**EFICIÊNCIA E ESPECIFICIDADE DAS ASSOCIAÇÕES MICORRÍZICAS
DO TIPO VESICULAR-ARBUSCULAR EM GRAMÍNEAS E LEGUMINOSAS
FORRAGEIRAS E NO CAFEEIRO (*COFFEA ARABICA* L.)**

ELI SIDNEY LOPES

Orientador: Prof. Dr. **ANDRÉ M. L. NEPTUNE**

Tese-apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", da Uni-
versidade de São Paulo, para obtenção do
título de Doutor em Agronomia. Área de
concentração: Solos e Nutrição de Plantas.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Outubro, 1980

À *CLAUDETE*,

minha esposa,

À *CLAUDIA MARIA*,

ANDRÉ LUÍS e

MÁRCIA MARIA,

meus filhos,

DEDICO com muito carinho.

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

Ao meu Orientador, Prof. Dr. André Martin Louis Neptune, pela atenção, orientação e estímulo, que nos foram demonstrados.

Ao Instituto Agronômico de Campinas, que nos concedeu o tempo e autorizou a utilização de todos os recursos que foram necessários para a realização deste trabalho.

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Processo 0050/71, referente à Bolsa de Pesquisa mantida durante parte do período de realização deste trabalho e Processo 12910/73, de auxílio à Seção de Entomologia, IAC, referente à utilização do equipamento fotográfico. À IBRAS-CBO Indústrias Cirúrgicas e Ópticas S.A., Campinas, pela irradiação dos solos utilizados.

Aos funcionários e estagiários da Seção de Microbiologia do Solo, pela dedicação na execução das tarefas que lhes couberam.

À Bióloga Elizabeth de Oliveira, pela execução dos trabalhos de laboratório e pela manutenção dos experimentos em casa de vegetação.

Ao Dr. Ruter Hiroce, pelas análises químicas.

Ao Dr. Toshio Igue, pela orientação nas análises estatísticas.

Ao Dr. José A.M.S. Valadares pela revisão do texto e pelas sugestões.

À Eng.^a Agr.^a Maria L.C.O. Lombardi, pelas várias solicitações atendidas.

À Dr.^a Bárbara Mosse e ao Dr. David Hayman, pela orientação nas técnicas de trabalho com as micorrizas e pelo estímulo para que desenvolvêssemos pesquisas nesta importante área.

E a muitos outros amigos que de várias maneiras contribuíram para que o trabalho fosse concluído, deixamos registrado o nosso profundo agradecimento.

CURRICULUM VITAE

Eli Sidney Lopes nasceu no dia 20 de setembro de 1939, em Vera Cruz, Estado de São Paulo.

Graduou-se Engenheiro-Agrônomo, com especialização em Fitotecnia, pela Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, em 1963.

Em 1964 foi contratado pelo Instituto Agronômico, iniciando-se em atividades de pesquisas sobre fixação biológica do nitrogênio atmosférico, na Seção de Fertilidade do Solo.

Recebeu o título de *Master of Science*, pela Universidade de Cornell, Ithaca, N.Y., em 1968, na área de Ciência do Solo, com especialização em Microbiologia do Solo.

Em 1970 iniciou a instalação da Seção de Microbiologia do Solo do Instituto Agronômico. Em 1972 foi designado para exercer as funções de chefia daquela Seção, posição esta que ocupa atualmente.

Tem vários trabalhos publicados sobre pesquisa efetuada na área de fixação simbiótica *Rhizobium*-leguminosas e tem participado de congressos nacionais e internacionais neste assunto de sua especialização.

A partir de 1977 iniciou pesquisas sobre as micorrizas endotróficas, assunto este que atualmente desenvolve em paralelo com o da fixação simbiótica.

Í N D I C E

	Página
RESUMO	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Caracterização das Associações Micorrízicas.	4
2.2. Biologia e Taxonomia das Micorrizas Vesicu- lares-Arbusculares	6
2.3. Ocorrência das Micorrizas Vesiculares-Arbus- culares	8
2.4. Efeitos das Micorrizas Vesiculares-Arbuscula- res nas Plantas	9
2.4.1. Natureza dos Efeitos das Micorrizas..	10
2.4.2. Efeitos Benéficos no Desenvolvimento da Planta	13
2.5. Seleção de Espécies Eficientes de Micorrizas	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1. Experimento com Siratro	20
3.1.1. Solo	20
3.1.2. Preparo e Tipo de Recipiente de Plan- tio	21

Página

3.1.3. Calagem e Adubação Básica.....	22
3.1.4. Espécies de Fungos Micorrízicos e Plan- tas	22
3.1.5. Preparo das Plantas e dos Inóculos....	23
3.1.6. Tratamentos, Inoculação e Instalação do Ensaio	24
3.1.7. Condução e Controle do Experimento....	24
3.1.8. Colheita e Obtenção de Dados.....	25
3.2. Primeiro Experimento com Gramíneas e Legumi- nosas.....	26
3.2.1. Solo	26
3.2.2. Preparo e Tipos de Recipientes para Plantio	26
3.2.3. Calagem e Adubação Básica	28
3.2.4. Espécies de Planta	30
3.2.5. Espécies de Fungos Micorrízicos.....	31
3.2.6. Inoculantes para as Leguminosas.....	31
3.2.7. Tratamentos e Delineamento Experimental	32
3.2.8. Preparo de Plântulas.....	33
3.2.9. Preparo de Inóculos.....	34
3.2.10. Inoculação e Instalação do Ensaio.....	34
3.3. Segundo Experimento com Gramíneas e Legumino- sas	38

3.3.1. Solo	38
3.3.2. Preparo do Substrato	38
3.3.3. Preparo e Tipo de Recipiente para Plantio	39
3.3.4. Espécies de Planta e de Fungos Micor- rízicos	39
3.3.5. Tratamento e Delineamento Experimen- tal	39
3.3.6. Preparo das Plântulas e dos Inóculos	40
3.3.7. Inoculação e Instalação do Ensaio...	40
3.3.8. Condução e Colheita do Ensaio.....	41
3.4. Experimento com Café	41
3.4.1. Solo	41
3.4.2. Preparo e Tipos de Recipientes para Plantio	42
3.4.3. Calagem e Adubação Básica.....	42
3.4.4. Espécies de Micorriza e Cultivar de Planta	43
3.4.5. Tratamento e Delineamento Experimen- tal	43
3.4.6. Obtenção das Plântulas.....	44
3.4.7. Preparo do Inóculo	44
3.4.8. Inoculação e Instalação do Ensaio...	45

	Página
3.4.9. Condução do Experimento	45
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1. Experimento com Siratro	48
4.2. Primeiro Experimento com Gramíneas e Legu- minosas	52
4.3. Segundo Experimento com Gramíneas e Legumi- nosas	70
4.4. Experimento com Cafeeiro	78
5. CONCLUSÕES	94
6. SUMMARY	96
7. LITERATURA CITADA	100

R E S U M O

Foram conduzidos vários experimentos em casa de vegetação em vasos, com solo irradiado com raios gama, visando selecionar espécies eficientes de fungos micorrízicos e estabelecer relações de especificidade eventualmente existentes entre plantas e fungos. Gramíneas e leguminosas forrageiras e café (*Coffea arabica* L.) foram investigadas. Foram efetuadas avaliações de infecções nas raízes pelos fungos micorrízicos, determinações da matéria seca da parte aérea e das raízes e avaliações da nodulação para as leguminosas. Para algumas gramíneas e leguminosas foram feitas determinações dos teores de fósforo e nitrogênio na parte aérea; para o cafeeiro foram feitas determinações de fósforo apenas.

Todas as espécies de micorrizas induziram infecção em pelo menos uma das plantas e todas as plantas apresentaram-se infectadas por uma ou outra espécie de fungo. No Latossolo Roxo, onde oito espécies de micorrizas foram testadas em *sitratro* (*Macroptilium atropurpureum*), apenas *Gigaspora heterogama*

não determinou infecção, num período de 75 dias que durou o ensaio e as espécies mais eficientes foram *Glomus macrocarpus* e *Glomus fasciculatus*.

Num experimento conduzido em Latossolo Vermelho Amarelo, onde quatro espécies de fungos micorrízicos (*G. macrocarpus*, *G. fasciculatus*, *Acaulospora laevis*, *Gigaspora margarita*) foram comparadas em quatro espécies de gramíneas (*Brachiaria decumbens*), *Setaria anceps* e as cultivares "petri" e "wurth" de *Panicum maximum*) e cinco de leguminosas (*M. atropurpureum*, *Glycine wightii*, *Calopogonium mucunoides*, *Galactia striata* e *Centrosema pubescens*) um fator adverso (possivelmente manganês no solo em níveis tóxicos) retardou o desenvolvimento das plantas e interferiu no teste, particularmente na infecção em algumas combinações fungo-planta. Assim, *Acaulospora laevis* não causou infecção em nenhuma das plantas e *G. margarita* e *G. fasciculatus* não infectaram as gramíneas. A espécie *G. macrocarpus*, por outro lado, além de infectar todas as gramíneas e, praticamente, todas as leguminosas (exceção da *galactia*) foi a que sistematicamente promoveu os maiores aumentos da matéria seca das leguminosas que infectou, em termos de valores absolutos. Aparentemente esta espécie de fungo foi mais tolerante às condições adversas do solo neste experimento e, conseqüentemente, apresentou maior eficiência. Por outro lado, o cafeeiro não foi infectado por *G. macrocarpus* num solo semelhante, também Latossolo Vermelho Amarelo. *Gigaspora margarita*, que se mostrara ineficiente nas gramíneas e leguminosas, foi a mais eficiente em cafeeiro. *G. heterogama* que não infectou o siratro apresentou infecção no ca-

feeiro, mas não promoveu aumento da produção de matéria seca.

No segundo experimento com duas leguminosas (*C. mucunoides* e *M. atropurpureum*) e duas gramíneas (*P. maximum* e *B. decumbens*) no mesmo LV, porém, com adubação fosfatada, não foi verificada infecção com *G. margarita* em nenhuma das espécies. Altos níveis de infecção correspondendo a aumentos na produção de matéria seca só foram observados nas leguminosas, no tratamento de infecção com *G. macrocarpus*. Este mesmo fungo promoveu ligeira infecção nas gramíneas, ao que não correspondeu aumento de produção.

Uma correlação entre matéria seca da parte aérea e percentagem do comprimento da raiz com infecção foi verificada em siratro e em cafeeiro. Porém, apesar da significância, os pontos experimentais apresentaram grande dispersão da curva calculada para descrever a relação. A presença do fungo nas raízes é obviamente uma condição para que a planta se beneficie, mas a extensão dos benefícios não parecem estar dependentes da extensão da infecção. É possível que a quantidade de micélio externo esteja melhor relacionada com os benefícios à planta, mas isso não foi ainda demonstrado.

A presença de certos fungos nas raízes das leguminosas (*G. macrocarpus* e *G. fasciculatus*) e do cafeeiro (*G. margarita* e *G. fasciculatus*) promoveram aumentos no desenvolvimento das plantas. Os teores e quantidades totais de fósforo no cafeeiro e também nas leguminosas foram significativamente maiores nas plantas que se beneficiaram das infecções, do que nas

plantas testemunhas não infectadas. A concentração de nitrogênio na *Brachiaria*, mas não em *Panicum* foi significativamente maior no tratamento de inoculação com *G. macrocarpus* do que no controle, apesar da infecção irrisória que foi detectada nas raízes das plantas.

No geral, as leguminosas apresentaram índices bem maiores que os das gramíneas. Entre as gramíneas somente a *Brachiaria* deixou-se infectar por outras espécies de micorrizas, além de *G. macrocarpus*, mostrando-se portanto mais susceptível à infecção que as demais gramíneas estudadas, nas condições destes experimentos. Estas e outras aparentes relações de especificidade que foram observadas, tanto a nível de infecção, como de eficiência não devem ser interpretadas como resultado de uma interação simples planta-fungo, mas sim como resultado da interação mais complexa solo-planta-fungo. Aparentemente a interação planta-fungo é facilmente sujeita a alterações por pequenas variações nas condições de solo. Foi observado que algumas espécies de fungo (*G. macrocarpus*) são mais tolerantes a variações nas condições de solo. Esta espécie de fungo é recomendada para experimentos de campo com leguminosas. Os resultados contrastantes obtidos com o cafeeiro, *G. macrocarpus* e *G. margarita*, em comparação com os das leguminosas indicam que para algumas associações a planta desempenha um papel maior na definição da melhor combinação solo-planta-fungo para promover o seu maior desenvolvimento. *Gigaspora margarita* é a espécie de fungo micorrízico que se recomenda para estudos de inoculação do cafeeiro em campo.

1. INTRODUÇÃO

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

A importância das micorrizas (VA) na absorção de nutrientes foi inicialmente descrita por MOSSE (1957) e BAYLIS (1959), seguidos de vários outros trabalhos. A observação de que plantas micorrizadas apresentam melhor desenvolvimento que plantas não micorrizadas, tem sido feita em várias condições de cultivos, mas principalmente em solos pobres em fósforo. Nestas condições, o melhor desenvolvimento das plantas infectadas é devido a um aumento na absorção de fósforo (SANDERS e TINKER, 1971). Diferentes espécies de plantas dependem, em maior ou menor grau, de micorrizas para a absorção de nutrientes, que como o fósforo, sejam de baixa mobilidade no solo (YOST e FOX, 1979).

No geral, os solos brasileiros são pobres em fósforo e a maioria das plantas aqui cultivadas reagem à adubação fosfatada, mas a eficiência de absorção do fósforo contido no fertilizante é baixa.

A utilização de práticas agrícolas, que aumentem a eficiência da absorção do fósforo do solo ou do adicionado como fertilizante, deve ser intensificada. Tem sido constatado que fatores não específicos decorrentes de práticas agrícolas como a calagem e a adubação orgânica, podem aumentar a eficiência da adubação fosfatada. Dentre os fatores conhecidos, que podem influenciar a eficiência da absorção do fósforo pelas plantas, as micorrizas têm um papel de destaque, podendo eventualmente ser manejadas ou sofrer a influência do manejo. Sabe-se que além de aumentar a absorção de nutrientes, as micorrizas influenciam também outros microrganismos, como por exemplo os solubilizadores de fósforo, que podem ter sua atividade aumentada, quando em presença de micorrizas (AZCÓN-G de AGUILAR e BAREA, 1978) e os microrganismos fitopatogênicos, que podem ter seus efeitos atenuados (SCHENCK e KELLAM, 1978).

Vários são os fatores que influenciam o estabelecimento e a eficiência das associações micorrízicas do tipo vesicular-arbuscular. Embora a maioria dos trabalhos indique que não haja especificidade quanto à infecção, entre espécies de fungo e de plantas, existem evidências mostrando que a nível de eficiência do desempenho da planta, certas espécies de endófitos beneficiam mais certas plantas que outras. Tais

evidências mostram ser necessária a seleção prévia de espécies ou ecotipos de fungos, em condições definidas, para plantas que se pretende investigar quanto à necessidade de inoculação, ou para se avaliar a contribuição da população indígena do endófito.

A maioria das culturas de interesse econômico se associam com micorrizas do tipo vesicular-arbuscular (MOSSE, 1973) e, conseqüentemente, necessitam serem investigadas. O estudo das micorrizas em leguminosas e gramíneas forrageiras é particularmente importante, porque a utilização dessas plantas em pastagens tem sido feita com a aplicação mínima de adubos fosfatados. Qualquer prática que contribua para aumentar a eficiência de utilização do fósforo, é de grande interesse. Entre as grandes culturas econômicas, as de plantas perenes merecem destaque para estudo desta simbiose. É desejável, particularmente no caso das plantas perenes, que o estabelecimento desta associação seja feita com um endófito de alta eficiência. Dentre as grandes culturas, a do cafeeiro foi a escolhida, porque nesta existe uma obrigatoriedade legal de fumigação do solo para o preparo das mudas. A fumigação do solo elimina os propágulos autóctones de fungos micorrízicos, tornando assim a inoculação artificial uma prática provavelmente necessária.

Este trabalho teve por objetivo verificar a eficiência de espécies de micorrizas para algumas gramíneas e leguminosas forrageiras e, para o cafeeiro, bem como estabelecer as relações de especificidade fungo-planta, eventualmente existentes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Caracterização das Associações Micorrízicas

Como o presente trabalho investiga o ajuste da relação fungo-planta visando a sua domesticação para fins práticos, é importante caracterizar as micorrizas vesiculares-arbusculares no contexto maior das outras associações micorrízicas e quanto à sua natureza propriamente dita.

O termo micorriza (do grego, mikes = fungo; rhiza = raiz) é empregado genericamente para referir-se a pelo menos cinco tipos de associações simbióticas entre espécies de fungos e plantas, que se estabelecem a nível das raízes. Para o estabelecimento da associação, o fungo penetra no sistema radicular, invadindo o córtex inter e intracelularmente, estabelecendo relações tróficas com a planta. Ainda falta conhecimento para que se possa reconhecer um relacionamento natural lógico (ou esclarecer a sua ausência) entre diferentes "grupos" de micorrizas (LEWIS, 1975).

São aceitos atualmente os seguintes grupos de associações micorrízicas: Ectotróficas, Vesiculares-Arbusculares, Ericóides, Arbutóides e Orquidáceas. Cada um desses grupos de micorrizas apresenta características próprias no que diz respeito ao tipo de infecção, hospedeiro infectado e espécie do endófito (BOULLARD, 1968; GERDEMANN, 1968).

As micorrizas do tipo ericóide e arbutóide (endotrófica e ecto-endotróficas, respectivamente) são formadas apenas em determinadas espécies da família Ericaceae. O endófito das micorrizas do tipo ericóide é cultivável em meio artificial e foi classificado como *Pezizella ericae* (READ, 1974).

As micorrizas das orquidáceas (endotróficas) são formadas com orquídeas e apresentam a peculiaridade de que a planta, no estágio inicial de estabelecimento (germinação da semente), é totalmente dependente do fungo para obtenção de carboidratos. Elas são formadas por espécies benígnas do gênero *Rhizoctonia*, e de outros gêneros (WARCUP e TALBOT, 1967).

As micorrizas ectotróficas se caracterizam pela presença de um manto compacto, formado de micélio visível a olho nu que recobre as raízes infectadas; há também indução de engrossamento e ramificação das raízes e, em alguns casos, a formação de nodosidades. Essas associações se estabelecem principalmente com a maioria das espécies arbóreas das famílias Betulaceae, Fagaceae, Pinaceae, Salicaceae, Teliaceae e com algumas árvores de outras famílias; ocorrem com maior frequência em árvores de regiões de clima temperado, embora se

associem também com espécies tropicais. Várias espécies de fungos (basidiomicetos, ascomicetos e ficomicetos) são formadores de micorrizas ectotróficas e alguns deles já foram cultivados em meio de cultura artificial (BOULLARD, 1968). As micorrizas vesiculares-arbusculares (MVA), sobre as quais este trabalho se limita, não foram ainda cultivadas em meios artificiais.

