, v.46, p.762-768, 1982b.
- MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. **Principles of plant nutrition**. International Potash Institute, 1987.
- MIRANDA, J.C.C.; HARRIS, P.J.; WILD, A. A effects of soil and plant phosphorus concentrations on vesicular-arbuscular mycorrhiza in sorghum plants. **New Phytologist**, v.112, p.405-410, 1989.
- MIRANDA, J.C.C.; HARRIS, P.J The effect of soil phosphorus on the external mycelium growth of arbuscular mycorrhizal fungi during the early stages of mycorrhiza formation. **Plant and Soil**, v.166, p.271-280, 1994.
- MOHANDAS, S. Effect of VAM inoculation on plant growth, nutrient level and root phosphatase activity in papaya (*Carica papaya* cv. Coorg Honey Dew). **Fertilizer Research**, v.31, p.263-267, 1992.

- MORTON, J.B.; BENNY, G.L. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zigomycetes): A new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, with some emendations of Glomaceae. **Mycotaxon**, v.37, p.471- 491, 1990.
- MOSSE, B. **Vesicular arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture**. Hawaii, Institute for Tropical Agriculture and Human Resources, 1981. 82p. (Research Bulletin, 194).
- MURPHY, J.; RILLEY, J.P. A modified solution method for determination of phosphate in natural waters. **Analytical Chemistry Acta**, v.27, p.31-36, 1962.
- MURTHY, S.V.K.; IYENGAR, B.R.V. Kinetics of phosphorus absorption in banana (*Musa paradisiaca*) as influenced by growth and root morphology, **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v.66, p. 567-572, 1996.
- MURTHY, S.V.K.; IYENGAR, B.R.V. Kinetics of phosphorus uptake and root morphology in rootstocks belonging to Citrus and Poncirus genera. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v.64, p.290-296, 1994.
- NAHAS, E.; CENTURION, J.F.; ASSIS, L.C. Microorganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases de vários solos. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v.18, p.43-48, 1994.
- NEGRI, J. D. Citrus- **Manual Técnico das Culturas**, Campinas: CATI, 1997, v.3, p.69-107.
- NEMEC, S. Response of six rootstocks to three species of *Glomus*, a mycorrhizal fungus. **Proceedings of Florida State Horticultural Society**, v.91, p.10-14, 1978.
- NEMEC, S.; PATTERSON, M. Comparison of techniques to inoculate citrus in the field in Florida. **The Citrus Industry**, v.60, p.31-40, 1979.
- NEWCOMB, D.A. Mycorrhiza effects following soil fumigation. **Institute of Plant Propagation Society**, v.25, p.102-104, 1975.
- NICOLI, A.M. Influência de fontes e níveis de fósforo no crescimento e nutrição mineral do limoeiro "Cravo" (*Citrus limonia* Osbeck) em vasos até a repicagem. Lavras, 1982. 103p. Dissertação (Mestrado)- Escola Superior de Agricultura de Lavras.

- NIELSEN, N.E.; BARBER, S.A. Differences among genotypes of corn in the kinetics of P uptake. **Agronomy Journal**, v.70, p.695-698, 1978.
- NIELSEN, N.E.; SAFIR, G.R. Increased drought tolerance of mycorrhizal onion caused by improved phosphorus nutrition. **Planta**, v.154, p. 407-413, 1982.
- NYE, P.H.; TINKER, P.B. Solute movement in the soil-root system. Berkeley: University of California, 1977.
- OLIVEIRA, A.A.R.; JESUS, E.S. Efeito da infecção por fungos micorrízicos vesículo-arbusculares sobre o desenvolvimento de porta-enxertos de citros. In: IX CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, p.319-325, 1987.
- OLIVIER, B.; BERTHEAU, Y.; DIEM, H.G.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Influence de la variété de *Vigna unguiculata* dans l'expression de trois associations endomycorhiziennes à vesicules et arbuscules. **Canadian Journal of Botany**, v.61, p. 354-358, 1983.
- PACHECO, S.; CAMBRAIA, J.; KASUYA, M.C.M. Efeito de diferentes níveis de fósforo sobre a atividade de fosfatases ácidas e a composição mineral de alguns fungos ectomicorrízicos. **Revista de Microbiologia**, v.22, p.345-348, 1991.
- PACOVSKY, R.S.; FULLER, G. Development of two endomycorrhizal symbiosis on soybean and comparison with phosphorus fertilization. **Plant and Soil**, v.95, p. 361-377, 1986.
- PANG, P.C.; PAUL, E.A. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhiza on ¹⁴C and ¹⁵N distribution in nodulated faba beans. **Canadian Journal Soil Science**, v.60, p.241-250, 1980.
- PAULA, C.M.P. Efeito do superfosfato simples e do esterco de galinha na obtenção de porta-enxerto de limoeiro "Cravo" para indexação de matrizes. Lavras, 1991, 54p. Dissertação (mestrado)- Escola Superior de Agricultura de Lavras, ESAL.
- PENG, S.; EISSENSTAT, D.; GRAHAM, J.H.; KIMBERLYN, W.; HOHGE, N.C. Growth depression in mycorrhizal citrus at high phosphorus supply: analysis of carbon cost. **Plant Physiology**, v.101, p.1063-1071, 1993.

- PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions British Mycological Society**, v.55, p.158-161, 1970.
- PLATT, R.G.; OPITIZ, K.W. Propagation of citrus. **The citrus industry**. v.3, cap.1, p.1-47, 1973.
- PLENCHETTE, C.; FORTIN, J.A., FURLAN, V. Growth response of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P- fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. **Plant and Soil**, v. 70, p.199-209, 1983.
- POMPEU JUNIOR, J. Porta-enxertos. In: RODRIGUES, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JUNIOR, J. **Citricultura brasileira**. Campinas: Fundação Cargill, 1991. v.1, p.265-280.
- QUIU, J.; ISRAEL, D.W. Diurnal starch accumulation and utilization in the phosphorus-deficient soybean plants. **Plant Physiology**, v.98, p.316-323, 1992.
- RASMUSSEN, G.K.; SMITH, P.F. Pot studies on the effect of superphosphates on the growth of citrus seedlings. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v.72, p.71-75, 1959.
- .RAIJ, B. van; ROSAND, P.D.; LOBATO, E. Adubação fosfatada no Brasil- apreciação geral, conclusões e recomendações. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA-DID. **Adubação fosfatada no Brasil**. Brasília, p.9-28, 1982.
- RATNAYAKE, M.; LEONARD, R.T.; MENGE, J.A. Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhiza formation. **New Phytologist**, v.81, p.533-552, 1978.
- RHEINHEIMER, D.S.; ERNANI, P.R.; SANTOS, J.C.P.; KAMINSKI, J.; KRUNVALD, L. Influência da micorriza no crescimento do *Trifolium riograndense* e na predição da absorção de fósforo por um modelo mecanístico. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v.21, p.191-197, 1997.
- ROCHA, M.R.; CORREA, G.C.; OLIVEIRA, E. Efeitos de fungos MVA e doses de fósforo nos teores de nutrientes em tangerineira ‘cleópatra’. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.30, p.1253-1258, 1995.

- RUIZ, H.A. Estimativa dos parâmetros cinéticos Km e Vmax por uma aproximação gráfico-matemática. **Revista Ceres**, v.32, p.79-84,1985.
- SAFIR, G. R. Ecophysiology of VA mycorrhizal plants. Boca Raton, CRC Press, 224p.,1987.
- SAGGIN JÚNIOR, O.J.; SIQUEIRA, J.O.; GUIMARÃES, P.T.G.; OLIVEIRA, E. Interação fungos micorrízicos versus superfosfato e seus efeitos no crescimento e teores de nutrientes do cafeeiro em solo não fumigado. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v.18, p.27-36, 1994.
- SANDERS, F. E.; TINKER, P.B. Phosphate flow into mycorrhizal roots. **Pesticide Science**, v.4, 385-395, 1973.
- SCHENCK, N.C.; PÉREZ, Y. **Manual of the identification of VA mycorrhizal fungi**. Gainesville, University of Florida, 245p,1987.
- SCHJORRING, J.K.; JENSEN, P. Phosphorus export from roots to shoots of barley, buckwheat and rape seedlings with different P status. **Physiological Plant.**, v.70, p.58-64, 1987.
- SCHUBERT, A.; HAYMAN, D.S. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. XVI. Effectiveness of different endophytes at different levels os soil phosphate. **New Phytologist**, v.103, p. 79-90, 1986.
- SEN, R.; HEPPER, C.M. Characterization of vesicular –arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus* sp.) by selective enzyme staining following polyacrilamide gel electrophoresis. **Soil Biology and Biochemistry**, v.18, p.29-34, 1986.
- SIDDIQI, M.V.; GLASS, A.D.M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparision of nutrient utilization efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, v.4, p.289-302, 1981.
- SINHA, S.B.; RASTOGI, A.K.; MAHAJAN, J.P. Uptake of fertilizer phosphorus by three rice varieties in a vertisol. **Journal Nuclear Agriculture Biology**, v.9, p.139-140, 1980.
- SILVA, J.O B. Efeito do superfosfato simoles e de seus nutrientes principais no vrescimento do limoeiro "Cravo" (*Citrus limonia* Osbeck) em vasos até a