2.2. Biologia e Taxonomia das Micorrizas Vesiculares-Arbusculares

Basicamente as micorrizas (VA) são formadas de três componentes: as raízes do hospedeiro, as hifas do fungo no interior das raízes e as hifas do fungo no exterior do sistema radicular. Internamente as hifas podem dar origem a arbúsculos, que são estruturas formadas pela sua ramificação intensa tomando todo o interior da célula do hospedeiro. As hifas internas e externas podem dar origem às vesículas, que aparentemente são estruturas de reserva; pela digestão dos arbúsculos as reservas do fungo podem ser liberadas para as células da planta (BUTLER, 1939). O processo infeccioso é limitado à região do córtex das raízes e normalmente não se observam alterações morfológicas no sistema radicular. Em algumas espécies de plantas é possível separar plantas não infectadas de plantas infectadas, pela coloração amarelada que as raízes das plantas infectadas adquirem (GERDEMANN, 1968). Recentemente RIAZI-HAMADANI *et alii* (1977) relataram alterações nas raízes do tomateiro, induzidas por MVA, semelhantes às galhas forma-

das por nematóides.

O fungo não pode ainda ser cultivado isolado em meios artificiais, sendo entretanto possível o seu cultivo em meio definido em associação com plantas (ALLEN *et alii*, 1979)

Nos trabalhos anteriores à revisão da família Endogonaceae, à qual as micorrizas VA pertencem, feita por GERDEMANN e TRAPPE (1974), todas as espécies dos fungos que atualmente se conhece como formadores de MVA eram sumariamente classificadas como pertencentes ao gênero *Endogone* (GERDEMANN, 1964; MOSSE, 1956; OLD *et alii*, 1973). Atualmente, são consideradas micorrízicas, do tipo vesicular-arbuscular, espécies dos gêneros *Glomus* Tul. e Tul., *Gigaspora* Gerd. e Trap., *Sclerocystis* Berk. e Broome e *Acaulospora* Gerd. e Trap., da mesma família Endogonaceae, ordem Mucorales. A classificação das espécies é feita, principalmente, em base a características dos esporos e das hifas de sustentação que com exceção das espécies do gênero *Acaulospora*, normalmente permanecem ligadas aos mesmos. MOSSE e BOWEN (1968) idealizaram uma chave bastante útil para o reconhecimento dos tipos de esporos causados por micorrizas vesiculares arbusculares.

Considerando-se os levantamentos mais recentes, que foram efetuados nos Estados Unidos da América do Norte, verifica-se que pelo menos 42 espécies de MVA são citadas dentre os quatro gêneros reconhecidos.

2.3. Ocorrência das Micorrizas Vesiculares-Arbusculares

Embora não disponham de propágulos bem adaptados à disseminação, as micorrizas do tipo vesicular-arbuscular são as que mais comumente se encontram na natureza. Elas já foram relatadas em Briófitas e Pteridófitas, Gimnospermas (particularmente nas que não formam ectomicorrizas) e na maioria das Angiospermas investigadas (GERDEMANN, 1968; BOULARD, 1968; MOSSE, 1973). Segundo GERDEMANN (1968) as famílias de plantas que normalmente são citadas como contendo uma ou mais espécies não micorrízicas são as seguintes: Cyperaceae, Commelinaceae, Juncaceae, Urticaceae, Polygonaceae, Chenopodiaceae, Amaranthaceae, Nyctaginaceae, Phytolaccaceae, Aizoaceae, Portulacaceae, Caryophyllaceae, Fumariaceae e Cruciferae. Ausência de infecção em várias crucíferas e quenopodiáceas foi confirmada mais recentemente por HIRREL *et alii* (1978).

As micorrizas vesiculares-arbusculares são encontradas em plantas das regiões mais frias do globo, bem como nas plantas tropicais. No que diz respeito a condições de solo existem também relatos de ocorrência em condições extremas (GERDEMANN, 1968; BOULLARD, 1968; MOSSE, 1973).

Já foi constatada a ocorrência de micorrizas deste tipo em várias plantas que ocorrem em solos de áreas de cerrado, no Estado de São Paulo (THOMAZINI, 1974).

As gramíneas e leguminosas forrageiras investigadas neste trabalho são conhecidas como formadoras de associações micorrízicas, conforme trabalhos citados por vários auto-

res (BOULARD, 1968; GERDEMANN, 1968; MOSSE, 1973; BOWEN, 1980).

GERDEMANN (1968) menciona que várias espécies arbóreas de interesse agrônômico também formam associações micorrízicas. Observações detalhadas sobre a infecção de duas espécies de cafeeiro (*Coffea arabica* e *C. liberica*) por micorrizas vesiculares arbusculares foram efetuadas por JANSE (1897), em plantas crescendo em vasos e em condições de campo. CARDOSO (1978) verificou que mudas de cafeeiro, da cultivar Catuaí, provenientes de viveiros que adotaram a prática de fumigação, apresentaram baixos índices de infecção. Por outro lado, mudas provenientes de solo não fumigado, misturado com terriço de mata apresentavam maior desenvolvimento e maior infecção. A espécie de fungo associada não foi identificada, porém, apresentava vesículas externas, que são típicas do gênero *Gigaspora*.

2.4. Efeitos das Micorrizas Vesiculares-Arbusculares nas Plantas

Até o final da década de 1950, a grande maioria dos trabalhos com as micorrizas vesiculares arbusculares eram de natureza descritiva. MOSSE (1957) mostrou que macieiras cultivadas em solo autoclavado, inoculado com micorriza do tipo vesicular-arbuscular, apresentavam melhor desenvolvimento e maior absorção de fósforo por *Griselinia* sp infectada do que não infectada. Vários outros autores obtiveram resultados semelhantes com experimentos conduzidos em diferentes substratos e espécies de plantas tais como *Liriodendron* sp, morangueiro,

fumo, tomate e milho (CLARK, 1963; HOLEVAS, 1966; DAFT e NICOLSON, 1966; GERDEMANN, 1964). Neste e em outros experimentos os efeitos da inoculação na infecção e desenvolvimento da planta foram, em geral, maiores em solos menos ricos em nutrientes.

2.4.1. Natureza dos Efeitos das Micorrizas

Está comumente aceito que o melhor desenvolvimento das plantas infectadas com MVA pode ser atribuído a um aumento na eficiência de absorção de fósforo (SANDERS, 1975; BARROW *et alii*, 1977; BOWEN, 1980). As hifas externas das micorrizas, absorvem fósforo do solo e translocam ao hospedeiro. Nas plantas infectadas estabelece-se uma estrutura que dá à planta uma superfície extra de absorção que faz ultrapassar os limites normais de sua capacidade de absorver nutrientes que seriam definidos apenas pela superfície das raízes nas plantas não infectadas. Essa superfície extra parece ser altamente importante no caso de nutrientes de baixa difusão como o fósforo (SANDERS e TINKER, 1971, 1973). Os efeitos benéficos de infecção das raízes pelo fungo é maior em solos onde o fósforo é limitante (GERDEMANN, 1968).

Embora a maioria dos trabalhos recentes sobre micorrizas VA trate dos seus efeitos benéficos nas plantas, é interessante lembrar que as micorrizas podem também prejudicar o crescimento das mesmas, conforme apontado no trabalho de revisão do assunto, efetuada por SCHENCK e KELLAN (1978) ou, ainda, influenciar a atividade de outros microrganismos.

Existem evidências recentes mostrando que em certas condições, as micorrizas prejudicam o desenvolvimento das plantas, indicando que o fungo neste caso é parasítico. CRUSH (1976) verificou uma redução na produção de matéria seca de trevo-híbrido (*Trifolium hybridum* L.) e alfafa (*Medicago sativa* L.) quando essas plantas foram inoculadas com *Acaulospora laevis*; no mesmo solo, entretanto, não foi constatada redução no crescimento de trevo vermelho (*T. pratense*) e trevo branco (*T. repens*) inoculados com o mesmo fungo. POWELL (1979) apresenta resultados na produção de matéria seca e absorção de P por azevem (*Lolium perenne* L.) mostrando que a mesma espécie de fungo micorrízico pode apresentar efeito benéfico ou prejudicial, dependendo da fonte de fosfato natural utilizada; efeitos depressivos na produção da referida gramínea foram observados, por exemplo, em alguns tratamentos de inoculação com *Gigaspora margarita*, principalmente nas colheitas finais do experimento. MOSSE (1972) postulou que as reduções de crescimento observada em cebola micorrizada, em solo com adubação fosfatada deveriam ser atribuídas à toxidez de fósforo, pelo aumento de absorção deste nutriente, provocada pelo endófito. É possível também, conforme apontado por TINKER (1975), citado por SCHENCK e KELLAN (1978) que a demanda do fungo por produtos fotossintetizados pela planta prejudiquem o desenvolvimento da mesma em certas condições.

Na revisão supracitada de SCHENCK e KELLAN (1978) são discutidos vários trabalhos sobre interação entre fungos, bactérias e nematóides patogênicos. No geral, as micorrizas di-

minuem a severidade de doenças de plantas causadas por fungos, havendo, entretanto, evidências de que elas podem não influenciar os patógenos ou podem, elas mesmas, terem efeito patogênico. Para a interação nematóide e micorriza, tem sido geralmente observado que o agente patogênico reduz a intensidade de infecção e, conseqüentemente, os benefícios da associação. Foi recentemente sugerido que em cafeeiro, as micorrizas diminuem os efeitos prejudiciais do ataque de nematóides (SOUZA, P., Centro do Cerrado, EMBRAPA. Comunicação Pessoal, 1979).

Um efeito sinérgico das micorrizas VA na nodulação e fixação do nitrogênio em leguminosas previamente inoculada foi também observado em solo esterilizado. Esse efeito pode ser atribuído ao aumento na absorção do fósforo pelas leguminosas, propiciada pela micorriza (CRUSH, 1974; DAFT e EL-GIAHMI, 1974). AZCÓN-G de AGUILAR *et alii* (1979) observaram que plântulas de alfafa pré-inoculadas com rizóbios e micorrizas (*Glomus mosseae*), transplantadas para solos não esterilizados apresentavam aumentos de produção da ordem de 200% em relação a tratamentos onde foi feito apenas a inoculação com rizóbios. Uma maior quantidade total de nitrogênio foi constatada no tratamento de inoculação simultânea do rizóbio e do fungo micorrízico. Por sua vez, as micorrizas são positivamente influenciadas por bactérias solubilizadoras de fósforo, por *Rhizobium* sp, e outras bactérias do solo, sendo que fito-hormônios produzidos por esses organismos atuam no sistema radicular, podendo também atuar a nível de endófito (AZCÓN-G de AGUILAR e BAREA, 1978; AZCÓN *et alii*, 1978).

2.4.2. Efeitos Benéficos no Desenvolvimento da Planta

A comprovação dos efeitos benéficos do manejo de micorrizas para uma eventual recomendação de inoculação artificial, deve ser feita em condições de campo. Meios práticos e econômicos de inoculação devem estar disponíveis para que se possa sugerir tal técnica. Existem atualmente várias limitações a serem superadas antes que se possa recomendar a inoculação e algumas delas são apontadas no tópico seguinte.

Neste item pretende-se abordar alguns trabalhos recentemente conduzidos em vasos com solo não esterilizado e no campo, mostrando que os trabalhos nesta área são de grande interesse. Destes trabalhos podem surgir recomendações que resultem em aumento da eficiência de utilização do fósforo pelas plantas e,consequentemente, economia nas adubações.

EL-GHIAHMI *et alii* (1976), verificaram que a inoculação do solo não esterilizado, com esporos da espécie *Glomus mosseae*, originária da Líbia, aumentou a produção de matéria seca da parte aérea do milho, em 40,5%.

JACKSON *et alii* (1972), num estudo sobre método de coloração do inóculo, no qual a espécie *Glomus mosseae* foi utilizada,também verificaram que o milho beneficiou-se da inoculação em solo não esterilizado. O experimento foi conduzido em vasos e os autores comentam que as plantas do tratamento sem inoculação estavam infectadas embora não apresentassem da-

dos qualitativos de infecção. Neste mesmo trabalho, os referidos autores mostram que efeitos positivos da inoculação foram verificados em sorgo (*Sorghum bicolor*, var. *sudanensis*) no segundo e terceiros cortes, mas que a cultivar Harosoy 63 de soja não se beneficiou da inoculação.

MOSSE (1977) relatou dados de experimento em que a matéria seca de *Stylosanthes guyanensis*, cultivado em vasos com 200 g de solo não esterilizado, adubado com fosfato natural, aumentou em 32 a 1180%, dependendo da espécie de micorriza utilizada na inoculação. No mesmo trabalho foi também constatado um aumento significativo (275%) na produção de matéria seca do milho, em um dos dois solos estudados com esta cultura.

OWOSU-BENNOAH e MOSSE (1979) verificaram em experimentos conduzidos no campo, na Estação Experimental de Rothamsted, Inglaterra, que a inoculação beneficiou o desenvolvimento o desenvolvimento de cebola, alfafa e cevada. Neste experimento, *Glomus caledonius* foi mais eficiente nas duas primeiras espécies de planta, do que em cevada e as respostas foram maiores em solo em pousio, do que cultivado. As plantas não inoculadas apresentavam índices de infecção menores que as inoculadas.

Plântulas de *Khaia grandifoliola*, uma espécie florestal cultivada na África, quando transplantada com infecção prévia para solos de viveiro, desenvolveram-se melhor que plântulas não infectadas; o aumento na matéria seca foi da ordem de 129,0%, segundo os dados de REDHEAD (1975).

Na Austrália, num trabalho conduzido em vasos com mandioca (*Manihot utilissima*), HOWELER *et alii* (1979), verificaram aumento de 50% na resposta à inoculação com uma espécie local de micorriza, não identificada. É interessante ressaltar que neste caso houve resposta à inoculação com micorriza, mesmo no tratamento em que foi aplicado superfosfato simples em dosagem equivalente a 0,5 t/ha. Segundo esses autores, a mandioca é altamente dependente de micorriza. YOST e FOX (1979) também observaram que a mandioca é muito dependente das micorrizas.

2.5. Seleção de Espécies Eficientes de Micorrizas

O interesse agrônômico no estudo das micorrizas VA foi despertado pela constatação de que as plantas infectadas pelos fungos micorrízicos absorvem mais nutrientes e apresentam melhor desenvolvimento do que as não infectadas. Desse fato surge o interesse em se definir prováveis benefícios de uma inoculação artificial.

Em princípio, a ocorrência generalizada das micorrizas e a aparente ausência de especificidade sugerem que possivelmente não haverá uma resposta única e que há necessidade de se conduzir experimentação de campo, para definir se há ou não vantagens na inoculação.

A impossibilidade atual de cultivo artificial do endófito e as dificuldades para reconhecimento e avaliação

de endófitos utilizados nos tratamentos de inoculação tornam experimentação de campo laboriosa e de difícil interpretação.

Existem determinadas situações em que a necessidade de inoculação parece ser óbvia, tal como a ausência de espécie de micoriza, ou presença de propágulos em número insuficiente. REEVES *et alii* (1979) consideram importante o desenvolvimento de métodos para inoculação com micorriza para utilização nos programas de revegetação de áreas semi-áridas depauperadas do oeste dos Estados Unidos da América do Norte. Em áreas depauperadas desta região, a escassa vegetação pioneira existente é predominantemente não micorrízica, enquanto que nas áreas contíguas, não depauperadas, a vegetação predominante é micorrízica. A população de propágulos de fungos micorrízicos no solo das áreas depauperadas é menor que em solos de outras áreas (MOORMAN e REEVES, 1979).

A observação de que espécies de endófitos podem diferir na capacidade de melhorar o desenvolvimento da planta (MOSSE, 1973) também levanta a questão da inoculação artificial visando a substituição da população autóctone por outra eventualmente mais eficiente.

Dois conceitos devem ser levados em consideração na escolha de espécies de fungo: a sua eficiência e a especificidade. Na realidade é difícil a separação desses dois conceitos. A eficiência pode ser genericamente definida como o grau de vantagem (nutricional ou outra) para a planta, resultante de sua associação com o fungo (MOSSE, 1975). A especificidade

hospedeira pode ser definida como a restrição do endófito em associar-se com uma determinada espécie ou grupo de plantas.

As dificuldades metodológicas para avaliação (GIOVANNETTI e MOSSE, 1979) tem limitado a realização de testes extensivos de eficiência visando a seleção de espécies de micorrizas. POWELL (1977) testou a eficiência de micorrizas em cerca de 20 solos verificando que em apenas três deles havia efeitos significativas na produção de matéria seca de azevem (*Lolium perenne* L.), resultante da inoculação com fungos nativos de solos da Nova Zelândia ou com *Glomus fasciculatus* (E₃). No geral, a infecção com E₃ foi bem menor que a induzida pelos fungos nativos. No mesmo trabalho, foram também comparados tratamentos de inoculação de azevem e trevo branco (*Trifolium repens*) com espécies autóctones e com *Gigaspora margarita*, tendo se observado que a última espécie foi menos eficiente em estimular a graminéa do que a leguminosa. Uma observação interessante neste trabalho foi que com o cultivo sucessivo no mesmo solo, houve uma tendência de aumento de efeito benéfico no tratamento de inoculação com *G. margarita*, enquanto que a eficiência da população nativa de fungos micorrízicos decrescia.

HALL e outros (1977) observaram, também na Nova Zelândia, que benefícios da inoculação de duas cultivares de trevo branco só se verificaram em ausência de fósforo ou em baixas doses de P em apenas uma das cultivares.

A eficiência é sempre avaliada de forma relativa, comparando-se por exemplo o peso seco da planta sem inocula

ção com o peso seco da planta inoculada com a espécie em teste.

Neste caso é importante levar-se em conta se condições do substrato utilizado e o que se espera em termos da atividade principal das micorrizas. É sabido da importância das micorrizas na absorção de fósforo em condições naturais e, particularmente, nas regiões tropicais onde esse nutriente é limitante (BOWEN, 1980). Entretanto, em solos naturalmente bem supridos em fósforo e deficientes em zinco, as micorrizas aumentam o desenvolvimento da planta porque promovem uma maior absorção desse nutriente, conforme já foi demonstrado por GILMORE (1971) com mudas de pessegueiro. Mesmo o potássio que é um elemento de alta difusão no solo, pode ser o nutriente chave na resposta à inoculação com micorriza quando ele é o único limitante e encontra-se com teor muito baixo no solo (POWELL, 1975).

Normalmente, os testes prévios de seleção de espécies de micorrizas devem ser efetuados em solos esterilizados (ou livres de micorrizas). Apesar das limitações existentes, a esterilização do solo é necessária. A ocorrência ubíqua das micorrizas vesiculares-arbusculares nos solos impossibilita testar a eficiência intrínseca de diferentes espécies de micorrizas em condições naturais, sem a interferência do endófito autóctone (GERDEMANN, 1968).

A prática da pré-esterilização pode, ainda, ser considerada vantajosa para determinados tipos de estudos, como quando se pretende definir relações de especificidade. A esteril

lização pode ser efetuada por processos químicos ou físicos e normalmente introduz alterações químicas, físicas e biológicas, tais como a transformação do manganês insolúvel para forma disponível às plantas, o aumento nos teores de nitrato (LOPES e WOLLUM, 1976), além da eliminação das micorrizas e outros microrganismos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Para a obtenção das informações relatadas e discutidas neste trabalho, foram conduzidos vários experimentos, sendo um com siratro (*Macroptilium atropurpureum*) para escolha preliminar das espécies de micorrizas. Posteriormente, foram conduzidos um primeiro grupo de ensaios com gramíneas e leguminosas, um com cafeeiro e um segundo ensaio com gramíneas e leguminosas. Todos os experimentos foram conduzidos em vasos, com solo inicialmente esterilizado. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, na Seção de Microbiologia do Solo, Instituto Agrônomo, Campinas, São Paulo, por tempos variáveis, dependendo da espécie de planta.

3.1. Experimento com Siratro

3.1.1. Solo

Foi utilizado um Latossolo Roxo (LR), coletado no Centro Experimental de Campinas, do Instituto Agrônomo,

Campinas, São Paulo.

A coleta do solo foi feita na profundidade entre 0-20 cm, após limpeza da superfície. A análise do solo coletado revelou baixo teor de fósforo ($3.0 \mu\text{g P/ml T.F.S.A.}$) e pH 4,7. O solo foi peneirado em peneira com malha de 4 mm, acondicionada em sacos de polietileno e remetido para esterilização. A esterilização foi feita por irradiação com raios gama, na dosagem de 5 Mrad, em irradiador de fluxo contínuo.

3.1.2. Preparo e Tipo de Recipiente de Plantio

Foram utilizados vasos de cerâmica porosa, com dimensões internas aproximadas de 14,0 e 8,0 cm de diâmetros, na boca e base, respectivamente, e 13,5 cm de altura. Os vasos foram previamente lavados e esterilizados em autoclave. Colocou-se 1,0 kg de solo por vaso, sendo que antes do enchimento dos mesmos, colocou-se um pequeno caco de telha esterilizado, sobre o orifício existente no fundo dos vasos.

Neste experimento, para diminuir a temperatura do solo nos vasos e os riscos de contaminação, os vasos de um mesmo tratamento foram mantidos juntos, em uma bandeja de plástico, envoltos por areia esterilizada. A areia da bandeja foi mantida úmida, continuamente.

3.1.3. Calagem e Adubação Básica

A calagem e a adubação básica, apenas com potássio foi feita após a irradiação. O solo necessário para cada vaso (1,0 kg), foi colocado em um saco plástico, onde se adicionou 1,5 g de calcário dolomítico e 208 mg de KCl. O recipiente foi bem agitado para a homogeneização do material adicionado. O solo, assim preparado, foi colocado nos vasos e umidecidos. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação até à instalação do experimento, o que ocorreu 8 dias, após o preparo dos mesmos.

Neste e nos demais experimentos com leguminosas não foi feita adubação nitrogenada. Sabe-se que as leguminosas estabelecem um sistema simbiótico triplo, com os rizóbios e com as micorrizas e que o aumento da absorção de fósforo pelas micorrizas favorece o sistema *Rhizobium*/leguminosas CRUSH (1974); a associação tríplice parece ser a condição predominante na natureza e, por isso, optou-se pela nutrição nitrogenada das leguminosas, via associação com rizóbios, neste e nos demais experimentos com leguminosas.

3.1.4. Espécies de Fungos Micorrízicos e Planta

As sementes de siratro (*Macroptilium atropurpureum* (DC) Urb) foram obtidas no banco de germoplasma da Seção de Leguminosas, IAC.

As seguintes espécies de fungos formadores de

micorrizas, todas introduzidas da Estação Experimental de Rothamsted, Inglaterra, foram testadas: *Acaulospora laevis* (Gerd e Trappe); *Gigaspora* sp (provavelmente trata-se da mesma espécie descrita como E-5 por GERDEMANN e NICOLSON (1963); *Gigaspora heterogama* (Nicol. e Gerd.) Gerd. e Trappe; *Gigaspora margarita* Becker e Hall; *Glomus caledonius* (Nicol. e Gerd.) Gerd. e Trappe (duas introduções identificadas como G 113 e G 115); *Glomus fasciculatus* (Taxter sensu Gerd.) Gerd. e Trappe; *Glomus macrocarpus* Tul. and Tul var. *macrocarpus*; *Glomus mosseae* (Nicolson e Gerd.) Gerd. e Trappe. Algumas destas espécies foram utilizadas nos outros experimentos deste trabalho.

3.1.5. Preparo das Plantas e dos Inóculos

As sementes de siratro foram esterilizadas e escarificadas por tratamento de agitação em ácido sulfúrico concentrado, por três minutos, e posterior lavagem sucessiva em água esterilizada até eliminação do excesso de ácido. Foram postas a germinar em areia autoclavada em um cristalizador de vidro. As plântulas foram utilizadas para o transplante cinco dias após a germinação.

O inóculo foi obtido por peneiramento do solo de vasos, onde as micorrizas vinham sendo mantidas em plantas, e constou de pedaços de raízes infectadas, micélio e esporos. O peneiramento foi feito via úmida, como descrito por GERDEMANN e NICOLSON (1963).

3.1.6. Tratamentos, Inoculação e Instalação do Ensaio

Foram feitos 10 tratamentos, sendo um sem inoculação e os demais de inoculação com as micorrizas mencionadas no item 3.1.4. Foram mantidas três repetições para cada tratamento.

O inóculo foi colocado no solo, no fundo dos orifícios para onde foi feito o transplante. Foram deixadas duas plantas por vaso. Os vasos do tratamento não inoculado receberam uma suspensão de solo dos vasos, onde as micorrizas vinham sendo mantidas. Esta suspensão foi peneirada (peneira nº 270, ABNT, malha de 53µ) e filtrada em papel de filtro comum, ficando isenta de propágulos dos fungos utilizados nos tratamentos de inoculação, mas contendo outros microrganismos. Isto foi feito para propiciar no tratamento sem inoculação uma condição básica de presença de microrganismos contaminantes semelhante à dos tratamentos inoculados com as micorrizas, visto que outros microrganismos foram levados juntos com o inóculo. Todos os tratamentos foram também inoculados com 2 ml de uma suspensão de rizóbios eficientes. A estirpe de *Rhizobium* sp utilizada está catalogada na coleção do Instituto Agrônômico sob nº SMS-137 (LOPES, 1972).

3.1.7. Condução e Controle do Experimento

Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, fazendo-se irrigações diárias, conforme necessário. Não foi necessário qualquer controle fitossanitário.

O experimento foi conduzido por um período de setenta e cinco dias, quando então se fêz a colheita. A instalação dos vasos do tratamento inoculado com *Glomus mosseae* foi defasada em quinze dias, em relação aos demais e, portanto, na colheita, as plantas correspondentes estavam com sessenta dias.

3.1.8. Colheita e Obtenção de Dados

O corte das plantas foi feito a 1 cm do colo da planta. A parte aérea foi colocada em sacos de papel e posta a secar a 60°-70°C, em estufa com circulação forçada de ar. A determinação do peso da matéria seca foi feita após secagem até peso constante.

As raízes foram retiradas dos vasos sete dias após a colheita da parte aérea, para avaliação da nodulação e da infecção. Os nódulos foram separados, contados, secos e pesados como a parte aérea. Fêz-se, então, uma amostragem das raízes, ao acaso, que foi lavada em água e corada conforme técnica descrita por PHILLIPS e HAYMAN (1970). O corante utilizado foi o "trypan blue". Para a avaliação da infecção foram tomados, ao acaso, amostras das raízes já coradas, cortadas em segmentos de 1 cm, montadas em lâminas e observadas ao microscópio (Nikon, Apophot) em aumentos de 200x. Os dados foram expressos em percentagem da porção do comprimento das raízes que estavam infectadas pelo fungo, tomando-se para cada repetição a média das avaliações efetuadas em 10 segmentos.

3.2. Experimentos com Gramíneas e Leguminosas

3.2.1. Solo

Foi utilizado um Latossolo Vermelho Amarelo ortot (LV), coletado no Centro Experimental de Campinas, Instituto Agronômico. A coleta, o peneiramento e esterilização foram feitos como no ensaio com siratro (item 3.1.1). O solo foi remetido para irradiação, após calagem e adubação. Neste caso, foram separadas amostras para análises químicas no momento da coleta do solo, após a adubação e após a esterilização. Os resultados destas análises estão apresentados na Tabela 1.

3.2.2. Preparo e Tipos de Recipientes para Plantio

Para os experimentos com gramíneas e leguminosas foram utilizados vasos de alumínio com dimensões de 10,5 e 17,0 cm de diâmetros, na base e na boca, respectivamente, e 13,5 cm de altura. Os recipientes foram individualmente flambados no momento do seu enchimento com solo. Para evitar problemas de acúmulo d'água de irrigação no solo, foram colocadas, no fundo do vaso, duas camadas de pedras nºs 2 e 1, com altura total aproximada de 2,5 cm. No momento da colocação do solo, foi inserido um tubo de polietileno de 3/4", com 15 cm de comprimento, fechado na extremidade inserida e aberto na exterior, com pequenos orifícios em sua parede, para passagem da água de irrigação ao solo. Na superfície do solo, após o transplante das mudas

Tabela 1. Resultados das análises químicas de amostras de Latossolo Vermelho Amarelo, coletadas em Campinas (solo utilizado no experimento com gramíneas e leguminosas) e em Batatais (solo utilizado no experimento com caféiro)¹

Amostra	pH	Matéria Orgânica	Al ⁺⁺⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K ⁺	P
A. Solo de Campinas							
		%		e.mg/100 ml			
Sem irradiação, calagem ou adubação	5,2	2,5	1,3	0,3	0,2	56,0	1,0
Sem irradiação, com calagem e adubação	5,1	2,1	0,5	1,0	0,9	140,0	1,0
Com irradiação, calagem e adubação	5,4	2,0	0,5	1,0	0,8	144,0	2,0
B. Solo de Batatais							
Sem irradiação, calagem ou adubação	5,1	1,7	0,2	0,3	0,1	20,0	0,7
Com irradiação e calagem	5,6	1,5	0	1,5	1,0	400,0	3,0

¹ Análises efetuadas na Seção de Fertilidade do Solo, Instituto Agronômicas de Campinas
Resultados referidos à T.F.S.A.

para estes vasos, foi colocada uma camada de pedra nº 1, lavada e esterilizada, para minimizar eventuais problemas de contaminação. Um esquema do vaso descrito é apresentado na Figura 1.

3.2.3. Calagem e Adubação Básica

A calagem foi efetuada com calcário dolomítico finamente moído, tendo-se adicionado 0,575 g por kg de solo.

Para propiciar uma boa distribuição do calcário e dos nutrientes no solo, a aplicação foi feita por parte, em 15 kg de solo por vez. Primeiramente adicionou-se o calcário (8,625 g/15 kg de solo), misturando-se bem. Foi então adicionado 1,5 litro de uma solução contendo os sais que forneceram os macro e micronutrientes nas formas e quantidades indicadas a seguir. O solo foi agitado para misturar os sais e deixado em repouso por um dia, quando então foi novamente homogeneizado e embalado em recipientes de polietileno, contendo 1,5 kg cada, e remetido para a esterilização por raios gama (5,0 Mrad). A adubação básica constou de adição de fósforo, nitrogênio, potássio enxôfre; o cálcio e o magnésio foram supridos com a calagem. O fósforo foi adicionado na forma de K_2HPO_4 , em quantidade suficiente para fornecer 6,55 mg de P/kg de solo; sabe-se que a eficiência das micorrizas na absorção daquele nutriente aumenta, em solos muito deficientes, se uma pequena quantidade do mesmo for adicionada (ABBOTT e ROBSON, 1977). Foi também adicionado K_2SO_4 , que forneceu 26,02 mg de S/kg de solo; estes dois sais também forneceram 96,45 mg de K/kg de solo. Tanto para os vasos

Figura 1. Recipiente utilizado nos ensaios com gramíneas e leguminosas.

de plantio das gramíneas, como para os das leguminosas foi adicionada uma pequena quantidade de nitrogênio, na forma de NH_4NO_3 em quantidade suficiente para fornecer 3,57 mg de N/kg de solo. Como adubação básica de micronutrientes, foram adicionados sais de manganês (MnSO_4), zinco ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), molibdenio ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e ácido bórico (H_3BO_3), em quantidades suficientes para fornecer os seguintes teores, expressos em mg do elemento/kg de solo: Mn-2, Zn-2, Cu-0,6, Mo-0,0232 e B-0,28.

Para os experimentos com as leguminosas não foram feitas novas adições de nitrogênio, tendo-se inoculado as raízes com rizóbios eficientes (vide item 3.2.6); para os das gramíneas foram efetuadas outras adições, conforme indicado adiante.

3.2.4. Espécies de Planta

Os experimentos foram conduzidos com as seguintes espécies de plantas:

a) Leguminosas

- calopogonio (*Calopogonium mucunoides* Desv.)
- centrosema (*Centrosema pubescens* Benth)
- galactia (*Galactia striata* (Jacq.) Urban)
- soja perene (*Glycine wightii* (Grah ex Wight et Arn) Verdc.)
- siratro (*Macroptilium atropurpureum* (DC) Urb.)

b) Gramíneas

- braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf)
- colonião (Wurth) (*Panicum maximum* Jacq. cv. wurth)
- colonião (petri) (*Panicum maximum* Jacq. var. trichoglume cv. petri)
- setaria (*Setaria anceps* Stapf cv. kazungula).

As sementes de leguminosas foram obtidas no banco de germoplasma do Instituto Agronômico, na Seção de Leguminosas e as de gramíneas, no Instituto de Zootecnia, em Nova Odessa, SP.

3.2.5. Espécies de Fungos Micorrízicos

As seguintes espécies de fungos foram testadas: *Gigaspora margarita*, *Glomus fasciculatus*, *Acaulospora laevis* e *Glomus macrocarpus*. A procedência delas já foi indicada no item 3.1.4. Elas vinham sendo mantidas no Instituto Agronômico em vasos com plantas. As duas primeiras espécies vinham sendo mantidas em feijão de corda (*Vigna sinensis* L.) e as restantes em milho (*Zea mays* L.) e siratro, respectivamente.

3.2.6. Inoculantes para as Leguminosas

Para a inoculação das leguminosas foram utilizadas as seguintes estirpes de *Rhizobium* sp, da coleção do Instituto Agronômico, Campinas, SP (LOPES, 1972):

SMS-2 para galactia. Eficiência previamente comprovada (LOPES *et alii*, 1974).

SMS-292, para centrosema. Original do Centro de Solos EMBRAPA, km 47, Rio de Janeiro. Nº original = C-29.

SMS-137, para siratro, calopogonio e soja perene. Original da Austrália. Nº original CB-453.

As três estirpes foram previamente repicadas para placa de Petri, com meio de manitol-extrato de levedura, a fim de comprovação de pureza. As culturas estavam puras, sendo que assim se considerou, porque apresentavam um único e característico tipo de colônias. Sabe-se que as leguminosas estabelecem um sistema simbiótico múltiplo, com os rizóbios e com as micorrizas e que o aumento na absorção de fósforo pelas micorrizas favorece o sistema *Rhizobium*/leguminosas (CRUSH, 1974); a associação múltipla parece ser a condição predominante na natureza e, por isso, optou-se para a nutrição nitrogenada das leguminosas via associação com rizóbios.

3.2.7. Tratamentos e Delineamento Experimental

Os experimentos com gramíneas e com leguminosas tiveram o mesmo esquema de tratamento. Os vasos foram distribuídos de forma inteiramente casualizada, com três repetições dos seguintes tratamentos:

1. Sem inoculação com micorrizas.
2. Inoculação com *Acaulospora laevis*.
3. Inoculação com *Gigaspora margarita*.
4. Inoculação com *Glomus fasciculatus*.
5. Inoculação com *Glomus macrocarpus*.

3.2.8. Preparo das Plântulas

As sementes de cada espécie vegetal foram previamente escolhidas, por catação manual, descartando-se as imperfeitas e selecionando-se um lote com tamanho e coloração uniformes. As de leguminosas foram esterilizadas por tratamento com ácido sulfúrico concentrado durante três minutos e lavadas sucessivamente com cerca de um litro de água esterilizada. Foram, então, transferidas para um germinador preparado com vermiculita esterilizada, contida em um cristalizador de vidro transparente. Nesta oportunidade, fêz-se a inoculação com uma suspensão das estirpes dos rizóbios indicados no item 3.2.6, para as leguminosas correspondentes. As sementes foram postas assim para germinar, em 30/03/79, mantendo-se os germinadores em condições ambientes de laboratório, até o transplante para os vasos. As sementes de gramíneas receberam tratamento semelhante, sem inoculação com rizóbios e foram postas a germinar em 16/04/79.

3.2.9. Preparo do Inóculo

Nos experimentos com gramíneas e leguminosas, o inóculo constou de 20 esporos por planta, das espécies dos fungos previamente indicadas, para cada tratamento. Para a obtenção dos esporos, utilizou-se solo de vasos com plantas das espécies indicadas no item 3.2.5, que haviam sido previamente inoculados com esporos das espécies de micorrizas correspondentes a cada tratamento de inoculação, previsto no experimento. O solo destes vasos foi peneirado via úmida, por técnica semelhante à descrita por GERDEMANN e NICOLSON (1963), para a separação dos esporos. A catação individual dos mesmos foi feita sob microscópio estereoscópio, usando-se um tubo de vidro capilar, colocando-se em grupos de 10, em pedaços quadrados (1,0 x 1,0 cm) de papel absorvente, mantidos em placas de Petri sobre papel de filtro umidecido. Os esporos separados foram mantidos em geladeira por 10 dias, a uma temperatura de, aproximadamente, 4°C até a instalação dos experimentos.