repicagem. Lavras, 1981. 100p. Dissertação (Mestrado)- Escola Superior de Agricultura de Lavras.

SILVEIRA, A. P.D. Cinética de absorção de fósforo e estado nutricional do feijoeiro sob influência de micorriza vesículo-arbuscular . Piracicaba, 1990. 130 p. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”- Universidade de São Paulo.

SILVEIRA, A.P.D.; CARDOSO, E.J.B.N Efeito de MVA e rizóbio nos parâmetros cinéticos de absorção radicular de ^{32}P pela soja. **In:** Simpósio Latinoamericano de Micorrizas, I, Havana, Cuba. Resumos.p.13, 1990a

SILVEIRA, A.P.D.; CARDOSO, E.J.B.N Absorção de P mediada por VA em soja tolerante e intolerante ao Al. **In:** Reunião Internacional sobre Biologia de Plantas do Cerrado e Congresso de Botânica, I, Campinas, SP. Resumos. p. 149, 1990b.

SILVEIRA, A.P.D.; CARDOSO, E.J.B.N. Kinetics of phosphorus uptake, growth and mineral nutrition of mycorrhizal and non-mycorrhizal bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **In:** North American Conference on Mycorrhizae, 8 th, Jackson, Wyoming, USA. Abstracts. p.264, 1990c.

SILVEIRA, A.P.D.; CARDOSO, E.J.B.N. Efeito da micorriza vesículo-arbuscular nos parâmetros cinéticos da absorção de P pela soja tolerante e intolerante ao Al. **In:** Reunião Brasileira sobre Micorrizas, IV, Mendes, RJ, Resumos. p.169, 1991.

SIQUEIRA, J.O.; HUBBELL, D.H.; VALLE, R.R. Effects of phosphorus on formation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.19, p.1465-1474, 1984.

SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI-FILHO, A. Micorrizas vesículo-arbusculares em mudas de cafeeiro. II. Efeito do fósforo no estabelecimento e funcionamento da simbiose. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v.10, p.207-211, 1986.

SIQUEIRA, J. O. Fisiologia e bioquímica de micorrizas vesículo-arbusculares: alguns aspectos da relação fungo-planta e absorção de fósforo. **In:** Reunião Brasileira sobre micorrizas, 4, Mendes, 1991. **Programas e Resumos**. Mendes: EMBRAPA-CNPBS/UFRRJ,p.105-131, 1991.