3.2.10. Inoculação e Instalação do Ensaio

No transplante que correspondeu à instalação dos experimentos propriamente dita, as plântulas das leguminosas estavam com seis e as das gramíneas com sete dias de germinação. As mudas foram removidas cuidadosamente dos germinadores e as raízes lavadas com água destilada, para remoção de partículas. Dois quadrados de papel absorvente com 10 esporos cada,

foram enrolados em raízes distintas da mesma planta, para cada tratamento de inoculação (Figura 2). Nas plantas dos tratamentos sem inoculação foram enrolados papéis sem esporos. As mudas foram, então, colocadas num orifício feito no solo dos vasos, com um bastão previamente desinfectado, fazendo-se a seguir o chegamento da terra, por ligeira pressão ao redor das mudas. Foi também feita uma inoculação de microrganismos contaminantes, isenta de propágulos de micorrizas, preparada da mesma forma que no experimento anterior (item 3.1.6). Neste experimento, entretanto, a suspensão foi adicionada em todos os tratamentos. A suspensão utilizada havia sido preparada por ocasião da separação dos esporos e mantida em geladeira juntamente com os mesmos e usada na base de 2,0 ml por vaso, sem mistura no caso das gramíneas ou misturada com a suspensão de rizóbios (proporção 1:1) correspondente a cada espécie de leguminosas, no caso deste grupo de plantas. Após o plantio e as inoculações, fêz-se a irrigação com água destilada.

3.2.11. Condução e Controle dos Experimentos

Considerou-se data da instalação o dia em que os tratamentos foram efetuados, ou seja, a do transplante. Os experimentos com leguminosas foram instalados em 06/04/79 e os com gramíneas em 23/04/79, com exceção do da *Setaria anceps* que foi instalado em 22/05/79. Durante o período de condução do experimento foram feitas pulverizações das leguminosas para o controle de ácaros. Endrin foi utilizado na base de 1 ml/

Figura 2. Detalhe da técnica de inoculação: envolvimento das raízes com papel absorvente contendo os esporos do fungo micorrízico.

Figura 3. Siratro (*Macroptilium atropurpureum*) aos 40 dias após o transplante; à esquerda, sem inoculação e à direita, inoculado com *G. macrocarpus*.

litro, em duas oportunidades (27/04 e 07/05/79), e mistura de Karathanae (1 g/l) e Kelthane (1 g/l), também em duas vezes (28/05 e 12/06). Nos ensaios com gramíneas não foram feitas pulverizações. Além da adubação básica com fósforo, efetuada por ocasião do preparo do solo, foi feita uma nova aplicação deste nutriente sob forma K_2HPO_4 nos experimentos com gramíneas e leguminosas, em 11/05, adicionando-se em solução aquosa, o equivalente em P a 6,55 mg/kg de solo. Nas gramíneas fizeram-se também aplicações de nitrogênio em todos os vasos, em soluções aquosas de NH_4NO_3 , adicionando-se o equivalente a 3,57 mg/kg de solo, em 16/05, 31/05 e 08/06 de 1979.

3.2.12. Colheita e Obtenção de Dados

A colheita dos ensaios com gramíneas ocorreu aos sessenta dias após a instalação e a dos com leguminosas aos oitenta e sete dias.

Na colheita as plantas foram cortadas a 1 cm do colo e a parte aérea foi colocada em sacos plásticos e posta a secar. A secagem foi feita até peso constante a 60-70°C, em estufa com circulação forçada de ar, tendo-se em seguida efetuado as pesagens.

As raízes foram removidas dos vasos e lavadas em água. Foi então feita uma amostragem de raízes, ao acaso, para avaliação de infecção, procedendo de forma semelhante à descrita no item 3.1.8, do experimento com siratro.

3.3 Segundo Experimento com Gramíneas e Leguminosas

3.3.1 Solo

Neste experimento foi utilizado para o crescimento das plantas, um substrato que constou da mistura de solo e areia, na proporção de 1:1,5 em base a volume. O solo (LV) utilizado e a coleta do mesmo já foram descritos no item 3.2.1.

3.3.2. Preparo do Substrato

O solo foi previamente corrigido com carbonatos de cálcio (1,03 g/kg) e de magnésio (0,22 g/kg) e incubado úmido por sete dias. Depois foi irradiado com raios gama (2,5 Mrad) e adubado com superfosfato triplo (1,04 g/kg) e K_2SO_4 (0,07 g/kg). As seguintes quantidades (mg/kg de solo) de micronutrientes foram também fornecidas: Mn - 1,10; Zn - 1,16; Cu - 0,35; - B - 0,15, nas formas de $MnSO_4 \cdot H_2O$; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ e $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$, respectivamente. Os macronutrientes foram adicionados como pós, e os micronutrientes como solução, tendo-se homogenizado após cada adição. O solo foi acondicionado em recipientes de alumínio (1,5 kg de solo cada), deixado secar, coberto com plástico e mantido em casa de vegetação por 6 meses até o momento da mistura com a areia. A areia utilizada foi previamente tratada com ácido clorídrico a 5% e lavada várias vezes em água até a eliminação do cloro e então esterilizada em autoclave. O solo e a areia foram então misturados.

Uma amostra da mistura do solo e areia coletada momentos antes da instalação do experimento, apresentou os seguintes resultados de análises químicas efetuadas na TFSA; pH = 6,2; matéria orgânica = 1,3%; Al, Ca e Mg, respectivamente, 0, 2,2 e 0,6 e.mg/100 ml; K e P, respectivamente, 104,0 e 17,2 µg/ml.

3.3.3. Preparo e Tipos de Recipientes para Plantio

Foram utilizados vasos de alumínio com dimensões de 10,0 e 15,0 cm de diâmetro da base e boca, respectivamente, e 16,0 cm de altura. Os vasos foram pintados internamente com neutrol e flambados ligeiramente no momento do preparo. No fundo colocou-se um caco de telha esterilizado sobre orifício de drenagem.

3.3.4. Espécies de Planta e de Fungos Micorrízicos

Neste experimento utilizaram-se as leguminosas calopogônio (*Calopogonium mucunoides*) e siratro (*Macroptilium atropurpureum*) e as gramíneas, capim colônia (*Panicum maximum* cv. Petri) e braquiária (*Brachiaria decumbens*) sendo a procedência das sementes a mesma indicada no item 3.2.4. As micorrizas utilizadas foram *Gigaspora margarita* e *Glomus macrocarpus*.

3.3.5. Tratamento e Delineamento Experimental.

Neste experimento cada uma das quatro espécies

de planta recebeu três tratamentos de inoculação (sem inoculação e com inoculação de cada uma das duas micorrizas), sendo que os vasos foram mantidos de maneira inteiramente casualizada em casa de vegetação, com movimentação semanal. Foram feitas 3 repetições para cada tratamento.

3.3.6. Preparo das plântulas e dos Inóculos

O preparo das plântulas foi semelhante ao efetuado nos experimentos anteriores com gramíneas e leguminosas (ver item 3.2.8). Os inóculos e seu preparo foram semelhantes ao do experimento com siratro (ver item 3.1.5).

As leguminosas não receberam adubo nitrogenado e foram inoculadas com estirpes eficientes de rizóbios (SMS-139, para o siratro e SMS-298, para o calopogônio). Os rizóbios foram testados quanto à pureza, como no ensaio anterior (item 3.2.6).

3.3.7. Inoculação e Instalação do Ensaio

O transplante e a inoculação foram semelhantes aos do ensaio com café (ver item 3.4.8) e ocorreram em 13/06/80, quando as plântulas estavam com sete dias depois da germinação. A inoculação com suspensão de rizóbios, nas leguminosas foi efetuada nesta oportunidade.

3.3.8. Condução e Colheita do Ensaio

Durante a condução foram feitas apenas irrigações com água destilada, ou fervida, não tendo sido necessário qualquer trato fitossanitário. Os vasos foram sempre mantidos em casa de vegetação, sem cobertura com sombrite, mas com umidificação no piso, como indicado no item 3.4.9 do experimento com cafeeiro, que será descrito a seguir. Durante o transcorrer do ensaio, a temperatura esteve amena, visto que o ensaio foi conduzido no inverno. Na colheita, 53 após o plantio procedeu-se de forma semelhante à do ensaio com siratro (item 3.1.7), sendo que neste caso as raízes foram removidas dos vasos no mesmo dia em que a parte aérea foi cortada. Neste experimento, após determinação do peso seco, a parte aérea foi moída e amostrada para determinação de fósforo e nitrogênio. As análises de fósforo e nitrogênio da parte aérea, bem como o preparo do material colhido, para as análises, foram efetuados conforme descrito por BATAGLIA *et alii* (1978).

3.4. Experimento com Café

3.4.1. Solo

Foi utilizado um Latossolo Vermelho Amarelo (LV) coletado no Horto Florestal de Batatais, Instituto Florestal, Batatais, SP. A coleta foi semelhante à dos solos utilizados nos demais experimentos. Depois de aplicado o calcário e o adubo,

o solo foi acondicionado em recipientes de polietileno, em quantidades de 10-20 kg e levado para esterilização por raios gama. Amostras para análises químicas foram retiradas durante a coleta do solo e após a irradiação. Os resultados destas análises são apresentados na Tabela 1.

3.4.2. Preparo e Tipos de Recipientes para Plantio

Foram utilizados vasos de alumínio com dimensões de 10,0 e 15,0 cm de diâmetros de base e boca, respectivamente e com 16,0 cm de altura. Estes vasos tinham um orifício na base, que permitia a drenagem livre; no momento da colocação do solo, o orifício foi protegido com um pequeno caco de telha, previamente lavado e esterilizado. Em cada vaso foi adicionado 2,0 kg de solo. Os vasos haviam sido previamente esterilizados com radiação gama na dosagem de 5,0 Mrd.

3.4.3. Calagem e Adubação Básica

A calagem foi feita com calcário dolomítico finamente moído e em quantidades previamente definidas por uma curva de calibração como suficiente para elevar o pH a 5,6. No início do experimento, o solo apresentava aquele valor de pH, que é considerado como ideal para o desenvolvimento das mudas (Ferdinando Puppo de Moraes, Instituto Agrônomo de Campinas, comunicação pessoal, 1979). A adubação básica foi feita apenas com KCl, tendo-se adicionado 500 mg de adubo por kg de solo.

Após a irradiação do solo fêz-se uma adição de K_2HPO_4 em solução em quantidade suficiente para fornecer 6,55 mg P/kg de solo como arranque.

3.4.4. Espécies de Micorrizas e Cultivar da Planta

Para este experimento utilizaram-se sementes de cafeeiro, da espécie *Coffea arabica* L., cultivar mundo novo, CP 379-19, obtidas na Seção de Café do Instituto Agrônômico.

As espécies de micorrizas utilizadas neste experimento são de mesma procedência das dos anteriores, ou seja, introduzidas da Estação Experimental de Rothamsted. Elas haviam, entretanto, sido aqui multiplicadas em plantas cultivadas em solo (LR) esterilizado por irradiação. As espécies de fungo estão relacionadas no item seguinte. Todas haviam sido testadas no ensaio com siratro (item 3.1.4) e três delas no ensaio com gramineas e leguminosas.

3.4.5. Tratamentos e Delineamento Experimental

Este experimento foi também conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições dos seguintes tratamentos:

1. Sem inoculação (SI)
2. Inoculação com *Gigaspora heterogama*
3. Inoculação com *Gigaspora margarita*

4. Inoculação com *Glomus fasciculatus* (GF)
5. Inoculação com *Glomus macrocarpus* (GR)
6. Inoculação com *Glomus mosseae* (GM)

3.4.6. Obtenção das Plântulas

As sementes do cafeeiro foram postas em germinador de alvenaria, com tampa de vidro, no viveiro da Seção de Café, IAC, em areia esterilizada. A semeadura foi feita em 24/3/79. A irrigação foi feita quando necessário.

3.4.7. Preparo do Inóculo

Para a inoculação foi utilizado solo contendo propágulos de cada espécie. Este inóculo foi retirado de vasos onde cada espécie de fungo fora multiplicada conforme indicado no item 3.3.6. Assim, *G. heterogama* fora multiplicada em milho; *G. margarita* em siratro e *G. fasciculatus* e *G. mosseae* em braquiária.

As plantas de multiplicação haviam sido colhidas há algum tempo e o solo estava armazenado em refrigerador, numa temperatura próxima de 4°C. Antes da inoculação, os solos foram peneirados de acordo com a técnica descrita por GERDEMANN e NICOLSON (1963), comprovando-se que cada um deles continha os propágulos micorrízicos das espécies desejadas. Foi, então, utilizada em cada tratamento uma quantidade de solo suficiente para adicionar entre 50 e 100 esporos por vaso. Este inóculo tam

continha micélio do fungo e pequena quantidade de raízes infectadas das plantas usadas para a sua multiplicação.

3.4.8. Inoculação e Instalação do Ensaio

As mudas do cafeeiro foram transplantadas no estágio orelha de onça, em 14/08/79, com o primeiro par de folhas começando a apontar. As mudas foram retiradas cuidadosamente do germinador e lavadas para remoção de areia. Para o transplante fez-se um orifício no solo, no centro do vaso e no fundo do mesmo colocou-se o inóculo (solo) correspondente a cada tratamento. No tratamento sem inoculação adicionou-se uma quantidade correspondente de solo esterilizado. Em seguida, colocou-se a muda e fez-se ligeira compressão do solo adjacente. Após o transplante todos os vasos foram inoculados com 2 ml de uma suspensão do solo, onde as espécies de micorrizas vinham sendo mantidas. Esta suspensão foi preparada como descrito anteriormente (item 3.1.6).

3.4.9. Condução do Experimento

Do transplante até o final de outubro, o experimento foi mantido num compartimento da casa de vegetação, que dispunha apenas de insufladores de ar úmido, porém, sem controle eficiente da temperatura. Desta forma, do final de setembro em diante, as temperaturas da casa de vegetação atingiram marcas elevadas (acima de 30°C), após 10 horas da manhã e até às 15 horas, chegando a 35°C ou mais, em alguns dias, no ponto de máxima,

próximo das 13 horas. No final de outubro, o experimento foi transferido para outro compartimento da casa de vegetação, cujo teto foi coberto com uma tela de nylon preta-"sombrite"-que bloqueava cerca de 80% da luz direta. Com esta providência, a temperatura da casa de vegetação caiu consideravelmente, não ultrapassando os valores de 30°C, mesmo nos pontos de máxima. No final de novembro, o ensaio foi novamente transferido para o compartimento da casa de vegetação em que se encontrava inicialmente, agora com o teto coberto com tela de malha maior, bloqueando apenas 40% da luz direta. Este compartimento dispunha também de um piso de cascalho, com nível d'água constante, cerca de 2 cm abaixo da superfície, o que contribuiu para diminuir a temperatura e elevar a umidade relativa do ar da casa de vegetação, que durante o dia é bastante seco (LOPES, 1980). O desenvolvimento das plantas foi visivelmente melhor, após o experimento ter sido transferido para o compartimento com tela.

3.4.10. Colheita e Obtenção de Dados

A colheita do experimento foi feita em 12/05/80. A parte aérea foi cortada a 1 cm do colo, lavada, seca a 60-70°C em estufa com circulação forçada de ar, pesada, moída e analisada, quanto ao teor de fósforo. As análises de fósforo e o preparo prévio do material para análise foram feitos conforme descrito por BATAGLIA *et alii* (1978). As raízes das plantas foram removidas dos vasos e lavadas com água. A seguir, o excesso de água foi removido com papel de filtro comum, e feita a pesagem das

raízes. Para a coloração dos fungos nas raízes e avaliação da infecção tomou-se uma amostra de raízes secundárias da planta, ao acaso, e procedeu-se da mesma forma que no experimento com siratro (item 3.1.8). A parte não amostrada das raízes, dos tratamentos não inoculados e dos inoculados, foram utilizadas para determinação da umidade, após secagem a 60-70°C.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Experimento com Siratro

O peso da parte aérea e a percentagem de infecção do siratro cultivado em Latossolo Roxo e inoculado com os nove fungos micorrízicos utilizados no primeiro experimento estão apresentados na Tabela 2. Com exceção de *Gigaspora heterogama*, todas as demais espécies de fungos induziram infecção característica. Com os dados obtidos, foram calculados os limites de confiança para cada uma das médias. A variação foi bastante elevada, mas mesmo assim foi possível verificar que o desenvolvimento das plantas inoculadas com *Glomus fasciculatus* foi superior às das inoculadas com *Glomus caledonius* (G 113 ou G 115), *Gigaspora margarita*, *Gigaspora* sp ou *G. mosseae*. Cabe observar, entretanto, que na fase inicial do experimento as plantas inoculadas com *Glomus macrocarpus* tiveram um desenvolvimento superior às demais. As médias de produção de matéria seca ou de infecção causada por aquele fungo e por *Glomus fasciculatus* não diferem. Pela Figura 3, é possível ter-se uma idéia da mag-

Tabela 2. Peso da parte aérea (seca a 60-70°C) e percentagem de infecção em raízes observadas duas plantas de siratro (*Macroptilium atropurpureum*) cultivado em vasos com Latossolo Roxo, inoculado ou não com fungos micorrízicos. Médias de três repetições.

Fungo inoculado	g		Parte do comprimento da raiz com infecção ¹
	Peso da parte aérea		
<i>Glomus fasciculatus</i>	1,52 (1,17 < μ < 1,87)	71,4 (31,8 < μ < 111,1)	
<i>Glomus macrocarpus</i>	1,43 (0,43 < μ < 2,42)	72,1 (34,7 < μ < 109,4)	
<i>Acaulospora laevis</i>	0,90 (0,18 < μ < 1,61)	62,1 (-54,0 < μ < 178,2)	
<i>Glomus caledonius</i>	0,67 (0,43 < μ < 0,89)	30,8 (-18,5 < μ < 80,5)	
<i>Gigaspora margarita</i>	0,44 (-0,39 < μ < 1,27)	17,5 (7,1 < μ < 27,8)	
<i>Gigaspora</i> sp.	0,28 (-0,50 < μ < 1,05)	29,2 (-46,1 < μ < 104,5)	
<i>Glomus caledonius</i>	0,24 (-0,05 < μ < 0,53)	32,5 (-31,1 < μ < 96,2)	
<i>Gigaspora heterogama</i>	0,16 (0,04 < μ < 0,28)		
<i>Glomus mosseae</i>	0,14 (-0,03 < μ < 0,31)	34,4 (-23,2 < μ < 92,1)	
Sem inoculação	0,10 (-0,05 < μ < 0,25)	0	

Intervalo de confiança indicada entre parêntesis, ao nível P = 0,95

¹ Transformação arco seno $\sqrt{x/100}$

tude das diferenças entre as plantas não inoculadas e as inoculadas com *Glomus macrocarpus*, aos quarenta dias após o plantio.

Pelos resultados obtidos não foi possível esclarecer-se a natureza dos efeitos da inoculação observados no siratro. É provável que tais efeitos sejam devidos a uma maior absorção de nutrientes, principalmente, o fósforo. O teor de fósforo no solo utilizado era baixo -3µg/ml TFSA e, em geral, atribui-se os efeitos benéficos das micorrizas à maior absorção daquele nutriente.

Em leguminosas, as micorrizas, juntamente com os rizóbios, formam uma associação tríplice. Já foi constatado que em solos pobres em fósforo, as micorrizas favorecem o estabelecimento da simbiose *Rhizobium*/leguminosa (CRUSH, 1974). Neste experimento verificou-se que onde a infecção micorrízica foi eficiente houve um aumento de peso e do número de nódulos (Tabelas 2 e 3). O tratamento sem micorriza também foi inoculado com *Rhizobium* e a nodulação foi insignificante. É também possível que a formação de nódulos tenha sido prejudicada por efeito da irradiação do solo e que o aumento de nodulação nos demais tratamentos não seja apenas um efeito de melhoria nutricional promovida pelas micorrizas. Embora tenha sido notada uma grande influência benéfica da infecção micorrízica na nodulação, em nenhum tratamento os nódulos apresentavam-se como geralmente se observa em siratro. Os nódulos eram pequenos, cerca de 2 mm, menor que o normal. Entretanto as plantas noduladas, bem como, as sem nódulos não apresentavam sintomas visuais de deficiência

Tabela 3. Peso e número de nódulos observados em duas plantas de siratro cultivados em vasos, com Latossolo Roxo, inoculado ou não com fungo micorrízico. Médias de três repetições.

Fungo inoculado	Peso nódulos ¹	Nº de nódulos ¹
<i>Glomus fasciculatus</i>	8,91 (7,12 < μ < 10,72)	7,5 (6,3 < μ < 8,7)
<i>Glomus macrocarpus</i>	8,38 (6,12 < μ < 10,64)	7,7 (3,7 < μ < 11,8)
<i>Acaulospora laevis</i>	5,45 (-3,24 < μ < 14,14)	5,5 (2,5 < μ < 8,6)
<i>Glomus caledonius</i> (G-113)	6,84 (3,67 < μ < 10,02)	6,4 (4,1 < μ < 8,8)
<i>Gigaspora margarita</i>	3,10 (-3,69 < μ < 9,90)	4,2 (-0,1 < μ < 8,5)
<i>Gigaspora</i> sp	2,86 (-6,24 < μ < 11,96)	3,3 (-5,0 < μ < 11,5)
<i>Glomus caledonius</i> (G-115)	0,99 (0,61 < μ < 1,37)	2,1 (-0,9 < μ < 5,0)
<i>Gigaspora heterogama</i>	0,89 (0,61 < μ < 1,17)	2,6 (1,6 < μ < 2,9)
<i>Glomus mosseae</i>	0,83 (0,44 < μ < 1,20)	1,6 (0,7 < μ < 3,9)
Sem inoculação	0,77 (0,61 < μ < 0,93)	1,8 (-1,4 < μ < 5,0)

Intervalo de confiança indicado entre parêntesis, a nível de $P = 0,95$.

¹ Transformação $\sqrt{x+0,5}$

de nitrogênio, indicando que o solo devia estar bem suprido neste nutriente.

Foi feita uma análise de correlação entre as médias de produção da matéria seca da parte aérea e a percentagem da porção do comprimento da raiz com infecção. Esta correlação foi significativa com um coeficiente de determinação $r^2 = 0,7187$. A curva que descreve esta relação está apresentada na Figura 4. Este mesmo assunto será tratado adiante no experimento com cafeeiro, item 4.4.

4.2. Primeiro Experimento com Gramíneas e Leguminosas

Neste conjunto de experimentos o desenvolvimento das plantas sofreu algum tipo de limitação que não pode ser identificado com segurança. As leguminosas galactia e, principalmente, centrosema foram as mais afetadas. Não houve uma sintomatologia única, mas em algumas plantas e, em praticamente todas as de centrosema, houve uma clorose acompanhando as nervuras e queda das folhas mais velhas. Na soja perene e no calopogonio não houve o amarelecimento, mas o desenvolvimento das plantas foi retardado. O siratro foi a planta menos suscetível a este fator prejudicial. O desenvolvimento das gramíneas foi melhor que o das leguminosas, não tendo sido notado naquele grupo de plantas nenhum sintoma foliar anormal; no final do experimento, elas apresentavam-se, entretanto, com coloração verde amarelada e pareciam estar em fase inicial de deficiência de nitrogênio.

Figura 4. Correlação entre peso seco da parte aérea e percentagem do comprimento das raízes de siratro com infecção. Os pontos referem-se às médias dos tratamentos de inoculação com as oito espécies de fungos que infectaram. Coeficiente de determinação $r^2=0.7187$; $P = 0,99$.

Suspeita-se que a limitação ao desenvolvimento normal das plantas, verificada nestes experimentos tenha sido de natureza nutricional e devida à toxidez de manganês. Alguma evidência para corroborar esta suspeita pode ser apresentada. A princípio, pensou-se que o mau desenvolvimento estivesse relacionado com problemas que por vezes ocorrem em solos irradiados como observado por BOWEN e ROVIRA (1961). Para esclarecer se a irradiação estava sendo responsável pela anormalidade, foi conduzido um experimento (SANTOS e LOPES, 1980) utilizando o mesmo Latossolo Vermelho Amarelo (LV) e um Latossolo Roxo (LR). A planta teste foi a *Centrosema pubescens*, que se mostrara bastante sensível ao fator prejudicial, quando cultivada no LV. Os solos foram irradiados com 1 e 5 Mrad. No LR o desenvolvimento foi normal nos dois tratamentos de irradiação. Na parte aérea da planta foi encontrado um teor de 92 ppm de manganês, no tratamento com 5 Mrad. No LV o desenvolvimento das plantas foi anormal tanto no solo irradiado com 1 e 5 Mrad como no solo não irradiado. O teor médio de manganês na parte aérea das plantas irradiadas com 5 Mrad foi 456 ppm. Este teor de manganês na parte aérea está muito acima da média de 118 ppm dos valores que foram observados por GALLO *et alii* (1974) na parte aérea de amostras da mesma leguminosa, coletadas em canteiros de observação. Teores de manganês acima de 200 ppm na parte aérea de centrosema estavam associados com menor desenvolvimento da planta e foram referidos como tóxicos, por DOBEREINER e ARONOVICH (1966). Convém notar que a dosagem de calcário aplicada antes da instalação deste experimento poderia ter sido mais elevada, a julgar pelos resultados das análises químicas de amostras coletadas por

ocasião da instalação, principalmente pelos baixos teores de cálcio e magnésio (Tabela 1). Na mesma tabela pode ser observado que a irradiação do solo não provocou grandes alterações nas características químicas analisadas.

As médias de produção de matéria seca da parte aérea, e de infecção nas raízes de siratro, soja perene estão apresentadas na Tabela 4, e as calopogonio, centrosema e galactia na Tabela 5. Para todas as médias foram calculados os intervalos de confiança, que também estão indicados nas tabelas. Embora todas as leguminosas tivessem sido inoculadas com estirpes previamente selecionadas de *Rhizobium*, só houve formação de nódulos no siratro. O número médio de nódulos observados nesta leguminosa estão apresentados também na Tabela 4.

O fungo *A. laevis* não promoveu invasão nas raízes de nenhuma das leguminosas investigadas neste trabalho. Na soja perene e no siratro foi verificado a presença de um fungo septado infectando as raízes em pelo menos uma das repetições correspondentes ao tratamento de inoculação com *A. laevis*. No experimento anterior, com siratro havia sido constatada infecção por esta mesma espécie de fungo micorrízico.

Embora os intervalos de confiança das médias de produção da parte aérea tenham sido amplos e as diferenças não sejam significativas, convém assinalar que, como no experimento anterior, com siratro, os maiores valores absolutos de produção foram os dos tratamentos de inoculação com *G. macrocarpus* e *G. fasciculatus*. A julgar pelo desenvolvimento inicial das plantas

Tabela 4. Peso da parte aérea (seca a 60-70°C), número de nódulos e percentagem de infecção observados em siratro (*M. atropurpureum*) e soja perene (*G. wightii*) pré-inoculados com fungos micorrízicos e cultivados em LV irradiado. Médias de três repetições.

Fungo inoculado	Peso da parte aérea	Parte do comprimento da raiz com infecção ¹		Nº de nódulos ²
	g	g	nº	
A. Siratro				
<i>G. macrocarpus</i>	1,43 (0,06 < μ < 2,80)	71,6 (= μ)	7,19 (3,45 < μ < 10,83)	
<i>G. fasciculatus</i>	0,48 (-0,48 < μ < 1,44)	61,9 (-7,6 < μ < 131,4)	2,50 (-5,27 < μ < 10,28)	
<i>G. margarita</i>	0,31 (-0,16 < μ < 0,78)	64,5 (11,6 < μ < 117,5)	4,18 (-4,61 < μ < 12,96)	
<i>A. laevis</i>	0,07 (0,01 < μ < 0,12)	0	0	
Sem inoculação	0,21 (-0,06 < μ < 0,45)	0	0	
B. Soja perene				
<i>G. macrocarpus</i>	0,70 (0,45 < μ < 0,95)	63,9 (45,6 < μ < 82,3)	0	
<i>G. fasciculatus</i>	0,27 (-0,45 < μ < 0,89)	59,7 (-66,9 < μ < 186,3)	0	
<i>G. margarita</i>	0,07 (-0,04 < μ < 0,18)	24,1 (-30,9 < μ < 79,2)	0	
<i>A. laevis</i>	0,08 (-0,15 < μ < 0,31)	0	0	
Sem inoculação	0,08 (-0,15 < μ < 0,31)	0	0	

Limites de confianças indicados entre parêntesis a nível $P = 0,95$.

¹ Transformação arco seno $\sqrt{x/100}$

² Transformação $\sqrt{x+0,5}$

Figura 5. Segmento de raiz de siratro infectado com *Glomus macrocarpus*. As zonas coradas em azul, no c6rtex da raiz, s6o as de maior presença de hifas. Notar espora e mic6lio externo.
Aumento: 350 vezes.

Figura 6. Ves6culas e hifas de *Glomus fasciculatus* em raiz de soja perene (*Glycine wightii*).
Aumento: 550 vezes.

nestes dois tratamentos, o estabelecimento inicial da infecção foi mais rápido com *G. macrocarpus*, do que com *G. fasciculatus*. A espécie *G. margarita* induziu infecção de magnitude semelhante a destas duas espécies de fungos, sem mostrar, entretanto, nenhuma tendência de aumentar o desenvolvimento das plantas. A Figura 5 mostra um segmento de raiz de siratro infectado com *G. macrocarpus*. Os nódulos formados em siratro eram pequenos (2-3 mm de diâmetro) e não apresentavam coloração rósea, típica de eficiência de fixação. A variação das médias de peso e número de nódulos foi grande. O maior valor absoluto para as médias de nódulos foi observado em plantas inoculadas com *G. macrocarpus*.

Em soja perene verificou-se que a inoculação com *G. macrocarpus* promoveu produção de matéria seca maiores que a verificada no tratamento controle ou de inoculação com *G. margarita* (Tabela 4).

Não houve diferença na intensidade de infecção causada pelos três outros fungos. Os maiores valores de infecção também estiveram associados com *G. macrocarpus* e *G. fasciculatus*. Ambas as espécies de fungo produziram infecções de aspecto normal, com grande quantidade de vesículas. A Figura 6 mostra um segmento de raiz invadido com *Glomus fasciculatus*, onde pode ser verificada a presença de hifas e de vesículas. Estas vesículas são ovaladas e apresentam dimensões (cerca de $16 \times 31 \mu$) menores que as observadas na Nova Zelândia ($20 \times 60 \mu$) por POWELL e DANIEL (1978) em trevo subterrâneo inoculado com a mesma espécie de fungo. Na Figura 7 podem ser observadas vesículas de

Glomus macrocarpus com mais detalhes em raiz de soja perene. O reticulado que se nota nestas vesículas é devido aos glóbulos de gordura que se encontram no interior das mesmas conforme mostrado por HOLLEY e PETERSON (1979) em feijão infectado com *Glomus* sp.

A galactia e a centrosema foram muito afetadas pelo fator que prejudicou o bom desenvolvimento das plantas. Isso determinou muita variação na infecção e, conseqüentemente, no desenvolvimento das plantas (Tabela 5). Na centrosema a infecção também foi irregular, mas foi constatada em pelo menos uma das repetições dos tratamentos inoculados (exceto com *A. laevis*). Na Figura 8 estão mostrados, em detalhe, alguns arbúsculos de *G. margarita* naquela leguminosa. A Figura 9 mostra um segmento de raiz, também de centrosema, no qual podem ser observadas hifas e vesículas típicas de *G. fasciculatus*.

Os dados de peso da parte aérea do calopogonio inoculado com *G. margarita* foram acidentalmente perdidos, mas este fungo invadiu as raízes desta leguminosa (Tabela 5). Uma grande quantidade de arbúsculos pode ser observada em alguns segmentos de raízes desta leguminosa, infectadas por *G. margarita* (Figura 10). A variação nos valores médios de peso e de infecção, foi grande e as diferenças entre tratamentos não são significativas. Entretanto, as plantas mais desenvolvidas, como pode ser notado pelos valores absolutos das médias foram as dos tratamentos de inoculação com *Glomus macrocarpus* nas diversas leguminosas.

Figura 7. Detalhe de vesícula de *Glomus macrocarpus* em raiz de soja perene (*Glycine wightii*). O reticulado nas vesículas é devido a glóbulos de gordura. Aumento: 1.500 vezes.

Figura 8. Arbúsculos de *Gigaspora margarita* em raiz de centrosema (*Centrosema pubescens*). Aumento: 2.200 vezes.

Tabela 5. Peso da parte aérea (seca a 60-70°C) e parte de raízes infectadas, observados em calopogonio (*G. muconoides*) centrosema (*C. pubescens*) e galactia (*G. striq* ta) pré-inoculados com fungos micorrízicos e cultivados em LV irradiado. Médias de três repetições.

Fungo inoculado	Peso da parte aérea	Parte do comprimento da raiz com infecção ¹
A. Calopogonio		
<i>G. macrocarpus</i>	1,20 (-0,35 < μ < 2,75)	25,4 (-45,6 < μ < 96,4)
<i>G. fasciculatus</i>	0,97 (0,17 < μ < 1,76)	50,8 (-37,8 < μ < 139,5)
<i>G. margarita</i>	-	45,0
<i>A. laevis</i>	0,83 (-0,53 < μ < 2,20)	0
Sem inoculação	0,60 (-0,06 < μ < 1,26)	0
B. Centrosema		
<i>G. macrocarpus</i>	0,66 (-0,70 < μ < 2,03)	34,21 (-39,04 < μ < 107,47)
<i>G. fasciculatus</i>	0,40 (0,14 < μ < 0,72)	30,28 (-34,64 < μ < 95,12)
<i>G. margarita</i>	0,66 (-0,70 < μ < 2,03)	9,42 (-27,45 < μ < 46,29)
<i>A. laevis</i>	0,60 (0,10 < μ < 1,09)	0
Sem inoculação	0,30 (-0,04 < μ < 0,71)	0
C. Galactia		
<i>G. macrocarpus</i>	0,09 (0,05 < μ < 0,13)	0
<i>G. fasciculatus</i>	0,20 (-0,23 < μ < 0,63)	45 (30,7 < μ < 59,3)
<i>G. margarita</i>	0,16 (0,02 < μ < 0,31)	
<i>A. laevis</i>	0,20 (-0,04 < μ < 0,45)	0
Sem inoculação	0,15 (-0,05 < μ < 0,35)	0

Limites de confiança indicados entre parêntesis a nível de $P = 0,95$.

¹ Transformação arco seno $\sqrt{x/100}$

O peso da parte aérea e percentagem de infecção das gramíneas são apresentadas nas Tabelas 6 e 7. Pode ser verificado que em nenhuma dessas espécies houve infecção nos tratamentos sem inoculação ou de inoculação com *Acaulospora laevis*, como ocorreu também com as leguminosas. Nas duas cultivares de *Panicum maximum* (Tabela 7) e também na *Setaria* (Tabela 6) não houve infecção nos tratamentos de inoculação com *Gigaspora margarita* e *Glomus fasciculatus*. Infecções com essas duas espécies de fungos foram, entretanto, observadas na *Brachiaria* (Tabela 6).

A ausência de infecção nos tratamentos e inoculação com *Acaulospora laevis* tanto nas gramíneas, como nas leguminosas, neste experimento, não pode ser satisfatoriamente explicada. Dado o fato de que no experimento com siratro em Latosão Roxo, foi verificada infecção aos 75 dias, acompanhada de acréscimo na produção de matéria seca, é possível que a ausência de infecção neste experimento esteja relacionada com condições de solo inadequadas para germinação dos esporos ou para infecção. ABBOTT e ROBSON (1978) verificaram que aos vinte dias do plantio a espécie *Acaulospora laevis* não infectara o trevo subterrâneo (*Trifolium subterraneum*), enquanto a infecção da mesma planta por *Gigaspora gigantea* já se processara. Numa segunda avaliação, aos quarenta e sete dias, foi observada infecção por *A. laevis*, indicando que a germinação dos esporos desse fungo ou o processo de infecção, fora retardado em relação ao da outra espécie. No presente experimento as avaliações foram efetuadas mais tardiamente e aquela parece, portanto, não ser a explicação mais razoável para a ausência de infecção por

Tabela 6. peso da parte aérea (seca a 60-70°C) e percentagem de infecção, observados em braquiária (*B. decumbens*) e setaria (*S. anceps* cv. Kazungula) pré-inoculadas com fungos micorrízicos e cultivados em LV irradiado. Médias de 3 repetições.

Fungo inoculado	Peso da parte aérea	Porcentagem do comprimento da raiz com infecção ¹
A. Braquiária		
<i>G. macrocarpus</i>	3,43 (2,31 < μ < 4,55)	10,75 (-11,53 < μ < 33,03)
<i>G. fasciculatus</i>	2,00 (-2,15 < μ < 6,15)	16,60 (8,62 < μ < 24,52)
<i>G. margarita</i>	5,03 (4,02 < μ < 6,03)	18,44
<i>A. laevis</i>	3,03 (1,62 < μ < 4,45)	0
Sem inoculação	1,83 (-3,05 < μ < 6,72)	0
B. Setaria		
<i>G. macrocarpus</i>	3,13 (2,51 < μ < 3,76)	8,91 (- 8,3 < μ < 26,2)
<i>G. fasciculatus</i>	2,80 (1,90 < μ < 3,70)	0
<i>G. margarita</i>	2,33 (0,47 < μ < 4,20)	0
<i>A. laevis</i>	3,50 (2,60 < μ < 4,40)	0
Sem inoculação	2,40 (1,97 < μ < 2,83)	0

Limites de confiança indicados entre parêntesis a nível P = 0,95.

¹ Transformação arco seno $\sqrt{x/100}$

A. laevis neste experimento. Por outro lado, MOSSE (1972) verificou que esta mesma espécie de fungo (citada como "Honey coloured") é bastante susceptível à condição de solo. Quando inoculada em dois solos de cerrado, igualmente deficientes em fósforo e com valores de pH semelhantes (um com pH 4,7 e outro 4,8) este fungo só beneficiou o desenvolvimento de *Paspalum notatum* em um deles. No outro solo o desenvolvimento da mesma planta foi beneficiado pela inoculação com *A. laevis* apenas quando se fez calagem.