- SMITH, S.E. Inflow of phosphate into mycorrhizal and non-mycorrhizal plants of *Trifolium subterraneum* at different levels of soil phosphate. **New Phytologist**, v.90, p.293-303, 1982.
- SMITH, S.E.; ST JOHN, B.J.; SMITH, F.A. ; BROMLEY, J.L. Effect of mycorrhizal infection on plant growth nitrogen and phosphorus nutrition of glasshouse-grown *Allium cepa* L. **New Phytologist**, v.92, p. 75-87, 1986.
- SMITH, S.E. Phosphorus fluxes in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants:relationships with infection and enviromental variables. **In:** NorthAmericam Conference on Mycorrhizae, 8th, Jackson, EUA. Abstracts. p.266,1990.
- SOUZA, E.F.O Efeito de fungos MVA, fontes e doses de fósforo no crescimento do limoeiro “Cravo”, pós repicagem. Lavras,1990, 58p. Dissertação (Mestrado)-Escola Superior de Agricultura de Lavras, ESAL.
- SOUZA, E.F.O ; SOUZA, M.;OLIVEIRA, E. Efeito de fungos MVA e fósforo sobre o crescimento do limoeiro cravo, pós repicagem. **Ciência Prática**, v.15, n.4,p.398-404, 1991.
- STITT, M.; HUBER, S.; KERR, P. Control of photosynthetic sucrose formation. **In:** The Biochemistry of Plants. In: STUMPF;P.;CONN, N., eds. p.327-409, 1987.
- STRAKER, C.J.; MITCHELL, D.T. The activity and characterization of acid phosphatases in endomycorrhizal fungi of Ericaceae. **New Phytologist**, v. 104, p. 243-256, 1986.
- STRAKER, C.J.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S.; CLEYET-MAREL, J.C.; BOUSQUET, N. Eletroforetic and immunologicalstudies on acid phosphatase from a mycorrhizal fungus of *Erica hispidula* L. **New Phytologist**, v. 111 p. 215-221, 1989.
- STRIBLEY, D.P.; TINKER, P.B.; SNELLGROVE, J. Effect of vesicular- arbuscular mycorrhizal fungi on the relation of plant growth, internal phosphorus concentration and soil phosphate analyses. **Journal of Science**, v.31, p.655-672, 1980.

- SYLVIA, D.; SHENCH, N.C. Application of superphosphate to mycorrhizal plants stimulates sporulation of phosphorus-tolerant vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v.95,p.655-661, 1983.
- SYLVIA, D. Activity of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Biological Biochemistry**, v.18, p.29-34, 1986.
- THOMSON, B.D.; ROBSON, A.D.; ABBOTT, L.K. Effects of phosphorus on the formation of mycorrhizas by *Gigaspora calospora* and *Glomus fasciculatum* in relation to root carbohydrates. **New Phytologist**, v.103, p.751-765, 1986.
- TIMMER, L.W.; LEYDEN, R.F. Studying of citrus seedlings in fumigated soils in Texas and its correction by phosphorus fertilization and inoculation with mycorrhizal fungi. **Journal of American Society Horticultural Science**, v. 103, p.533-537, 1978.
- TIMMER, L.W.; LEYDEN, R.F. The relationship of mycorrhizal infection to phosphorus-induced copper deficiency in sour orange seedlings. **New Phytologist**, v.85, p.15-23;1980.
- TINKER,P.B. The soil chemistry of phosphorus and mycorrhizal effects on plant growth. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B. & TINKER, P.B.,eds.**Endomycorrhizas**. London, Academic Press. p.353-71,1975.
- TUCKER, D.P.H.; ANDERSON, C.A. Correction of citrus seedlings stunting of fumigated soils by phosphate application. **The citrus industry**, v.55, p.19-23,1974.
- TRINDADE, A.V.; VILDOSO, C.I.A.; MUCHOVEJ, R.M.C.; COSTA, L.M. Interação de composto de lixo urbano e fungos micorrízicos na nutrição e crescimento de milho. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 20, p.199-208, 1996.
- WEBER, O B.; OLIVEIRA, A.A.R., MAGALHÃES, A.F.J. Adubação orgânica e inoculação com *Glomus etunicatum* em porta-enxertos de citros. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 14, 321-326, 1990.
- WOOLHOUSE, H. W. Membrane structure and transport problems considered in relation to phosphorus and carbohydrate movements and regulation of endotrophic mycorrhizal associations. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, M.P.B. (Ed). **Endomycorrhizas**. London, Academic Press, 1975.p.209-239.

ZAMBOLIM, L.; SIQUEIRA, J.O. **Importância e potencial das associações micorrízicas para a agricultura.** Belo Horizonte: EPAMIG, 1985. 36p. (EPAMIG, Documentos, 26).

ZAMBOLIM, L. Como plantas micorrizadas comportam-se em relação aos fitopatógenos. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 1, Lavras, 1986. **Anais.** Lavras: p. 76-99.