A variação nas médias do peso seco das plantas foi muito grande e, como no caso das leguminosas, não foram constatadas diferenças entre tratamentos para nenhuma das gramíneas estudadas. É interessante ressaltar, entretanto, que todas as espécies de gramíneas e praticamente todas as leguminosas (exceto a galactia) tiveram suas raízes infectadas por *Glomus macrocarpus*. Numa análise generalizada da susceptibilidade das espécies de plantas à infecção verifica-se que entre as gramíneas e braquiária foi infectada por três dos quatro fungos utilizados neste experimento. Nesta gramínea só não houve infecção por *A. laevis*, o que aliás foi comum para todas as plantas em que ela foi inoculada. Isso sugere que entre as gramíneas a associação braquiária/micorriza é mais susceptível à infecção ou, pelo menos, mais tolerante à limitação a que as plantas (e fungos) estiveram sujeitas. Conforme comentado à página 54 esta limitação foi devida à toxidez de manganês, aparentemente. BOWEN (1980) comenta que o estudo das interações entre nutrientes tóxicos e micorrizas visando minimização dos efeitos

Tabela 7. Peso da parte aérea (seca a 60-70°C) e percentagem de infecção, observados em duas cultivares de colônio (*Panicum maximum* cv. petri e *Panicum maximum* cv. wurth) pré-inoculadas com fungos micorrízicos e cultivadas em LV irradiado. Médias de três repetições.

Fungo inoculado	Peso da parte aérea	Percentagem do comprimento da raiz com infecção ¹
A. Colônio (cv. petri)		
<i>G. macrocarpus</i>	3,67 (1,23 < μ < 6,10)	4,91 (-12,3 < μ < 22,1)
<i>G. fasciculatus</i>	3,07 (2,54 < μ < 3,58)	
<i>G. margarita</i>	3,83 (3,07 < μ < 4,59)	
<i>A. laevis</i>	2,80 (0,92 < μ < 4,68)	
Sem inoculação	2,83 (-1,16 < μ < 6,82)	
B. Colônio (cv. wurth)		
<i>G. macrocarpus</i>	3,90 (3,15 < μ < 4,64)	10,75 (-11,53 < μ < 33,03)
<i>G. fasciculatus</i>	2,35 (-2,09 < μ < 6,79)	
<i>G. margarita</i>	3,43 (0,44 < μ < 6,43)	
<i>A. laevis</i>	1,70 (-0,46 < μ < 3,86)	
Sem inoculação	2,17 (1,54 < μ < 2,79)	

Limites de confiança indicados entre parêntesis a nível P = 0,95.

¹Transformação arco seno $\sqrt{x/100}$

tóxicos de nutrientes pelo manejo das micorrizas merece ser investigado. Para ser eficiente em contrabalancear efeitos de nutrientes tóxicos, as micorrizas deveriam acumular esses nutrientes, sem transferi-los às plantas. Não há ainda estudos a este respeito. Por outro lado, já foi verificado que as espécies de micorrizas diferem quanto à sua tolerância a elevadas concentrações de sais. HIRREL e GERDEMANN (1980) verificaram que cebola (*Alium cepa* L.) e pimenta (*Capsicum annuum*) infectadas por fungos micorrízicos toleram mais os efeitos de concentrações elevadas de sais, do que plantas não infectadas. No mesmo trabalho foi verificado que plantas infectadas com *Glomus fasciculatus* tiveram menor redução no crescimento da parte aérea e das raízes, em condições de elevada salinidade, do que plantas infectadas com *Gigaspora margarita*.

O fato de *G. margarita* e *G. fasciculatus* não terem infectado as duas cultivares de colônia e a setaria mostra influência marcante da espécie de planta no estabelecimento da associação, visto que no mesmo solo, as mesmas espécies de fungos infectaram a braquiária, bem como, todas as espécies de leguminosas estudadas.

Os resultados obtidos por EZETA e SANTOS (1979) em latossolos do sul da Bahia, com gramíneas inoculadas com espécies de fungo da mesma procedência dos aqui utilizados, foram diferentes dos que estão relatados neste trabalho. Aqueles autores observaram que *G. margarita* foi tão eficiente quanto *G. macrocarpus* em promover o desenvolvimento da *Brachiaria*. Por ou-

Figura 9. Segmento de raiz de centrosema (*Centrosema pubescens*), com hifas e vesículas de *Glomus fasciculatus*.
Aumento: 550 vezes.

Figura 10. Segmento de raiz de calopogônio (*Calopogonium mucronoides*) infectado com *Gigaspora margarita*, mostrando vários arbúsculos.
Aumento: 350 vezes.

tro lado, *G. fasciculatus* foi o fungo menos eficiente naquelas condições. Estas diferenças, possivelmente, sejam devidas às variações nas condições de solo.

MILLER *et alii* (1979) fizeram um estudo de avaliação da infecção de plantas forrageiras, principalmente de gramíneas que vinham sendo mantidas em canteiros de introdução, em solo de baixo pH, no Instituto de Zootecnia, Nova Odessa. Foi constatado naquele trabalho que a braquiária estava entre as gramíneas que apresentaram maiores índices de infecção. Embora não tenha sido feita a identificação das espécies de fungos micorrízicos encontrados, é possível constatar pelos tipos de esporos descritos, que a maioria deles pertencia ao gênero *Glomus*. Aparentemente não foram encontrados esporos do tipo bulboso que caracterizam o gênero *Gigaspora*.

Os índices de infecção observados para as leguminosas neste ensaio e no siratro, no experimento anterior, foram bem maiores que os observados para as gramíneas. Por outro lado, os índices de infecção observados (MILLER *et alii*, 1979), para gramíneas (4 a 74%) foram bem maiores que os observados nestes experimentos (máximo de 15%). Deve ser lembrado, entretanto, que embora a infecção seja uma avaliação essencial nos trabalhos com micorrizas, o índice de infecção das raízes é um dado subjetivo e as comparações de dados apresentados por diferentes autores devem ser efetuadas com ressalvas, particularmente, quanto ao seu valor absoluto. No geral, as avaliações pelos métodos atualmente disponíveis dão uma idéia superestima-

da do volume de raízes efetivamente colonizadas pelo fungo (GIOVANNETTI e MOSSE, 1979; HEPPEL, 1977).

De acordo com SANDERS e TINKER (1971) o aumento na absorção de nutrientes que geralmente se verifica em plantas micorrizadas, deve ser atribuído ao aumento na superfície de absorção promovido pelas hifas do fungo, externas à raiz. O mecanismo de controle de infecção sugerido por RATNAYAKE *et alii* (1978) é o de alteração da permeabilidade da membrana, determinada pela variação nos teores de P do sistema radicular. Quando o P é baixo há maior exudação de açúcares redutores e aminoácidos, que promovem a germinação do esporo e sustentam o processo inicial da infecção. Quando o teor de fósforo no sistema radicular é elevado, a permeabilidade é menor, a exudação diminui e o processo infeccioso é inibido. Essa hipótese não explica os resultados de ausência de infecção nas raízes das gramíneas, nos tratamentos inoculados com *G. fasciculatus* e *G. margarita* e nem a pequena infecção com *G. macrocarpus* visto que nestes experimentos o solo apresentava baixo teor de fósforo. Não deve ser, entretanto, descartada a possibilidade de que a condição de limitação predominante nestes experimentos e já discutida anteriormente, tenha afetado diferencialmente a exudação pelo sistema radicular das gramíneas, em relação ao das leguminosas. O sistema radicular da gramínea foi visivelmente maior que o das leguminosas.

4.3. Segundo Experimento com Gramíneas e Leguminosas

O segundo experimento com gramíneas e leguminosas foi conduzido com o objetivo de melhor definir eventuais relações de especificidade entre fungos e plantas destas duas importantes famílias.

Na Tabela 8 são apresentadas as médias de peso da parte aérea e percentagem de infecção nas raízes das leguminosas e das gramíneas. Pode ser observado que as respostas das duas leguminosas à inoculação foram semelhantes, sendo que em ambas, apenas *Glomus macrocarpus* promoveu um aumento significativo no desenvolvimento da planta.

Na Tabela 8 pode, ainda, ser verificado que *Gigaspora margarita* não promoveu infecção em nenhuma das leguminosas. Isso não era esperado, visto que por ocasião da inoculação foi feito um peneiramento do solo utilizado como inóculo, tendo se verificado que os esporos de *G. margarita* apresentavam-se com ótimo aspecto e havia número suficiente para induzir boa infecção. Convém notar que nos três tratamentos houve infecção das raízes com uma espécie de fungo com hifas bem mais estreitas que a dos fungos dos tratamentos de inoculação. Essa contaminação foi mais abundante em siratro. O tratamento sem inoculação, apresentava, nesta leguminosa, infecção em cerca de 20% do comprimento das raízes.

Em ambas leguminosas só houve formação de nódulos no tratamento de inoculação com *G. macrocarpus* que foi o

Tabela 8. Peso da parte aérea (seca a 60-70°C) e de percentagem de infecção das raízes de siratro (*Macroptilium atropurpureum*) e de calopogonio (*Calopogonium mucunoides*) cultivados em vaso com mistura (1:1,5) esterilizado, de solo com areia e inoculados ou não com fungos micorrízicos.

Fungo inoculado	Peso da parte aérea		Percentagem de comprimento da raiz com infecção ¹	
	Siratro	Calopogonio	Siratro	Calopogonio
<i>Glomus macrocarpus</i>	0,91 (0,76 < μ < 1,07)	0,79 (0,68 < μ < 0,81)	54,0 (33,9 < μ < 74,0)	48,5 (34,7 < μ < 62,3)
<i>Gigaspora margarita</i>	0,30 (-0,07 < μ < 0,68)	0,17 (0,12 < μ < 0,22)	0	0
Sem inoculação	0,16 (0,02 < μ < 0,33)	0,17 (0,05 < μ < 0,28)	0	0

Limites de confiança indicados entre parêntesis a nível de $P = 0,95$.

¹ Transformação arco seno $\sqrt{x/100}$

único que apresentou invasão pelo fungo. Os nódulos não apresentavam desenvolvimento normal (eram pequenos), como também foi observado no primeiro experimento com siratro. Sabe-se que em solos pobres em fósforo a infecção micorrízica eficiente beneficia a nodulação e a fixação de nitrogênio. O solo deste experimento tinha um teor satisfatório de fósforo (17, $\mu\text{g/ml}$ de TFSA). Aparentemente algum fator prejudicial à nodulação esteve atuante neste solo e pode ser parcialmente contornado pela presença das micorrizas nas raízes. Nas gramíneas a infecção também só foi constatada no tratamento de inoculação com *G. macrocarpus* e ainda assim com índice de infecção muito baixo (menor que 5%). Os dados de infecção das gramíneas não foram incluídos em tabelas, pela sua insignificância. Foi também efetuada uma avaliação do perfilhamento, tendo se verificado que as médias do número de perfilhos não diferiram entre si (Tabela 9). É interessante notar, entretanto, que como para a produção de matéria seca da parte aérea, houve uma tendência de decréscimo nos tratamentos inoculados.

Na Tabela 10 são apresentados os teores e as quantidades totais de fósforo e de nitrogênio encontrados na matéria seca da parte aérea do siratro e do calopogônio. Como a quantidade de matéria seca nos tratamentos sem inoculação ou de inoculação com *G. margarita* não foi suficiente para efetuar as análises com repetições, elas foram juntadas e os tratamentos não puderam ser comparados estatisticamente. Entretanto, pela magnitude das diferenças nos teores de fósforo e pela pequena variação nas médias dos teores deste nutriente no tratamento de

Tabela 9. Peso da parte aérea (seca a 60-70°C) e número de perfilhos observados em braquiaria (*B. decumbens*) e colônia (*P. maximum* cv. petri) cultivados em vasos com mistura (1:1,5) de solo e areia, esterilizada e inoculados ou não com fungos micorrízicos. Médias de três repetições.

Fungo inoculado	Peso da parte aérea	Número de perfilhos
A. Braquiaria		
	g	
<i>G. macrocarpus</i>	2,51 (2,23 < μ < 2,79)	2,80 (2,55 < μ < 3,04)
<i>G. margarita</i>	2,49 (2,08 < μ < 2,90)	2,85 (2,61 < μ < 3,10)
Sem inoculação	2,82 (2,08 < μ < 3,56)	3,13 (2,66 < μ < 3,60)
B. Colônia (cv. petri)		
<i>G. macrocarpus</i>	2,22 (1,74 < μ < 2,71)	2,73 (2,28 < μ < 3,18)
<i>G. margarita</i>	2,09 (1,72 < μ < 2,46)	2,80 (2,55 < μ < 3,04)
Sem inoculação	2,23 (2,01 < μ < 2,44)	3,01 (2,18 < μ < 3,85)

Limites de confiança indicados entre parêntesis a nível $P = 0,95$.

Tabela 10. Médias dos teores e das quantidades totais de fósforo e de nitrogênio da parte aérea de siratro (*Macroptilium atropurpureum*) e de calopogonio (*Calopogonium mucunoides*), cultivados em vasos com mistura 1:1,5 de solo LV e areia esterilizada.

Fungo inoculado	Fósforo		Nitrogênio	
	Teor	Quantidade	Teor	Quantidade
	— % —	— mg —	— % —	— mg —
A. Siratro				
Sem inoculação	0,179	0,286	5,94	9,50
<i>G. margarita</i>	0,196	0,589	5,72	17,16
<i>G. macrocarpus</i>	0,354 (0,292 < μ < 0,416)	3,221	4,82 (4,33 < μ < 5,32)	43,68
B. Calopogonio				
Sem inoculação	0,150	0,24	ND	ND
<i>G. margarita</i>	0,163	0,28	6,82	11,59
<i>G. macrocarpus</i>	0,374 (0,357 < μ < 0,391)	2,77	5,06 (3,09 < μ < 7,03)	37,44

Limites de confiança indicados entre parêntesis a nível P = 0,95.

inoculação com *G. macrocarpus* para as duas leguminosas, é possível afirmar que a inoculação com aquele fungo fez aumentar a absorção do fósforo promovendo um maior desenvolvimento das plantas. Por outro lado, os teores médios de nitrogênio nos tratamentos inoculados com *G. macrocarpus* não diferiram dos observados nos tratamentos sem inoculação ou de inoculação com *G. margarita*, para o siratro, ou do de inoculação com esta espécie de fungo (único dado) para o calopogonio. Houve uma tendência para um menor teor de nitrogênio nos tratamentos inoculados com *G. macrocarpus* nas duas leguminosas. Possivelmente, isso seja devido um efeito de diluição. A quantidade total de nitrogênio na parte aérea foi muito maior neste tratamento inoculado do que nos sem inoculação, nas duas leguminosas. Os teores de fósforo e de nitrogênio aqui observados estão dentro dos limites das médias usualmente encontradas em condições de campo para as leguminosas estudadas. Apenas no siratro o teor de nitrogênio (4,82%) está um pouco acima do limite (3,47%) relatado por GALLO *et alii* (1974).

Os resultados das análises químicas de fósforo na matéria seca das gramíneas são apresentados na Tabela 11. Neste caso, os dados são médias de três repetições e os intervalos de confiança das médias estão apresentados entre parêntesis. Para as gramíneas também não houve infecção nos tratamentos sem inoculação ou inoculados com *G. margarita*. Uma ligeira infecção foi notada no tratamento de inoculação com *G. macrocarpus* tanto em *Brachiaria*, como em *Panicum*. Nas duas gramíneas os teores médios de fósforo foram semelhantes nos três tratamentos. É in-

Tabela 11. Teores e quantidades totais de fósforo da parte aérea de colônias (*Panicum maximum* cv petri e de braquiária (*Brachiaria decumbens*) cultivados em vasos com mistura 1:1,5) esterilizada de solo LV e areia, inoculadas ou não, com fungos micorrízicos.

Fungo inoculado	Fósforo	
	Teor	Quantidade total
A. Braquiária	g	mg
Sem inoculação	0,228 (0,166 < μ < 0,290)	6,47 (3,37 < μ < 9,58)
<i>G. margarita</i>	0,200 (0,169 < μ < 0,232)	5,00 (3,49 < μ < 6,51)
<i>G. macrocarpus</i>	0,214 (0,177 < μ < 0,251)	5,39 (4,10 < μ < 6,69)
B. Colônia		
Sem inoculação	0,310 (0,262 < μ < 0,341)	6,72 (3,37 < μ < 9,58)
<i>G. margarita</i>	0,274 (0,248 < μ < 0,300)	5,73 (3,49 < μ < 6,51)
<i>G. macrocarpus</i>	0,283 (0,243 < μ < 0,324)	6,28 (4,10 < μ < 6,69)

Limites de confiança indicados entre parêntesis a nível $P = 0,95$.

Tabela 12. Teores e quantidades totais de nitrogênio na parte aérea de colônias (*P. maximum* cv petri) e de braquiária (*Brachiaria decumbens*) cultivados em vasos com mistura (1:1,5) esterilizada de solo LV e areia, inoculados ou não, com fungos micorrízicos.

Fungo inoculado	Nitrogênio	
	Teor	Quantidade total
A. Braquiária		
Sem inoculação	2,42 (= μ)	68,32 (50,42 < μ < 86,22)
<i>G. margarita</i>	2,71 (2,08 < μ < 3,34)	67,29 (60,11 < μ < 74,46)
<i>G. macrocarpus</i>	2,78 (2,47 < μ < 3,10)	70,22 (54,73 < μ < 85,70)
B. Colônia		
Sem inoculação	2,64 (= μ)	58,87 (53,19 < μ < 64,54)
<i>G. margarita</i>	2,49 (2,18 < μ < 2,80)	52,16 (42,47 < μ < 61,84)
<i>G. macrocarpus</i>	2,27 (1,80 < μ < 2,90)	50,43 (35,12 < μ < 65,74)

Limites de confiança indicados entre parêntesis a nível P = 0,95.

interessante observar uma tendência de decréscimo nos teores de fósforo dos tratamentos inoculados em relação aos não inoculados. Face ao que já foi exposto anteriormente sobre a infecção, esta tendência não pode ser satisfatoriamente explicada. Semelhante tendência foi notada para o nitrogênio no caso de *Panicum* (Tabela 12). Nesta gramínea as plantas dos dois tratamentos inoculados estavam visualmente menos verde que as do tratamento sem inoculação, por ocasião da colheita do experimento. Por outro lado, em *Brachiaria* o teor de nitrogênio da parte aérea foi significativamente maior no tratamento de inoculação com *G. macrocarpus* do que no sem inoculação, a despeito de pequena infecção constatada nas raízes (Tabela 12).

Segundo SWAMINATHAM e VERMA (1977) *Glomus macrocarpus* é de ocorrência generalizada em solos da Índia. Os mesmos autores observaram em experimentos com batata (*Solanum tuberosum*), em solos esterilizados, pobres em fósforo, que a inoculação com *G. macrocarpus* aumentou o crescimento da planta em cinco vezes em relação às plantas não inoculadas. A quantidade de fósforo absorvido pela planta foi também consideravelmente aumentada. Entretanto, em solos ricos em fósforo não houve qualquer resposta à inoculação.

4.4. Experimento com Cafeeiro

Este experimento teve uma característica dife-

rente da dos demais, que foi a sua maior duração. No período de 9 meses, que durou o experimento foram feitas duas avaliações, sendo uma por volta dos quatro meses, quando as plantas se recuperavam de um estado de anormalidade que será comentado a seguir e outra no final do experimento, nove meses após o transplante.

A anormalidade a que se referiu acima não foi notada logo após o transplante, mas somente cerca de 50 dias após o mesmo e se caracterizou inicialmente por lesão na haste, na altura do solo. Estas lesões eram semelhantes, porém não tão intensas quanto a ilustrada por FRANCO (1976) e que, segundo esse autor pode ser observada em mudas novas, em condições de campo, como consequência de aquecimento elevado do solo, provocado pelos raios solares. Outros sintomas apareceram nas folhas e se caracterizaram por um amarelecimento, não típico de deficiência de nitrogênio, semelhantes aos causados por salinidade no solo (HIROCE, R. - Instituto Agronômico, Comunicação Pessoal, 1980). Por esta ocasião notava-se na superfície dos vasos, pequenas deposições branco-acinzentada, que mostraram-se solúveis em água. Com o tempo a parede do vaso corroeu e perfurou-se nestes locais. Estas reações podem ter sido provocadas pelo NH_4NO_3 utilizado na adubação nitrogenada (FRANCO, C.M., Fundação Museu do Café, Comunicação Pessoal, 1980). Convém lembrar também que tanto o solo como os vasos foram esterilizados por radiação gama, que é ionizante e o seu efeito depende das características químicas e da condição de umidade do solo (KOCHANNY, 1965). A ionização é maior em solos úmidos e o solo utilizado

foi irradiado ainda úmido. A irradiação pode ainda determinar um aumento no teor de nitrito e o aparecimento de fitotoxinas, que afetam o desenvolvimento de plantas e de microrganismos (ROVIRA e BOWEN, 1969). A irrigação do solo passou a ser efetuada com maior frequência, para diminuir os possíveis efeitos de concentração salina. Após essas providências e a transferência dos vasos para condições de sombreamento, o que se deu em outubro, as plantas dos tratamentos inoculados começaram a se recuperar. É possível, portanto, que não só a temperatura, inicialmente elevada da casa de vegetação, mas problemas de salinidade, bem como alterações do solo devido à irradiação, tenham sido em conjunto responsáveis pelo mal desenvolvimento inicial das plantas. Apesar dessas condições, ou mesmo em virtude delas, foi possível detectar diferenças entre as micorrizas quanto à sua capacidade de influenciar no desenvolvimento das plantas.

A primeira avaliação foi feita em 22/11/79 utilizando-se três repetições de cada tratamento. O peso da matéria seca e teores de fósforo da parte aérea, e a percentagem de infecção nas raízes observadas naquela avaliação, estão apresentados na Tabela 13. Não foram constatadas diferenças significativas entre as médias de peso da parte aérea. Entretanto, já se podia perceber, visualmente, que as plantas dos tratamentos inoculados com *G. margarita* e *G. mosseae* estavam melhores que as demais, no que diz respeito à coloração, número de folhas e altura de planta. Todas plantas do tratamento inoculado com *G. fasciculatus* e algumas do tratamento inoculado com *G. heterogama* estavam melhores que as do tratamento sem inoculação. Cabe esclarecer que nesta primeira avaliação não foi feita

Tabela 13. Teores de fósforo, peso da parte aérea (seca a 60-70°C) e percentagem de infecção, observados em mudas de cafeeiro, após cerca de 4 meses de cultivo em vasos com solo LV irradiado (radiação gama), inoculado ou não com fungos micorrízicos. Médias de três repetições.

Fungos inoculados	Peso da parte aérea ¹	Teor de fósforo na parte aérea ²	Parte do compri- mento das raízes com infecção
	g	%	%
<i>Gigaspora margarita</i>	0,32	0,090	1,0
<i>Glomus mosseae</i>	0,27	0,095	23,0
<i>Gigaspora heterogama</i>	0,29	0,094	2,6
<i>Glomus macrocarpus</i>	0,21	0,094	0
Sem inoculação	0,22	0,090	0

¹ As diferenças não são significativas.

² Teores determinados em amostra composta de mudas das três repetições.

observação do tratamento inoculado com *G. fasciculatus* por insuficiência de repetições.

Aparentemente os teores de fósforo na parte aérea não estavam diferentes para os diversos tratamentos. As raízes das plantas dos tratamentos inoculados com *G. margarita*, *G. mosseae* e *G. heterogama* estavam infectados, porém todos com baixos índices de infecção. As plantas inoculadas com *G. fasciculatus*, a julgar pelo aspecto das mesmas, deviam estar também infectadas.

Os dados de produção de matéria seca da parte aérea e das raízes, obtidos por ocasião da colheita, em 12/5/80, estão apresentados na Tabela 14. Pode ser verificado que a inoculação com o fungo *Gigaspora margarita* promoveu o maior aumento de desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular. As médias deste tratamento são significativamente diferentes dos demais quando comparadas pelo teste de Duncan. Os resultados de comparação das médias da parte aérea e as raízes foram semelhantes para essas duas avaliações, com exceção para *G. heterogama*, que promoveu aumento significativo do sistema radicular, em relação ao controle. Na parte aérea não houve aumento significativo causado pelo mesmo fungo. Embora os tratamentos de inoculação tenham propiciado aumentos significativos no desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea, a proporção de raízes em relação à parte aérea praticamente não foi alterada, conforme pode ser observado na Tabela 14. KHAN (1972) observou que o sistema radicular de plantas de milho (*Zea mays*)

Tabela 14. Peso da parte aérea e das raízes (secas a 60-70°C) e relação peso da raiz/peso da parte aérea observados em mudas de cafeeiro, aos nove meses após cultivo em solo LV irradiado (radiação gama) inoculado ou não com fungos micorrízicos. Médias de seis repetições.

Fungo inoculado	Peso da parte aérea ¹	Peso das raízes ²	Peso da raiz/ Peso da parte aérea
	—g—	—g—	
<i>Gigaspora margarita</i>	1,34 a	0,583 a	0,435
<i>Glomus mosseae</i>	1,02 b	0,408 b	0,400
<i>Glomus fasciculatus</i>	0,89 b	0,362 b	0,407
<i>Gigaspora heterogama</i>	0,49 c	0,202 c	0,412
Sem inoculação	0,23 c	0,100 d	0,434

¹ Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si. Comparações pelo teste de Duncan a nível $P = 0,95$.

² O peso seco foi calculado. O teor médio de umidade das raízes do tratamento não inoculado foi 87,0% e dos não inoculados foi 84,4%.

micorrizadas é menor que o das não micorrizadas, pelo menos, nos estágios iniciais de desenvolvimento. Aos noventa dias de desenvolvimento as relações entre peso fresco do sistema radicular e da parte aérea de plantas micorrizadas e não micorrizadas foram semelhantes (KHAN, 1972). Por outro lado, MOSSE e HAYMAN (1971) verificaram que a relação de peso fresco do sistema radicular e da parte aérea de cebola (*Allium cepa*) era muito menor em plantas micorrizadas que não micorrizadas, sugerindo que o maior desenvolvimento das plantas micorrizadas não é devido a um sistema radicular proporcionalmente maior. A Figura 11 mostra o aspecto das mudas de cada tratamento, por ocasião da colheita. Na Tabela 15 são apresentados os teores e as quantidades totais de fósforo na parte aérea da planta, para os diversos tratamentos. Foram observadas diferenças significativas entre as médias dos tratamentos, sendo que o inoculado com *G. mosseae* apresentou teor médio semelhante ao com *G. margarita*, porém diferente dos tratamentos inoculados com as duas outras espécies e sem inoculação. Estas mesmas espécies de fungo absorveram semelhantes quantidades totais de fósforo (Tabela 15). As diferenças nos teores de fósforo da parte aérea podem ser tomadas como evidências de que a absorção de fósforo foi um importante fator determinante da eficiência dos fungos micorrízicos em estimular o crescimento do cafeeiro. Entretanto, tanto neste experimento como nos anteriores, parece não ter sido o único fator. No caso do siratro e do calopogônio o solo apresentava um teor satisfatório de fósforo disponível e, mesmo assim, foi verificado um efeito estimulatório da

Figura 11. Mudas de cafeeiro (*Coffea arabica*), em Latossolo Vermelho Amarelo esterilizado. Solo não inoculado e inoculado com os fungos micorrízicos indicados. Idade: nove meses do transplante.

Figura 12. Segmento de raiz de cafeeiro (*Coffea arabica*) infectado com *Glomus mosseae*. Aumento: 550 vezes.

Tabela 15. Teores de fósforo e de fósforo total na parte aérea de mudas de cafeeiro aos nove meses após cultivados em solo LV irradiado (radiação gama) inoculado ou não com fungos micorrízicos. Médias de três repetições.

Fungo inoculado	Teor de fósforo na parte aérea	Quantidade de fósforo na parte aérea ¹
	g	%
<i>Gigaspora margarita</i>	0,104 ab	1,46 a
<i>Glomus mosseae</i>	0,112 a	1,46 a
<i>Glomus fasciculatus</i>	0,094 b	0,96 b
<i>Gigaspora heterogama</i>	0,094 b	0,53 c
Sem inoculação	0,079 c	0,23 c

¹ Médias unidas pela mesma letra não diferem entre si. Comparações pelo teste de Duncan; P = 0,95.

infecção micorrízica (*Glomus macrocarpus*), que fez aumentar a produção de massa vegetal e o teor de fósforo na parte aérea das duas leguminosas. Convém notar também que a despeito do fósforo aparentemente não estar limitando o desenvolvimento das plantas, não houve formação de nódulos no tratamento sem infecção micorrízica. Por outro lado, com as gramíneas não foi verificado qualquer benefício da inoculação, se bem que a infecção constatada foi insignificante como se verá a seguir. É válido postular, pois, que as micorrizas tenham tido um efeito de contrabalancear o fator limitante que atuou tanto no primeiro grupo de experimentos com leguminosas (possivelmente toxidez de manganês) como no cafeeiro (possivelmente salinidade).

Com exceção de *Glomus macrocarpus*, os demais fungos infectaram as raízes do cafeeiro, sendo que a menor infecção foi observada com *Gigaspora heterogama* (Tabela 16). Embora a infecção com este fungo tenha sido estatisticamente semelhante à causada por *G. margarita* a produção de matéria seca induzida por ele não diferiu da do tratamento sem inoculação.

Glomus mosseae, *G. fasciculatus* e *Gigaspora margarita* apresentaram índices semelhantes de infecção das raízes, sendo que o maior valor absoluto de infecção foi verificado com a primeira espécie. Não foram observadas diferenças qualitativas na anatomia de infecção provocada pelas três espécies. A Figura 12 mostra um segmento de raiz do cafeeiro infectado com *G. mosseae*.

Tabela 16. Percentagem de infecção nas raízes e número total de esporos observados em mudas de cafeeiro e no solo, respectivamente, após nove meses de cultivo, em vasos, solo LV irradiado (raios gama), inoculado ou não com fungos micorrízicos. Médias de seis repetições.

Fungo inoculado	Parte do comprimento de raiz com infecção ¹	Nº de esporos por 10 ml de solo ²
	————— % —————	
<i>Gigaspora margarita</i>	51,8 ab	8,8 (7,8 < μ < 9,8)
<i>Glomus mosseae</i>	63,3 a	0,09
<i>Glomus fasciculatus</i>	57,8 ab	0,09
<i>Gigaspora heterogama</i>	44,3 b	2,43 (-1,0 < μ < 3,8)
Sem inoculação	0	0

¹ Transformação arco seno $\sqrt{x/100}$. As médias seguidas de, pelo menos, uma letra em comum não diferem entre si. Comparações pelo teste de Duncan, a nível $P = 0,95$.

² Transformação $\sqrt{x+0,5}$. Limites de confiança indicados entre parêntesis, a nível $P = 0,95$.

Foi constatado um enovelamento intracelular de hifas, em maior ou menor intensidade, como o que se observa na Figura 13, em segmento de raiz infectada por *G. heterogama*. Este mesmo enovelamento é apresentado em detalhe, na Figura 14. Enovelamentos semelhantes foram observados em *Acer rubrum* por HOOD (1964), citado por BOULLARD (1968) e denominados em francês de "peloton". Estes enovelados são semelhantes a estruturas observadas por JANSE (1897), em cafeeiro, às quais o autor se referiu como "tortil". Numa das fotos que aparece no trabalho de CARDOSO (1978) também se verifica uma célula com hifas enoveladas de forma semelhante à da Figura 14. Há, portanto, interesse em que sejam efetuados estudos detalhados da infecção do cafeeiro para um melhor esclarecimento destes enovelamentos. BURGEFF (1938), citado por GERDEMANN (1968) propôs uma classificação das micorrizas baseada nos tipos de estruturas dos fungos que seria, eventualmente, digerida nas raízes das plantas, reconhecendo um grupo em que enovelados de hifas ("hyphal coils") são digeridos. Embora não tenham sido observados arbúsculos típicos como os de centrosema, mostrados na Figura 8, foram observadas estruturas bem semelhantes a arbúsculos, possivelmente já em digestão, na segunda avaliação, principalmente em raízes inoculadas com *G. fasciculatus*.

Na análise de correlação entre a produção de matéria seca da parte aérea, e a parte do comprimento das raízes infectadas pelo fungo foi verificada significância. O coeficiente de determinação, entretanto, foi bastante baixo ($r^2 = 0,3888$) e a curva calculada para descrever a relação apresenta

Figura 13. Segmento de raiz de cafeeiro (*Coffea arabica*) infectado com *Gigaspora heterogama*. Aumento: 550 vezes.

Figura 14. Detalhe da infecção intracelular em raiz de cafeeiro (*Coffea arabica*) mostrando um enovelado de hifa de *Gigaspora heterogama*. Aumento: 2.200 vezes.

elevada dispersão dos pontos experimentais, como no caso do siratro (Figura 4), como pode ser notado na Figura 15.

POWELL (1977) observou, em trevo branco, que a magnitude da resposta à micorriza, em termos de produção de matéria seca, não estava correlacionada com os teores de P no solo. Pelos dados de infecção apresentados pelo autor pode se observar que os mesmos também não se correlacionavam com os de produção de matéria seca. Por outro lado, DAFT e EL-GIAHMI (1975) observaram que em alfafa os dados de infecção estavam correlacionados com os de produção de matéria seca. Embora nos trabalhos aqui relatados se tenha observado correlação para o siratro e para o cafeeiro, é possível que esta correlação não explique uma relação causa-efeito. O interesse maior nesta correlação esteve em se testar uma possível relação causa-efeito entre a intensidade de infecção nas raízes e o desenvolvimento da planta. O mecanismo proposto por SANDERS e TINKER (1971) e por HATTINGH *et alii* (1973) para explicar os benefícios das micorrizas para as plantas, é o da maior absorção de nutrientes de baixa difusão. A maior absorção seria resultante da maior superfície de exploração do solo propiciada pelas hifas externas, nas plantas infectadas. Por este mecanismo, a correlação entre intensidade de infecção e produção de matéria seca não seria esperada, ou pelo menos, não seria necessária. Embora esta correlação tenha ocorrido, a dispersão dos pontos em torno da reta calculada foi elevada. Infecções inexpressivas têm sido associadas a elevados aumentos de produção (POWELL, 1977) e, em contrapartida, infecções de intensidade razoável,

Figura 15. Correlação entre peso seco da parte aérea e percentagem do comprimento das raízes de cafeeiro com infecção. Os dados referem-se às observações de cada parcela das cinco espécies de fungo, que apresentaram infecção.

Coeficiente de determinação $r^2=0,3888$; $P = 0,99$.

como as observadas com *G. heterogama*, no cafeeiro, não promovem aumentos significativos na produção.

Na Tabela 15, estão também apresentados os dados de número de esporos encontrados no solo por ocasião da colheita. Apenas no tratamento de inoculação com *G. margarita* foram encontrados esporos em quantidades razoáveis (média de 53,0 esporos/50 ml de solo). Seguramente os esporos observados no tratamento de inoculação com *G. heterogama* eram resultantes da infecção no cafeeiro. É possível que os esporos nos demais tratamentos tratassem de resquícios do próprio inóculo. DAFT e NICOLSON (1972) observaram boas correlações entre número de esporos e matéria seca observada em tratamentos de inoculação de uma espécie de *Endogone*, tanto em milho, como em tomateiro. Neste experimento os dados obtidos sugerem que a utilização dos dados de esporulação apresentam limitações para serem utilizados como indicativos da magnitude de infecção, ou de eficiência das espécies.

5. CONCLUSÕES

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

1. As leguminosas e gramíneas forrageiras, bem como o cafeeiro, foram infectadas pelo menos por uma das espécies de fungos micorrízicos testados.

2. A espécie *Acaulospora laevis*, só infestou o siratro entre cinco espécies de leguminosas e quatro gramíneas testadas.

3. A espécie *G. macrocarpus* foi a que infectou o maior número de gramíneas e leguminosas forrageiras, não tendo, entretanto, infectado o cafeeiro.

4. As relações de especificidade observadas foram de natureza complexa, envolvendo interações tríplices planta-fungo-solo.

5. A produção de matéria seca de calopogonio e de siratro foram significativamente aumentadas pela inoculação com *G. macrocarpus*, o que não aconteceu com a braquiaria e com o colonião.

6. A produção de matéria seca e o teor de fósforo da parte aérea do cafeeiro foram significativamente aumentados pela inoculação com *G. margarita* e *G. fasciculatus*.

6. SUMMARY

Several greenhouse experiments were carried out in pots with gamma irradiated soils, to select mycorrhizal species and to study the relationships between plant and fungi. Forage grasses and legumes, and coffee (*Coffea arabica* L.) were investigated.

Root infections by fungi species induced infection in at least one of the plant species. All the plants were infected by one or another fungus. In one of the experiments, in a Latosolic B Terra Roxa, with siratro (*Macroptilium atropurpureum*) only *Gigaspora margarita* did not induce root infection, in a period of seventy five days. *Glomus macrocarpus* and *Glomus fasciculatus* were the most efficient fungi species in this same experiment.

In a experiment in a Red Yellow Latosol four mycorrhizal fungi species (*G. macrocarpus*, *G. fasciculatus*, *Acaulospora laevis*, and *Gigaspora margarita*) were compared on four grasses (*Brachiaria decumbens*, *Setaria anceps*, and culti-

vars "petri" and "wurth" of *Panicum maximum*), and on five legumes (*M. atropurpureum*, *Glycine wightii*, *Galactia striata*, *Calopogonium mucunoides* and *Centrosema pubescens*). There was no infection induced by *A. laevis* in any plant. Some unfavorable soil factor (very likely to be a manganese toxicity) must have restricted plant development and interfered in the testing, particularly on infection of some fungus-host combinations. *G. fasciculatus* and *G. margarita* did not infect any of the grasses, but infected the legumes. On the other hand, *G. macrocarpus* infected all the grasses and practically all the legumes (except *G. striata*). This fungus did not enhance the growth of the grasses, but systematically favoured the development of the legumes which were infected.

In another experiment with two grasses (*P. maximum* cv. petri, and *B. decumbens*), and the legumes *C. mucunoides*, and *M. atropurpureum*, in the same Red Yellow Latosol, but with phosphorus fertilization there was no infection by *G. margarita* again. Enhancement of growth due mycorrhizal inoculation was observed only on the legumes inoculated with *G. macrocarpus*. It was noticed a very slight infection in both grasses inoculated with *G. macrocarpus*.

Coffee roots were not infected by *G. macrocarpus* in another Red Yellow Latosol very similar to the one used in the experiments with grasses and legumes. They were however effectively infected by *G. margarita*. Both *G. margarita* and *G. fasciculatus* were highly efficient in enhancing the growth of this plant.

A significant correlation between shoot dry weight and percentage of length of infected roots was observed in siratro and also in coffee. However, the experimental points were highly scattered around the regression curve.

The presence of certain fungus on the legume roots (ex. *G. macrocarpus* and *G. fasciculatus*), and also on coffee roots (ex. *G. margarita* and *G. fasciculatus*) enhanced plant development. The concentration, and total phosphorus of coffee and legume plants that had benefited from the infection were significantly higher than those of control (non infected plants). Nitrogen concentration in *Brachiara* inoculated with *G. macrocarpus* was higher than in the control, despite the very slight, non typical infection induced by the treatment in that plant species. The same treatment did not increase nitrogen concentration in *Panicum*.

In general, higher root infections were observed in the legumes than in the grasses. Among the grasses only *B. decumbens* was infected by other than *G. macrocarpus* fungus. Apparently it was more susceptible to infection in this experimental condition. These apparent specificity relations observed at the infection and efficiency levels could not be interpreted simply as a plant-host interactions. It should be viewed as a soil-plant-host interaction. Apparently the plant-host interaction was highly susceptible to soil factors. It was observed that some of the fungus species (ex. *G. macrocarpus*) was much less susceptible to soil factors. *Glomus macrocarpus* should

be recommended for field trials with legumes. The contrasting results obtained with coffee, *G. margarita* and *G. macrocarpus* in comparison with legume in a very similar soil, indicated that in some associations the plant partner plays a major role in defining the best soil-plant-fungus combination for higher benefit to the plant growth.

LITERATURA CITADA

- ABBOTT, L.K. e ROBSON, A.D., 1977. Growth stimulation of subterranean clover with vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Aust. J. Agric. Res.*, 28:639-649.
- ABBOTT, L.K. e ROBSON, A.D., 1978. Growth of subterranean clover in relation to the formation of endomycorrhizas by introduced and indigenous fungi in a field soil. *New Phytol.*, 81:575-585.
- ALLEN, M.F., MOORE Jr., T.S., CHRISTENSEN, M. e STANTON, N. 1979. Growth of vesicular-arbuscular-mycorrhizal and nonmycorrhizal *Bouteloua gracilis* in a defined medium. *Mycologia*, 71:666-669.
- AZCÓN-G. DE AGUILLAR, C., AZCÓN, R. e BAREA, J.M. 1979. Endomycorrhizal fungi and *Rhizobium* as biological fertilizers for *Medicago sativa* in normal cultivation. *Nature*, 279:325-327.
- AZCÓN-G. DE AGUILLAR, C. e BAREA, J.M. 1978. Effects of interactions between different culture fractions of "phosphobacteria" and *Rhizobium* on mycorrhizal infection growth and nodulation of *Medicago sativa*. *Can. J. Microbiol.*, 24:520-524.

- AZCÓN-G. DE AGUILLAR, C. e BAREA, J.M. 1978. Effects of plant hormones present in bacterial cultures on the formation and responses to VA endomycorrhiza. *New Phytol.* 80:359-364.
- BATAGLIA, O.C., TEIXEIRA, J.P.F., FURLANI, P.R., FURLANI, A. M.C. e GALLO, J.R., 1978. Análise química de plantas. Instituto Agronômico. 31 p. (Circular 87).
- BAYLIS, G.T.S., 1959. Effect of vesicular arbuscular mycorrhizas on growth of *Griselinia littoralis* (Cornaceae). *New Phytol.*, 58:274-280.
- BOULLARD, B., 1968. *Les Mycorrhizes*. Paris, Masson & Cie. 135p.
- BOWEN, G.D., 1980. Mycorrhizal roles in tropical plants and ecosystems. In: NIKOLAS, P., Ed. Tropical mycorrhizal research (Proc. of the IFS workshop on tropical mycorrhiza). Oxford University Press.
- BOWEN, G.D. e ROVIRA, A.D., 1961. Plant growth in irradiated soil. *Nature*, 101:936-937.
- BURGEFF, H., 1938. Mycorrhiza. In: VERDOORN, F., Ed. *Manual of pteridology*. Haia, Martinus Nijhoff. p. 159-191.
- BUTLER, E.J., 1939. The occurrences and systematic position of the vesicular-arbuscular type of mycorrhizal fungi. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 22:274-301.
- CARDOSO, E.J.N., 1978. Ocorrência de micorriza em café. *Summa Phytopathologica*, 4:136-137.

- CLARK, F.B., 1963. Endotrophic mycorrhizas influence yellow poplar seedling growth. *Science*, 140:1220-1221.
- CRUSH, J.R., 1974. Plant growth and nodulation of some herbage legumes. *New Phytol.*, 73:743-749.
- CRUSH, J.R., 1976. Endomycorrhizas and legume growth in some soils of the Mackenzie Basin, Canterbury, New Zeland. *N.Z. Journal of Agricultural Research*, 19:473-476.
- DAFT, M.J. e EL-GIAHMI, A.A., 1974. Effect of *Endogone* micorrhiza on plant growth. VII. Influence of infection on the growth and nodulation in french bean (*Phaseolus vulgaris*). *New Phytol.*, 73:1139-1147.
- DAFT, M.J. e EL-GIAHMI, A.A., 1975. Effect of *Glomus* infection on three legumes. In: SANDERS, F.E., MOSSE, B. e TINKER, P.B. Ed. *Endomycorrhizas*. London, Academic Press. p. 581-592.
- DAFT, M.J. e NICOLSON, T.H., 1966. Effect of *Endogone* micorrhiza on plant growth. *New Phytol.*, 65:343-350.
- DAFT, M.J. e NICOLSON, T.H., 1972. Effect of *Endogone* micorrhiza on plant growth. IV. Quantitative relationship between the growth of the host and the development of the endophyte in tomato and maize. *New Phytol.*, 71:287-295.
- EL-GIAHMI, A.A., NICOLSON, T.H. e DAFT, M.J., 1976. Effects of fungal toxicants on mycorrhizal maize. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 61:172-173.

- EZETA, F.N. e SANTOS, O, M., 1980. Benefício da introdução de endomicorriza eficiente na utilização de nutrientes em Latossolos do sul da Bahia. *Rev. Bras. Ciên. Solo*, 4:13-17.
- FRANCO, C.M., 1961. Lesão do solo do cafeeiro, causada pelo calor. *Bragantia*, 20:645-652.
- GALLO, J.R., HIROCE, R., BATAGLIA, O.C., FURLANI, P.R., FURLANI, A.M.C., MATTOS, H.B., SARTINI, H.J. e FONSECA, M.P., 1974. Composição química inorgânica de forrageiras do Estado de São Paulo. *B. Indústria. anim.*, 31:115-137.
- GERDEMANN, J.W., 1961 A species of *Endogone* from corn causing vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Mycologia* 53:254-261.
- GERDEMANN, J.W., 1964. The effect of mycorrhiza on the growth of maize. *Mycologia*, 56:342-349.
- GERDEMANN, J.W., 1968. Vesicular arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Ann. Review Phytopath.*, 6:397-418.
- GERDEMANN, J.W. e NICOLSON, T.H., 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 46:235-244.
- GERDEMANN, J.W. e TRAPPE, J.M. 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. New York Bot. Garden e Myc. Soc. Am. 74 p (Mycologia Memoir, 5).
- GILMORE, A.E., 1971. The influence of endotrophic mycorrhizae on the growth of peach seedlings. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 96:35-37.

- GIOVANNETTI, M. e MOSSE, B. 1979. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in roots. *Copia mimiografada*.
- HALL, I.R., SCOTT, R.S. e JOHSTONE, P.D., 1977. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizas on response of "grassland" "Huia" and "Tamar" white clovers to phosphorus. *N.Z. Journal of Agricultural Research*, 20:349-355.
- HATTINGH, M.J., GRAY, L.E. e GERDEMANN, J.W., 1973. Uptake and translocation of ^{32}P -labelled phosphate to onion roots by endomycorrhizal fungi. *Soil Sci.*, 116:383-387.
- HAYMAN, D.S. e MOSSE, B., 1971. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. I. Growth of *Endogone* inoculated plants in phosphate-deficient soils. *New Phytol.*, 70:19-27.
- HEPPER, C.M., 1977. A colorimetric method for estimating vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *Soil Biology and Biochemistry*, 9:15-18.
- HIRREL, M.C. e GERDEMANN, J.W., 1980. Improved growth of onion and bell pepper in saline soils by two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 44:654-655.
- HIRREL, M.C., MEHRAVARAN, H. e GERDEMANN, J.W., 1978. Vesicular-arbuscular mycorrhizal in the Chenopodiaceae and Cruciferae: do they occur? *Can J. Bot.*, 56:2813-2817.

- HOLEVAS, C.D., 1966. The effect of a vesicular-arbuscular mycorrhiza on the uptake of soil phosphorus by strawberry (*Fragaria* sp. var. Cambridge Favourite). *J. Hort. Sci.*, 41: 57-64.
- HOLLEY, J.D. e PETERSON, R.L., 1979. Development of a vesicular-arbuscular mycorrhiza on bean roots. *Can. J. Bot.*, 57: 1960-1978.
- HOOD, S.C., 1964. A classification of the symbiotic relation of fungi with plant roots. Tampa, Flórida. 29p. (Hood Labor. Bull., 8).
- HOWELER, R.H., EDWARDS, D.G. e ASHER, C.J., 1979. Effect of soil sterilization and mycorrhizal inoculation on the growth nutrient uptake and critical phosphorus concentration of cassava. V International Symposium on Tropical Root Crops. Manila, Philippines. (Cópia mimeografada).
- JACKSON, N.E., FRANKLIN, R.E. e MILLER, R.H., 1972, Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizae on growth and phosphorus content of three agronomic crops. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 36:64-67.
- JANSE, J.M., 1897. Les endophytes radicaux de quelques plantes javanaises. *Ann. Jard. Botan. Buitenzorg*, 24:53-201.

- KHAN, G.A., 1972. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations on growth of cereals. I. Effects on maize growth. *New Phytol.*, 71:613-619.
- KOCHANNY Jr., G.L., 1965. Effect of cobalt-60 gamma irradiation of the determination of uranium (IV) in phosphoric acid solutions of uranium (IV) oxids. *Anal. Chim. Acta*, 33:76-83.
- LEWIS, D.H., 1975. Comparative aspects of the carbon nutrition of mycorrhizas. In: SANDERS, F.E., MOSSE, B. e TINKER, P.B. London, *Academic Press*. p. 119-148.
- LOPES, A.S. e WOLLUM, A.G., 1976. Comparative effects of methylbromide, propylene oxide, and autoclave sterilization on specific soil chemical characteristics. *Turrialba*, 26:351-355.
- LOPES, E.S., 1972. Coleção de estirpes de *Rhizobium* spp. do Instituto Agronômico. Campinas, Instituto Agronômico. 12 p. (Circular 11).
- LOPES, E.S., 1980. Observações sobre controle das condições ambientais em casa de vegetação. In: *Relatório das atividades desenvolvidas na Seção de Microbiologia do Solo*, 1979. Campinas, Instituto Agronômico, p.7-9.
- LOPES, E.S., LOVADINI, L.A.C., MYASAKA, S., IGUE, T. e GIARDINI, A.R., 1974. Seleção de estirpes de *Rhizobium* spp para amendoim (*Arachis hipogaea* L.) e galaxia (*Galactia striata* (Jacq.) Urban. *Bragantia*, 33:CV-CX, Nota 21.

MILLER, R.H., CARDOSO, E.J.B.N. e CARDOSO, C.O.N., 1979.

Some observations on mycorrhizal infection of tropical forage legumes and grasses in Brazil. *Summa Phytopathologica*, 5: 168-172.

MOORMAN, T. e REEVES, F.B., 1979. The role of endomycorrhizas in revegetation practice in the semi-arid west. II. A bio-assay to determine the effect of land disturbance on endomycorrhizal populations. *Amer. J. Bot.*, 66:14-18.

MOSSE, B., 1956. Frutifications of an *Endogone* species causing endotrophic mycorrhiza on fruit plants. *Ann. Botany*, 20:349-362.

MOSSE, B., 1957. Growth and chemical composition of mycorrhizal and non mycorrhizal apples. *Nature*, 179:922-924.

MOSSE, B., 1972. Effects of different *Endogone* strains on the growth of *Paspalum notatum*. *Nature*, 239:221-223.

MOSSE, B., 1973. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Ann. Rev. Phytopathology*, 11:171-196.

MOSSE, B., 1975. Specificity in VA mycorrhizas. In: SANDERS, F.E., MOSSE, B. e TINKER, P.B., Ed. *Endomycorrhizas*. London, Academic Press. p. 469-484.

- MOSSE, B., 1977. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. X. Responses of *Stylosanthes* and maize to inoculation in unsterile soils. *New Phytol.*, 78:277-278.
- MOSSE, B. e BOWEN, G.D., 1968. A key to the recognition of some *Endogone* spore types. *Trans. Br. micol. Soc.*, 51:469-483.
- MOSSE, B. e HAYMAN, D.S., 1971. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. II. In unsterilized field soil. *New Phytol.*, 70:29-34.
- NICOLSON, T.H. e SCHENK, N.C., 1979. Endogonaceous mycorrhizal endophytes in Florida. *Mycologia*, 71:178-198.
- OLD, K.M., NICOLSON, T.H. e REDHEAD, J.F., 1973. A new species of mycorrhizal *Endogone* from Nigeria with a distinctive spore wall. *New Phytol.*, 72:817-823.
- OWOSU-BENNOAH, E. e MOSSE, B. 1979. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. XI. Field inoculation responses in barley, lucerne and onion. *New Phytol.*, 83:671-679.
- PHILIPS, J.M. e HAYMAN, D.S., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 55:158-161.

- POWELL, C.Ll., 1975. Potassium uptake by endotrophic mycorrhizas. In: SANDERS, F.E., MOSSE, B. e TINKER, P.B. *Endomycorrhizas*. London, Academic Press. p. 461-468.
- POWELL, C.Ll., 1977. Mycorrhizas in hill country. V. Growth responses in ryegrass. *N.Z. Journal of Agricultural Research*, 20:495-502.
- POWELL, C.Ll., 1979. Effect of mycorrhizal fungi on recovery of phosphate fertilizer from soil by ryegrass plants. *New Phytol.*, 83:681-694.
- POWELL, C.Ll., e DANIEL, J., 1978. Growth of white clover in undisturbed soils after inoculation with efficient mycorrhizal fungi. *N.Z. Journal of Agricultural Res.*, 21:675-681.
- RATNAYAKE, M., LEONARD, R.T. e MENGE, J.A., 1978. Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. *New Phytol.*, 81:543-552.
- READ, D.J., 1974. *Pezizela ericae* sp. nov. the perfect state of a typical mycorrhizal endophyte of Ericaceae. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 63:381-383.
- READHEAD, J.F., 1975. Endotrophic mycorrhizas in Nigeria: some aspects of the ecology of the endotropic mycorrhizal association of *Khaia grandifoliola* D.C. In: SANDERS, F.E., MOSSE, B. e TINKER, P.B. *Endomycorrhizas*. London, Academic Press. p. 447-459.

- REEVES, F.B., WAGNER, D., MOORMAN, T. e KIEL, J., 1979. The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid west. I. A comparison of incidence of mycorrhizae in severely disturbed and natural environment. *Am. J. Bot.*, 66:6-13.
- RIAZI-HAMADAMI, A., PARBERY, D.G. e BEILHARZ, V.C., 1977. Vesicular-arbuscular mycorrhizal nodules on tomato. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 68:138-140.
- ROVIRA, A.D. e BOWEN, G.D., 1969. The use of radiation sterilized soil to study the ammonium nutrition of wheat. *Aust. J. Agric. Res.*, 7:57-65.
- SANDERS, F.E., 1975. The effect of foliar applied phosphate on the mycorrhizal infections of onion roots. In: SANDERS, F.E. Mosse, B. e TINKER, P.B. *Endomycorrhizas*. London, Academic Press. p.261-276.
- SANDERS, F.E. e TINKER, P.B., 1971. Mechanisms of absorption of phosphate from soil by *Endogone* mycorrhizas. *Nature*, 233: 278-279.
- SANDERS, F.E. e TINKER, P.B., 1973 Phosphate flow into mycorrhizal roots. *Pestic. Sci.* 4:385-395.
- SANTOS, C.D. e LOPES, E.S., 1980. Influência da irradiação gama no solo, no desenvolvimento da centrosema (*Centrosema pubescens* Benth). (A ser publicado em *Bragantia*).

- SHENCK, N.C. e KELLAN, M.K., 1978. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on disease development. Gainesville, Univ. Florida. 16 p. (Bulletin 798, Technical).
- SWAMINATHAN, K. e VERMA, B.C., 1977. Symbiotic effect of vesicular-arbuscular mucorrhizal fungi on the phosphate nutrition of potatoes. *Proc. Indian Acad. Sci.*, 85B:310-318.
- TINKER, P.B.H., 1975. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on higher plants. *Symbiosis*, 29:325-349.
- THOMAZINI, L.I. 1974. Mycorrhiza in plants of the "Cerrado". *Plant and Soil*, 41:707-711.
- WARCUP, J.H. e TALBOT, P.H.B., 1967. Perfect states of rhizotomias associated with orchids. *New Phytol*, 66:631-641.
- YOST, R.S. e FOX, R.L., 1979. Contribution of mycorrhizae to the P nutrition of crops growing on an oxisol. *Agronomy Journal*, 71:903-908.